

· 实验研究 ·

甲亢大鼠肝脏肾上腺素 α_1 受体测定 及养阴益气中药作用机制初探

中山医科大学附属第一医院内分泌研究室(广州 510080) 单济川

内容提要 我们用肌肉注射甲状腺素的方法制备大鼠甲状腺机能亢进症(甲亢)模型, 并将动物分对照、甲亢与甲亢加养阴益气中药组, 成型后的大鼠具典型甲亢症状, 且血 TT_3 、 TT_4 明显升高。用 3H -哌唑嗪作放射配基进行肝细胞膜肾上腺素 α_1 受体的结合分析。结果发现, 甲亢组受体最大结合容量(B_{max})低于对照组, 但无统计学意义; 甲亢组受体解离常数(K_d)值显著低于对照组($P < 0.05$); 加药组 K_d 值介于其余两组之间, 与对照组比较差别无显著性。提示甲亢时肾上腺素 α_1 受体亲和力明显升高, 而养阴益气中药对于甲亢时过高的亲和力有一定程度的纠正作用。

关键词 甲状腺机能亢进症模型 肾上腺素 α_1 受体 养阴益气中药

甲状腺机能亢进症(简称甲亢)是常见内分泌疾患, 甲亢的典型症状与儿茶酚胺过多表现相似, 而患者血中该激素水平却是正常甚至降低的, 故这种相似性的分子机理尚未阐明^①。儿茶酚胺通过细胞膜上受体发挥生理效应, 其受体根据药理特点分为 α 与 β 两大类, 尚可各分两亚型。 α_1 受体与细胞内钙动员相关, 中介大多数典型的 α 型肾上腺素能反应^②。由于肝细胞膜上 α 受体绝大多数属 α_1 型, 以肝脏为取材可较好地反映 α_1 受体情况。故我们测定了甲亢模型大鼠肝细胞膜肾上腺素 α_1 受体, 试图了解甲亢时其改变情况以及初步探讨养阴益气中药改善甲亢症状的分子药理学机制。

材料与方 法

一、实验动物 纯种雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 体重 150~250 g, 年龄 2~3 个月, 随机分成正常对照组(对照组, 6 只)、单纯甲亢组(甲亢组, 6 只)及甲亢加养阴益气中药组(加药组, 5 只)三组; 造型前适应性饲养 1 天; 用肌肉注射 L-甲状腺素钠 15 mg/kg·d 的方法制备甲亢模型; 加药组除同甲亢组一样注药外, 加服养阴益气中药复方煎剂(生地、麦冬、太子参各等量, 熬成含生药 2 g/ml 的浓缩液, 每只大鼠每日约服 1.5~2.0 ml, 即含生药 3~4 g); 对照组每日肌肉注射与上述两组所用 L-甲状腺素钠等体积的生理盐水, 其它饲养条件相同。所有动物食、水不限, 以耗氧量、体重、肛温、血 TT_3 、 TT_4 含量、饮食、饮水量及行为学观察等作为判定成

型的指标。造型时间 1 周。

二、受体蛋白制备 成型动物在同一天断头放血, 迅速取出肝脏, 冷生理盐水灌洗后剪碎组织, 匀浆, 低温离心, 2500 g, 10 min, 取上清再离心, 30000 g, 10 min, 沉淀用缓冲液悬浮即得膜蛋白混悬液。用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度并用缓冲液调至测定所需浓度。

三、受体结合试验 按鲍氏方法加以改进^③, 每管加入不同浓度(0.05~2.0 nM) α_1 受体拮抗剂 3H -哌唑嗪(中国原子能所提供)和定量膜蛋白(0.5 mg), 37℃ 温育, 振荡 10 min 后以预冷淋洗缓冲液稀释中止温育, 立即用 69 型玻璃纤维滤纸在多头细胞样品收集器上抽滤, 分离结合与游离部分, 并洗涤沉淀; 滤纸经 80℃, 30 min 烘干后, 置于 5 ml 甲苯闪烁液中作固相测定。反应管中未加酚妥拉明者为总结合, 加入(10 μ M)者为非特异性结合。以总结合管的 cpm 减去相应的非特异性结合管的 cpm 作为特异性结合管的 cpm 值, 再求出每毫克受体蛋白结合的配基浓度, 据此绘出 3H -哌唑嗪与受体蛋白结合的饱和曲线, 并进一步直线回归处理数据作出相应的 Scatchard 图和方程, 以求出受体最大结合容量(B_{max})和平衡解离常数(K_d)值。用方差分析和 q 检验进行各组均数间的比较。

结 果

一、三组有关甲亢指标测定结果 见表 1。成型甲亢动物可见易激惹、多饮多食、皮毛汗湿、毛发缺

乏光泽、耐缺氧及饥饿能力降低,经测耗氧率、直肠温度增高,体重下降及血 TT_3 、 TT_4 升高等指标均

与甲亢相符;加药组症状、体征及检测指标较甲亢组有所改善。

表1 三组动物各项有关甲亢指标测定结果 ($\bar{x} \pm S$)

组别	动物数	耗氧率 (ml/kg·min)	直肠温度 (°C)	体重 (g)	TT_4 (μ g/dl)	TT_3 (ng/ml)
对照	6	1.95±0.08	37.9±0.34	214.9±37.6	23.0±12.0	0.6±0.3
甲亢	6	2.33±0.16*	39.1±0.24* Δ	185.1±32.0*	79.9±23.0*	12.9±3.8* Δ
加药	5	2.18±0.14*	38.6±0.52*	179.6±24.8*	77.0±24.9*	10.0±4.3*

注:与对照组比,* $P < 0.01$;甲亢组与加药组比, $\Delta P < 0.05$

二、三组动物肾上腺素 α_1 受体结合试验结果,见表2。测定结果表明各组肾上腺素 α_1 受体与 3H -哌唑啉的结合均具有可饱和性,各组 Scatchard 曲线为直线,说明只有一个受体结合位点;根据 Scatchard 方程计算, B_{max} 值在甲亢及加药组较对照组降低,即受体数呈下降趋势,但经统计学处理差异无显著意义,可能与例数较少有关;而 K_d 值甲亢组显著低于对照组,即受体的亲和力显著提高;加药组 K_d 值介于其余两组之间,与对照组比较差别无显著性,提示养阴益气中药复方对于甲亢病态下受体亲和力的改变表现出一定程度的纠正作用。

目也是下降的,但例数不多,差异无统计学意义,受体亲和力则显著增高,看来与 β 受体的改变不同,机制不清。 α 与 β 受体之间似乎存在一定的相互作用,甲亢时 β 受体水平过高可抑制 α 受体,这可能是一种发生于受体之间的调节机制。甲亢时 α_1 受体的亲和力增强则部分或全部抵消了其数目下降的作用。 α_1 受体亲和力增高与 β 受体数量增多这两方面的改变所产生的生物效应是一致的,即使得肾上腺能活性增强,因而在临床上表现为大多数患者以交感神经系统兴奋性增高为主的典型甲亢症状。

根据对甲亢患者的辨证,典型病例以气阴两虚证为主,故使用养阴益气中药复方以观察疗效。本研究结果表明养阴益气中药对于改善甲亢症状确有裨益,其分子药理学机制可能较复杂,但我们的研究结果至少提示部分在于改变了 α_1 肾上腺素受体的亲和力,使甲亢时过高的亲和力得以下降,也减弱了外周组织对肾上腺素的生物效应。由于本研究未同时测定分析 β 受体,是否同时也改变了 β 受体的数目或(和)亲和力不清楚。另一方面,由于加中药组 TT_3 水平低于甲亢组, TT_4 水平相似,提示中药尚在外周抑制 T_4 向 T_3 的转化。因为 T_3 活性大大高于 T_4 ,故 T_3 水平下降无疑对改善甲亢症状有利。本研究观察到养阴益气中药确有效益,且中药不存在 α 或 β 受体阻滞剂的不良副作用,故不失为临床上甲亢的辅佐药物。

甲亢动物体内甲状腺激素水平显著升高与肾上腺素 α_1 受体亲和力显著增强合并存在,由此也提示过高的甲状腺激素水平可能影响 α_1 受体蛋白合成,使产生亲和力更高的受体,即受体发生质的改变。但甲状腺激素如何在肾上腺素受体水平进行调节及在病理状况如何起作用是十分复杂的,有待今后进一步深入研究。

(本工作在广州中医学院实验中心完成,在此向各位老师表示衷心感谢)

参 考 文 献

表2 三组动物肾上腺素 α_1 受体测定结果 ($\bar{x} \pm S$)

组别	动物数	B_{max} (fmol/mg·pr)	K_d 值
对照	6	42.75±12.41	5.42±2.54
甲亢	6	33.50±8.72	2.32±1.09*
加药	5	32.93±9.66	3.11±1.48

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

讨 论

甲亢时循环甲状腺激素水平增高,除了代谢效应以外,交感神经系统机能亢进为突出表现。由于诸多研究发现患者血液去甲肾上腺素和肾上腺素水平并未升高或反呈下降,必然关注激素的作用部位,即受体的改变情况。已有较一致的研究结果表明甲亢时肾上腺素 β 受体数目是增高的, α_2 受体改变不明显,但对于 α_1 受体的研究报告较少⁽⁴⁾。我们的研究结果表明甲亢动物肾上腺素 α_1 受体数目有下降趋势,受体对配基的亲和力显著增高。导致受体水平改变的原因不是太清楚。甲状腺与肾上腺之间可能存在交互抑制作用,后者是在甲亢状态受抑制⁽⁵⁾。由于血浆儿茶酚胺大多来自肾上腺髓质,故血中该激素水平下降,这对于机体具有一定程度的代偿保护意义,但由于对激素水平下降后的上升调节⁽⁶⁾作用而合成更多的 β 受体,其生物效应仍然是增强的。 α_1 受体数目据国外一些报告是下降的⁽⁷⁾。我们的研究表明 α_1 受体数

1. Larsen PR. The thyroid. Cecil textbook of medicine. 18th edition. 1988: 1325.
2. Coodhardt M, et al. The hepatic alpha 1- adrenergic receptor. Biochemical Pharmacology 1984; 33(6): 863.
3. 施景奇, 等. 用放射配基³H-哌唑嗪结合分析法测定大鼠脑、肾和肝中的 α_1 受体. 中华核医学杂志 1986; 6(1): 24.
4. Fox AW, et al. Thyroid status and adrenergic receptor subtypes in the rat: comparison of receptor density and responsiveness. J Pharmacol Exp Therapeut 1985; 235(3): 715.
5. Levey GS, et al. Catecholamine-thyroid hormone interactions and the cardiovascular manifestations of hyperthyroidism. Am J Med 1990; 88(6): 642.
6. Hammond HK, et al. Increased myocardial beta-receptors and adrenergic responses in hyperthyroid pigs. Am J Physiol 1987; 252: PH 283.
7. Tsujimoto G, et al. Effects of triiodo-L-thyronine(T_3)-induced hyperthyroidism on the cardiovascular alpha-adrenoceptor system in young and older rats. Jpn J Pharmacol 1987; 44(4): 437.

葛根素注射液对突发性耳聋患者甲皱微循环的影响

北京市耳鼻咽喉研究所(北京 100005) 蔡正华 冯彦

我们采用甲皱微循环观察及纯音测听等指标, 对30例突发性耳聋(简称突聋)患者进行了临床疗效观察。现报告如下。

临床资料 对照组50例, 均为无耳病、无心血管病的健康人; 其中男20例, 女30例; 年龄17~71岁。葛根素治疗组: 30例, 全部患者均符合突聋诊断标准(中华耳鼻咽喉科杂志1983; 18: 205); 其中男16例, 女14例; 年龄22~67岁。病程: ≤ 15 天23例, $15^+ \sim 30$ 天7例。受检者均各案观察。

方法 治疗组患者在纯音测听后进行甲皱微循环观察。所有微循环受检者在检查前先休息30 min, 然后测室温、指温及选标志血管, 最后在微循环显微镜下进行观察, 并摄影记录。给药组和溶剂对照组在初次观察后, 分别给患者静脉注射葛根素注射液100 mg加0.9%氯化钠10 ml, 或给同容量的对照溶剂20%丙二醇4 ml加0.9%氯化钠10 ml。于用药后15 min、24 h及1周进行甲皱微循环观察。一般连续用药观察1~2周。微循环实验在室温 $24 \pm 5^\circ\text{C}$ 下进行; 纯音听力检查, 在双间隔声室内进行。

结果 疗效评定标准 (1)甲皱微循环状态, 参照文献(《微循环障碍与相关疾病》1985)进行评定。(2)听力疗效标准: 痊愈: 治疗后听力图在500、1000、2000、3000 Hz听力水平均恢复到25 dB以内, 耳鸣减轻至消失。显效: 听力曲线较治疗前提高30 dB以上。进步: 治疗后提高15~30 dB; 无效: 提高15 dB以下或听力无改变者。

在治疗组的30例患者中, 有12例患者进行了葛根素和溶剂的比较观察。即患者在用葛根素治疗前, 先每天静脉注射同容量的溶剂对照液, 连用3天, 发现这些患者甲皱微循环及听力均无改变, 然后改用静

脉注射葛根素注射液, 给药后患者听力及微循环有改善, 故30例患者合并统计。

结果 30例中, 痊愈6例, 显效11例, 进步4例, 无效9例, 总有效率为70%。

一、甲皱微循环的比较 正常人的甲皱微循环在镜下视野清晰, 约有 $\geq 70\%$ 的血管袢呈发夹状, 排列整齐, 异形管袢 $< 30\%$, 血流速度 $> 350 \text{ mm/s}$ 。突聋组30例患者中有25例存在有甲皱微循环障碍, 占83%, 表现为血管袢轮廓不清, 镜下视野模糊; 异形管袢增多, 血流速度减慢。经比较两组在血管形态及血流速度等方面均有显著差别($P < 0.01$)。

二、葛根素注射液对突聋患者甲皱微循环的影响 用药后患者的甲皱微循环得到改善, 以血流速度及血管形态的改变最明显。给药15 min后, 患者的甲皱微循环出现血流速度加快, 原来的粒缓流逐渐变成线粒流。部分血管袢瘀血逐渐消失, 整个镜下视野越来越清晰。30例患者中有70%的患者在两周内甲皱微循环一直处于良好状态。

三、葛根素注射液对突聋患者听力的影响 患者在用药后甲皱微循环得到改善, 同时听力也有不同程度的提高, 经临床观察提示: 突聋的发生可能与内耳微循环障碍有关。但对照溶剂对突聋患者均无此作用。

体会 本试验观察到有83%的患者在发病初期存在不同程度的甲皱微循环不良, 并以血管形态改变及血流速度减慢为特征, 这与文献报告一致。因此推测, 突聋的发生, 可能是由于微循环障碍而引起内耳血液突然减少, 导致患者听力突然下降, 造成耳聋。我们用葛根素治疗突聋, 约70%的患者甲皱微循环和听力均得到改善, 提示: 葛根素改善微循环, 可能是它治疗突发性耳聋的原因之一。

therapy could reduce pain quickly, clean wound well, promote granulation growth and epithelium regeneration so as to accelerate ulcer healing.

Key words radio-ulcer, treatment of combined TCM-WM, external treatment.

(Original article on page 89)

Study on Alteration of Cocaine, Morphine and Nicotine Levels

in Serum of Opiomaniacs Treated by Jie Du Ling (戒毒灵)

Liu Dong-liang (刘东亮), Dong Zhu-qiang (董祖强), Deng Zhi-hong (邓志宏), et al

Department of TCM, Lanzhou Airforce Hospital, Lanzhou (730070)

20 Opiomaniacs were treated by Jie Du Ling consisted of some Chinese herbal medicine. Cocaine, morphine and nicotine levels in serum of 20 cases before and after treatment and 20 subjects for control were measured simultaneously by means of radioimmunoassay. The results showed that cocaine, morphine and nicotine levels in patients serum before treatment were significantly higher than that of control ($P < 0.001$), while the level of above-mentioned 3 substances in patient's serum after treatment were significantly lower than that of before treatment ($P < 0.001$). It is proved that Chinese medicinal herbs could significantly reduce the levels of cocaine, morphine and nicotine after treatment in clinical practice. It offered evidence for Chinese herbal medicine in stopping opiomania.

Key words Jie Du Ling, opiomania, cocaine, morphine, nicotine

(Original article on page 92)

Study on Depth of Getting Qi in Clinical Practice

Lin Zhao-geng (林昭庚), Wang Qing-fu (王清福)*, et al

Acupuncture Research Center, China Medical and Pharmaceutical College

* Municipal Peace Hospital, Taipei

Based on the type of build being fat, medium and thin to determine the depth of getting Qi (DGQ) in acupoints, and based on the aforesaid three types of build to verify the difference of DGQ of neck, trunk, upper-limb and lower limb with T test. The result showed that the DGQ of fat man group was deeper, the DGQ of thin man group was more superficial ($P < 0.01$), the DGQ of neck was more superficial than that of trunk, upper and lower limb, and the standard deviation (SD) of neck DGQ was ± 0.1 cm, that of trunk, upper and lower limbs was ± 0.2 cm. Following finding has been observed, the DGQ of patient with nervousness and allergic constitution showed more superficial, while the DGQ of cancer and apoplexy patients showed deeper than that of ordinary patients.

Key words acupoint, depth of getting Qi

(Original article on page 94)

Determination of Hepatocyte Adrenergic α_1 Receptor and Study on

Actions of Nourishing Yin and Replenishing Qi (养阴益气) Drugs in

Experimental Hyperthyroid Rats

Shan Ji-chun (单济川)

First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Med. Sci, Guangzhou (510080)

In this study, hyperthyroid rat models (group 1) were established by daily intramuscular injections of thyroxine for 7 days. Group 2 were hyperthyroid rats receiving at the same time Nourishing Yin and Replenishing Qi drugs (*Ophiopogonis japonis*, *Pseudostellariae heterophylla* and *Rehmannia glutinosa*). Normal rats served as controls. Group 1 and group 2 rats showed manifestations of hyperthyroidism, higher rectal temperature, increased O_2 consumption, as well as significantly higher serum TT_3 and TT_4 levels. Receptor proteins of liver cell membrane were prepared. Receptor binding assay was performed using 3H -prazosin (adrenergic α_1 receptor antagonist) as radioligand, maximal binding capacity (B_{max}) and dissociation constant (K_d) were calculated from Scatchard curve. It was found B_{max} (fmol/mg protein) in model groups were lower than that of the control group, but the differences were not statistically significant. K_d (nM) in group 1 was significantly lower than that of control group (2.32 ± 1.09 vs 5.42 ± 2.54 , $P < 0.05$), indicating that receptor affinity was increased in hyperthyroid rats. K_d in group 2 (3.11 ± 1.48) was intermediate between that in group