

罗汉果提取物对甲状腺功能减退模型大鼠的干预效果研究

郭巍¹, 刘明清¹, 闫瑞霞¹, 王臣², 张秋雨¹

(1. 沧州医学高等专科学校健康管理与服务系, 河北沧州, 061001) (2. 沧州市人民医院, 河北沧州, 061001)

摘要: 探究罗汉果提取物对甲状腺功能减退模型大鼠的干预效果及作用机制研究。选取 50 只 SD 健康大鼠, 10 只作为正常组, 其余 40 只建立甲状腺功能减退模型, 建模成功后分为模型组、阳性对照组(1 mL/100 g 0.08% 的甲状腺片混悬液)、低剂量组(100 mg/kg 罗汉果提取物)、高剂量组(160 mg/kg 罗汉果提取物)各 10 只。检测各组大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴、下丘脑-垂体-性腺轴因子水平以及 *Shh* 信号通路基因 mRNA 表达量。研究表明, 高剂量组大鼠游离三碘甲状腺原氨酸 (FT3)、游离甲状腺素 (FT4)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)、促甲状腺素释放激素 (TRH) 分别上升至 4.25 pmol/L、16.58 pmol/L、1.20 nmol/L、56.35 nmol/L 和 4.13 μ IU/mL, 促甲状腺素(TSH)下降至 1.96 μ IU/mL, 与其他组均有显著差异 ($p < 0.05$)。高剂量组雌性大鼠卵泡生成激素 (FSH)、黄体生成激素 (LH)、雌二醇 (E2)、孕酮 (P) 水平分别上升至 12.63 IU/L、14.35 IU/L、31.24 ng/L 和 186.59 ng/L, 均显著高于阳性对照组、低剂量组 ($p < 0.05$)。高剂量组雄性大鼠 FSH、LH、睾酮 (T) 分别达到了 10.25 IU/L、12.35 IU/L 和 369.23 ng/L)。高剂量组大鼠 *Shh*、*Patched-1*、*Gli-1* mRNA 表达量显著高于阳性对照组、和低剂量组 ($p < 0.05$)。说明罗汉果提取物可通过作用于 *Shh* 信号通路, 调控异常的甲状腺生物学效应, 改善甲状腺功能, 增加甲状腺激素的分泌, 维持 TRH、TSH、甲状腺激素动态平衡。

关键词: 罗汉果提取物; 甲状腺功能减退; 性激素

文章编号: 1673-9078(2019)12-87-93

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.012

Intervention Effect of *Momordica grosvenori* Extract on Hypothyroidism Model Rats

GUO Wei¹, LIU Ming-qing¹, YAN Rui-xia¹, WANG Chen², ZHANG Qiu-yu¹

(1. Department of Health Management and Service, Cangzhou Medical College, Cangzhou 061001, China)

(2. Cangzhou People's Hospital, Cangzhou 061001, China)

Abstract: The intervention effect and mechanism of *Momordica grosvenori* extract on hypothyroidism model rats was investigated in this work. Fifty healthy SD rats were selected as normal group, 10 as normal group, and 40 as hypothyroidism model. After successful modeling, the rats were divided into model group, positive control group (1 ml/100 g 0.08% thyroid tablet suspension), low dose group (100 mg/kg *Momordica grosvenori* extract), high dose group (160 mg/kg *Momordica grosvenori* extract), 10 rats each. The levels of hypothalamus-pituitary-thyroid axis, hypothalamus-pituitary-gonadal axis factor and the expression of *Shh* signaling pathway gene were detected. The results showed that the levels of free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4), triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), thyrotropin releasing hormone (TRH) in the high dose group increased to 4.25 pmol/L, 16.58 pmol/L, 1.20 nmol/L, 56.35 nmol/L and 4.13 μ IU/mL, respectively, and Thyrotropin (TSH) decreased to 1.96 μ IU/mL, which was significantly different with other groups ($p < 0.05$). The levels of follicle-forming hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E2) and progesterone (P) of female rats in the high-dose group increased to 12.63 IU/L, 14.35 IU/L, 31.24 ng/L and 186.59 ng/L respectively, which were higher than those in the positive control group and the low-dose group ($p < 0.05$). FSH, LH and testosterone (T) increased to 10.25 IU/L, 12.35 IU/L and 369.23 ng/L in the high dose group of male rats, respectively, which were higher than those in the positive control group and the low dose group ($p < 0.05$). The mRNA expression levels of *Shh*, *Patched-1*, and *Gli-1* in the high-dose group was higher than those of the positive control group and the low-dose group ($p < 0.05$). *Momordica*

收稿日期: 2019-08-12

基金项目: 河北省科技计划项目 (16277752D)

作者简介: 郭巍 (1982-), 男, 讲师, 研究方向: 内科

通讯作者: 张秋雨 (1965-), 男, 教授, 研究方向: 中医内科

grosvenori extract can regulate abnormal thyroid biological effects by acting on *Shh* signaling pathway, improve thyroid function, increase thyroid hormone secretion, and maintain the dynamic balance of TRH, TSH and thyroid hormone.

Key words: *Momordica grosvenori* extract; hypothyroidism; sex hormones

甲状腺功能减退是由甲状腺激素合成、分泌不足或者其生理效应不足所引发的机体代谢降低的全身综合征^[1]。甲状腺类代谢疾病目前已经成为严重威胁人类生命的全球性问题,目前研究认为^[2,3]处于寒冷地带、日照时间较短、属于缺碘地区的人群患有甲状腺类疾病的几率显著增加,属于甲状腺功能减退的主要发病因素。下丘脑-垂体-甲状腺代谢轴除了具备调节甲状腺功能、调控甲状腺激素的合成分泌、保持自身平衡外,还会起到调控内环境稳态的作用,可作用调节于消化、呼吸、泌尿、内分泌、神经、循环等多个系统,而当甲状腺功能减退发生后会导致下丘脑-垂体-甲状腺代谢轴发生异常,其动态平衡被破坏,进而引起全身性疾病^[4]。目前临床上对于甲状腺功能减退的主要治疗方法为 L-T4 替代治疗,虽然此种治疗方法可在一定程度上改善患者甲状腺功能,但此种治疗较为单一,多数患者虽然激素水平得到改善,但临床症状仍然存在。因此目前临床上将治疗甲状腺功能减退的研究点转移至天然植物提取物中,且已获得初步的研究成效,如秦干等^[5]研究中证实由葡萄、虎杖等植物种所提取的多酚类化合物白藜芦醇可改善甲状腺功能减退大鼠失衡的甲状腺功能。基于上述研究的成功,在本文研究中拟认为誉有“中国奇果”相称的罗汉果提取物可改善甲状腺功能减退症状,已明确其对甲状腺功能减退的作用及作用机制,为临床上此病的治疗提供新方向。

在琳琅满目的水果中,其中最为解暑应推西瓜,最为开胃消食当推菠萝,最为润肠通便当推香蕉,最为益心养血当推龙眼,而“中国奇果”当推罗汉果。但百果均可生食,但唯独罗汉果不可生食,在食用时取罗汉果烘干果品剥碎使用沸水冲泡作茶饮或者剪水喝,味道较为甜美,且经过多次冲泡,甜味历久不衰。罗汉果属于一年种多年收的葫芦科植物罗汉果果实,又称为假苦瓜、拉汗果、光果木鳖、罗幌子等,主要分布为亚热带、热带山区^[6]。罗汉果具有多种食用功效,将罗汉果研末代食糖每次 10 g~15 g 调味食用或者取半个罗汉果剥碎,使用开水冲泡做茶饮每日 3 次可防治糖尿病;取半个罗汉果剥碎,使用开水冲泡做茶饮每日 1 次或者隔日 1 次可防治动脉硬化、高血脂;取罗汉果 15 g、象贝母 10 g,使用水煎服,每日 1 次可治痰火咳嗽;取 1 个罗汉果剥碎与胖大海 3~5 枚水煎待凉后频饮服每日 1 次可治声嘶;另外使用罗汉果

15 g~30 g 使用沸水冲泡代茶饮每日 1~2 次,便软为止,可防治便秘。罗汉果属于中国特有的经济、药用植物,罗汉果在民间的药用历史已经有三百多年,既往研究表明^[7,8],罗汉果药理作用较为广泛,具有保肝、增强免疫力、止咳、祛痰、泻下等药理作用,目前已经广泛应用于哮喘、肺结核、百日咳、气管炎及高血压等疾病的治疗中。而目前有研究将罗汉果应用于多种恶性肿瘤的干预治疗中^[9]。但是国内外关于使用罗汉果提取物对甲状腺功能减退的干预的研究还鲜有报道。因此在本文研究中对罗汉果提取物影响甲状腺功能减退的作用进行研究,为甲状腺功能减退的临床治疗提供新的思路和研究方向。

1 材料与方法

1.1 材料

研究动物:选取 50 只 SD 健康大鼠(雌雄比例为 1:1, SPF 清洁级、合格证号:SYXK(京)2014-0032),体质量(150.5±6.5)g,由中国科学院微生物研究所提供。分笼饲养,室温维持温度(26±2)℃,空气相对湿度 53%±2%。通风设置 8~14 次/h,使用标准饲料统一喂养 1 周后再进行实验。本文研究所做实验均获得我院伦理委员会批准。

主要试剂:甲状腺片(国药准字 H32021785),南京新百药业有限公司;放射免疫试剂盒,德国 Bayer CLIA 试剂盒;Trizol,美国 Invitrogen 公司;RNA 提取试剂盒、反转录 cDNA 合成试剂盒、PCR 扩增试剂盒(货号:DP422、KR103、KT109),均购于天根生化科技(北京)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及甲状腺功能减退模型建立

随机选取 50 只中 10 只大鼠作为正常组,其余 40 只参照 Kolajia 法^[10]建立甲状腺功能减退模型,给予大鼠低碘饲料,并同时喂含 1%的高氯酸钠双蒸水 19 d,续喂双蒸水 2 d。在建模后第 21 d 检测大鼠 FT3、FT4、TSH 水平, T3<1.3 nmol/L, T4<66 nmol/L, TSH>mIU/L,符合上述三项则说明建模成功。将所建立成功的甲状腺功能减退大鼠模型随机分为模型组、阳性对照组、低剂量组、高剂量组各 10 只。

1.2.2 罗汉果提取物制备及干预

参考文献^[11]提取罗汉果提取物, (1)取新鲜的罗汉果, 放入自动炒料机中进行翻炒, 粉碎, 得到罗汉果粉; (2)将柠檬、雪梨、白糖、酵母菌、水混合, 密封发酵制备提取液; (3)将罗汉果粉加入提取液中, 制取罗汉果粗提物; (4)在罗汉果粗提物中加入乙醇, 采用超声波辅助提取得到罗汉果粗提液; (5)取罗汉果粗提液进行吸附; 采用 30% 乙醇进行洗脱; (6)将洗脱液进行减压蒸馏浓缩成浸膏, 再喷雾干燥, 即可得到罗汉果提取物。建模成功后, 给予低剂量组、高剂量组大鼠罗汉果提取物干预, 分别使用 100 mg/kg、160 mg/kg 的罗汉果提取物灌胃, 阳性对照组大鼠给予 0.08% 的甲状腺片混悬液(使用研钵将甲状腺片研碎, 和生理盐水配比为 0.08% 的甲状腺片混悬液), 灌胃剂量为 1 mL/100 g, 模型组、正常组大鼠给予 4.0 mL/kg 的生理盐水灌胃。每日 1 次, 各组大鼠均高于 2 周。

1.2.3 病理学观察

随机选取各组中 1 只大鼠使用断头法处死, 迅速取甲状腺组织, 使用 4% 多聚甲醛固定, 行常规脱钙、石蜡包埋、切片处理。之后行常规 HE 染色, 观察大鼠甲状腺组织病变情况。

1.2.4 血清样本采集

各组大鼠腹腔注射 45 mg/kg 的 3% 戊巴比妥钠麻醉, 麻醉后取腹股沟动脉血 3 mL, 离心分离出血清, 之后在温度为 -20 °C 冰箱中保存, 备用。

1.2.5 下丘脑-垂体-甲状腺轴因子、下丘脑-垂体-性腺轴因子水平检测

使用放射免疫法检测各组大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴因子甲状腺素(T4)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、促甲状腺激素(TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺素释放激素(TRH)及下丘脑-垂体-性腺轴因子卵泡生成激素(FSH)、黄体生成激素(LH)、雌二醇(E2)、孕酮(P)、睾酮(T)水平。

1.2.6 Shh 信号通路基因 mRNA 表达量检测

使用断头法处死大鼠, 取大鼠脑组织, 使用 4% 多聚甲醛固定, 行脱水透明, 浸蜡包埋制成蜡块, 之后行组织切片, 切片厚度为 4 μ m, 液氮冷冻保存, 备用。使用 RT-PCR 技术检测大鼠脑组织 Shh 信号通路基因 mRNA 表达量, 取液氮冷冻保存的大鼠肾上腺皮质, 加入 1 mL Trizol 研磨为粉末状, 按照制备试剂盒说明书提取大鼠背部皮肤组织中总 RNA, 之后对 RNA 纯度、含量进行检测, 使用 Takara 逆转录试剂盒行逆转录处理后获得 cDNA, 之后使用 Primer 5.0 软件对引物序列进行设计, 使用 RT-PCR 方法检测大鼠脑组织 Shh 信号通路基因 Shh、Patched-1、

Gli-1mRNA 表达量, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算出需要检测的 Shh、Patched、Gli-1mRNA 表达量。Shh 引物序列: 上游: 5'-GAACTCCGTGGCGGGCCAAATC-3', 下游: 5'-GTCCAGGAAGGTGAGGAAGTC-3'; Patched-1 引物序列: 上游: 5'-CCATTCTTGCCC TTGGT GTTG-3', 下游: 5'-CCTCTTATCTGTCCCGT TTC AC-3'; Gli-1 引物序列: 上游: 5'-TATGTCAGGGTCCC AGGGTTATG-3', 下游: 5'-GAGCCCGCTTCTT AGTCAGTTTG-3'; 内参基因 β -actin 引物序列: 上游: 5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3', 下游: 5'-CTG GAAGGTGGACAGCGAGG-3'。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件进行分析, 计量资料采用 ($\bar{x}\pm s$) 进行描述, 多组间比较采用 F 值检验, 两组间比较采用实施独立样本 t 检验, $p < 0.05$ 则说明差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 大鼠的一般情况观察

正常组大鼠饮食、饮水正常、行动敏捷、攻击性较强、在抓捕灌胃时反抗力较大, 毛色富有光泽、大便成形、体毛紧贴皮肤、眼神光亮。模型组、阳性对照组、低剂量组、高剂量组大鼠在建模后 15 d 开始相继出现饮水、饮食减少、精神萎靡、目光无神、行动迟缓、嗜睡、畏寒蜷卧、弓背等表现, 体毛无光泽、易脱落, 竖毛, 大便干或者大便稀, 生长较为缓慢, 在抓捕灌胃时渐感大鼠皮肉松懈、反抗力较小。在灌胃治疗后阳性对照组、低剂量组、高剂量组大鼠症状有所好转, 体毛逐渐恢复光泽, 饮食、饮水、活动增加, 大便成形, 但高剂量组大鼠症状改善程度最明显。

2.2 大鼠的病理学观察

如图 1 所示, 对照组大鼠甲状腺腺泡大小一致, 腹腔中充满胶质, 间质、滤泡中无淋巴细胞浸润。模型组大鼠可见有甲状腺滤泡体积显著增大, 出现不同程度的扩张, 部分甲状腺滤泡倍破坏, 部分甲状腺滤泡合并为大滤泡, 胶质较为稀薄, 着色不匀, 间质、滤泡中存在大量的淋巴细胞浸润。阳性对照组大鼠可见有滤泡上皮细胞嗜酸性变较轻, 间质、滤泡中淋巴细胞浸润减少, 滤泡腔中胶质较为稀薄。低剂量组大鼠病变与模型组相比大部分恢复正常, 着色较为均匀, 存在少量的淋巴细胞浸润, 胶质较少。高剂量组大鼠滤泡上皮细胞嗜酸性变明显变浅, 甲状腺滤泡体积大

小适中,着色均匀,胶质略少,间质、滤泡淋巴细胞浸润显著减少。

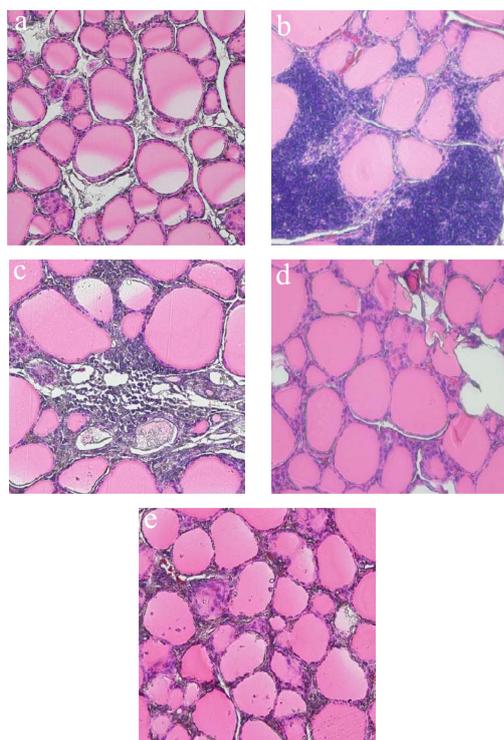


图1 各组大鼠甲状腺组织 HE 染色观察图 (×200)

Fig.1 HE staining of thyroid tissue in rats of each group

注: a: 正常组; b: 模型组; c: 阳性对照组; d: 低剂量组; e: 高剂量组。

2.3 大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴因子水平比较

罗汉果性微凉、味甘、入肾、肺、经,含有丰富的粗蛋白、纯蛋白、多种维生素、果糖以及 20 多种微量元素,具有润肺养颜、平肝等功效,近代医学研究证明,长期食用罗汉果一方面可预防肺结核、癌症的发生,另一方面还可对内分泌功能进行调节。下丘脑-垂体-甲状腺轴在人体中较为重要,可对人的生命活动、内分泌功能进行调控。有研究表明^[12],机体内的甲状腺素水平与垂体所分泌的 TSH 有关,而垂体 TSH 的分泌与下丘脑分泌 TRH 有关,当血液中的甲状腺

激素含量发生变化后会反馈至下丘脑分泌 TRH,之后下丘脑反馈至垂体分泌 TSH,三者共同构成下丘脑-垂体-甲状腺调控轴,进而维持机体内的 TRH、TSH、甲状腺激素三者的平衡。而甲状腺功能减退由多种原因导致机体甲状腺激素合成分泌不足以及甲状腺生物效应发生改变,属于一种内分泌疾病;甲状腺功能减退是指下丘脑-垂体-甲状腺轴所引起的甲状腺激素分泌不足或者机体组织对甲状腺抵抗所导致的全身性的综合征^[13]。杨婵等^[14]在其研究中发现,对甲状腺功能减退大鼠行药物干预后可通过作用于下丘脑-垂体-甲状腺轴,改善激素轴因子水平,最终改善大鼠甲状腺功能。另外冯佳等^[15]在其研究中发现,通过药物干预后可显著改善甲状腺功能减退大鼠甲状腺功能,其药物起效途径与下丘脑-垂体-甲状腺轴有关。

在本文研究中,对各组大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴因子水平进行检测,结果如表 1 所示,正常组大鼠 FT3、FT4、T3、T4、TSH、TRH 水平分别为 5.43 pmol/L、28.56 pmol/L、1.40 nmol/L、91.25 nmol/L、1.62 μIU/mL、4.52 μIU/mL,模型组大鼠 FT3、FT4、T3、T4、TRH 水平下降至 2.10 pmol/L、2.16 pmol/L、0.46 nmol/L、30.25 nmol/L、3.30 μIU/mL, TSH 水平上升至 7.35 μIU/mL; 两组相比差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。使用罗汉果提取物干预后,高剂量组大鼠 FT3、FT4、T3、T4、TSH、TRH 水平上升至 4.25 pmol/L、16.58 pmol/L、1.20 nmol/L、56.35 nmol/L、4.13 μIU/mL, TSH 水平下降至 1.96 μIU/mL; 高剂量组大鼠 FT3、FT4、T3、T4、TSH、TRH 水平高于低剂量组、阳性对照组, TSH 水平低于低剂量组、阳性对照组,差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。

上述结果说明罗汉果提取物可通过作用于下丘脑-垂体-甲状腺,调节 TRH、TSH、甲状腺激素三者之间的平衡,最终促进甲状腺的分泌,且高剂量改善效果较为显著,与上述杨婵等、冯佳等研究结果中认为药物干预治疗甲状腺功能减退的作用途径为下丘脑-垂体-甲状腺轴有关。

表 1 各组大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴因子水平比较

Table 1 Comparison of hypothalamic-pituitary-thyroid axis factor levels in rats of different groups ($\bar{x} \pm s$)							
组别	只数/n	FT3/(pmol/L)	FT4/(pmol/L)	T3/(nmol/L)	T4/(nmol/L)	TSH/(μIU/mL)	TRH/(μIU/mL)
正常组	9	5.43±0.98	28.56±3.15	1.40±0.12	91.25±16.56	1.62±0.35	4.52±0.68
模型组	9	2.10±0.01 ^a	2.16±0.35 ^a	0.46±0.01 ^a	30.25±3.56 ^a	7.35±1.56 ^a	3.30±0.09 ^a
阳性对照组	9	3.25±0.10 ^{ab}	6.24±0.98 ^{ab}	0.68±0.08 ^{ab}	35.58±5.69 ^{ab}	5.45±0.58 ^{ab}	3.65±0.01 ^{ab}
低剂量组	9	4.00±0.32 ^{abc}	10.24±2.01 ^{abc}	1.00±0.20 ^{abc}	43.25±8.24 ^{abc}	3.21±0.10 ^{abc}	4.00±0.35 ^{abc}
高剂量组	9	4.25±0.69 ^{abcd}	16.58±4.25 ^{abcd}	1.20±0.30 ^{abcd}	56.35±12.23 ^{abcd}	1.96±0.68 ^{abcd}	4.13±0.10 ^{abcd}

注: 与正常组相比, a: $p < 0.05$; 与模型组相比, b: $p < 0.05$; 与阳性对照组相比, c: $p < 0.05$; 与低剂量组相比, d: $p < 0.05$ 。下表同。

2.4 大鼠下丘脑-垂体-性腺轴因子水平比较

甲状腺与性腺功能具有一定的相关性, 研究发现当女性患有甲状腺功能减退症后会导致不同程度的卵巢活动改变, 其临床症状表现为月经不规律, 患病早期会导致月经出血增加, 患病晚期会导致月经出血减少, 之后会发生闭经、不孕或者受孕后易流产等。患有甲状腺功能减退症的男性患者则表现为阴茎、阴囊、睾丸发育不全、睾丸不降、性征不明显或者不出现以及性欲下降、精子数减少等特征^[16]。患有甲状腺功能减退后女性患者血清中 FSH、LH、E2、P 均低于正常水平, 男性患者血清中 FSH、LH、T 均低于正常水平^[17]。胡欣等^[18]在其研究中认为甲状腺功能异常与男性性腺功能减退具有一定的相关性, 其研究结果显示当

患者甲状腺功能恢复正常时, 性激素及性功能异常显著改善。何焯等^[19]在其研究中对女性患者血清性激素水平进行检测可作为早期诊断甲状腺功能减退的动态指标。

在本文研究对各组中大鼠性激素水平进行检测, 结果如表 2 所示, 正常组雌性大鼠 FSH、LH、E2、P 水平分别为 12.89 IU/L、15.96 IU/L、35.46 ng/L、213.25 ng/L, 模型组雌性大鼠 FSH、LH、E2、P 水平下降至 4.20 IU/L、5.35 IU/L、9.32 ng/L、44.15 ng/L, 两组相比差异具有统计学意义 ($p < 0.05$) 使用罗汉果提取物干预后, 高剂量组雌性大鼠 FSH、LH、E2、P 水平均上升至 12.63 IU/L、14.35 IU/L、31.24 ng/L、186.59 ng/L, 高剂量组大鼠 FSH、LH、E2、P 水平高于低剂量组、阳性对照组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。

表 2 各组雌性大鼠性激素水平比较

Table 2 Comparison of sex hormone levels in female rats of different groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数/n	FSH/(IU/L)	LH/(IU/L)	E2/(ng/L)	P/(ng/L)
正常组	4	12.89±1.25	15.96±2.12	35.46±3.28	213.25±20.12
模型组	4	4.20±0.12 ^a	5.35±0.32 ^a	9.32±1.01 ^a	44.15±10.23 ^a
阳性对照组	4	9.65±0.24 ^{ab}	11.69±1.34 ^{ab}	25.26±0.24 ^{ab}	140.23±15.23 ^{ab}
低剂量组	4	10.24±1.01 ^{abc}	12.45±0.27 ^{abc}	29.65±2.45 ^{abc}	168.29±3.24 ^{abc}
高剂量组	4	12.63±0.24 ^{abcd}	14.35±1.58 ^{abcd}	31.24±1.02 ^{abcd}	186.59±15.57 ^{abcd}

表 3 各组雄性大鼠性激素水平比较

Table 3 Comparison of sex hormone levels in male rats of different groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数/n	FSH/(IU/L)	LH/(IU/L)	T/(ng/L)
正常组	5	12.05±1.15	13.05±0.56	420.15±69.25
模型组	5	3.52±0.24 ^a	4.35±0.14 ^a	52.12±4.36 ^a
阳性对照组	5	5.62±0.10 ^{ab}	6.58±0.09 ^{ab}	162.35±12.04 ^{ab}
低剂量组	5	8.62±0.10 ^{abc}	10.32±0.25 ^{abc}	298.65±22.14 ^{abc}
高剂量组	5	10.25±0.98 ^{abcd}	12.35±1.02 ^{abcd}	369.23±43.25 ^{abcd}

上述结果说明罗汉果提取物通过调控机体甲状腺激素水平, 作用于下丘脑-垂体-性腺轴, 调控性激素水平, 最终起到改善甲状腺功能减退症状的作用, 且高剂量改善效果较为显著。但目前临床上研究实验中, 对于药物干预后可改善甲状腺功能减退大鼠下丘脑-垂体-性腺轴因子研究尚无, 仅有李承斌研究认为药物干预通过下丘脑-垂体-性腺轴, 而起到改善甲状腺功能减退的目的, 因此本文上述研究结果还需后续研究实验进一步证实。

2.5 大鼠 Shh 信号通路基因 mRNA 表达量比较

甲状腺功能减退属于一种以基础代谢降低为主要特征的内分泌疾病, 其病理变化包括精神萎靡、心率

减慢、血压降低以及肌肉无力等, 此种病变可能与大脑的海马结构功能改变或者其发育有关^[20]。有研究表明^[21], Shh 信号通路在机体生长发育中具有一定的相关性。当 Shh 信号通路中的 Shh 与 Shh 跨膜受体 Patched-1 相结合, 促进细胞膜跨膜蛋白 Smo 游离并将其激活, 当 Smo 发生游离和激活后其下游分子 Gli-1 含量会显著增加, 之后与 DNA 相结合, 对目的基因的转录起到诱导作用。O'Shaughnessy KL 等^[22]在其研究中认为, Shh 信号通路异常所引起的通路调控基因异常与甲状腺功能减退有关, 因此临床上通过调控 Shh 信号通路可起到改善甲状腺功能减退的目的。

在本文研究中对各组大鼠 Shh 信号通路基因 Shh、Patched-1、Gli-1 表达量进行检测, 结果如表 4 所示, 正常组大鼠 Shh、Patched-1、Gli-1 mRNA 表达量分别为 1.09、1.13、1.16, 模型组大鼠 Shh、Patched-1、Gli-1

mRNA 表达量均下降至 0.62、0.58、0.81, 两组相比差异具有统计学意义 ($p < 0.05$); 使用罗汉果提取物干预后, 高剂量组大鼠 Shh、Patched-1、Gli-1 mRNA 表

达量均上升至 1.00、1.06、1.12, 高剂量组大鼠 Shh、Patched-1、Gli-1 mRNA 表达量均高于阳性对照组、低剂量组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。

表 4 各组大鼠 Shh 信号通路基因 mRNA 表达量比较

Table 4 Comparison of gene expression of Shh signaling pathway in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数/n	Shh	Patched-1	Gli-1
正常组	9	1.09±0.35	1.13±0.41	1.16±0.44
模型组	9	0.62±0.10 ^a	0.58±0.09 ^a	0.81±0.20 ^a
阳性对照组	9	0.76±0.21 ^{ab}	0.69±0.15 ^{ab}	0.98±0.09 ^{ab}
低剂量组	9	0.89±0.09 ^{abc}	0.88±0.21 ^{abc}	1.02±0.10 ^{abc}
高剂量组	9	1.00±0.01 ^{abcd}	1.06±0.09 ^{abcd}	1.12±0.01 ^{abcd}

上述说明罗汉果提取物可能是通过作用于 Shh 信号通路, 调控其通路基因, 进而对甲状腺生物学效应进行调控, 最终改善甲状腺功能, 增加甲状腺激素的分泌, 且高剂量效果较为显著。姚远等^[23]在其研究中认为 Shh 信号通路基因 Shh、Patched-1、Gli-1 表达量降低后会导致甲状腺生物学效应发生改变, 其研究提示着, Shh 信号通路在甲状腺功能减退发生中具有重要的作用, 与本文研究中认为通过作用于 Shh 信号通路可改善甲状腺功能减退症状的结果一致。

3 结论

3.1 罗汉果提取物可通过作用于下丘脑-垂体-甲状腺, 调节 TRH、TSH、甲状腺激素三者之间的平衡, 最终促进甲状腺的分泌, 且呈现为剂量依赖。

3.2 罗汉果提取物通过调控机体甲状腺激素水平, 作用于下丘脑-垂体-性腺轴, 调控性激素水平, 最终起到改善甲状腺功能减退症状的作用, 且呈现为剂量依赖。

3.3 罗汉果提取物可能是通过作用于 Shh 信号通路, 调控其通路基因, 进而对甲状腺生物学效应进行调控, 最终改善甲状腺功能, 增加甲状腺激素的分泌, 且呈剂量依赖。

3.4 综上所述, 罗汉果提取物通过作用于 Shh 信号通路, 调控异常的甲状腺生物学效应, 改善甲状腺功能, 增加甲状腺激素的分泌, 维持 TRH、TSH、甲状腺激素动态平衡。

参考文献

- [1] Udovcic M, Pena R H, Patham B, et al. Hypothyroidism and the heart [J]. *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 2017, 13(2): 55-59
- [2] Centanni M, Benvenga S, Sachmechi I. Diagnosis and management of treatment-refractory hypothyroidism: An expert consensus report [J]. *J Endocrinol Invest*, 2017, 40(12):

- 1289-1301
- [3] Sridhar M, Mahadevan S, Vishwanathan L, et al. Subclinical hypothyroidism: A prospective observational study from Southern India [J]. *Indian Pediatr*, 2018, 55(3):219-221
- [4] Hume K R, Rizzo V L, Cawley J R, et al. Effects of toceranib phosphate on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in tumor-bearing dogs [J]. *J Vet Intern Med*, 2018,32(1):377-383
- [5] 秦干,徐亚运,程江群,等.白藜芦醇改善亚临床甲状腺功能减退症大鼠的学习记忆能力及其可能机制[J].*安徽医科大学学报*,2016,51(3):378-382
- QIN GAN, XU Ya-yun, CHENG Jiang-qun, et al. Resveratrol improves learning and memory in subclinical hypothyroidism rats and its possible mechanism [J]. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui*, 2016, 51(3): 378-382
- [6] 陈玉容.罗汉果提取物配合运动对血压血脂水平的改善[J].*食品研究与开发*,2017,38(7):178-181
- CEHN Yu-rong. Improvement of blood pressure and lipid level by *Momordica grosvenorii* extract combined with exercise [J]. *Food Research and Development*, 2017, 38(7): 178-181
- [7] 赵燕,刘国艳,史贤明.罗汉果水提取物及其甜甙的体内抗氧化作用[J].*食品研究与开发*,2012,33(2):174-176
- ZHAO Yan, LIU Guo-yan, SHI Xian-ming. Antioxidant activity of *Momordica grosvenorii* water extract and its glycoside *in vitro* [J]. *Food Research and Development*, 2012, 33(2): 174-176
- [8] 陈敏,王翠红.罗汉果中罗汉果皂苷提取工艺的优化及其止咳祛痰作用[J].*中成药*,2019,41(5):1129-1132
- CEHN Min, WANG Cui-hong. Optimization of extraction technology of *Siraitia grosvenorii* saponins and its antitussive and expectorant effects [J]. *Chinese Patent Medicine*, 2019, 41(5): 1129-1132
- [9] 符毓夏,王磊,李典鹏.罗汉果醇抗肿瘤活性及其作用机制

- 研究[J].广西植物,2016,36(11):1369-1375
- FU Yu-xia, WANG Lei, LI Dian-peng. Anti-tumor activity and mechanism of momordicol [J]. Guangxi Plants, 2016, 36(11): 1369-1375
- [10] Kolaja K L, Petrick J S, Klaassen C D. Inhibition of gap-junctional-intercellular communication in thyroid-follicular cells by propylthiouracil and low iodine diet [J]. Toxicology, 2000, 143(2):195-202
- [11] 广西驰胜农业科技有限公司.一种罗汉果提取物的制备方法:CN201810681469.4[P].2018-11-06
- Guangxi Chisheng Agricultural Technology Co Ltd. A method for the preparation of *Momordica grosvenorii* extract: CN201810681469.4 [P]. 2018-11-06
- [12] Swarnalatha N B, Roy N, Gouda M M, et al. High-fat, simple-carbohydrate diet intake induces hypothalamic-pituitary-thyroid axis dysregulation in C57BL/6J male mice [J]. Appl Physiol Nutr Metab, 2018, 43(4):371-380
- [13] Alcántara-Alonso V, Alvarez-Salas E, Matamoros-Trejo G, et al. Intrauterine Zn deficiency favors thyrotropin-releasing hormone-increasing effects on thyrotropin serum levels and induces subclinical hypothyroidism in weaned rats [J]. Nutrients, 2017, 9(10)
- [14] 杨婵,杨婵妃,董文然,等.温肾补虚方对甲减大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴的影响[J].中华中医药杂志,2017,32(8):3742-3745
- YANG Chan, YANG Qiang-fei, DONG Wen-ran, et al. Effect of Wenshen Buxu Prescription on hypothalamus-pituitary-thyroid axis in hypothyroidism rats [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 32(8): 3742-3745
- [15] 冯佳,马昌义,张艳珍.左甲状腺素联合多奈哌齐对成年期甲状腺功能减退症大鼠的影响及机制探讨[J].重庆医学, 2017,46(32):4484-4487,4491
- FENG Jia, MA Chang-yi, ZHANG Yan-zhen. Effect and mechanism of levothyroxine combined with donepezil on adult hypothyroidism rats [J]. Chongqing Medicine, 2017, 46(32): 4484-4487, 4491
- [16] Rodríguez-Castelán J, Del Moral-Morales A, Piña-Medina AG, et al. Hypothyroidism induces uterine hyperplasia and inflammation related to sex hormone receptors expression in virgin rabbits [J]. Life Sci, 2019, 230:111-120
- [17] Derafshpour L, Saboory E, Vafaei A A, et al. Interactive effects of exercise, sex hormones, and transient congenital hypothyroidism on long-term potentiation in hippocampal slices of rat offspring [J]. Basic Clin Neurosci, 2019, 10(2): 119-135
- [18] 胡欣,刘超.甲状腺功能异常与男性性功能减退症[J].国际内分泌代谢杂志,2015,35(2):138-140
- HU Xin, LIU Chao. Thyroid dysfunction and male hypogonadism [J]. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 2015, 35(2): 138-140
- [19] 何焯,黄平.血清性激素检测早期诊断女性甲状腺功能减退的价值[J].中国妇幼保健,2018,33(7):1499-1501
- HE Ye, HUANG Ping. The value of serum sex hormone detection in early diagnosis of female hypothyroidism [J]. Chin Matern Child Health Care, 2018, 33(7): 1499-1501
- [20] Tanaka T, Wang L, Kimura M, et al. Developmental hypothyroidism abolishes bilateral differences in sonic hedgehog gene control in the rat hippocampal dentate gyrus [J]. Toxicol Sci, 2015, 144(1): 128-137
- [21] 刘美,邓萍萍,马勋泰. Shh 信号通路在大脑皮质发育畸形发生发展中的作用机制研究进展[J].山东医药,2018,58(31): 96-99
- LIU Mei, DENG Ping-ping, MA Xun-tai. Research progress on the mechanism of Shh signaling pathway in the occurrence and development of cerebral cortical developmental malformations [J]. Shandong Medical Journal, 2018, 58(31): 96-99
- [22] O'Shaughnessy K L, Thomas S E, Spring S R, et al. A transient window of hypothyroidism alters neural progenitor cells and results in abnormal brain development [J]. Sci Rep, 2019, 9(1):4662
- [23] 姚远,汪蓓蕾,王大玮,等. Shh 信号通路相关基因表达调控甲状腺功能减退的机制[J].中国老年学杂志,2017,37(1):49-51
- YAO Yuan, WANG Bei-lei, WANG Da-wei, et al. The mechanism of Shh signaling pathway related gene expression regulating hypothyroidism [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2017, 37(1): 49-51