

文章编号: 1000-8020(2014)02-0173-04

·论著·

## 稳定同位素示踪法测定青春前期儿童铁吸收率



张宇 黄振武 朴建华 杨艳华 李卫东 杨晓光<sup>1</sup>  
中国疾病预防控制中心营养与食品安全所 卫生部微量元素  
营养重点实验室 北京 100050

**摘要:** 目的 利用稳定同位素示踪技术评价青春前期儿童铁吸收率。方法 利用人工富集<sup>57</sup>Fe 标记并制备为<sup>57</sup>FeSO<sub>4</sub> 口服剂,在常规膳食模式下,早、晚餐前经口给予 57 名受试者,共 5 天。收集规定时间内受试者全部粪便,前处理后分别经原子吸收分光光度计(AAS)和多接受等离子质谱仪(MC-ICP-MS)测定铁的含量和丰度,以评价青春前期儿童铁的吸收率情况。结果 男、女性儿童铁表观吸收率分别为(26.71 ± 2.94)%和(29.76 ± 2.20)%,校正回收率分别为(27.45 ± 2.83)%和(31.01 ± 2.48)%,男性均显著低于女性儿童( $P < 0.05$ )。结论 空腹口服稳定同位素示踪剂条件下,青春前期儿童铁吸收率均较高,但男性吸收率略低于女性。

**关键词:** 稳定同位素示踪技术 青春前期 儿童 铁 吸收率  
中图分类号: R153.2 Q581 文献标志码: A

### Evaluation on the iron absorption of prepubertal children using stable isotopic tracer

ZHANG Yu, HUANG Zhenwu, PIAO Jianhua, YANG Yanhua, LI Weidong, YANG Xiaoguang

National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention  
Laboratory of Trace Element Nutrition Moh China, Beijing 100050, China

**Abstract: Objective** To investigate the iron absorption of prepubertal children using stable isotopic tracer. **Methods** 57 subjects were orally given <sup>57</sup>FeSO<sub>4</sub>, in conventional diet mode, before breakfast and supper and totally for 5 days. All the fecal during the specified time were collected, pre-conducted and determined by AAS and MC-ICP-MS to evaluation the iron absorption of prepubertal children. **Results** The iron absorption rate of male and female were (26.71 ± 2.94)% and (29.76 ± 2.20)%, and the correction absorption rate of iron were (27.45 ± 2.83)% and (31.01 ± 2.48)%, absorption of female were higher than that of male ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** In the condition of fasting oral SI, there is a high iron absorption rate of prepubertal children, and absorption rate of female is higher.

**Key words:** stable isotopic tracer technique, prepubertal, children, iron, absorption rate

同位素示踪技术是一种以同位素及其标记物指示和追踪相应元素或化合物在生物体及其环境

介质中迁移、转化和积累的方法<sup>[1]</sup>,其中稳定性同位素(SI)因具有安全、灵敏度高等特点已广泛应用于各类营养素的吸收和利用率研究,尤其是在铁、锌等微量元素的研究中关注度逐年增加<sup>[2-3]</sup>。这项技术在中国起步较晚,且受到价格昂贵和受试者配合度等因素影响,利用SI进行铁

作者简介: 张宇,男,博士,助理研究员, E-mail: hmuyufang@163.com

<sup>1</sup> 通信作者: 杨晓光,男,博士生导师,研究员

生物利用率的研究十分有限<sup>[3]</sup>,缺乏贫血(IDA)率高发人群的相关数据<sup>[4-5]</sup>。本研究利用稳定同位素示踪技术对青春前期儿童铁吸收率进行分析,旨在为制定本国重点人群铁的参考摄入量 and 解决贫血率高发状况提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

**1.1.1 仪器** Multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometer(MC-ICP-MS,英国GV公司);Z2000 原子吸收分光光度计(日立公司);FD-21 型真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器公司);福里茨 PULIERSETTE14 型可变速高速旋转粉碎机(上海福里茨仪器设备有限公司);EXCELL 微波消解工作平台(上海屹尧分析仪器公司)。所用样品容器均用 BV III 级浓硝酸浸泡 24 h,用超纯水冲洗干净,避免铁的污染。

**1.1.2 试剂** 同位素<sup>57</sup>Fe 购置于 Trace Sciences International 公司,氯化镝(DyCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O)购置于

Sigma 公司。含<sup>57</sup>Fe 的口服制剂由中国疾病预防控制中心营养与食品安全所转化并合成(<sup>57</sup>Fe<sup>2+</sup>含量为 2.76 mg/5 ml,Dy<sup>3+</sup>含量为 0.28 mg/5 ml)<sup>[6]</sup>,BV III 级浓硝酸(北京化学试剂研究所);CARMINE(C. I. 75470,购置于香港 Farco chemical supplies 公司)。

### 1.2 受试对象

57 名受试者年龄 10~12 岁(平均 11.1 岁),其中男 30 名,女 27 名,均符合青春前期特征(男性未出现第二性征,女性未出现月经初潮),无贫血等营养不良症状及胃肠道及代谢性疾病。本研究经过中国疾病预防控制中心营养与食品安全所“人体试验伦理道德评审委员会”审查通过,并由家长签署知情同意书。

### 1.3 研究方法

**1.3.1 试验膳食** 试验期内采用循环食谱,主要食谱见表 1。根据当地学校饮食特点制定相应的食谱,主食和菜品都应按照食谱在规定时间内完成,以双份饭法收集膳食样品,并计算受试者进食量。

表 1 试验期内 3 天循环主要食谱

Table 1 Meals for representative diets for 3-days cycle during the test

日期	早餐		中餐		晚餐	
	菜品	主食	菜品	主食	菜品	主食
1	白菜馅饼	绿豆粥	鱼香肉丝	米饭	豆芽炒肉	米饭
	煮鸡蛋		黄瓜鸡蛋		麻婆豆腐	
2	油条	豆浆	宫保鸡丁	米饭	芹菜炒肉	馒头
	煮鸡蛋		平菇油菜		菠菜粉条	
3	豆沙包	米粥	扁豆炒肉	馒头	洋葱炒肉	米饭
	煮鸡蛋		茄子炖土豆		番茄炒蛋	

**1.3.2 示踪剂给予** 在常规膳食模式下,早、晚餐前 30 min 分别给予<sup>57</sup>FeSO<sub>4</sub> 口服剂,每次 1 支(5 ml),连续服用 5 天,称量服用前后重量,以计算摄入总量。分别于示踪剂给予第 1 天早餐前和第 11 天晚餐后给予卡红胶囊,试验期间不允许食用规定外食品。

**1.3.3 代谢物收集与前处理** 试验期内每日早 10 时收集受试者全部粪便(首次收集红色粪便,末次弃去红色粪便),准确称量后记录,并-20℃保存。置于-70℃,压力<13 Pa 条件下,冷冻干燥 72 h 后,以纯钛刀头将样品研磨至 5 μm 颗粒。取一定量样品颗粒加入聚四氟乙烯消解罐中,并加入 5 ml BV III 硝酸,密闭微波梯度消解至澄清。

**1.3.4 样品测定及计算** 样品经定容等处理后,分别以 AAS 法和 MC-ICP-MS 法测定样品中铁和镝的绝对含量、以及<sup>54</sup>Fe、<sup>57</sup>Fe 和<sup>58</sup>Fe 与内参<sup>56</sup>Fe 的比值。

样品中同位素含量测定公式:参照同位素稀

释原理,合并公式(1)和(2)<sup>[7]</sup>即可获得样品中<sup>57</sup>Fe 绝对总量。其中: $M^{AA}$ 代表经 AAS 测得元素铁总量; $R_j^i$ 代表质谱测得<sup>57</sup>Fe/<sup>56</sup>Fe 值; $M^n$ 代表<sup>57</sup>Fe 天然含量; $M^s$ 代表<sup>57</sup>Fe 样品中富集含量; $W^n$ 代表铁的天然原子量; $W^s$ 代表富集同位素的平均原子量; $A_i^n$ 代表*i*的天然丰度; $A_j^n$ 代表*j*的天然丰度; $A_i^s$ 代表*i*的富集同位素丰度; $A_j^s$ 代表*j*的富集同位素丰度;*i*代表参考同位素(<sup>57</sup>Fe);*j*代表标记同位素(<sup>56</sup>Fe), $M^s$ 即为所求。

$$M^{AA} = M^s + M^n \quad (1)$$

$$R_j^i = \frac{A_i^n \times \frac{M^n}{W^n} + \frac{M^s}{W^s}}{A_j^n \times \frac{M^n}{W^n} + A_i^s \times \frac{M^s}{W^s}} \quad (2)$$

通过摄入铁总量与排出铁量差值计算受试者表观吸收率(公式 3),再根据粪便样品中 Dy 的回收率情况对铁吸收率计算校正吸收率,见公式(4)与(5)<sup>[8]</sup>。

$$\text{表观吸收率 (FAA)} = \frac{([\text{摄入铁总量}] - [M^s])}{\text{摄入铁总量}} \times 100\% \quad (3)$$

$$Dy \text{ 回收率} = \frac{\text{粪便中 } Dy \text{ 含量}}{Dy \text{ 总摄入量}} \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{铁校正吸收率} = \frac{\text{表观吸收率}}{Dy \text{ 回收率}} \times 100\% \quad (5)$$

1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件分析,均数以  $\bar{x} \pm s$

表示,计量资料采用 *t* 检验,以  $\alpha = 0.05$  为检验水准。

2 结果

2.1 主要营养素摄入水平

由表 2 可见,总能量摄入略高于 RNI10% ~ 18%,碳水化合物摄入略低于 RNI,其余营养素与 2000 版 RNI<sup>[9]</sup> 接近。

表 2 主要营养素摄入水平

Table 2 The intake levels of nutrients during test

性别	总能量 /( kJ/d)	碳水化合物 供能比/%	蛋白质 供能比/%	脂肪 供能比/%	维生素 C /( mg/d)
男性	10092.81 ± 1222.72	56.34 ± 5.24	15.80 ± 3.05	31.42 ± 4.65	43.21 ± 3.57
	8790.62	60 ~ 65	10 ~ 12	25 ~ 30	90
女性	9456.63 ± 625.38	58.37 ± 4.03	13.88 ± 2.93	29.54 ± 2.37	38.88 ± 2.05
	8372	60 ~ 65	10 ~ 12	25 ~ 30	90

2.2 铁摄入、吸收和排出情况

由表 3 可见儿童表观吸收率和校正回收率,男性均显著低于女性儿童 ( $P < 0.05$ )。选择男、女性受试者各 10 名,对其粪便样品中 <sup>57</sup>Fe/<sup>56</sup>Fe 比

值在试验期内趋势的变化进行观察(见图 1),二者变化趋势相同,在服用示踪剂 5 天后,该比值达到高峰;在停用示踪剂 5 天后恢复到以前的水平,仅女性升高和下降趋势略缓于男性。

表 3 男、女性受试者铁吸收率和校正吸收率

Table 3 FAA and correction absorption rate of male and female subjects ( $\bar{x} \pm s$ )

对象	<i>n</i>	铁摄入量 /( mg/d)	<sup>57</sup> Fe 摄入量 /( mg/d)	粪便中 <sup>57</sup> Fe 量 /mg	FAA /%	Dy 回收率 /%	校正吸收率 /%
男性	30	8.13 ± 1.14	2.75 ± 0.03	21.13 ± 0.83	26.71 ± 2.94	93.91 ± 8.44	27.45 ± 2.83
女性	27	7.28 ± 0.93	2.73 ± 0.02	20.16 ± 0.61	29.76 ± 2.20	94.24 ± 6.98	31.01 ± 2.48
<i>P</i>		<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

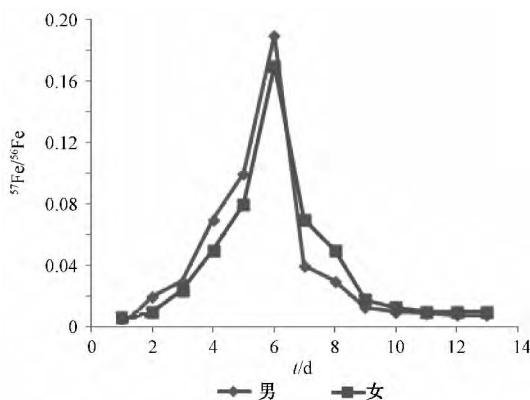


图 1 不同性别受试者粪便样品中同位素比值变化规律  
Figure 1 Variation of isotope ratio in fecal samples in different gender subjects

3 讨论

3.1 受试者选择依据

青春前期虽然仍属儿童范畴,且身体尚未进入快速发育期,但由于身体经历着形态、功能、生殖系统等改变,报道表明该年龄段儿童具有较高

的 IDA 发病率,严重的影响了其身体和智力的发育<sup>[10]</sup>。本研究选取的 57 名受试者身高、体重及 BMI 均符合该年龄段儿童基本数据,不存在营养不良和过剩状况。研究期间饮食摄入较为平衡,脂肪:碳水化合物供能比为 15:31:56 和 14:30:58 与 2000 版 DRIs 相近<sup>[9]</sup>。受试者铁营养状况分析表明 RBC 计数分别为  $(4.4 \pm 0.2) \times 10^{12}/L$  和  $(4.5 \pm 0.3) \times 10^{12}/L$ ,均符合正常值范围且血红蛋白浓度均  $> 120 \text{ g/L}$ ,符合健康儿童标准,可排除体内铁状况对吸收率的影响。

3.2 男、女受试者吸收率评价

目前,国内铁吸收率评价方法主要以代谢平衡法为主,虽然操作简单,但由于食物中铁的吸收率较低,也降低了平衡试验的准确度,同时受到实验误差的干扰,因此利用平衡试验很难得到真实、可靠的数据,吸收率往往被低估<sup>[5]</sup>。目前,稳定同位素示踪技术评价营养素的吸收和利用已经成熟,但国内利用该技术对儿童铁吸收率的评价报道较少,崔晞等<sup>[4]</sup>利用稳定同位素铁通过混入膳

食内的方式给予 4~6 岁农村儿童,测定铁的吸收率为  $(6.06 \pm 2.24)\%$ 。本研究利用稳定同位素示踪法测定男、女性受试者的校正吸收率分别为  $(27.45 \pm 2.83)\%$  和  $(31.01 \pm 2.48)\%$ ,略高于国内相关研究,但与尹婧等<sup>[11]</sup>报道结果相近,其研究表明低剂量补钙的青春前期儿童铁吸收率可达 23.3%。分析本研究高铁吸收率的原因可能与以下 3 方面有关:①铁剂型选择:铁吸收率与铁的剂型关联较大,周继昌等<sup>[7]</sup>认为  $\text{Fe}^{2+}$  在吸收和转运过程中影响因素较少,因而具有较高的吸收率。国外研究报道也表明不同来源铁吸收率差异较大,一般可在  $(13.7 \pm 12.3)\%$  左右<sup>[2]</sup>。因而,国内外铁营养补充剂倾向于选择  $\text{FeSO}_4$ ;②同位素给予方法:目前,绝大部分研究均是将同位素与膳食混合后给予受试者,而本研究则是在餐前空腹状态下经口给予铁剂,报道表明空腹状态下,由于缺少膳食因素等干扰,机体铁吸收率更高,可高达 30% 以上<sup>[12]</sup>,这也是本研究受试者吸收率较高的最主要原因;③与受试者有关:2000 版 DRI 已明确指出 11 岁左右儿童具有不同的铁 RNI<sup>[9]</sup>,尹婧等<sup>[11]</sup>报道表明青春前期和青春期儿童铁吸收率显著高于其他儿童。

本研究发现男性受试者在膳食铁摄入量方面高于女性,但其校正回收率为  $(27.45 \pm 2.83)\%$ ,显著低于女性  $(31.01 \pm 2.48)\%$  ( $P < 0.05$ ),提示该年龄段女性儿童吸收率较高,与相关报道结论一致<sup>[11]</sup>。提示此阶段女生发育速度显著高于男生并先步入青春期,所以女生身高和体重迅速增长,需要大量的铁作为生长发育的需要和储备,虽然铁吸收率较高,但由于总量摄入少,也造成了青春前期女性 IDA 发病率高于男生的现象。

### 3.3 空腹给予 SI 的意义

目前,国内外利用稳定同位素法测定铁利用率的研究多采用双标法,即通过口服和静脉途径同时给予 SI,可有效消除肠道内源性铁对吸收和利用率测定的影响。但双途径给予 SI 总量较大,费用高,操作繁琐,且出于对特殊人群伦理和/或依从性等方面考虑,学者提出口服单标仍是利用率研究的首选途径<sup>[13]</sup>。本研究为单标稳定同位素测定铁生理需要量研究的前期部分,空腹口服 SI 可显著提升  $^{57}\text{Fe}$  机体吸收量,以延长在受试者体内分布时间,为后续开展单标 SI 对铁吸收、分布和需要量的研究奠定基础。

近年来,随着学界对 IDA 的关注不断增加,铁营养补充和强化的报道逐渐增加,补充或强化剂的给予目的在于最大程度上通过膳食外途径改

善机体铁营养状况<sup>[14]</sup>。为尽可能保证铁补充剂的高吸收,除对剂型和载体进行改良外,餐后服用铁吸收率较餐前下降约 50% 以上,因此,空腹口服则为最佳途径,本文中获得的铁吸收率结果可为研制该年龄段儿童铁补充剂提供数据支持。

综上所述,本研究吸收率是在空腹给予 SI 计算得到,在此前提下,青春前期男、女性受试者空腹服用 SI 后吸收率均较高,但男性吸收率显著低于女性,由于人体研究的特殊性,更精确的铁利用情况有待进一步研究深入。

### 参考文献

- [1] HILL R J, BLUCK L J, DAVIES P S. Using a non-invasive stable isotope tracer to measure the absorption of water in humans [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004, 18(6): 701-706.
- [2] TURNLUND J R. Mineral bioavailability and metabolism determined by using stable isotope tracers [J]. J Anim Sci, 2006, 84(Suppl): E73-78.
- [3] ZIMMERMANN M B, HARRINGTON M, VILLALPANDO, et al. Nonheme-iron absorption in first-degree relatives is highly correlated: a stable-isotope study in mother-child pairs [J]. Am J Clin Nutr, 2010, 91(3): 802-807.
- [4] 崔晞,孙晶,蔺新英,等.同位素示踪法测定儿童铁的吸收率[J].营养学报,2004,26(6):445-449.
- [5] 张宇,于波,杨晓光.人体铁生物利用率评价方法学的研究进展[J].卫生研究,2012,42(1):140-143.
- [6] 张宇,杨晓光,于波.稳定性同位素 $^{57}\text{Fe}$ 口服制剂合成[J].中国食品添加剂杂志,2011,4(2):62-65.
- [7] 周继昌,黄承钰,张慧敏,等.稳定性同位素评价藏族青年男子膳食铁的吸收率[J].卫生研究,2006,35(1):66-68.
- [8] KRISTINE Y, PATTERSON, CLAUDE VEILLON. Stable isotopes of minerals as metabolic tracers in human nutrition research [J]. Exp Biol Med, 2001, 226(4): 271-282.
- [9] 中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量[M].北京:中国轻工业出版社,2001:177-209.
- [10] DE SANCTIS V, GIOVANNINI M. Endocrine histology findings in a prepubertal thalassemic girl with multiple endocrine complications secondary to iron overload [J]. Georgian Med News, 2011, 193: 51-55.
- [11] 尹婧,张倩,王晓燕,等.补钙对 12~17 岁青少年锌、铁吸收率的影响[J].卫生研究,2007,36(3):311-314.

(下转第 192 页)

- [15] HUANG W , LIU R , OU Y , et al. Octreotide promotes weight loss via suppression of intestinal MTP and apoB48 expression in diet-induced obesity rats [J]. *Nutrition* ,2013 29 ( 10) : 1259-1265.
- [16] 张斯佳. 胰腺灶性脂肪浸润的 CT 表现 [J]. *中国实用医刊* ,2010 ,37 ( 6) : 89-90.
- [17] OGILVIE R F. The islands of Langerhans in 19 cases of obesity [J]. *J Pathol Bacteriol* , 1933 , 37( 3) : 473-481.
- [18] PINNICK K E ,COLLINS S C ,LONDOS C ,et al. Pancreatic ectopic fat is characterized by adipocyte infiltration and altered lipid composition [J]. *Obesity ( Silver Spring)* ,2008 ,16 ( 3) : 522-530.
- [19] HORI M , KITAHASHI T , IMAI T , et al. Enhancement of carcinogenesis and fatty infiltration in the pancreas in N-nitrosobis ( 2-oxopropyl) amine-treated hamsters by high-fat diet [J]. *Pancreas* , 2011 ,40 ( 8) : 1234-1240.
- [20] 李媛 ,王保芝. 高脂饮食诱发肥胖大鼠胰腺结构变化及其与糖尿病的关系 [J]. *解剖学杂志* ,2005 ,28 ( 3) : 277-280.
- [21] LIU R , WEI N , GUO W et al. Octreotide alleviates obesity by reducing intestinal glucose absorption and inhibiting low-grade inflammation [J]. *Eur J Nutr* , 2013 ,52 ( 3) : 1067-1275.
- [22] LISTENBERGER L L ,OSTERMEYER-FAY A G , GOLDBERG E B ,et al. Adipocyte differentiation-related protein reduces the lipid droplet association of adipose triglyceride lipase and slows triacylglycerol turnover [J]. *J Lipid Res* , 2007 , 48( 12) : 2751-2761.
- [23] SCHADINGER S E ,BUCHER N L ,SCHREIBER B M et al. PPARgamma2 regulates lipogenesis and lipid accumulation in steatotic hepatocytes [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab* ,2005 ,288( 6) : E1195-E1205.
- [24] IMAMURA M ,INOBUCHI T ,IKUYAMA S ,et al. ADRP stimulates lipid accumulation and lipid droplet formation in murine fibroblasts [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab* ,2002 ,283 ( 4) : E775-E783.
- [25] TIRONE T A ,NORMAN M A ,MOLDOVAN S ,et al. Pancreatic somatostatin inhibits insulin secretion via SSTR-5 in the isolated perfused mouse pancreas model [J]. *Pancreas* ,2003 ,26: e67-73.
- [26] STROWSKI M Z , PARMAR R M , BLAKE A D , et al. Somatostatin inhibits insulin and glucagon secretion via two receptors subtypes: an in vitro study of pancreatic islets from somatostatin receptor 2 knockout mice [J]. *Endocrinology* , 2000 , 141: 111-117.
- [27] EROL A. Insulin resistance is an evolutionarily conserved physiological mechanism at the cellular level for protection against increased oxidative stress [J]. *Bioessays* ,2007 ,29 ( 8) : 811-818.

收稿日期:2013-05-27

(上接第 176 页)

- [12] HASHIMOTO F ,FUJI Y ,TOBA M ,et al. Determination of absorption and endogenous excretion of iron in man by monitoring fecal excretion of a stable iron isotope (<sup>58</sup>Fe) [J]. *J Nutr Sci Vitaminol ( Tokyo)* , 1992 , 38 ( 5) : 435-449.
- [13] WHITTAKER P , LIND T , WILLIAMS J. Iron absorption during normal human pregnancy: a study using stable isotopes [J]. *Br J Nutr* , 1991 , 65: 457-463.
- [14] 霍军生 ,朴建华 ,于波 ,等. 稳定性同位素示踪测定 NaFeEDTA 强化酱油中铁在人体中吸收率 [J]. *卫生研究* 2003 32( Suppl) : 19-24.

收稿日期:2013-07-11