

补阳药研究

温补肾阳药对甲状腺机能减退 动物能量代谢的影响

上海中医学院生化教研组 赵伟康 万叔援 蒋冰冰 沃兴德

曹明珠 余允庄 陈 荣*

甲状腺机能减退(以下简称甲减)时体内的代谢活动普遍减慢,基础代谢率(BMR)降低。经中医辨证,甲减患者大多具有脾肾阳虚见证。临床运用温补肾阳药为主治疗甲减,随着临床症状的好转,患者BMR、血浆cAMP、cGMP浓度等均趋向正常,但甲状腺激素(TH)水平仍低下⁽¹⁾,因而设想温补肾阳药可能是通过甲状腺以外途径来调整能量代谢的。

为了观察温补肾阳药对甲减情况下机体能量代谢的影响,我们用甲状腺切除术造成大鼠甲减模型,选择肝组织氧耗量作为反映体内能量代谢的指标,测定血浆cAMP、cGMP含量以及肾上腺组织儿茶酚胺(CA)含量和尿CA排出量以了解温补肾阳药对甲减动物能量代谢的影响是否与交感—肾上腺髓质机能加强有关。考虑到温补肾阳药在临床上对某些阳虚患者垂体内—肾上腺皮质系统的功能有影响⁽²⁾,也测定了肾上腺组织cAMP和维生素C的含量,并对甲减大鼠的垂体内—肾上腺皮质活动及温补肾阳药的疗效作了初步观察。

实验方法

一、实验动物分组

取100~150克大白鼠分6批(雄性5批,雌性1批)进行实验。在乙醚麻醉下切除双侧甲状腺造成甲减大鼠,术后与正常大鼠同养于鼠盒中,自由取食,6~8周后用于实验。甲状腺切除大鼠按体重平均分配,随机分为甲减组和治疗组。另设正常组以健康大鼠作为对照。正常组每日每鼠灌胃2.5毫升自来水,共8~9天;甲减组处理同正常组;治疗组每日每鼠灌胃2.5毫升中药,共8~9天。灌胃中药由仙茅、仙灵脾、肉苁蓉组成,按2:2:3比例,常规水煎,取煎液浓缩,浓度为200%(每毫升含生药2克)。

二、血、尿收集及组织处理

1、尿液收集:于处死动物前两天用代谢笼收集各组实验动物的48小时尿液,收集瓶中加入5N HCl

3毫升作防腐剂。尿液收集后经滤纸过滤,将滤液用水稀释到150毫升,用于儿茶酚胺含量测定。

2、血液收集:于最后一次用药后的当天,颈椎脱臼处死动物,立即从颈部取血,分两部分收集,一部分制备血清用于T₄测定,另一部分制备EDTA抗凝血浆用于cAMP、cGMP含量测定。

3、肝脏及肾上腺组织匀浆的制备:实验动物取血后随即取出肝脏及肾上腺,用冷生理盐水洗净血液,滤纸吸干并剥离干净。称取肝脏200毫克,放入预冷的0.25M蔗糖溶液2.0毫升中,用玻璃匀浆器制备肝组织匀浆用于氧耗量测定。肾上腺称重后根据测定要求处理(详见测定方法)。以上组织处理过程均在冰浴中进行。

三、测定方法

1、血清总T₄的测定:采用蛋白竞争结合分析法。药箱由中国科学院原子能研究所供给。

2、肝组织氧耗量测定:采用Clark氧电极法⁽³⁾测定。测氧仪为CY-2型(上海新华仪表厂制造),测量室按测定方法要求自制。

3、血浆cAMP及cGMP含量测定:血浆cAMP含量测定采用蛋白竞争结合分析法⁽⁴⁾;血浆cGMP含量测定采用放射免疫分析法⁽⁵⁾。

4、尿及肾上腺CA含量测定:按Euler等方法⁽⁶⁾稍加改进。肾上腺称重后放入6%TCA溶液10毫升中,制成匀浆后离心,取1/2上清液,用去离子水稀释到150/毫升,测定CA含量;另1/2上清液用于维生素C含量测定。

5、肾上腺维生素C含量测定:用2,4-二硝基苯肼比色法⁽⁷⁾。

6、肾上腺cAMP含量测定:采用蛋白竞争结合分析法⁽⁴⁾。肾上腺组织处理见参考文献⁽⁸⁾。

本文各项指标的测定结果均采用单因子方差分析法进行统计分析。

实验结果

一、正常及甲状腺切除大鼠血清总 T_4 的测定

测定结果见表1。统计学处理结果表明, 甲减组大鼠血清总 T_4 水平明显低于正常组; 治疗组大鼠经用温补肾阳药治疗后, 其血清总 T_4 水平虽较甲减组有所增加, 但仍明显低于正常组大鼠 ($P < 0.01$)。表明甲状腺切除后, 造成大鼠甲状腺功能不可逆性的损害。

表1 温补肾阳药对甲减大鼠血清总 T_4 值 (毫微克%) 和肝组织氧耗量 (毫微克分子氧/100 毫升/分钟) 的影响

组别	血清总 T_4 值 均值±标准差(动物数)	肝组织氧耗量 均值±标准差(动物数)
正常组	7.72±3.48 (29)	353.87±36.92(7)
甲减组	3.38±1.67 (27)*	301.20±24.83(5)*
治疗组	3.92±1.83 (23)*	359.69±25.52(7) [△]

* 与正常组比较 $P < 0.01$; [△] 与甲减组比较 $P < 0.01$

二、肝组织氧耗量的变化

如表1所示, 甲减组肝组织氧耗量明显低于正常组 ($P < 0.01$); 治疗组经用温补肾阳药治疗后, 其肝组织氧耗量较甲减组显著增加 ($P < 0.01$)。表明温补肾阳药能提高甲减大鼠氧耗量, 使之恢复至正常水平。

三、血浆 cAMP 及 cGMP 含量的变化

表2结果表明甲减大鼠血浆 cAMP、cGMP 含量与正常比较均无明显变化, 用温补肾阳药治疗后对血浆 cGMP 含量无明显影响, 而血浆 cAMP 含量则明显高于甲减组和正常组。

表2 温补肾阳药对甲减大鼠 cAMP 和 cGMP 含量 (微克分子/毫升) 的影响

组别	cAMP 均值±标准差(动物数)	cGMP 均值±标准差(动物数)
正常组	56.27±21.96 (20)	13.18±5.94 (24)
甲减组	55.10±17.36 (18)	11.76±3.94 (17)
治疗组	73.21±22.14 (14)*	14.71±6.44 (19)

* 与正常组及甲减组比较, P 值均 < 0.05

四、肾上腺 CA 含量及尿 CA 排量的变化

从表3可见, 甲减大鼠肾上腺儿茶酚胺 (CA) 含量及48小时尿 CA 排量均略高于正常组, 差异不显

表3 温补肾阳药对甲减大鼠肾上腺 CA 含量 (微克/毫克重) 及尿 CA 排量 (微克/48 小时) 的影响

组别	肾上腺 CA 含量 均值±标准差(动物数)	尿 CA 排量 均值±标准差(动物数)
正常组	1.60±0.54(10)	6.09±0.95(6)
甲减组	1.90±0.68(9)	7.25±1.22(7)
治疗组	2.28±0.39(7)*	8.78±1.60(6)** [△]

* 与正常组比较 $P < 0.05$; ** 与正常组比较 $P < 0.01$

[△] 与甲减组比较 $P < 0.05$

著。治疗组肾上腺 CA 含量及尿 CA 排量明显高于正常组; 治疗组尿 CA 排量与甲减组比较也有明显差异。

五、肾上腺 cAMP 及维生素 C 含量的变化

表4示甲减组大鼠肾上腺的维生素 C 含量降低而 cAMP 含量增高, 与正常组比较差异显著。而温补肾阳治疗组上述二项指标均介于甲减组与正常组之间。

表4 温补肾阳药对甲减大鼠肾上腺 cAMP 含量 (微克分子/毫克) 及维生素 C 含量 (微克/100 毫克) 的影响

组别	肾上腺 cAMP 含量 均值±标准差(动物数)	肾上腺维生素 C 含量 均值±标准差(动物数)
正常组	4.67±1.01(19)	334.25±48.87(21)
甲减组	6.06±2.04(17)*	281.08±58.74(18)**
治疗组	5.34±1.71(14)	302.42±58.31(17)

* 与正常组比较 $P < 0.05$; ** 与正常组比较 $P < 0.01$

讨 论

甲状腺激素 (TH) 是调节能量代谢的一种重要激素。在休息状态下, 机体总热量的产生或氧耗量近一半是由于 TH 的作用, 这种生热作用主要是通过激活 Na-K-ATP 酶而实现的⁽⁹⁾。甲状腺全部切除后, 基础代谢率可降低约 40%, 心、肝、肾、肌肉等氧耗量也明显降低。本实验观察到甲状腺全切除大鼠肝组织氧耗量明显低于正常, 表明缺乏 TH 时, 能量代谢水平降低。经给予甲减大鼠以温补肾阳药 (仙茅、仙灵脾、肉苁蓉) 后, 虽然机体仍处于 TH 不足的状态, 但肝组织氧耗量却明显提高, 恢复到正常水平。表明上述温补肾阳药具有提高甲减动物能量代谢水平, 增加氧耗量的作用。这与临床报道甲减患者经用温补肾阳法治疗后, 虽 TH 水平仍低下, 但基础代谢率趋向正常相一致⁽¹⁾。

温补肾阳药通过什么途径提高甲减机体的能量代

谢水平呢? 临床研究发现甲减患者血浆cAMP含量低于正常^(11,10), 经用温补肾阳药治疗后, 血浆cAMP水平比治疗前有明显提高。亦有报道甲减患者血浆cAMP含量无明显降低⁽¹¹⁾。本文观察到甲减大鼠血浆cAMP、cGMP含量与正常鼠比较无明显差别, 以温补肾阳药治疗后, 血浆cAMP含量明显高于甲减组及正常组, cGMP含量则无明显变化。同时观察到甲减大鼠肾上腺CA含量及尿CA排量较正常大鼠均略有增加, 但无统计意义。当给予温补肾阳药后, 肾上腺CA含量及尿CA排量均明显增高。上述结果提示温补肾阳药可能通过提高甲减大鼠交感-肾上腺髓质活动, 加强CA的 β -肾上腺能作用, 使血浆cAMP含量升高, 从而促进糖元分解、动员脂肪及促进肝脏糖异生作用等; 随着代谢活动加强, 肝脏等组织氧耗量增加, 基础代谢率升高。这可能是温补肾阳药提高甲减情况下能量代谢的一条重要途径。Michel等⁽¹²⁾曾报告甲状腺切除的大鼠肾上腺素的生热作用减弱。Malbon等⁽¹³⁾认为当TH缺乏时, β -受体与腺苷酸环化酶(AC)之间的信息传导(或偶联)发生障碍。从本文观察到温补肾阳药能显著提高甲减大鼠血浆cAMP水平, 推测温补肾阳药在提高体内CA水平的同时, 也可能加强了 β -受体与AC之间的“信息传导”, 从而提高了CA的生热作用。

一些学者曾报道, 甲减患者血浆去甲肾上腺素(NE)含量趋于增高, 粘液性水肿患者血浆NE水平可比正常升高约3倍, 而肾上腺素(E)含量正常^(14~16)。Coulombe等⁽¹⁵⁾认为甲减患者血浆NE含量的明显升高, 可能是为了代偿TH的不足。由于NE的 β -肾上腺能效应较弱, 其生热作用较小, 约为E的1/5。因此, 尽管甲减患者体内NE水平明显升高, 基础代谢率仍然是低下的。看来这种“代偿作用”可能与减少外周组织血液供应以减少机体散热有关。由于肾上腺髓质以分泌E为主, NE含量较少, 推测温补肾阳药可能主要是通过增加肾上腺髓质合成和分泌E来促进能量代谢, 提高氧耗量, 增加产热, 以改善机体的“寒象”。血浆cAMP含量升高而cGMP含量无明显变化也证明了温补肾阳药是增强了 β -肾上腺能的效应。

本实验结果表明, 甲减大鼠肾上腺cAMP含量比正常大鼠明显升高而肾上腺维生素C含量明显降低, 提示垂体ACTH对甲减大鼠肾上腺皮质的刺激可能增强。用温补肾阳药治疗后, 肾上腺皮质活动与甲减组比较相对有所减弱而不是增强。由此可见, 虽然垂体-肾上腺皮质是机体主要应激系统, 但在甲减情况下, 温补肾阳药仙茅、仙灵脾、肉苁蓉的生热作用主要是

通过提高交感-肾上腺髓质活动, 从而提高血浆cAMP及机体氧耗量, 而不是提高垂体-肾上腺皮质系统活动来补偿TH的不足。

联系Horwitz等⁽¹⁷⁾报道在大鼠褐色脂肪细胞中, 刺激 β -肾上腺能受体可伴有AC活性增加, 膜 Na^+/K^+ 泵活性增强, 膜的去极化, 脂解增加, 以及氧耗速率增加等。温补肾阳药提高肝组织氧耗量, 也可能与其增加 Na-K-ATP 酶活性有关, 值得进一步研究。

小 结

一、温补肾阳药(仙茅、仙灵脾、肉苁蓉)能提高甲减大鼠降低的肝组织氧耗量, 使之恢复到正常水平。

二、上述温补肾阳药提高甲减大鼠肝组织氧耗量的作用与其增强交感-肾上腺髓质活动, 提高体内CA(可能主要是E)及cAMP水平有关, 而并非通过提高垂体-肾上腺皮质活动来补偿TH的不足。

三、温补肾阳药加强CA对能量代谢的促进作用, 可能是改善甲减患者畏寒肢冷等阳虚症状及提高基础代谢率的主要原因之一。

参 考 文 献

- (1) 邱安堃等: 中医杂志 (11):27, 1980。
- (2) 沈自尹等: 上海中医药杂志 (2):34, 1979。
- (3) Clark JM, et al: Experimental Biochemistry. 2nd Ed, p 259, WH Freeman and Company, U S A, 1977。
- (4) 中国科学院上海生物化学研究所等: 生物化学与生物物理学报 8(2):169, 1976。
- (5) 上海第二医学院等: 核技术 (3):27, 1981。
- (6) Euler USV, et al: Acta Physiol Scand 45:122, 1959。
- (7) 上海市立医学化验所主编: 实用临床检验。442页, 上海科学技术出版社, 1965年。
- (8) 宗瑞义等: 白求恩医科大学学报 2:32, 1980。
- (9) Edelman IS, et al: Am J Physiol 232(3):c196, 1977。
- (10) Karlberg, BB, et al: J Clin Endocrinol Metab 39:96, 1974。
- (11) Guttler RB, et al: Metab Clin Exp 26(10):1155, 1977。
- (12) Michel R, et al: C R Soc Biol 162(12):2104, 1968。
- (13) Malbon CC, et al: J Biol Chem 253(3):671, 1978。
- (14) Christensen NJ: Clin Sci Mol Med 45(2):163, 1973。
- (15) Coulombe P, et al: Metab Clin Exp 25(9):973, 1976。
- (16) Coulombe P, et al: J Clin Endocrinol Metab 44(6):1185, 1977。
- (17) Horwitz BA, et al: Am J Physiol 232(3):R101, 1977。