

• 实验研究 •

海藻玉壶汤及其拆方对大鼠碘缺乏致甲状腺肿的干预作用

高天舒* 齐腾澈

辽宁中医药大学附属医院内分泌科, 辽宁省沈阳市北陵大街 33 号, 110032)

基金项目: 教育部科技发展中心高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20092133110004);

辽宁省教育厅高等学校科研项目资助项目(2009A492); 辽宁省高等学校优秀人才支持计划资助项目(LR201026)

* 通讯作者: gaotianshu67@yahoo.com.cn, 18602470827

[摘要] 目的 从抗氧化应激角度比较海藻玉壶汤及其拆方对碘缺乏甲状腺肿的干预机制。方法 选 4 周龄 Wistar 大鼠 150 只, 随机选取 30 只为正常对照组, 其余 120 只建立碘缺乏动物甲状腺肿模型后随机分为模型对照组和海藻玉壶汤原方组(原方组)、拆方 1 组、拆方 2 组, 每组 30 只。在造模成功 0 周和 8 周后处死大鼠。测定各组大鼠尿碘含量(MUI); 甲状腺功能[包括血清促甲状腺激素(TSH)、血清总三碘甲状腺原氨酸(TT3)、总四碘甲状腺原氨酸(TT4)]及相对重量; 光镜下定量观察甲状腺形态及电镜下观察甲状腺细胞超微结构; 测定血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、黄嘌呤氧化酶(XOD)和超氧化物歧化酶(SOD)的活力及丙二醛(MDA)和过氧化氢(H_2O_2)的含量; 检测大鼠甲状腺 4-羟基壬烯醛(4-HNE)、过氧化物氧化还原酶 5(PRX5)及其蛋白的表达。结果 给药 8 周后, 模型对照组和拆方 1 组 MUI 减低, 原方组和拆方 2 组 MUI 增高。3 个给药组 TSH 值较模型对照组显著下降($P < 0.05$)。TT3 值原方组较正常对照组显著减低($P < 0.01$), 拆方 1 组较模型对照组和原方组均显著增高($P < 0.05$)。TT4 值原方组和拆方 2 组显著高于正常对照组和模型对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 拆方 1 组明显低于原方组($P < 0.05$)。甲状腺相对重量原方组和拆方 2 组明显较模型对照组减低($P < 0.01$), 拆方 1 组显著高于正常对照组($P < 0.05$)。原方组 SOD 活力较正常对照组和拆方 2 组明显增高($P < 0.05$)。GSH-Px 活力原方和拆方 1 组较拆方 2 组明显增高($P < 0.05$)。原方组 H_2O_2 含量较正常对照组明显增高($P < 0.05$)。MDA 含量拆方 1 组显著高于正常对照组($P < 0.05$)。各给药组 XOD 活力较正常对照组和模型对照组均明显增高($P < 0.01$), 其中拆方 1 组明显高于原方和拆方 2 组($P < 0.01$)。甲状腺 4-HNE 表达原方组明显低于其他各组($P < 0.05$)。原方组甲状腺 PRDX5 蛋白较正常对照组有明显增高($P < 0.01$)。结论 海藻玉壶汤原方较其拆方抗氧化能力更强, 可使甲状腺肿恢复完全, 并未造成甲状腺细胞损伤。

[关键词] 氧化应激; 甲状腺肿; 海藻玉壶汤; 富碘中药

Intervention Effect of Haizao Yuhu Decoction and Its Decomposed Recipes for Goiter Caused by Iodine Deficiency

GAO Tianshu, QI Tengche

(The Affiliated Hospital, Liaoning University of TCM, Liaoning Province 110032)

ABSTRACT **Objective** To compare the intervention mechanism of Haizao Yuhu Decoction (Sargassum Jade Flask Decoction) and its decomposed recipes for goiter caused by iodine deficiency from anti-oxidative stress. **Methods** Totally 150 4-week-old Wistar rats were selected. Thirty randomly-selected rats were taken into normal control group, and others were used to make the models of goiter caused by iodine deficiency, the rats were divided into model control (MC) group, Haizao Yuhu Decoction group (HZ group), Haizao Yuhu Decoction decomposed recipe group A (HZA group) and Haizao Yuhu Decoction decomposed recipe group B (HQB group) with 30 in each group. The rats were killed after modeling and 8 weeks later respectively. The median of urinary iodine (MUI), thyroid stimulating hormone (TSH), total triiodothyronine (TT3) and total thyroxine (TT4) was measured. The quantitative observation of thyroid morphology was conducted under optical microscope and the ultrastructure of thyroid cells was observed under electron microscopy. The contents of serum glutathione peroxidase (GSH-Px), xanthine oxidase (XOD), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) were detected. The expression of 4-hydroxynonenal (4-HNE) in the thyroid was detected by the immunohistochemistry method. The expression of peroxide oxidation reduction enzyme 5 (PRDX5) in the thyroid was detected by the Western blotting and immunohistochemistry method. **Results** After 8 weeks of treatment, MUI was decreased in the MC group and HZA group, while MUI was increased in the HZ group and HQB group. TSH value was significantly decreased in the three treated groups as compared with the MC group ($P < 0.05$). TT3 value in the HZ group was obviously decreased as compared with the NC group ($P < 0.01$). TT3 value in the HZA group was obviously increased as compared with the MC group and HZ group ($P < 0.05$). TT4 value in the HZ group and HQB group was significantly higher than that in the NC group and MC group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Thyroid relative weight of HZ group and HQB group was significantly lower than that in the MC group and HZ group ($P < 0.01$). HZ group SOD activity was significantly higher than that in the MC group and HZ group ($P < 0.05$). GSH-Px activity of HZ group and HZA group was significantly higher than that in the MC group and HZ group ($P < 0.05$). HZ group H_2O_2 content was significantly higher than that in the MC group and HZ group ($P < 0.05$). XOD activity of all treatment groups was significantly higher than that in the MC group and HZ group ($P < 0.01$), among which HZA group was significantly higher than HZ group and HQB group ($P < 0.01$). Thyroid 4-HNE expression of HZ group was significantly lower than that in other groups ($P < 0.05$). HZ group thyroid PRDX5 protein was significantly higher than that in the MC group and HZ group ($P < 0.01$). **Conclusion** Haizao Yuhu Decoction original formula has stronger antioxidant capacity than its decomposed recipes, which can completely recover thyroid swelling and does not cause thyroid cell damage.

0.01). TT4 value in the HZA group was significantly lower than that in the HZ group ($P<0.05$). The relative thyroid weight in the HZ group and HZB group was significantly lower than that in the MC group ($P<0.01$). The relative thyroid weight in the HZA group was significantly higher than that in the NC group ($P<0.05$). The activity of SOD in the HZ group increased significantly as compared with the NC group and HZB group ($P<0.05$). The activity of GSH-Px in the HZ group and HZA group increased significantly as compared with the HZB group ($P<0.05$). The content of H_2O_2 in the HZ group increased significantly as compared with the NC group ($P<0.05$). The content of MDA in the HZA group was significantly higher than that in the NC group ($P<0.05$). The activity of XOD increased significantly in all the treatment groups as compared with the NC group and the MC group ($P<0.01$), especially in the HZA group, significantly different as compared with the HZ group and HZB group ($P<0.01$). The expression of 4-HNE in the HZ group was significantly lower than that in other groups ($P<0.05$). The expression of PRDX5 in the HZ group was increased significantly as compared with the NC group ($P<0.01$).

Conclusion Haizao Yuhu Decoction has better antioxidation effect than its decomposed recipes. It could make goiter recovery completely without the damage of thyroid cell.

Keywords oxidative stress; goiter; Haizao Yuhu Decoction; iodine-rich Chinese herbal medicine

富碘中药及复方在防治碘缺乏病中起重要作用,其代表方为海藻玉壶汤。氧化应激损伤机制被认为是甲状腺损伤的机制之一^[1]。本实验以定量和定位结合的方法评价氧化应激,其中甲状腺中 4-羟基壬烯醛(4-HNE)是氧化应激的标志物,过氧化物氧化还原酶 5 (PRDX5) 能将过氧化氢(H_2O_2)还原成水,调节细胞内脂质过氧化物水平,二者可准确反映甲状腺内氧化应激水平^[2],本研究旨在从氧化应激角度比较海藻玉壶汤及其拆方对碘缺乏甲状腺肿的干预机制,为该病的治疗提供理论依据。

1 材料

1.1 动物与饲料

4 周龄 Wistar 大鼠 150 只,雌雄各半,由中国医科大学实验动物中心提供。动物许可证号:SCXK(京)2009-0004。采用全国重度缺碘地区的玉米、小米、黄豆,按 73:20:7 的比例,加入适量的添加剂制成低碘饲料,其碘含量为 20g/kg。

1.2 主要试剂与仪器

羊抗大鼠 4-HNE 多克隆抗体及兔抗大鼠 PRDX5 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),碱性磷酸酶标记的羊抗兔 IgG 抗体(北京中山生物技术有限公司),O-dianidine、 β -naphthyl acid phosphate(美国 Sigma 公司),电泳仪(美国 BIO-RAD, PowerPac200),垂直板电泳装置(美国 BIO-RAD, Mini-Protein III),DYY40B 型转印电泳槽(北京六一仪器厂),高速冷冻离心机(美国 Sigma),Chemi Imager 5500 凝胶电泳成像分析系统(美国 Alpha Innotech)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及处理

大鼠经普通饲料适应性喂养 1 周后,随机选取 30 只大鼠(雌雄各半)作为正常对照组,全程饲以普

通饲料,每日灌服等体积双蒸水。其余大鼠饲以低碘饲料,同时灌胃 1% 高氯酸钠 19 天,续灌胃双蒸水 2 天(总计 3 周),制成碘缺乏动物甲状腺肿模型^[3-4]。然后按区组随机法分成 4 组,每组 30 只,雌雄各半,全部饲低碘饲料。模型对照组:每日灌胃等体积双蒸水。海藻玉壶汤原方组(原方组):予海藻玉壶汤原方(海藻 15g,昆布 15g,海带 7.5g,法半夏 15g,连翘 15g,浙贝母 15g,当归 15g,独活 15g,青皮 15g,川芎 15g,陈皮 15g,甘草 15g),碘含量 1951.75g/L,每日灌胃生药 15.9g/kg。海藻玉壶汤拆方 1 组(拆方 1 组):予海藻玉壶汤原方去海藻、昆布和海带,碘含量 51.39g/L,每日灌胃生药 11.2g/kg。海藻玉壶汤拆方 2 组(拆方 2 组):予海藻、昆布、海带,碘含量 1900.36g/L^[5],每日灌胃生药 4.7g/kg。均按与人相同体表面积折算给药剂量。分别于造模成功 0 周、8 周后处死动物,每次每组处死 15 只。

2.2 标本采集

处死前 1 天,将大鼠放入代谢笼中,留 24h 空腹尿。处死前称体重,20% 乌拉坦腹腔麻醉,腹主动脉采血,3000r/min 分离血清,-20℃ 保存。迅速分离甲状腺后称重,然后用 4% 多聚甲醛固定,做形态学定量及免疫组织化学检测。透射电镜 30s 内迅速浸入 2.5% 的戊二醛中固定 24h。用于 Western Blot 检测的甲状腺迅速放入液氮中-70℃ 备用。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 尿碘测定 采用砷铈催化分光光度法^[6]测定。

2.3.2 甲状腺功能及相对重量测定 分别在 0 周和 8 周时每组选取 8 只大鼠(雌雄各半)的血清进行甲状腺功能各项指标检测,大鼠血清促甲状腺激素

(TSH)测定用酶联免疫吸附法,美国 Rapidbio(RB)公司 ELISA 试剂盒。血清总三碘甲状腺原氨酸(TT3)、总四碘甲状腺原氨酸(TT4)测定用放射免疫分析法,试剂盒由北京赛博润特科技发展中心提供,均按试剂盒说明书操作。甲状腺相对重量以甲状腺湿重除以体重计算。

2.3.3 甲状腺形态及细胞超微结构观察 8 周时每组选取 8 只大鼠(雌雄各半)甲状腺进行 HE 染色,10%多聚甲醛将甲状腺固定后,常规 HE 染色,光学显微镜下观察甲状腺细胞形态,用美国 UIC 公司的 Metamorph 图像分析系统/Olympus(DP10)/显微镜(BX51)观察各组鼠甲状腺滤泡上皮细胞高度,滤泡腔的面积和体积。8 周时选取 2 只大鼠(雌雄各半)甲状腺,透射电镜下观察甲状腺滤泡上皮细胞超微结构。

2.3.4 血清超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和黄嘌呤氧化酶(XOD)活力及 H₂O₂、丙二醛(MDA)水平测定 由于一些大鼠血清分离较少,8 周时每组选取血清剩余足够的 8 只大鼠血清用于氧化应激的各项指标检测,SOD 测定采用黄嘌呤氧化酶法,GSH-Px 测定采用谷胱甘肽过氧化物酶法,H₂O₂ 测定采用钼酸胺法,MDA 测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法,XOD 测定采用催化次黄嘌呤法。试剂盒由南京建成生物工程研究所提供,按说明书操作。

2.3.5 甲状腺内 4-HNE 及 PRDX5 测定 8 周时每组选取 8 只大鼠(雌雄各半)甲状腺常规石蜡包埋、切片,免疫组化方法检测 4-HNE、PRDX5,均按武汉博士德公司即用型 SABC 过氧化物酶试剂盒说明书操作。阳性染色定位于胞浆,着色为棕黄色。以 Metamorph 计算机图像分析系统对结果进行半定量分析,以整合光密度值表示阳性物质的相对含量。

2.3.6 甲状腺内 PRDX5 蛋白测定 8 周时每组选取 5 只大鼠甲状腺用于 Western blot 方法检测^[7],酚试剂法测定蛋白浓度,用裂解缓冲液调整各标本至相同蛋白浓度。各标本蛋白上样 50 μ l,上清用 10%SDS-PAGE 分离。硝酸纤维素膜在转印液中平衡 10min,经 2h 50V 的转印后 TTBS 洗膜 1 次。用含 5%去脂奶粉的 TTBS 封闭 4 $^{\circ}$ C 过夜。取出膜后,TBS 洗膜,加入 PRDX5 一抗(1:400),室温下 2h。加入碱性磷酸酶标记的二抗(1:2000),室温下 2h。酶显法^[7]显色剂显色。采用 FlourChem V 2.0 凝胶成像分析软件分析,记录每条蛋白电泳带

的灰度值,进行定量分析。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理。尿碘值用尿碘中位数(MUI)表示,其余数值用($\bar{x} \pm s$)表示。两个样本均数比较用 *t* 检验,两个以上样本均数比较用方差分析。

3 结果

3.1 各组大鼠不同时间 MUI 水平比较

表 1 示,0 周时各组尿碘值均减低,大鼠处于低碘营养状态,治疗 8 周后,原方组和拆方 2 组尿碘值增高,其中拆方 2 组增高明显。

表 1 各组大鼠不同时间 MUI 水平比较(μ g/L)

组别	标本数	0 周	8 周
正常对照组	8	181.84	183.51
模型对照组	8	14.42	10.87
原方组	8	4.57	334.99
拆方 1 组	8	6.58	8.91
拆方 2 组	8	7.11	755.57

注:括号内为标本数

3.2 各组大鼠甲状腺功能及甲状腺相对重量比较

表 2 示,0 周时,与正常对照组比较,其余各组 TSH 均明显增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);模型对照组 TT3 明显降低($P < 0.01$),其余组 TT3 亦降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$);TT4 值各组均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);甲状腺相对重量各组均明显增高($P < 0.01$)。与模型对照组比较,拆方 1 组和拆方 2 组 TT3 明显增高($P < 0.01$),其余各组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

8 周时,与正常对照组比较,模型对照组 TSH 显著增高($P < 0.01$);TT3 值模型对照组和原方组显著降低($P < 0.01$),拆方 2 组亦降低,且拆方 1 组增高,但差异无统计学意义($P > 0.05$);TT4 值模型对照组显著降低($P < 0.01$),HZ1 和拆方 2 组显著增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),拆方 1 组亦增高但差异无统计学意义($P > 0.05$);甲状腺相对重量模型对照组和拆方 1 组仍显著增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),原方组和拆方 2 组亦增高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型对照组比较,HZ1、HZ2 和拆方 2 组 TSH 值均显著降低($P < 0.05$);拆方 1 组 TT3 值明显增高($P < 0.05$),拆方 1 组和拆方 2 组 TT3 增高,但差异无统计学意义($P > 0.05$);各组 TT4 值均明显增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);甲状腺相对重量原方组和拆方 2 组明显降低($P < 0.05$ 或

表 2 各组大鼠甲状腺功能和甲状腺相对重量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	鼠数	TSH(mIU/L)	TT3(nmol/L)	TT4(nmol/L)	甲状腺相对重量(mg/100g)
正常对照组	0 周	8	0.18±0.09	1.36±0.46	68.10±8.55	8.46±0.89
	8 周	8	0.88±0.20	1.66±0.26	72.64±23.98	6.42±0.83
模型对照组	0 周	8	6.01±1.97**	0.53±0.34**	17.99±1.31**	21.14±3.00**
	8 周	8	4.51±1.01**	0.92±0.29**	28.30±17.73**	14.78±2.79**
原方组	0 周	8	4.77±0.08*	0.89±0.75	28.80±17.20*	26.21±1.26**
	8 周	8	1.23±0.06△	1.09±0.35**	100.81±10.46**△△	8.12±1.29△△
拆方 1 组	0 周	8	5.97±0.10*	1.22±0.89△△	19.50±4.45**	23.43±1.46**
	8 周	8	1.59±0.33△	1.82±0.79△▲	66.63±15.82△▲	9.28±0.75*
拆方 2 组	0 周	8	4.69±0.09*	1.29±0.84△△	33.22±18.74*	25.88±1.66**
	8 周	8	1.39±0.18△	1.37±0.42	95.78±12.27*△△	8.32±0.99△△

注:与正常对照组同时间比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组同时间比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与原方组同时间比较,▲ $P<0.05$

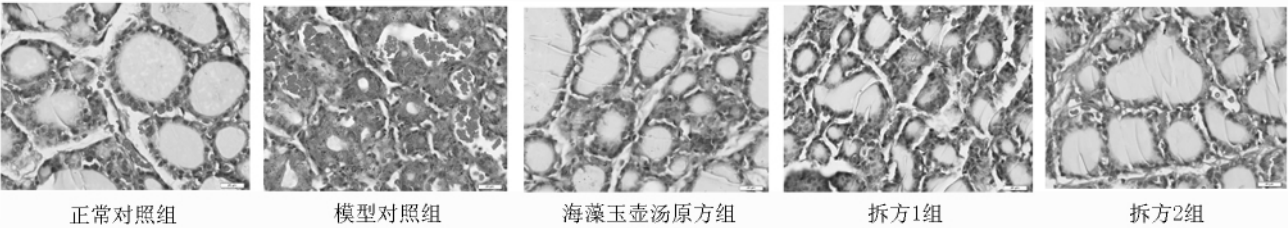


图 1 各组大鼠甲状腺光镜比较(HE 染色,×400)

$P<0.01$)。与原方组比较,TT3 值拆方 1 组明显增高($P<0.05$);TT4 值拆方 1 组显著降低($P<0.05$),其他各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

3.3 各组大鼠光镜下甲状腺形态观察和定量观察

图 1 示,各组大鼠甲状腺形态大体观察,正常对照组:甲状腺滤泡腔呈圆形或椭圆形,滤泡上皮细胞呈立方形,滤泡周围可见少量毛细血管。模型对照组:近 90%的滤泡腔消失,滤泡上皮细胞明显增高变形,滤泡周围血管丰富。原方组:滤泡腔增大,滤泡融合形成巨滤泡,70%的滤泡上皮扁平,高度明显低于模型对照组。拆方 1 组:较模型对照组 30%的滤泡腔增大,腔内极少有胶质,滤泡上皮细胞高度虽有降低,但仍呈高柱状。拆方 2 组:滤泡腔增大显著,融合形成巨滤泡,滤泡上皮细胞呈扁平状,也有一些滤泡增生形成无功能的细胞团。

3.4 各组大鼠透射电镜观察

图 2 示,正常对照组:滤泡上皮细胞呈立方样,细胞核近圆形,核膜清楚。胞质内有丰富的粗面内质网呈轻度扩张。模型对照组:滤泡上皮细胞表面微绒毛稀少,细胞核形状不规则,核内异染色质凝聚边集。核膜间隙部分增大。胞质内粗面内质网扩张明显成池或大泡样。原方组:滤泡上皮细胞表面微绒毛较多,细胞核形状不规则,核内异染色质凝聚边集。胞质内粗面内质网轻度扩张。膜包吞饮泡较

多,高尔基体轻度扩张,要好于模型对照组。拆方 1 组:滤泡上皮细胞表面微绒毛较少,细胞核形状不规则。核膜部分模糊,核内异染色质边集凝聚。拆方 2 组与原方组情况接近。

3.5 各组大鼠血清 SOD、GSH-Px 和 XOD 活力以及 H₂O₂、MDA 水平比较

表 3 示,原方组血清大鼠 SOD 活力明显高于同期正常对照组($P<0.05$)。GSH-Px 活力拆方 2 组较模型对照组、原方组和拆方 1 组明显减低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。血清 H₂O₂ 含量与正常对照组比较原方组明显升高($P<0.05$)。血清 MDA 含量拆方 1 组较正常对照组明显升高($P<0.05$)。血清 XOD 活力,原方组、拆方 1 组及拆方 2 组与正常对照组和模型对照组比较均明显升高($P<0.01$),拆方 1 组 XOD 活力较 HZ1 和拆方 2 组均有明显增高($P<0.01$)。

3.6 各组大鼠甲状腺 4-HNE 及 PRDX5 蛋白表达比较

表 4 示,原方组大鼠甲状腺 4-HNE 表达明显低于正常对照组、HZ2 和拆方 2 组($P<0.05$)。其中拆方 1 组甲状腺 4-HNE 表达增高最多。与正常对照组比较,模型对照组、原方组和拆方 2 组甲状腺 PRDX5 表达均显著增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。原方组较模型对照组和拆方 1 组 PRDX5 表达均显

表 3 各组大鼠血清 SOD、GSH-Px、XOD 活力及 H₂O₂、MDA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	SOD 活力(U/L)	GSH-Px 活力(U)	H ₂ O ₂ 水平(mmol/L)	MDA 水平(mmol/ml)	XOD 活性(U/L)
正常对照组	8	97.37±5.06	582.43±48.66	45.76±7.12	5.52±2.17	3.93±1.03
模型对照组	8	99.24±8.42	655.33±26.94*	62.98±22.59	4.99±3.68	4.95±1.36
原方组	8	110.88±10.57*	621.36±19.84	67.53±37.93*	6.12±2.65	7.09±1.62**△▼
拆方 1 组	8	103.02±9.45	601.64±44.32△	55.45±19.76	6.85±3.57*	9.63±1.03**△△
拆方 2 组	8	97.63±11.35▲	537.19±47.76△△▲▼	60.23±10.57	5.53±3.12	7.85±0.97**△△▲▼

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与原方组比较,▲ $P<0.05$;与拆方 1 组比较,▼ $P<0.05$,▼▼ $P<0.01$

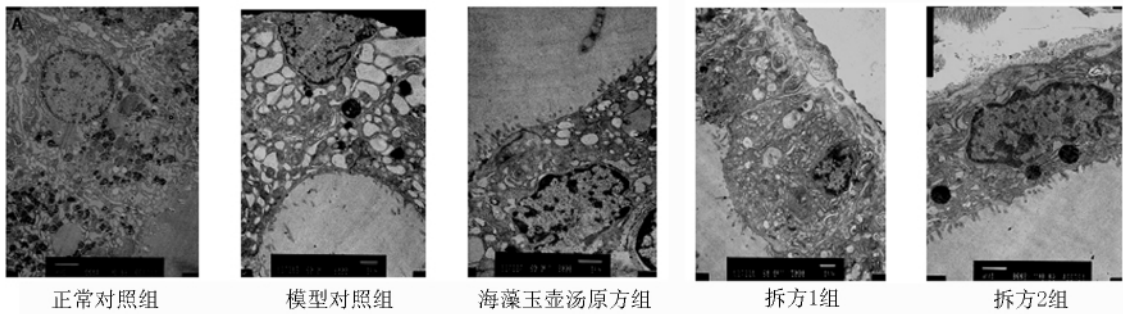


图 2 各组大鼠甲状腺超微结构比较(电镜×20000)

表 4 各组大鼠甲状腺 4-HNE 及 PRDX5

表达阳性率比较($\bar{x}\pm s$)

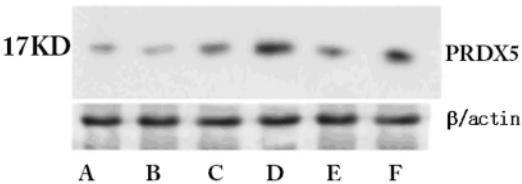
组别	鼠数	4-HNE 整合光密度值	PRDX5 整合光密度值
正常对照组	8	114.42±30.63▲	28.11±9.92
模型对照组	8	61.93±21.66	47.12±12.07**▲
原方组	8	43.03±11.39*	97.64±32.94**△
拆方 1 组	8	119.55±21.38▲	39.08±15.23▲
拆方 2 组	8	95.65±41.16▲	66.58±27.05**

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,△ $P<0.05$,与原方组比较,▲ $P<0.05$

著增高($P<0.05$)。

3.7 各组大鼠甲状腺 PRDX5 蛋白表达比较

图 3 示,在 17KD 左右各组均出现了抗 PRDX5 抗体特异识别的单一一条带。 β /actin 内参校正后各组 PRDX5 蛋白的相对含量显示,与正常对照组(0.39)和模型对照组(0.34)比较,原方组(0.82)和拆方 2 组(0.71)PRDX5 蛋白表达均有所增高。而原方组增高最多。拆方 1 组(0.59)PRDX5 蛋白表达无明显增高。



注:A,正常对照组;B,模型对照组;D,原方组;E,拆方 1 组;F,拆方 2 组

图 3 各组大鼠甲状腺 PRDX5 蛋白表达比较

4 讨论

碘缺乏致甲状腺肿属中医学“癭病”范畴。癭病首见于《诸病源候论·癭候》,是以颈前喉结两旁结块肿大为主要临床特征的一类疾病。中医学认为癭病是由于情志内伤、饮食及水土失宜致气滞、痰凝、血瘀结于颈前所引起的,故治疗主要以疏肝理气、化痰软坚、活血化瘀为主。中医使用富碘中药治疗癭病已有悠久的历史,早在晋代,葛洪就开始应用海藻、昆布等防治癭病,唐代孙思邈《千金要方》记载了 10 余首治疗癭病的方剂,其中海藻、昆布等富碘中药应用最为频繁。前人方剂中更是超过了 70% 选用了海藻、昆布这样的富碘中药治疗癭病^[8]。研究发现去除富碘中药复方组甲状腺肿恢复不完全,甲状腺功能减退未完全恢复,甲状腺形态依然表现为碘缺乏性甲状腺肿^[9]。

海藻玉壶汤中海藻、昆布、海带均为富碘中药,具有软坚消痰,利水的功效,可促使肿大的甲状腺缩小,促进病理产物和炎性渗出之吸收,并能使病态组织崩溃和溶解,同时可抑制甲状腺机能亢进之新陈代谢,使症状减轻^[10]。但有研究认为碘作为合成甲状腺素的原料,服用富碘中药会加重甲状腺功能亢进,并且甲状腺摄取贮藏大量的碘会增加甲状腺功能亢进复发率^[11-12]。富碘中药在复方中使用未造成对碘缺乏机体甲状腺损伤,且消瘦散结作用明显好于碘酸钾,可能与富碘中药在复方中使用,有其他药物成分佐制有关^[8]。

本次研究得出相同结论,去除富碘中药的拆方

1 组甲状腺肿恢复不如其他两组。血清 XOD 活力明显增高,虽然血清 GSH-Px 明显增高,但甲状腺内 PRDX5 明显减低。造成氧化抗氧化系统失衡,甲状腺损伤,甲状腺肿未能恢复完全。由海藻、昆布、海带组成的拆方 2 组甲状腺恢复接近正常对照组,但 TT4 值增高明显,尿碘值增高显著。XOD 活力和 4-HNE 值都明显增高,但甲状腺 PRDX5 活力和 SOD 活力亦明显增高,氧化应激程度增加的同时抗氧化防御能力也有所增加,MDA 含量减低,甲状腺损伤减轻,甲状腺肿恢复好于拆方 1 组,证明了富碘中药使用的安全性。由海藻玉壶汤原方组成的原方组甲状腺肿恢复最好,TSH 明显比模型组降低,TT4 值明显增高。 H_2O_2 水平和 XOD 活力虽有增高,但甲状腺 4-HNE 含量明显降低,且 SOD 和 GSH-Px 活力均明显增高,PRDX5 表达亦明显增高。甲状腺内氧化应激程度下降,且抗氧化应激能力明显增高。

本研究表明,治疗碘缺乏致甲状腺肿效果最好的是海藻玉壶汤原方,而单纯富碘中药好于去除富碘中药的拆方 1 组,这与 3 组的抗氧化应激能力呈正相关。同时发现摄入碘量几乎相同的情况下,拆方 2 组的尿碘值明显增高,可能与碘在机体内吸收和代谢的过程有关。可能是理气散结药改变了富碘中药中碘的吸收代谢过程,而保留并加强了富碘中药抗氧化应激能力和消瘦散结能力,使海藻玉壶汤发挥更好的消瘦散结作用。

参考文献

[1]张诺,佟雅洁,单忠艳,等.慢性轻中度碘过量对碘缺乏大鼠及非碘缺乏大鼠甲状腺抗氧化能力的影响[J].中华

医学杂志,2006,86(18):1274—1278.

[2]Poncin S, Gerard AC, Boucquey M, et al. Oxidative stress in the thyroid gland; from harmlessness to hazard depending on the iodine content[J]. Endocrinology, 2008, 149(1): 424—433.

[3]Tamura M, Kimura H, Koji T, et al. Role of apoptosis of thyrocytes in a rat model of goiter. A possible involvement of Fas system[J]. Endocrinology, 1998, 193(8): 3646—3653.

[4]Many MC, Maniratunga S, Varis I, et al. Two-step development of Hashimoto-like thyroiditis in genetically autoimmune prone non-obese diabetic mice; effects of iodine-induced cell necrosis[J]. J Endocrinol, 1995, 147(2): 311—320.

[5]崔鹏,高天舒.常用软坚散结中药及复方碘含量的测定[J].中华中医药学刊,2007,25(7):1396—1398.

[6]府伟灵,徐克前.临床生物化学检验[M].5版.北京:人民卫生出版社,2012:122—123.

[7]吕建新,樊绮诗.临床分子生物学检验[M].3版.北京:人民卫生出版社,2012:109—113.

[8]高天舒,崔鹏,李红梅,等.海藻玉壶汤对碘缺乏致甲状腺肿大鼠甲状腺功能和形态的影响[J].中国中医基础医学杂志,2008,14(2):113—116.

[9]常敏毅.海洋摄英[M].北京:海洋出版社,1993:127—131.

[10]高巍,高天舒.昆布及其组方治疗瘰疬的研究探微[J].辽宁中医学院学报,2006,8(2):56—57.

[11]曹国蓉.甲状腺机能亢进症的辨证论治[J].新中医,1996,27(9):5—6.

[12]喻茂尧.甲状腺功能亢进症中西医结合治疗思路[J].江西中医药,2004,35(2):34—35.

(收稿日期:2011-10-20;修回日期:2012-04-18)

[编辑:叶晨]

第四届中华中医药新技术新产品交流会暨赴越南考察的通知

为了鼓励中医药新技术新产品的创新研究,北京聚医杰医药科学研究院在有关单位的支持下已成功地主办了三届中华中医药新技术新产品推广交流会,第四届会议定于 2012 年 12 月下旬在广西桂林市召开,特邀请各级中医、中西医结合医、乡村中医、民间中医等参会交流和评介。

1. 会议内容:(1)邀请有关专家作中医药创新和专利申请方面的经验介绍或学术讲座;(2)鉴定表彰推广一批中医药新技术新产品;(3)与代表交流经验;(4)洽谈技术合作等事宜;(5)会后组织赴越南考察。2. 征文要求:(1)中医药治疗各种常见病、多发病、疑难病、不孕不育症等方面的创新经验;(2)中医药新技术新产品介绍材料(单方、验方及各种诊疗发明或药物制剂等)。论文或材料均须打印,评审入选者将颁发“中医药优秀成果奖”或“中医药新技术新产品奖”、“中医药创新奖”等。3. 会议颁发:(1)国家 I 类继续教育学分证书;(2)“特色医疗创新名医”、“中医药创新人才”等荣誉称号证书;(3)资料及纪念品等。4. 会议费用:每位代表报名费 200 元、会务费资料费 950 元。会期食宿统一安排,费用自理。赴越南 5 天(含往返途经南宁 1 天)另交费用 3000 元。5. 有关说明:赴越南考察者,请提前 1 个月在当地公安局办好护照,在报名时交护照复印件、身份证复印件、2 寸白底彩色登记照片 6 张。另颁发“赴越南考察团成员证书”留念。6. 报名方法:请在 2012 年 12 月 10 日前将交流论文(无论文者也可报名)或新技术新产品评奖推广的申报材料、报名费 200 元及参会代表的个人照片、技术简介一并寄汇至北京 100036—98 信箱,桂林会议会务组叶续宗收,邮编 100036,电话 010—63772051、18600893817, E-mail:100036—98@163.com。详情登录 www.zgtsyl.com 查询