

论著

丙基硫脲嘧啶对去卵巢大鼠甲状腺干扰作用的时效关系研究

陈浩^{1,2}, 张晓鹏², 李谦³, 苏卿⁴, 贾旭东², 刘兆平²

(1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100021; 2. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021; 3. 四川大学华西公共卫生学院, 四川 成都 610041; 4. 西南大学园艺园林学院, 重庆 400716)

摘要:目的 研究丙基硫脲嘧啶(PTU)对甲状腺干扰作用的敏感指标及其时间效应模式。方法 去卵巢大鼠随机分为3个给药组,分别给予5 mg/kg BW的PTU连续灌胃4、8和12 d,同时设手术对照组和假手术对照组,灌胃给予玉米油。测定指标包括血清 T_3 、 T_4 和TSH,肝脏I型5'-脱碘酶和苹果酸酶活性,甲状腺组织病理学改变以及表皮胶质比。结果 与手术对照组相比,给药各组血清 T_3 均降低($P < 0.05$),TSH均升高($P < 0.05$)。与手术对照组相比,4 d组血清 T_4 差异无统计学意义($P > 0.05$),而8和12 d组 T_4 降低($P < 0.05$)。血清 T_3 和 T_4 随给药时间增加而下降,血清TSH则随时间增加而升高。同手术对照组相比,给药各组I型5'-脱碘酶活性均降低($P < 0.05$),苹果酸酶活性差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药各组甲状腺滤泡间可见毛细血管充血,滤泡上皮不同程度增生,胶质减少,表皮胶质比均升高($P < 0.05$)。结论 血清甲状腺激素 T_3 、 T_4 和TSH,I型5'-脱碘酶活性,甲状腺表皮胶质比及病理学改变可作为评价甲状腺干扰作用的敏感指标;PTU干扰去卵巢大鼠的甲状腺功能存在明显的时效关系,给药8 d是最敏感观察期。

关键词:丙基硫脲嘧啶;去卵巢大鼠;甲状腺干扰作用;时效关系;毒理实验;内分泌

中图分类号:R15;R335.2 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)01-0018-05

Study on time-effect of propylthiouracil thyroid disruption in ovariectomized ratsCHEN Hao, ZHANG Xiao-peng, LI Qian, SU Qing, JIA Xu-dong, LIU Zhao-ping
(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China)**Abstract: Objective** To study the time-effect model of PTU thyroid disruption and screen sensitive endpoints. **Methods**

Ovariectomized rats were randomly allocated into 3 groups, and propylthiouracil was administered at 5 mg/kg BW by gavage for 4, 8 and 12 days respectively. An OVX control and a sham control were also included in the study, treated with corn oil. At the end of the study, serum T_3 , T_4 and TSH levels, activities of liver type I 5'-deiodinase and malic enzyme were measured correspondingly. Histopathology of thyroid was described and thyroid follicular epithelium/colloid ratio was calculated. **Results** Compared with OVX control, animals treated with PTU showed significantly higher serum T_3 , and lower TSH levels, while only 8-day and 12-day groups had significantly lower serum T_4 levels. The activity of liver type I 5'-deiodinase decreased significantly, while malic enzyme did not show any significant difference among the groups. Histopathology results revealed the hypertrophy of thyroid, disappearance of colloid, adding that the ratio of epithelium versus colloid increased significantly. **Conclusion** PTU could effectively affect the structure and function of thyroid with time-effect trend; thyroid hormone, type I 5'-deiodinase activity and histopathology endpoints were sensitive; 8-day treatment of thyroid disruptor had the optimal observation.

Key words: Propylthiouracil; ovariectomized rats; thyroid disruption; time-effect relationship; toxicological experiment; endocrine

随着医药、化工、食品等工业的快速发展以及

环境污染的长期积累,多种内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)进入食品已成为不争的事实^[1]。虽然这些物质含量不高,暴露量不大,但由于慢性暴露和交互作用(剂量相加、效应相加、协同作用)的存在,EDCs带来的健康危害越来越受到人们重视^[2]。甲状腺是人 and 动物体内EDCs作用的靶器官之一,环境中存在的甲状腺干扰物数量众多,因此对甲状腺干扰物的筛选是认识、了解和防

收稿日期:2013-10-10

基金项目:国家自然科学基金(81273081)

作者简介:陈浩 男 硕士生 研究方向为食品毒理学

E-mail:chenhao0725@126.com

通讯作者:刘兆平 男 研究员 研究方向为食品毒理学和化学物

风险评估 E-mail:liuzhaoping@cfsa.net.cn

治其危害的关键^[3]。而筛选试验中,对敏感指标和敏感作用时间的探索最为重要。目前,大多数筛选甲状腺干扰作用的动物试验周期存在较大差异,给药时间从5天到3个月不等^[4-5]。试验周期过长,机体可通过代偿机制降低受试物对甲状腺的干扰作用;周期过短,可能会因受试物尚未表现出毒性作用而得出假阴性结论。此外,各研究所选指标敏感性不同,采用相对单一指标进行研究是导致敏感试验期不一致的原因之一,在研究甲状腺干扰物时,需了解干扰物作用的敏感指标和时效关系,才能进行正确的试验设计。

丙基硫脲嘧啶(propylthiouracil, PTU)是临床治疗甲状腺肿常用药物,现有动物试验表明,PTU能够降低血清三碘甲腺原氨酸(3,5,3-triiodothyronine, T_3)和甲状腺素(thyroxine, T_4),升高血清促甲状腺素(thyroid stimulating hormones, TSH),并伴随较明显的组织病理学改变^[6]。本研究选用PTU作为研究甲状腺干扰作用的模式药物,观察不同时间点PTU对去卵巢(ovariectomy, OVX)大鼠 T_3 、 T_4 、TSH、I型5'-脱碘酶(type I 5'-deiodinase, 5'-DI)、苹果酸酶(malic enzyme, ME)及病理学等指标的影响,筛选敏感指标,确定敏感试验期,为建立短期甲状腺干扰试验模型提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Beckman Allegra X22R 低温高速离心机、酶标仪、SPX-250 生化培养箱、XH-6080 伽马计数器、S18N-10G 匀浆机。

PTU、Dowex 50WX2 树脂、还原型辅酶II(nicotinamideadenine dinucleotide phosphate hydrate, NADPH)、辅酶II(nicotinamideadenine dinucleotide phosphate, $NADP^+$)、L-苹果酸(均购自Sigma公司),非转基因玉米油(中粮福临门公司),HEPES 缓冲液、Tris-HCl 缓冲液(均购自北京索莱宝科技有限公司),L-甲状腺素钠(阿拉丁公司), T_3 和 T_4 放射免疫试剂盒、反三碘甲状腺原氨酸(reverse 3,5,3'-triiodothyroxine, rT_3)、¹²⁵I 标记的 rT_3 (均购自北京北方生物研究所),TSH 酶联免疫试剂盒(Endocrine Technology公司),BCA 蛋白定量试剂盒(ThermoScientific公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物

SPF级7周龄健康雌性SD大鼠50只,体重210~230g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[生产许可证号:SCXK(京)2012-0009],饲养于中国医学科学院实验动物研究所动物房[合格证

号:SYXK(京)2010-0029],温度20~24℃,湿度40%~70%,12h明暗交替。

1.2.2 动物分组和处理

大鼠适应性喂养1周,按体重随机分5组:假手术(Sham)对照组、去卵巢对照组、4d组、8d组、12d组,10只/组。Sham对照组不摘除卵巢,仅切除卵巢附近约2g脂肪组织,其他4组大鼠行双侧卵巢切除术^[7]。恢复性喂养12d后,4、8和12d组大鼠分别灌胃给予剂量为5mg/kg BW的PTU玉米油悬浮液,各组灌胃时间安排:12d组大鼠最先开始灌胃,4d后开始灌胃8d组大鼠,8d后开始灌胃4d组大鼠,三组同时结束。Sham对照组和OVX对照组灌胃给予相同体积玉米油。试验期间大鼠单笼饲养,饲以去大豆和苜蓿的配制饲料^[8],自由饮水。

灌胃结束次日用2%戊巴比妥钠麻醉动物,腹主动脉取血后处死并解剖,取肝右叶组织冻存,连同部分气管切下甲状腺,4%甲醛液固定。

1.2.3 血清 T_3 、 T_4 和TSH检测

T_3 、 T_4 采用放射免疫法测定,TSH采用酶联免疫法测定,具体操作按试剂盒操作规程进行,所有样品均同批次测定。

1.2.4 病理学检查

固定后,将甲状腺剥离甲状软骨并称重,计算脏器系数。HE染色后镜下观察病理学改变。在镜下,每张切片选择12个甲状腺滤泡,分别测量滤泡上皮和胶质面积,计算表皮胶质比。

1.2.5 5'-DI活性检测

参照Hotz^[9]等建立的5'-DI酶活性检测方法。
①冰浴制作W:V=1:39肝匀浆(1mmol/L DTT、10mmol/L HEPES、320mmol/L 蔗糖,pH=7.0),4℃3000×g离心10min取上清,加1ml匀浆介质入沉淀,吹匀后再4℃20000×g离心10min取上清同第一次离心的上清混合,用于脱碘酶活性检测;
②蛋白定量:采用BCA法测定肝匀浆上清总蛋白浓度,具体操作遵照试剂盒操作规程;
③酶活性检测:100μl保温液(0.005μmol/L ¹²⁵I标记 rT_3 、0.495μmol/L rT_3 、2mmol/L DTT、1mmol/L EDTA、10mmol/L 磷酸钾缓冲液,pH=7.0)37℃温浴20min后加20μl样本,37℃反应11min,加200μl预冷 T_4 /PTU液终止;取80%上述反应液加入预备的Dowex强酸性阳离子交换柱,4℃1500×g离心5min,然后加入0.5ml 10%冰醋酸洗脱,相同条件离心,洗脱2次;
④每分钟放射计数(counts per minute, cpm):γ计数器记录收集的反应液和洗脱液的cpm(SC),100μl保温液cpm(TC),空白对照(以20μl匀浆介质代替样品)的cpm(BC);
⑤5'-DI活性计算见公式(1):

$$5'-DI \text{ 活性} = \frac{\left(SC \times \frac{100}{80} - BC \times \frac{100}{80} \right) \times 100 \mu\text{l 保温液中总 } rT_3 \text{ 含量} \times 1\ 000}{\text{样本体积} \times \text{蛋白浓度} \times \text{反应时间} \times \text{TC}} \quad (1)$$

5'-DI 活性表示每 mg 蛋白质每 min 所释放的 ¹²⁵I 的 pmol 数。

1.2.6 ME 活性检测

参照 Schmutzler^[10] 等建立的 ME 酶活性检测方法。①肝匀浆:冰浴制作 W: V = 1: 10 肝匀浆 (0.25 mol/L 蔗糖、50 mmol/L Tris-HCl、0.1 mmol/L EDTA, pH = 7.4), 4 °C 15 000 × g 离心 10 min 取上清, 加匀浆介质 1ml 入沉淀吹匀, 再次 4 °C 20 000 × g 离心 5 min 吸上清同第一次离心所得上清混合, 用于苹果酸酶活性检测; ②蛋白定量方法同 1.2.5; ③酶活性检测: 建立 NADPH 标准曲线 (即 NADPH 浓度为 500、250、100、50、25、10、0 μmol/L 所得的标准曲线); 反应体系总体积 200 μl (含 67 mmol/L 三乙醇胺缓冲液、1.5 mmol/L L-苹果酸、4 mmol/L MnCl₂、0.5 mmol/L NADP⁺, pH = 7.4), 96 孔板中依次加标准曲线液和反应体系液, 然后加入 20 μl 样本, 空白对照加 20 μl 匀浆介质, 反应温度 25 °C, 间隔 31 s 动态测定 7 次在 OD 340 nm 时的吸光度值; ④ME 活性计算: 根据标准曲线计算每个样本每次测定时的浓度, 算出每个样品浓度变化速率 Δe/Δt, 酶活性计算见公式(2):

$$ME \text{ 活性} = \frac{\text{反应体系总体积} \times \Delta e / \Delta t}{\text{样本体积} \times \text{样本蛋白浓度}} \times 1\ 000 \quad (2)$$

ME 活性表示每 mg 蛋白每 min 产生 NADPH 的 μmol 数。

1.3 数据处理及统计学分析

试验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间均数比较采用 LSD 法, 设定检验水准 α = 0.05。

2 结果

2.1 对动物体重的影响

由表 1 可见, 手术前各组大鼠体重差异无统计学意义 (P > 0.05)。试验结束时, 去卵巢处理的 4 组大鼠平均体重和增重均高于 Sham 对照组, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。OVX 对照组、4、8 和 12 d 组间大鼠体重差异无统计学意义 (P > 0.05)。

表 1 去卵巢和 PTU 对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, g$)

Table 1 The influence of ovariectomy and PTU on body weight change of rats

组别	初体重	末体重	增重
Sham 对照组	218.38 ± 4.71	255.43 ± 11.72	37.05 ± 11.48
OVX 对照组	218.56 ± 5.00	298.29 ± 17.83*	79.73 ± 18.80*
4 d 组	217.54 ± 5.67	296.88 ± 17.42*	79.34 ± 16.27*
8 d 组	218.98 ± 7.40	306.60 ± 23.73*	87.62 ± 26.99*
12 d 组	219.66 ± 8.11	298.76 ± 9.90*	79.10 ± 13.18*

注: * 表示与 Sham 对照组比较 P < 0.01

2.2 血清 T₃、T₄ 和 TSH 水平

由表 2 可见, 同 Sham 对照组比较, OVX 对照组大鼠血清 T₃、T₄ 和 TSH 三项指标中, 仅血清 T₃ 的差异有统计学意义 (P < 0.01)。给药各组大鼠血清 T₃ 均低于 OVX 对照组, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。同 4 d 组相比, 12 d 组大鼠血清 T₃ 浓度下降, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。给药各组大鼠血清 T₄ 均低于 OVX 对照组, 但仅有 8 和 12 d 组的差异有统计学意义 (P < 0.01)。同 4 d 组比较, 8 和 12 d 组大鼠血清 T₄ 下降, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。给药各组大鼠血清 TSH 均高于 OVX 对照组, 差异有统计学意义 (4 d 组 P < 0.05, 8 和 12 d 组 P < 0.01); 8 和 12 d 组血清 TSH 高于 4 d 组 (P < 0.01), 差异有统计学意义。

表 2 PTU 对去卵巢大鼠血清 T₃、T₄ 和 TSH 的影响 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)

Table 2 The influence of PTU on serum T₃, T₄ and TSH of ovariectomized rats

组别	T ₃	T ₄	TSH
Sham 对照组	0.99 ± 0.20	61.93 ± 11.96	11.32 ± 6.05
OVX 对照组	0.81 ± 0.08 ^a	55.03 ± 18.98	7.71 ± 3.43
4 d 组	0.47 ± 0.17 ^{bb}	49.05 ± 18.02	26.68 ± 13.94 ^b
8 d 组	0.40 ± 0.12 ^{bb}	21.45 ± 6.54 ^{bb, cc}	47.87 ± 16.09 ^{bb, cc}
12 d 组	0.32 ± 0.07 ^{bb, c}	15.03 ± 8.09 ^{bb, cc}	80.61 ± 27.84 ^{bb, cc, d}

注: a 表示与 Sham 对照组比较 P < 0.01; b 表示与 OVX 对照组比较 P < 0.05; bb 表示与 OVX 对照组比较 P < 0.01; c 表示与 4 d 组比较 P < 0.05; cc 表示与 4 d 组比较 P < 0.01; d 表示与 8 d 组比较 P < 0.05

2.3 5'-DI 和 ME 酶活性

由表 3 可见, 同 Sham 对照组比较, OVX 对照组大鼠 5'-DI 酶活性下降, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。给药各组大鼠 5'-DI 酶活性均低于 OVX 对照组, 差异有统计学意义 (P < 0.01)。但给药组间大鼠的 5'-DI 酶活性差异无统计学意义 (P > 0.05)。各组大鼠 ME 酶活性差异均未见无统计学意义 (P > 0.05), 但随着给药时间增加, ME 活性有下降趋势。

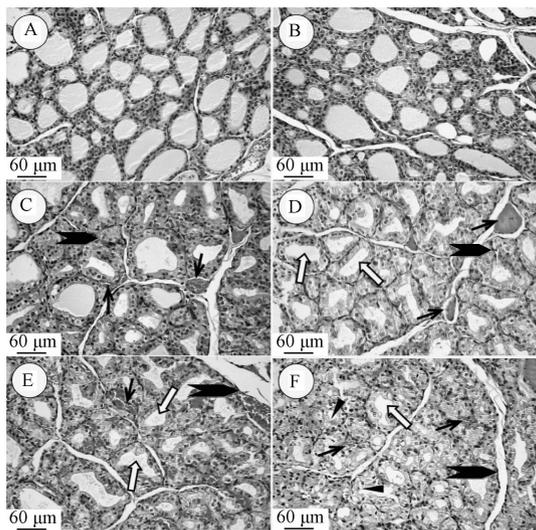
表 3 PTU 对去卵巢大鼠 5'-DI 和 ME 酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 The influence of PTU on 5'-DI and ME activities of ovariectomized rats

组别	5'-DI 酶活性 (pmol/min/mg 蛋白)	ME 酶活性 (μmol/min/mg 蛋白)
Sham 对照组	13.41 ± 4.01	11.81 ± 2.51
OVX 对照组	7.93 ± 1.20 ^a	11.76 ± 2.19
4 d 组	1.46 ± 0.77 ^{a, b}	12.56 ± 2.68
8 d 组	0.65 ± 0.18 ^{a, b}	11.66 ± 3.36
12 d 组	0.50 ± 0.21 ^{a, b}	9.49 ± 2.76

注: a 表示与 Sham 对照组比较 P < 0.01; b 表示与 OVX 对照组比较 P < 0.01

2.4 病理学

由图1可见,Sham 对照组和 OVX 对照组大鼠甲状腺组织未见明显病理学改变;4 d 组大鼠甲状腺滤泡上皮增生、细胞核增大、滤泡间质毛细血管充血;8 d 组甲状腺上皮弥漫性增生,由单层变为复层、细胞排列紊乱、滤泡内胶质减少、滤泡间质毛细血管充血;12 d 组大鼠甲状腺滤泡上皮细胞空泡化、胶质减少或消失。



注:↑指示滤泡间质毛细血管充血;↓指示胶体减少或消失;▲指示滤泡上皮细胞空泡化;■指示甲状腺滤泡上皮增生。A(Sham 对照组)和B(OVX 对照组):无明显病理变化;C(4 d 组):甲状腺上皮复层化,毛细血管充血;D(8 d 组),胶质减少或消失,毛细血管充血;E和F(12 d 组):滤泡上皮明显增生,间质毛细血管充血,滤泡胶质减少或消失,滤泡上皮细胞空泡化

图1 不同PTU染毒时间对去卵巢大鼠甲状腺滤泡的病理学改变

Figure 1 Histopathology difference of PTU treatment with different duration

由表4可知,Sham 对照组和 OVX 对照组大鼠的甲状腺脏器系数和表皮胶质比的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。各给药组大鼠甲状腺脏器系数高于 OVX 对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。8 和 12 d 组大鼠的甲状腺脏器系数高于 4 d 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。12 d 组大鼠的甲状腺脏器系数高于 8 d 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。给药各组大鼠甲状腺表皮胶质比均高于 OVX 对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。同 4 d 组比较,8 和 12 d 组大鼠甲状腺表皮胶质比增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。8 和 12 d 组比较,大鼠甲状腺表皮角质比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

本文主要研究 PTU 干扰甲状腺功能的敏感指标和时效关系,采用去卵巢雌性大鼠作为模型动物

表4 PTU 对去卵巢大鼠甲状腺脏器系数和甲状腺表皮胶质比的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The influence of PTU on thyroid/body weight ratio and of thyroid follicular epithelium/colloid ratio of ovariectomized rats

组别	甲状腺脏器系数/%	甲状腺表皮胶质比
Sham 对照组	7.69 ± 0.96	0.74 ± 0.09
OVX 对照组	6.21 ± 1.19	0.64 ± 0.17
4 d 组	9.82 ± 2.46 ^a	2.81 ± 0.91 ^a
8 d 组	15.10 ± 1.45 ^{a,b}	3.77 ± 0.75 ^{a,b}
12 d 组	18.30 ± 3.46 ^{a,b,c}	4.24 ± 1.19 ^{a,b}

注:a表示与OVX对照组比较 $P < 0.01$;b表示与4d组比较 $P < 0.01$;c表示与8d组比较 $P < 0.05$

主要因为甲状腺是雌激素的靶器官之一,雌激素的大量存在将影响甲状腺的功能,而且雌激素能通过下丘脑-垂体-甲状腺轴干扰甲状腺激素的水平^[4],因此,采用去卵巢大鼠模型可排除雌激素的干扰作用^[5,9]。去卵巢后的大鼠雌激素水平低下,影响脂肪代谢,体重较 Sham 组增加^[8],本研究去卵巢处理的各组大鼠体重均高于 Sham 组。

PTU 可抑制甲状腺过氧化物酶活性,导致甲状腺球蛋白合成减少,干扰 T_4 的正常合成, T_4 、 T_3 下降并导致 TSH 反馈性升高^[11]。Mellert^[12] 等研究提示 PTU 对大鼠血清 T_3 、 T_4 和 TSH 的影响存在明显的剂量-反应关系。孙素材^[13] 等认为 PTU 对甲状腺相关激素的影响存在时间-效应关系, T_3 在给药 12 d 时下降到最低,而 T_4 和 TSH 则在给药 15 d 时达到平台期。本研究提示,PTU 开始作用后,大鼠血清 T_4 、 T_3 随着时间增加持续降低,TSH 持续升高,12 d 内三类激素均未出现代偿性回调。但是激素水平易受环境等因素影响,血清 T_3 、 T_4 和 TSH 不能作为评判甲状腺干扰功能的唯一依据,还需结合甲状腺病理学指标综合考虑^[4]。

负反馈机制导致持续升高的 TSH 刺激甲状腺滤泡上皮增生,滤泡腔内胶质减少。部分 12 d 组大鼠甲状腺滤泡的胶质完全消失,出现空泡化,其中含甲状腺激素合成必需的甲状腺球蛋白,这和 PTU 干扰甲状腺球蛋白合成的机制相一致。PTU 对大鼠甲状腺脏器系数和甲状腺表皮胶质比的影响存在时间效应关系,且在 8 ~ 12 d 时这种病理学改变逐渐达到高峰。

肝脏 5'-DI 活性受到 T_3 水平的影 响,与 T_3 水平正相关^[4]。当机体表现为 T_4 缺乏时的甲状腺功能减退时,为保证 T_3 水平正常 5'-DI 活性会代偿性增强,但当代偿能力达到饱和后,5'-DI 活性随之下降。本研究提示 5'-DI 是敏感指标,给药 4 d 后大鼠肝脏 5'-DI 酶活性下降,且随着给药时间增加下降明显。大鼠 5'-DI 酶活性在给药初期即下降,说明机体的代偿能力已经不足。

苹果酸酶是反应甲状腺激素调节较为敏感的终点,与 T_3 水平成正相关,暴露于甲状腺激素类药物的大鼠肝脏 ME 酶活性是对照组大鼠的 10.5 倍^[14]。本研究 PTU 导致血清 T_3 水平下降,但各组 ME 酶活性差异无统计学意义,其原因可能是:①ME 酶活性易受外界环境影响,对测定环境中的温度、pH、光路等要求高,易产生系统误差;②由于雌激素参与体内脂质代谢,去卵巢的大鼠雌激素水平低下,脂肪合成增加,ME 酶为机体脂肪合成提供所需的 NADPH^[14],因此,雌激素低下导致 ME 酶活性升高抵消了血清 T_3 下降的导致 ME 酶活性下降。该结论提示 ME 酶活性在去卵巢大鼠模型中不能作为敏感指标。

本研究从甲状腺激素水平、甲状腺相关酶学和病理学角度较全面地对 PTU 干扰甲状腺作用进行敏感指标筛选和时效研究。血清 T_3 、TSH、5'-DI 活性和病理学检查等指标在给药仅 4 d 就表现出差异有统计学意义,是筛选甲状腺干扰物的敏感指标。从时效性上分析,PTU 可在早期出现明显甲状腺干扰作用;在 8 d 时,所有可检测指标(除去 ME 活性)均出现改变;12 d 时,部分指标(如 5'-DI 活性、表皮胶质比、 T_3 、 T_4)同 8 d 组比较差异无统计学意义,提示机体病理生理学改变可能在此段时间达到高峰,因此,8 d 可作为研究 PTU 干扰甲状腺结构和功能的敏感时间点。

参考文献

- [1] Diamanti-Kandarrakis E, Bourguignon J P, Guidice L C, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement [R]. *Endocrine Reviews*, 2009, 30: 293-342.
- [2] Kortenkamp A. Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2007, 115 (Suppl 1): 98-105.
- [3] Kavlock R J, Daston G P, Derosa C, et al. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the US EPA-sponsored workshop [J]. *Environmental Health Perspectives*, 1996, 104 (Suppl 4): 715.
- [4] Schmutzler C, Gotthardt I, Hofmann P J, et al. Endocrine disruptors and the thyroid gland—a combined in vitro and in vivo analysis of potential new biomarkers [J]. *Envir Heal Perspec*, 2007, 115 (Suppl 1): 77-83.
- [5] Klammer H, Schlecht C, Wuttke W, et al. Effects of a 5-day treatment with the UV-filter octyl-methoxycinnamate (OMC) on the function of the hypothalamo-pituitary-thyroid function in rats [J]. *Toxicol*, 2007, 238 (2-3): 192-199.
- [6] Yamada T, Kunimatsu T, Miyata K, et al. Enhanced rat Hershberger assay appears reliable for detection of not only (anti-)androgenic chemicals but also thyroid hormone modulators [J]. *Toxicol Scien*, 2004, 79 (1): 64-74.
- [7] 洪志勇,刘爱平.大鼠骨质疏松模型建立 II [J]. *中国实验动物学杂志*, 1994, 4 (2): 95-96.
- [8] 李丽,张晓鹏,张文众,等.哺乳期母鼠暴露大豆异黄酮对仔鼠卵巢类固醇受体表达的影响 [J]. *卫生研究*, 2007, 36 (5): 564-567.
- [9] Hotz C S, Belonje B, Fitzpatrick D W, et al. A method for the determination of type I iodothyronine deiodinase activity in liver and kidney using 125I-labelled reverse triiodothyronine as a substrate [J]. *Clinical Biochemistry*, 1996, 29 (5): 451-456.
- [10] Schmutzler C, Hamann I, Hofmann P J, et al. Endocrine active compounds affect thyrotropin and thyroid hormone levels in serum as well as endpoints of thyroid hormone action in liver, heart and kidney [J]. *Toxicol*, 2004, 205 (1-2): 95-102.
- [11] Taurog A. The mechanism of action of the thioureylen antithyroid drugs [J]. *Endocri*, 1976, 98 (4): 1031-1046.
- [12] Mellert W, Deckardt K, Walter J, et al. Detection of endocrine-modulating effects of the antithyroid acting drug 6-propyl-2-thiouracil in rats, based on the "Enhanced OECD Test Guideline 407" [J]. *Regul Toxi and Pharma: RTP*, 2003, 38 (3): 368-377.
- [13] 孙素才,郭洁,蒲栋,等.丙硫氧嘧啶干扰甲状腺功能的亚急性毒性研究 [J]. *现代预防医学*, 2008, 35 (6): 1135-1137.
- [14] Dozin B, Magnuson M A, Nikodem V M. Tissue-specific regulation of two functional malic enzyme mRNAs by triiodothyronine [J]. *Biochem*, 1985, 24 (20): 5581-5586.

· 请示批复 ·

国家卫生计生委办公厅关于酪蛋白酸盐有关问题的复函

中国乳制品工业协会:

你协会《关于酪蛋白酸盐作为普通食品原料的请示》(中乳协[2013]88号)收悉。经研究,现函复如下:根据《食品添加剂使用标准》(GB 2760—2011)的规定,酪蛋白酸钠(酪朊酸钠)是允许使用的食品添加剂。生产使用食品添加剂酪蛋白酸钠应当符合相关法律法规和标准的规定。对于酪蛋白酸钠以外的其他酪蛋白酸盐,如需开发用于食品生产经营,应当按照使用目的和相关规定进行安全性评估并审查批准。

专此函复。

国家卫生计生委办公厅
二零一三年十二月二十日