

## • 基础研究 •

## 消瘦强肌汤对甲状腺机能亢进性肌病骨骼肌线粒体的影响

于向民<sup>1</sup>, 闫凤霞<sup>1</sup>, 刘友章<sup>2</sup>, 潘晓亮<sup>1</sup>, 李玲<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 观察消瘦强肌汤对甲状腺机能亢进性肌病大鼠骨骼肌线粒体的影响,探讨消瘦强肌汤治疗甲亢肌病的机理。方法 健康雌性 Wistar 大鼠随机分为 4 组:甲亢肌病模型组每日腹腔注射甲状腺激素钠盐 250  $\mu\text{g}/100\text{g}$  造模,中药组在造模后灌服消瘦强肌汤 30 d,生理盐水对照组造模后灌服生理盐水 30 d,正常对照组每天腹腔注射生理盐水。各组取骨骼肌观察琥珀酸脱氢酶活性和含量的变化,透射电镜观察骨骼肌及线粒体的形态变化。结果 甲亢肌病模型组骨骼肌琥珀酸脱氢酶呈色降低,含量下降。超微结构显示线粒体嵴断裂,甚至融合消失。中药组可见酶活性和含量恢复,线粒体嵴排列规则,空泡消失。结论 消瘦强肌汤可通过恢复线粒体酶活性和线粒体结构来改善甲亢肌病的骨骼肌功能。

**[关键词]** 甲状腺机能亢进;肌病;消瘦强肌汤;琥珀酸脱氢酶;线粒体;骨骼肌;大鼠

**Effects of Xiaoyingqiangji Decoction on Mitochondria in Skeletal Muscle of Hyperthyroid Myopathy** YU Xiang-min, YAN Feng-xia, LIU You-zhang, et al. Department of Histology and Embryology, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong, China

**Abstract:** **Objective** To observe the effect of Xiaoyingqiangji decoction on mitochondria in skeletal muscle of hyperthyroid myopathy. **Methods** Healthy Wistar rats were randomly divided into 4 groups: the group of hyperthyroid myopathy were given L-thyroxine intraperitoneal injection for 42 d; Chinese medicine treated group were treated with Xiaoyingqiangji decoction for 30 d after L-thyroxine injection; the saline control group were given saline solution for 30 d after L-thyroxine injection; normal control group were given saline solution. Then the skeletal muscles were obtained and the succinate dehydrogenase (SDH) were measured. The ultrastructural changes were observed with TEM. **Results** The activity and content of SDH in the group of hyperthyroid myopathy decreased, and the cristae of mitochondria ruptured and even disappeared. After given Chinese medicine, the activity and content of SDH increased, while the mitochondria showed normal ultrastructural appearance. **Conclusion** Xiaoyingqiangji decoction can improve the function of skeletal muscles in hyperthyroid myopathy by recovering enzyme activity and mitochondria structure.

**Key words:** hyperthyroidism; myopathy; Xiaoyingqiangji decoction; succinate dehydrogenase (SDH); mitochondria; skeletal muscle; rats

**[中图分类号]** R581.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1006-9771(2007)07-0630-02

**[本文著录格式]** 于向民,闫凤霞,刘友章,等.消瘦强肌汤对甲状腺机能亢进性肌病骨骼肌线粒体的影响[J].中国康复理论与实践,2007,13(7):630-631.

骨骼肌是维持机体姿势和实现各种运动的主要器官,也是能量代谢的重要部位,在生命活动中起重要作用。甲状腺机能亢进可引起呼吸肌、肢体肌和心肌等横纹肌生理功能和生化代谢的改变,导致疾病发生<sup>[1-2]</sup>。甲亢累及骨骼肌的病变称为甲亢肌病,目前治疗多以改善甲亢症状为主。本研究探讨中医方剂消瘦强肌汤治疗甲亢肌病的细胞生物学机理。

## 1 材料和方法

**1.1 实验动物与分组** 健康雌性 Wistar 大鼠 36 只,体重(180 $\pm$ 5) g,由青岛市药物检疫所提供。常规饮水,自然光照,鼠颗粒饲料适应性饲养 1 周后,随机分为 4 组:甲亢肌病组、中药治疗组、生理盐水组,每组 10 只,正常对照组 6 只。

**1.2 实验方法** 甲亢肌病组、中药治疗组、生理盐水对照组大鼠均腹腔注射甲状腺激素钠盐(L-Thyroxine Sodium salt, Sigma) 250  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ,每日 1 次,共注射 42 d。中药治疗组在注射甲状腺激素钠盐后,再给予消瘦强肌汤(广州中医药大学提供)灌胃,每天 2 ml,共 30 d;生理盐水组在注射甲状腺激素钠盐后,给予生理盐水 2 ml 灌胃 30 d。正常对照组每天腹腔注射生理

盐水 1 次。

消瘦强肌汤处方如下:熟地黄 20 g,怀山药 30 g,猫爪草 15 g,麦冬 10 g,山萸肉 10 g,牛蒡子 30 g,地枫子 30 g,浙贝母 10 g,龙骨 30 g,鸡血藤 15 g,牡丹皮 10 g,五指茅草根 100 g,甘草 6 g。上述药物先用冷水泡 30 min,龙骨先煎 30 min 后加入其他药,加水 500 ml,煎至药液浓缩成 300 ml 为止;二煎加水 500 ml,煎成 100 ml。两次煎液混合,共 400 ml,玻璃瓶密封低温保存,供实验用。

**1.3 琥珀酸脱氢酶(SDH)染色** 各组动物 2.5%戊巴比妥钠 0.1 ml/10g 麻醉后,取出胫骨前肌、腓肠肌、趾长伸肌, -20℃恒冷箱切片切片机切片,厚度 15  $\mu\text{m}$ ,自然晾干后,置于 SDH 孵育液中 37℃,15 min,双蒸水洗,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,光镜观察。

**1.4 透射电镜标本制备** 动物麻醉后,2%戊二醛灌流固定,取下趾长伸肌,将其切成 0.1 $\times$ 0.1 $\times$ 0.5 cm 的小块,再在同一固定液中固定 30 min。PBS 充分漂洗后,1%锇酸后固定 1 h,缓冲液冲洗后逐级丙酮脱水,EPON812 包埋,半薄切片定位后,超薄切片,经醋酸铀、柠檬酸铅染色后,JE M-1200EX 电镜观察。

**1.5 统计学方法** 每组随机选取趾长伸肌 SDH 染色的切片 10 张,输入图像分析仪,分别测量每型 30 条肌纤维阳性着色的平均光密度(OD 值),进行方差分析和 t 检验。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 正常对照组动物体重明显增加,平均

基金项目:山东省科技发展计划项目(2004GG220518)。

作者单位:1. 青岛大学医学院组织胚胎学教研室,山东青岛市 266071;2. 广州中医药大学内科,广东广州市 510000。作者简介:于向民(1961-),女,山东海阳县人,教授,曾获山东省教委科技进步二等奖、山东省科学技术进步三等奖、山东省自然科学三等奖,主要从事神经发育及再生的研究。

每周增加 12 g;到第 6 周末,体重增加 30%,活动自如。甲亢肌病组体重逐渐下降,平均每周下降 6 g,到第 6 周大约下降 8%;动物活动首先增多,激惹,以后活动逐渐减少,到注射甲状腺激素 42 d 后,动物活动明显减少,爬行缓慢。中药治疗组体重逐渐恢复,平均每周增加 5 g,动物活动逐渐增多,肌力逐渐恢复。生理盐水组体重及活动变化情况与甲亢肌病组基本相同。

**2.2 SDH 活性观察及定量分析** 光镜下,正常对照组骨骼肌 SDH 的活性根据呈色强弱及颗粒多少可明显分为 3 型:红肌纤维呈深蓝色,细胞浆内颗粒多,分布密集;中间型肌纤维呈蓝色,胞浆内颗粒少,分散;白肌纤维呈浅蓝色,胞浆内颗粒最少,疏散。甲亢肌病组和生理盐水组可见 3 种肌纤维均呈色减弱,酶颗粒减少;其中,红肌纤维与中间型肌纤维肿胀,酶颗粒减少及呈色不均明显。中药治疗组各型肌纤维酶颗粒均有明显恢复,生理盐水组各型肌纤维 SDH 活性与甲亢肌病组基本相同。定量分析结果显示,甲亢肌病模型组 SDH 含量明显低于正常对照组( $P < 0.01$ );而中药治疗组的 SDH 含量与正常对照组无显著性差异。见表 1。

表 1 各组大鼠骨骼肌 SDH 含量(OD)

组别	红肌纤维	中间型肌纤维	白肌纤维
正常对照组	0.83 ± 0.03	0.56 ± 0.02	0.38 ± 0.02
甲亢肌病组	0.58 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.06 <sup>a</sup>
中药治疗组	0.77 ± 0.04	0.51 ± 0.05	0.35 ± 0.05
生理盐水组	0.56 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.08 <sup>a</sup>

注:a:与相应的正常对照组比较, $P < 0.01$ 。

**2.3 线粒体超微结构观察** 电镜下正常对照组趾长伸肌的各型肌纤维粗细肌丝排列规则,明暗带清晰,每个肌节有两个三联体,线粒体在 Z 线两侧成对排列。区别 3 种肌纤维主要依据线粒体多少及大小,线粒体嵴的排列疏密及 Z 线宽度。红肌纤维的线粒体大而多,嵴排列紧密,Z 线宽;白肌纤维的线粒体小,嵴少,Z 线窄;中间肌纤维介于两者之间。

甲亢肌病组可见 3 种肌纤维中都有线粒体肿胀,出现空泡,有明显的肌浆网扩张,扩张的肌浆网多融合成大空泡,肌丝溶解,或肌原纤维走行紊乱,肌节缩短,有的红肌纤维可见增大、变长的线粒体以及空泡化的线粒体。白肌中有粗肌丝局灶性溶解,Z 线消失。经灌服中药后,3 种肌纤维超微结构有明显恢复,主要表现在线粒体形态接近正常,肌丝排列规则,空泡消失。生理盐水组肌纤维超微结构的变化同甲亢肌病组。

### 3 讨论

线粒体是细胞内一种重要的细胞器,为细胞生命活动提供能量<sup>[3-4]</sup>。正常情况下,根据肌纤维线粒体的大小和多少、乳酸脱氢酶的类型、肌球蛋白 ATP 酶的活性以及肌肉的糖原含量等,肌纤维一般可分为红慢收缩肌纤维(I 类)、白快收缩肌(II A)和中间型肌纤维(II B)等 3 类,又称氧化纤维、糖酵解纤维和氧化糖酵解纤维<sup>[5-6]</sup>。3 型肌纤维通常共存于同一肌肉中,以保持姿势为主要功能的肌肉内含有较多的红肌纤维,从事快速高灵敏动作的肌肉则以白肌纤维为主。不同

部位骨骼肌有不同的特征。本实验中观察到,外源性甲状腺激素对骨骼肌各型肌纤维均可产生影响,可见 3 种肌纤维中都有线粒体肿胀,出现空泡,有明显的肌浆网扩张,扩张的肌浆网多融合成大空泡,其间肌丝溶解,或肌原纤维走行紊乱,肌节缩短;有的中间肌纤维可见增大、变长的线粒体。这与报道的甲状腺机能亢进性肌病的病理学改变<sup>[3]</sup>相一致。

SDH 是线粒体呼吸链电子传递的重要物质,是线粒体的标志酶,它的活性变化与线粒体损伤同时出现,与线粒体数目同时升降<sup>[7]</sup>。SDH 活性的强弱,显示各型肌纤维有氧化代谢能力和能量供应不同,而氧化能力高与肌肉的抗疲劳性有关。通过 SDH 染色我们观察到,注射甲状腺激素 42 d 后,3 种肌纤维 SDH 活性下降,使三羧酸循环中琥珀酸向延胡索酸的转变发生困难,氧化磷酸化过程中的能量转换受影响,导致能量代谢障碍以致细胞死亡。这与国外学者的观察<sup>[3-4]</sup>一致。过多的甲状腺激素还可抑制磷酸肌酸激酶的活性,使骨骼肌肌酸和磷酸含量减少<sup>[2]</sup>。

目前,临床上对甲亢的研究比较深入,中医药治疗甲亢也屡见报道。研究表明,应用中药方剂可明显减慢大鼠心率及肛温, $T_3$  降至正常<sup>[8]</sup>,消除甲状腺肿,增加体重,消除疲倦,而且对并发严重心、肝、肺、肾疾患及白细胞减少患者尤为适宜。但目前关于甲亢肌病尚无有效的治疗方法,甲亢肌病的认识大多局限于临床,且对其治疗多以改善甲亢症状为主,而针对肌肉本身的治疗及研究较为缺乏。本研究根据甲亢的基本病机为阴虚阳亢,以心肝肾阴虚为病之本,滋养肝肾、宁心养阴是治疗该病的大法。但合并甲亢肌病的患者除有心悸、手颤、汗多、烦躁等症状外,尚有明显的肌无力,甚至不能行走。因此,在养阴益气的同时应强肌健力。本实验中我们观察到,给与消瘦强肌汤治疗后,大鼠骨骼肌线粒体嵴排列规则,肌纤维肿胀、空泡消失;各型肌纤维酶颗粒均明显增多,呈色恢复均匀。说明消瘦强肌汤对线粒体 SDH 有一定程度的恢复作用,可明显改善线粒体功能,使相当多的细胞重获良好的形态和较佳的酶活性,从而改善骨骼肌的收缩功能。

### [参考文献]

- [1] Jakubiec Puku A, Ciechomska I, Mackiewicz U, et al. Effect of thyroid hormone on the myosin heavy chain isoforms in slow and fast muscles of the rat[J]. Acta Biochim Pol, 1999, 46(3): 823-835.
- [2] 刘广钊,刘红,梁季鸿,等. 268 例甲亢病人的肌活检及临床分析[J]. 广西医科大学学报, 1999, 16: 793-794.
- [3] Bose S, Rarey K, Bettahi I, et al. Mitochondrial changes in extraocular muscles of hyperthyroid C57BL/6 mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46: 5730.
- [4] Bose S, Rarey K, Chen A, et al. Mitochondrial abnormalities in extraocular muscles of hyperthyroid adenosine nucleotide translocator-1 (ANT1) deficient mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47: 5401.
- [5] Buonanno A, Rosenthal N. Molecular control of muscle diversity and plasticity[J]. Dev Genet, 1996, 19: 95-107.
- [6] Nicol CJ, Bruce DS. Effect of hyperthyroidism on the contractile and histochemical properties of fast and slow twitch skeletal muscle in the rat[J]. Pflugers Arch, 1981, 390(1): 73-79.
- [7] Lee CM, Lopez ME, Weindruch R, et al. Association of age-related mitochondrial abnormalities with skeletal muscle fiber atrophy[J]. Free Radic Biol Med, 1998, 25(8): 964-972.
- [8] 孙凤雷,程益春. 消瘦片治疗甲状腺机能亢进症的临床及实验研究[J]. 山东中医药大学学报, 1998, 22: 206-210.

(收稿日期:2006-12-18 修回日期:2007-03-26)