

组分配伍四逆汤对甲状腺功能减退症大鼠脑神经递质的影响

王艳^{1,2}, 裴妙荣^{1,2*}

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2. 山西中医学院 中药学院, 太原 030024)

[摘要] **目的:** 研究组分配伍四逆汤对甲状腺功能减退症脑神经递质的影响。**方法:** 将96只大鼠随机分为空白组、模型组、优甲乐阳性对照组(0.01 g·kg⁻¹), 组分配伍四逆汤高、中、低剂量组(9.6, 4.8, 2.4 g·kg⁻¹)。除空白组外, 其他组连续灌胃丙基硫氧嘧啶(PTU)溶液0.01 g·kg⁻¹ 15 d 造甲减模型, 用组分配伍四逆汤高、中、低剂量和优甲乐对此动物模型进行治疗, 连续给药1个月, 治疗同时隔日给予1% PTU 维持甲减状态, 实验结束后, 取脑组织, 做10% 脑匀浆, 用酶联免疫吸附法测去甲肾上腺素(NA), 5-羟色胺(5-HT)和多巴胺(DA)浓度。**结果:** 模型组与空白组相比, 其NA浓度明显降低($P < 0.05$), 5-HT浓度显著升高($P < 0.01$), DA浓度明显降低($P < 0.05$)。与模型组相比, 四逆汤高、中剂量、阳性药组, NA浓度有显著升高($P < 0.01$); 四逆汤低、中、高剂量组、阳性对照组, 5-HT浓度明显降低($P < 0.05, P < 0.01$); 四逆汤高、中剂量、阳性药组, DA浓度显著升高($P < 0.01$)。**结论:** 四逆汤对甲状腺功能减退症脑内神经递质有一定的调节作用。

[关键词] 组分配伍四逆汤; 甲状腺功能减退; 神经递质

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0139-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220139

Neurotransmitter Influences of Component Comptibility Sini Tang to Hypothyroidism

WANG Yan^{1,2}, PEI Miao-rong^{1,2*}

(1. Heilongjiang School of Traditional Chinese Medicine (TCM), Haerbing 150040, China;

2. Department of Pharmacy Shanxi College of TCM, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To study the brain neurotransmitter influences of component comptibility of Sini Tang (CCSNT) to hypothyroidism. **Method:** The hypothyroidism mode was made by 1% propylthiouracil (PTU) solution 15 days, treat the animal which has hypothyroidism with CCSNT of high, middle, low dose (9.6, 4.8, 2.4 g·kg⁻¹, *ig*) and positive drugs Euthyrox 0.01 g·kg⁻¹, *ig*, at the same time the mice should give the PTU (0.01 g·kg⁻¹, *ig*); after the end of the experiment, take the brain and make 10% brain homogenates, use the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit to measure the norepinephrine (NA), 5-hydroxytryptaphane (5-HT) and dopamine (DA) concentration. **Result:** Compared with the blank group, in the model group the concentration of NA and DA are decreased ($P < 0.05$), concentrations of 5-HT is significantly increased ($P < 0.01$). Compared with model group, the concentration of NA and DA of CCSNT high dose, middle dose and the Euthynx group, are significantly increased ($P < 0.05$); the 5-HT level of all the treatment group are decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** CCSNT has same effect of Sini Tang to neurotransmitters of hypothyroidism.

[Key words] componint comptibility Sini Tang; hypothyroidism; neurotransmitter

甲状腺功能减退症(简称甲减),是由于甲状腺合成或分泌激素不足所引起的症候群,研究发现甲

[收稿日期] 20140515(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973712)

[第一作者] 王艳,在读博士,讲师,从事中药药理研究, Tel:0351-22722269, E-mail:wangyan81823@yahoo.com.cn

[通讯作者] *裴妙荣,硕士,教授,博士研究生导师, Tel:0351-22722180, E-mail:peimr602@163.com

状腺激素减退病人可出现神经、精神等方面一系列的改变,如懒散、注意力不集中、记忆力差、精神运动型迟滞,同时又抑郁等的情绪^[1],甲状腺激素水平低下可导致脑内神经元相关酶的活性改变,引起中枢神经系统结构损伤和功能紊乱^[2-3]。中医认为甲减的病机以脾肾阳虚型为多见,尤以肾阳虚为主^[4]。本课题组前期研究发现四逆汤对甲状腺功能减退症具有较好的治疗作用^[5],且组分配伍形式的四逆汤作用与四逆汤相当,其具有去粗取精、质量可控等优点,本实验通过研究组分配伍形式的四逆汤对脑神经递质的影响,以探讨四逆汤对甲减病人神经精神方面是否具有一定的改善作用。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠,雌雄性各半,96 只,体重(200 ± 20) g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001。

1.2 药物 四逆汤组药物提取物生药来源:附子采自四川省江油县,干姜购自成都五块石药材市场,甘草购自山西省药材公司,经裴香萍副教授鉴定分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* 的子根、姜科植物姜 *Zingiber officinale* 的根茎、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的根及根茎。丙基硫氧嘧啶 (PTU, 上海朝晖药业有限公司,批号 100902)。优甲乐 (Merck KGaA 生产,批号 136419)。

1.3 仪器 LD5-10 低速离心机(北京医用离心机厂),GL-21C 高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),DHG-9075A 电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),FSH-II 型高速电动匀浆器(江苏金坛生产),Spectra Max190 全波长酶标仪(美国分子公司生产)。

1.4 试剂 氯化钠(批号 20080604,天津市瑞金特化学品有限公司),甲醛溶液(批号 20110325,天津市东丽区大毕庄镇欢坨工业园),乙醚(批号 20110327,天津市市丰化工有限公司),大鼠多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NA)酶联免疫检测试剂盒(均为美国 RB 公司生产)。

2 方法

2.1 药液的制备 组分配伍四逆汤的制备:采用正交试验法,确定附子组分的最佳提取工艺为:加 6 倍量乙醇,回流提取 2 次,每次 3 h;干姜挥发油的最佳提取工艺为:加 16 倍量水,浸泡 1.5 h,提取 8 h;最佳包合工艺为:β-环糊精与挥发油的投料比为 10:1,加 3 倍量水,研磨 1 h;甘草组分的最佳提取工艺为:

加 10 倍量水,煎煮 3 次,每次 1 h。选用大孔吸附树脂对甘草组分进行精制,最佳精制工艺为:大孔树脂类型为 D101 型;上样质量浓度为 8.63 g·L⁻¹(大约相当于 0.375 g 生药/mL);吸附流速为 1 BV·h⁻¹;上样体积为 2.5 BV;洗脱溶媒为 70% 乙醇;洗脱流速为 1 BV·h⁻¹;洗脱体积为 5 BV。按照已筛选出的最佳组分配伍剂量比,即附子组分:甘草组分:干姜组分按 12:15:52 制备四逆汤溶液。

PTU 溶液的制备:将丙基硫氧嘧啶片研碎,用蒸馏水配成 1 g·L⁻¹ 的溶液。

优甲乐溶液的制备:将优甲乐研碎,用蒸馏水配成 1 g·L⁻¹ 的溶液。

2.2 分组及造模给药 取 96 只大鼠随机分为空白组、模型组、优甲乐阳性组、组分配伍四逆汤高、中、低剂量组。除空白组外,其余各组以 10 mL·kg⁻¹ 体积 *ig* 给予 0.1% 的 PTU 溶液(即剂量为 10 mg·kg⁻¹)造成甲状腺功能低下模型,空白组灌胃同体积自来水,每日 1 次,连续 15 d。造模半月后,除空白组外,其余各组每隔 1 d 按 10 mL·kg⁻¹ 体积灌胃给予 0.1% 的 PTU 溶液,空白组灌胃同剂量自来水。四逆汤高、中、低剂量组按 10 mL·kg⁻¹ 分别 *ig* 组分配伍四逆汤高、中、低剂量(按生药量计为 9.6,4.8,2.4 g·kg⁻¹),阳性药物组 *ig* 优甲乐 0.01 g·kg⁻¹,空白组和模型组 *ig* 同剂量自来水,每日 1 次,连续给药 30 d。

2.3 样本采集及指标检测 治疗结束后,称重,麻醉,取脑组织,做 10% 的脑组织匀浆,用酶联免疫吸附法测定脑组织中 5-HT,DA,NA 的含量。1 g 脑组织中所含递质的含量 = 测得数值 × 1 000。

2.4 数据处理 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 18.0 统计软件处理,采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对脑组织匀浆去甲肾上腺素浓度的影响 与空白组相比,模型组去甲肾上腺素浓度明显降低($P < 0.05$);阳性对照组、组分配伍四逆汤高、中剂量组,去甲肾上腺素浓度显著升高($P < 0.01$)。与模型对照组相比,四逆汤高、中剂量组及、阳性药组,去甲肾上腺素浓度有显著升高($P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对脑组织匀浆 5-羟色胺浓度的影响 与空白组相比,模型组 5-羟色胺浓度显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比,组分配伍四逆汤低剂量组、阳性对照组,5-羟色胺浓度明显降低($P < 0.05$);中剂量、高剂量与模型组相比,5-羟色胺浓度有显著降低($P < 0.01$)。见表 1。

3.3 对脑组织匀浆多巴胺含量的影响 与空白组相比,模型组多巴胺含量降低($P < 0.05$);与模型组相比,四逆汤高、中剂量组及阳性药组,多巴胺显著升高($P < 0.01$)。见表1。

表1 四逆汤对脑组织匀浆去甲肾上腺素、5-羟色胺、多巴胺含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 16$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	去甲肾上腺素/ $ng \cdot g^{-1}$	5-羟色胺/ $ng \cdot g^{-1}$	多巴胺/ $ng \cdot g^{-1}$
空白	-	631.3 ± 88.6	604.8 ± 135.5	188.6 ± 46.3
模型	-	562.7 ± 41.3 ¹⁾	806.9 ± 141.9 ²⁾	141.6 ± 37.9 ¹⁾
优甲乐	0.01	802.6 ± 92.2 ³⁾	646.2 ± 172.4 ³⁾	213.1 ± 89.3 ³⁾
组分配伍四逆汤	9.6	786.8 ± 138.9 ⁴⁾	497.4 ± 90.0 ⁴⁾	189.9 ± 61.1 ³⁾
	4.8	782.1 ± 124.7 ⁴⁾	495.8 ± 160.1 ⁴⁾	266.5 ± 75.5 ⁴⁾
	2.4	632.3 ± 98.3	625.7 ± 136.2 ³⁾	165.7 ± 72.5

注:与空白组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组相比³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

甲状腺功能减退症,临床多表现为元气亏乏,气血不足,脏腑虚损的阳虚证候,患者临床症状与典型的肾阳虚证表现一致,故一般认为肾阳虚为甲减的主要病机^[4]。四逆汤中以附子为君药,辛甘大热,温补肾中阳气,干姜为臣,辛热之性回守中阳,甘草味甘为使与君臣配伍正合辛甘化阳之旨,三药相合,正能温补脾肾之阳。

NA,5-HT,DA为脑内重要的神经递质,研究表明NA与警觉、睡眠和情绪等调节有关,5-HT与睡眠和精神活动有关,脑内5-HT浓度升高可使人出现无欲、少动等表现,DA与记忆密切相关,NA,5-HT和DA共同维持人体的体温恒定^[6]。因此研究组分配伍四逆汤对脑内NA,5-HT和DA的影响,有助于阐明四逆汤对甲减治疗作用的作用机制。本研究结果表明:与对照组相比,模型组动物脑内NA和DA含量降低,5-HT含量升高,均具有显著差异,说明甲状腺功能减退症可出现的记忆力减退、肢冷畏寒、无欲少动等症状可能与脑内NA和DA含量降低,5-HT含量升高有关;组分配伍四逆汤各剂量组及阳性药物可不同程度的增加脑内NA和DA含量,降

低5-HT含量,具有统计学差异,说明组分配伍四逆汤对甲减症状的改善作用与其调节脑内单胺类神经递质NA,5-HT和DA的分泌有关。

[参考文献]

- [1] Davis J D, Tremont G. Neuropsychiatric aspect of hypothyroidism and treatment reversibility [J]. *Minerva Endocrinol*,2007,32:49.
- [2] Dugbartey A T. Neurocognitive aspects of hypothyroidism [J]. *Arch Intern Med*,1998,158(13):1413.
- [3] Alzoubi K H. Nicotine reverses adult-onset hypothyroidism-induced impairment of learning and memory;Behavioral and electrophysiological studies[J]. *J Neurosci Res*,2006,84(5):944.
- [4] 徐灿坤,李德强,曲竹秋. 温阳补肾法治疗甲状腺功能减退症机制研究进展[J]. *中国中医药信息杂志*,2005,12(8):107.
- [5] 裴妙荣,王晓英. 四逆汤不同提取物对甲减阳虚证大鼠生殖器官及性激素的影响[J]. *中华中医药杂志*,2010,25(1):50.
- [6] 郑里翔,刘晓庄,王莉,等. 肾阳虚对大脑神经递质、胆碱酯酶的影响[J]. *新中医*,2000,32(5):31.

[责任编辑 聂淑琴]