

不同碘摄入水平对子代大鼠学习记忆及运动能力的影响

黄 佳 王琛琛 祝宇铭 郜振国 樊玉娟 马品江

摘 要 **目的** 探讨不同碘摄入水平对子代大鼠神经发育行为的影响。**方法** 断乳 2 周的 SPF 级雌性 Wistar 大鼠 150 只,按体质量随机分成 5 组,分别是碘缺乏 1 组(severe iodine deficiency, SID)、碘缺乏 2 组(mild iodine deficiency, MID)、适碘对照组(normal iodine, NI)、碘过量 1 组(mild iodine excess, MIE)和碘过量 2 组(severe iodine excess, SIE),各组饮水碘酸钾浓度依次为 0、50、183、2283 和 11617 $\mu\text{g/L}$,干预 3 个月,对子代进行 Morris 水迷宫实验、平衡木实验、钢丝夹持实验、转棒实验。**结果** 5 个剂量组子代大鼠平衡木通过时间及在平衡木上发生打滑次数、在钢丝上的悬挂时间比较差异有统计学意义($F=2.640, \chi^2=11.873, F=3.178, P<0.05$),均表现出适碘对照组子代大鼠具有较强的运动能力;定位巡航实验发现,第 2 天和第 3 天各剂量组子代大鼠逃避潜伏期时间均比 NI 组长($P<0.05$)。空间探索实验显示, SID 组和 SIE 组较 NI 组有效区域运动时间有所延长($P<0.05$),各组均比 NI 组穿过平台的次数少($P<0.05$)。**结论** 孕期不同程度的碘缺乏和碘过量均会损伤子代大鼠的学习记忆及运动能力。

关键词 碘 神经发育 学习记忆 行为学 运动能力

中图分类号 R195

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.10.017

Effects of Different Iodine Intake Levels on Learning and Memory and Motor Ability in Offspring Rats. Huang Jia, Wang Chenchen, Zhu Yuming, et al. Center for Disease Control and Prevention of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Xinjiang 830002, China

Abstract **Objective** To investigate the effects of different iodine intake levels on neurodevelopmental behavior in offspring rats. **Methods** A total of 150 SPF female Wistar rats (ablactation for 2 weeks) were randomly divided into 5 groups according to body weight, including iodine deficiency 1 (severe iodine deficiency, SID), iodine deficiency 2 (mild iodine deficiency, MID), normal iodine control group (normal iodine, NI), iodine excess 1 (mild iodine excess, MIE) and iodine excess 2 (severe iodine excess, SIE). The concentrations of potassium iodate in drinking water of each group were in 0, 50, 183, 2283 and 11617 $\mu\text{g/L}$. After 3 months of intervention, morris water maze test, balance beam test, steel wire gripping test and rotating bar test were performed on the offspring. **Results** There were statistically significant differences in the time of passing the balance beam, the times of slipping on the balance beam and the time of hanging on the steel wire ($F=2.640, \chi^2=11.873, F=3.178, P<0.05$). All the results showed that the offspring rats in the appropriate iodine control group had strong motor ability. The location cruise experiment showed that the escape latency time of offspring rats in all dose groups on day 2 and day 3 was longer than that of control group ($P<0.05$). The space exploration experiment showed that the movement time of effective area in SID group and SIE group was longer than that in NI group ($P<0.05$). The number of crossing platform in each group was less than that in NI group ($P<0.05$). **Conclusion** Iodine deficiency and iodine excess during pregnancy can damage the learning and memory and motor ability of offspring rats.

Key words Iodine; Neurodevelopment; Learning and memory; Behavior; Motor ability

碘是人体合成甲状腺激素的必须微量元素。生命早期的神经细胞迁移、髓鞘形成和突触传递过程均离不开甲状腺激素的作用^[1-3]。孕期碘缺乏引起的低甲状腺素血症可能会导致胎儿不同程度的脑损伤,同时还会增大流产、死产的发生率^[4,5]。反之,孕期过量碘摄入会增加孕妇患甲状腺疾病尤其是亚甲减

的风险,并影响新生儿的甲状腺功能^[6,7]。因此妊娠期间适宜的碘摄入量对母体甲状腺激素的合成和维护正常胎儿的大脑发育是必不可少的。本研究通过建立不同碘摄入量的大鼠动物模型,定量评价个体碘营养的状况,在此基础上结合平衡木实验、钢丝夹持实验、转棒实验、Morris 水迷宫实验,探讨母体不同碘摄入水平对子代学习和运动能力的影响。

对象与方法

1. 主要仪器与试剂: Morris 水迷宫视频分析系统(ZS-001, 北京众实迪创科技发展有限公司),

基金项目: 新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项科研项目(WJWY-202016)

作者单位: 830002 乌鲁木齐, 新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心

通讯作者: 马品江, 主任医师, 电子信箱: 694620032@qq.com

疲劳转棒仪(ZB-200,成都泰盟软件有限公司),平衡木及钢丝夹持实验装置(课题组自制),紫外可见分光光度计(UNICO UV-4802型,上海尤尼柯仪器有限公司),碘化钾(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:20180412),尿中碘的砷铈催化分光光度测定方法配套试剂盒(武汉众生生化技术有限公司,批号:04202085),低碘动物饲料(北京科澳协力饲料有限公司)。

2. 实验动物:选择断乳2周的SPF级Wistar大鼠,雌性150只,雄性50只,大鼠被安置在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 的温度下,并保持在每天12h光照/12h黑暗中,依次循环。本次研究所有实验动物均由新疆实验动物研究中心提供,生产许可证号:SCXK(新)2016-0001,实验在新疆实验动物研究中心SPF级实验室内进行。

3. 实验动物分组与处理:(1)不同碘摄入水平大鼠模型的建立:雌鼠适应饲养1周后,按体质量分层分为碘缺乏1组(SID组)、碘缺乏2组(MID组)、适碘对照组(NI组)、碘过量1组(MIE组)和碘过量2组(SIE组),各组均给予低碘动物饲料,低碘动物饲料配制以GB14924.3-2010《实验动物配合饲料营养成分》为参考,碘含量为 $50\mu\text{g}/\text{kg}$,各组通过饮水加入碘酸钾使大鼠摄入碘水平达到实验要求,碘酸钾浓度依次为0、50、183、2283和 $11617\mu\text{g}/\text{L}$,根据大鼠每日饮食摄入量饲料30g、水30ml,5组大鼠的碘摄入量分别为1.5、3、7、70和 $350\mu\text{g}/\text{d}$,干预3个月建立模型^[8]。(2)模型判定:干预满3个月将雌鼠放入代谢笼,收集24h尿液测定尿碘,尿碘采用《尿中碘的测定第一部分:砷铈催化分光光度测定方法》(WS/T 107.1-2016)进行测定,3组尿碘值依次增高并差异有统计学意义为建模成功。(3)动物处理:3个月,雌性大鼠与正常雄性大鼠(雄鼠正常饲养条件)交配(雌性:雄性=3:1)。阴道塞出现当天被确定为妊娠日第1天(gestational day, GD0)。从GD0到产后(postnatal, PN)第21天(PN21),怀孕大鼠与孕前喂养条件相同直至生产。子代大鼠在PN14和PN21时每组各取12只(均为雌雄各半)子代大鼠,进行运动能力及行为学测试。

4. 运动能力测试:(1)平衡木实验:在两个平台之间放置一个固定在地板上方30cm的长木梁(长100cm,直径1.5cm)。启动平台被照亮,以触发大鼠的移动,记录穿越光束所需的时间。最大潜伏期为120s。(2)钢丝夹持实验:每只大鼠的前爪悬挂在离地面上方30cm的钢丝上(长40cm,直径2mm),记录

从钢丝上掉下来之前的延迟时间。大鼠休息60s进行下次测量,测量2次取平均值。(3)转棒实验:使用疲劳转棒仪每天对大鼠进行转棒训练3次,使大鼠在5min内基本能够随转棒而做相应的运动,以10r/min的速度迫使大鼠在棒上运动,记录其在转棒上的停留时间,测量2次取平均值。

5. Morris水迷宫实验:实验分为定位航行阶段和空间探索阶段:(1)定位航行实验:将受试大鼠按顺时针方向依次自第1、2、3、4象限(除去平台所在象限)入水点顺序放入水中,记录60s内寻找平台的时间(逃逸潜伏期),以大鼠逃逸潜伏期的长短来评价大鼠的空间学习能力。(2)空间探索实验:定位航行实验全部结束后,次日进行空间探索实验,撤去平台,然后在第1象限相同的入水点将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠在60s内穿越原平台区域的次数,以及大鼠在平台各象限停留的时间及游动距离,以此判断大鼠空间记忆存储及提取再现的能力。

6. 统计学方法:采用SPSS 20.0统计学软件对数据进行统计分析。正态分布计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,采用方差分析进行组间比较,偏态分布计量资料用中位数(四分位数间距)[M(Q1, Q3)]描述,采用非参数检验Kruskal-Wallis H法进行组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同碘摄入大鼠模型尿碘水平:干预3个月,5组大鼠尿碘中位数分别为3.540、51.410、286.801、644.192、2368.701 $\mu\text{g}/\text{L}$,详见表1。随着饮水碘干预剂量的升高大鼠尿碘中位数呈倍数增加,经非参数Kruskal-Wallis秩和检验,5组间大鼠尿碘含量比较差异有统计学意义($\chi^2 = 94.791, P < 0.05$)。经多重检验,各组大鼠与NI组尿碘含量比较差异均有统计学意义($Z = -5.416、-5.416、-5.361、-5.410, P < 0.05$)。

表1 不同水碘剂量干预组大鼠尿碘水平及比较[M(Q1, Q3)]

组别	样本数(n)	尿碘($\mu\text{g}/\text{L}$)
碘缺乏1组	30	3.540(0.116, 8.080)*
碘缺乏2组	30	51.410(40.084, 69.316)*
适碘对照组	30	286.801(250.644, 337.941)
碘过量1组	30	644.192(595.813, 707.421)*
碘过量2组	30	2368.701(2060.541, 3264.677)*

与适碘对照组比较,* $P < 0.05$

2. 不同碘摄入水平对子代大鼠运动能力的影响: 子代大鼠运动能力测试实验结果详见表 2。5 个剂量组平衡木通过时间及在平衡木上发生打滑次数、在钢

丝上的悬挂时间比较, 差异有统计学意义 ($F = 2.640$, $\chi^2 = 11.873$, $F = 3.178$, $P < 0.05$)。5 个剂量组转棒持续时间比较差异无统计学意义 ($F = 0.741$, $P > 0.05$)。

表 2 不同碘摄入水平对子代大鼠运动能力的影响 [$\bar{x} \pm s$, $M(Q1, Q3)$]

组别	样本数 (<i>n</i>)	平衡木实验		钢丝夹持实验	转棒实验
		通过时间(s)	打滑次数(次)	悬挂时间(s)	持续时间(s)
碘缺乏 1 组	12	45.917 ± 14.488 *	2.00(1.00, 3.75) *	16.292 ± 7.992 *	37.250 ± 12.477
碘缺乏 2 组	12	35.750 ± 25.513	1.50(0.25, 2.00)	25.000 ± 10.917	45.550 ± 11.466
适碘对照组	12	25.333 ± 18.347	0(0, 1)	33.500 ± 11.844	45.050 ± 17.412
碘过量 1 组	12	31.583 ± 22.240	0(0, 1)	25.583 ± 16.935	47.400 ± 18.397
碘过量 2 组	12	21.667 ± 18.667	1.00(0.3, 75)	32.500 ± 17.248	43.650 ± 9.615
F/χ^2		2.640	11.873	3.178	0.741
P		0.043	0.018	0.020	0.569

与适碘对照组比较, * $P < 0.05$

3. 不同碘摄入水平对子代大鼠学习记忆能力的影响: (1) 定位航行实验: 子代大鼠在第 2 天和第 3 天各组逃避潜伏期均数比较, 差异有统计学意义 ($F = 4.816$, 8.538 , $P < 0.05$), 各剂量组均比适碘对照组组长且差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 3)。(2)

空间探索实验: 各组子代大鼠有效区域运动时间均比适碘对照组短, 且差异有统计学意义 ($F = 3.032$, $P < 0.05$), 穿过平台的次数也比 NI 组少且差异有统计学意义 ($Z_1 = -2.469$, $Z_2 = -2.373$, $Z_4 = -2.692$, $Z_5 = -3.319$, $P < 0.05$, 表 4)。

表 3 不同碘摄入水平对子代大鼠逃避潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s$, s)

组别	样本数(<i>n</i>)	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
碘缺乏 1 组	12	49.833 ± 12.473	45.933 ± 9.509 *	34.399 ± 14.927 *	29.867 ± 12.024
碘缺乏 2 组	12	53.300 ± 7.409	46.333 ± 9.575 *	47.566 ± 9.046 *	37.601 ± 13.305
适碘对照组	12	40.100 ± 14.510	26.532 ± 12.433	22.500 ± 9.509	30.766 ± 8.972
碘过量 1 组	12	43.667 ± 14.429	45.165 ± 14.358 *	37.400 ± 13.405 *	27.667 ± 10.732
碘过量 2 组	12	46.334 ± 5.294	38.600 ± 13.938 *	48.100 ± 8.932 *	29.534 ± 12.409
F		2.021	4.816	8.538	0.741
P		0.108	0.003	0.000	0.569

与适碘对照组比较, * $P < 0.05$

表 4 不同碘摄入水平对子代大鼠空间搜索时间的影响 [$\bar{x} \pm s$, $M(Q1, Q3)$]

组别	样本数 (<i>n</i>)	有效区域运动	穿过平台次数
		时间(s)	(次)
碘缺乏 1 组	12	19.800 ± 13.514 *	1.00(0.75, 3.00) *
碘缺乏 2 组	12	29.700 ± 14.322	0(0, 1.25) *
适碘对照组	12	42.200 ± 20.302	3.00(1.75, 5.75)
碘过量 1 组	12	34.700 ± 23.893	1(0, 2) *
碘过量 2 组	12	18.300 ± 17.449 *	1(1, 2) *
F/χ^2		3.032	15.946
P		0.027	0.003

与适碘对照组比较, * $P < 0.05$

讨 论

碘是机体必需的微量元素, 碘缺乏及碘过量均会影响子代的海马神经元发育, 降低其学习记忆能力^[8-10]。既往研究多集中于严重的碘缺乏及碘过

量, 但在实际生活中, 这种极端的碘营养状态是不常见的, 而多见于超出适宜量的轻度碘缺乏及碘过量, 该状态是否已经对机体及子代产生影响存在争议, 需要进一步验证。

本实验中按照碘适宜组大鼠碘摄入水平的 1/4、1/2、10 倍、50 倍建立不同碘摄入水平大鼠模型, 对其子代大鼠进行运动能力测试时孕期严重碘缺乏会导致子代大鼠运动能力降低, 轻度缺碘(碘适宜量的 1/2 倍)、碘适宜量的 10 倍及 50 倍可能还未引起子代大鼠的运动能力损伤。本研究测试了出生 21 天子代大鼠(相当于人的幼儿期)在水迷宫实验中的学习记忆能力。定位巡航实验发现, 随着实验日的增加, 到达平台的潜伏期明显缩短, 说明子代大鼠在水迷宫实验中有一定的学习记忆能力。第 2 天和第 3 天各剂量组子代大鼠逃避潜伏期时间均比 NI 组长且差异有

统计学意义 ($P < 0.05$), 说明大鼠的学习记忆能力受到影响, 但这也不能完全排除可能是由于缺碘或高碘导致子代大鼠出现甲状腺功能减退而致心率变慢、代谢减少、行动能力下降, 从而逃避潜伏期延长。空间探索实验显示, SID 组和 SIE 组较 NI 组有效区域运动时间短, 同时各组穿过目标象限的次数均比 NI 组少, 均提示孕期不同程度的碘缺乏和碘过量都会对子代学习记忆能力产生影响。

关于孕期轻度碘缺乏对子代神经发育影响的报道各有差异, 也是学者们的研究热点。本研究提示孕期不同程度碘缺乏对子代学习记忆能力产生一定的影响, 同聂珺妍等^[11]的研究结果一致, 其中严重缺碘组对子代大鼠运动能力产生一定的损伤, 但其余各组未发现明显的损伤作用。已有大量研究证实, 高碘暴露会损害认知功能^[12,13]。本实验中碘过量 1 组和碘过量 2 组均未对子代大鼠运动能力有明显的损伤, 但学习记忆能力产生了明显影响, 这可能是由于各研究中定义高碘的碘酸钾的剂量各不相同, 本次研究只能提示超过碘适宜的 10 倍和 50 倍的碘摄入剂量未对子代的运动能力产生损伤, 但对学习记忆能力产生影响。综合实验结果, 碘缺乏和碘过量均会引起不同程度的神经发育障碍, 表现为运动能力和学习记忆能力的下降, 其中学习记忆能力较为明显, 为孕期碘缺乏和碘过量致子代大鼠神经发育的影响提供了依据。

参考文献

- Vancamp P, Darras VM. Dissecting the role of regulators of thyroid hormone availability in early brain development: merits and potential of the chicken embryo model[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2017, 459: 71-78
- Selma D'Silva. Immune dysregulation in MDS: the role of cytokines and immune cells[M]. London: IntechOpen, 2019
- Hejazi M, Manser AR, Frobel J, et al. Impaired cytotoxicity associated with defective natural killer cell differentiation in myelodysplastic syndromes[J]. *Haematologica*, 2015, 100(5): 643-652
- Aggarwal N, Swerdlow SH, Teneyck SP, et al. Natural killer cell (NK) subsets and NK-like T-cell populations in acute myeloid leukemias and myelodysplastic syndromes[J]. *Cytometry Part B Clin Cytometry*, 2015, 90(4): 349-357
- Epling-Burnette PK, Bai F, Painter JS, et al. Reduced natural killer (NK) function associated with high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) and reduced expression of activating NK receptors[J]. *Blood*, 2007, 109(11): 4816-4824
- Fozza C, Contini S, Galleu A, et al. Patients with myelodysplastic syndromes display several T-cell expansions, which are mostly polyclonal in the CD4⁺ subset and oligoclonal in the CD8⁺ subset[J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(8): 947-955
- Lopes MR, Traina F, Campos PDM, et al. IL10 inversely correlates

- Morreale de Escobar G, Obregon MJ, Escobar del Rey F. Role of thyroid hormone during early brain development[J]. *Eur J Endocrinol*, 2004, 151(Suppl 3): 25-37
- Dong J, Yin H, Liu W, et al. Congenital iodine deficiency and hypothyroidism impair LTP and decrease C-fos and C-jun expression in rat hippocampus[J]. *Neurotoxicology*, 2005, 26(3): 417-426
- Bath SC. The effect of iodine deficiency during pregnancy on child development[J]. *Proc Nutr Soc*, 2019, 78(2): 150-160
- 郭玉熹, 黄文丽. 微量元素碘与人体健康的关系[J]. *国外医学: 医学地理分册*, 2014, 35(1): 64-68
- Sang Z, Wei W, Zhao N, et al. Thyroid dysfunction during late gestation is associated with excessive iodine intake in pregnant women[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(8): 1363-1369
- Yang L, Li M, Liu X, et al. Evaluation of iodine nutritional status among pregnant women in China[J]. *Thyroid*, 2020, 30(3): 443-450
- Wang Y, Han J, Chen X, et al. Maternal iodine supplementation improves motor coordination in offspring by modulating the mGluR1 signaling pathway in mild iodine deficiency-induced hypothyroxinemia rats[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 58: 80-89
- Zhang L, Teng W, Liu Y, et al. Effect of maternal excessive iodine intake on neurodevelopment and cognitive function in rat offspring[J]. *BMC Neurosci*, 2012, 13(1): 121
- 王凌之, 于林玉, 刘洪亮, 等. 长期碘氟联合染毒对大鼠学习记忆的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2016, 33(4): 300-303
- 聂珺妍, 张斌, 赵阳, 等. 饮水高碘对雄性子代大鼠学习记忆能力及海马神经细胞自噬的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2018, 35(1): 1-5
- 高童宁, 张祖山, 崔玉山, 等. 高碘致发育期大鼠学习记忆能力及海马神经组织凋亡的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2019, 36(11): 962-966
- 金美慧, 周正, 张黎, 等. 不同碘水平对 EAT 大鼠后代脑组织发育及行为学的影响[J]. *中华地方病学杂志*, 2020, 39(7): 469-476

(收稿日期: 2021-03-23)

(修回日期: 2021-05-08)

(接第 127 页)

- with the percentage of CD8⁺ cells in MDS patients[J]. *Leukemia Res*, 2013, 37(5): 541-546
- Kordasti SY, Ingram W, Hayden J, et al. CD4⁺ CD25^{high} Foxp3⁺ regulatory T cells in myelodysplastic syndrome (MDS)[J]. *Blood*, 2007, 110(3): 847-850
- Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, et al. Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System[J]. *Cancer*, 2010, 113(6): 1351-1361
- Kao JM, Mcmillan A, Greenberg PL. International MDS risk analysis workshop (IMRAW)/IPSS reanalyzed: impact of cytopenias on clinical outcomes in myelodysplastic syndromes[J]. *Am J Hematol*, 2010, 83(10): 765-770
- Komrokji RS, Corrales - Yezpe M, Ali NA, et al. Validation of the MD anderson prognostic risk model for patients with myelodysplastic syndrome[J]. *Cancer*, 2012, 118(10): 2659-2664

(收稿日期: 2021-04-04)

(修回日期: 2021-05-08)