

预报值和实测值相关方程为  $\hat{Y} = 0.60 + 0.98X$  ( $r = 0.97$ ).

根据 Cef 腹膜吸收特点, 腹腔给药可作为一个有效的给药途径来治疗局部或全身感染, 尤适用于 CAPD 病人. 腹腔感染时, 可用 Cef 125 mg, 每天 4 次, 于置换新鲜腹透液时加入, 预测腹腔中  $C_{max}$  为  $62.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,  $C_{min}$  为  $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , 完全满足 Cef 细菌治疗学要求. 非腹腔感染时, 可以 Cef 1 g / 2 L 灌入腹腔, 预测 3 h 和 4 h 的血浓度分别为 22 和  $23 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ . 可于每日最后一次置换透析液时加入, 每日一次即可.

REFERENCES

- 1 Richards DM, Heel RC Cefuzoxime: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* 1985; 29 : 281-329
- 2 Kowalsky SF, Echols RM, Venezia AR, Andrews EA. Pharmacokinetics of ceftizoxime in subjects with various degrees of renal functions. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 24 . 151-5.
- 3 Xia WJ, Cheng ZR. MCPKP - a microcomputer program specialized for pharmacokinetic compartment analysis. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 188-92.
- 4 Li XT, Wang QN, Jiang YF. Pharmacokinetic study of ceftizoxime in man. *Chin J Antibiot* 1989; 14 : 425-31
- 5 Somani P, Shapiro RS, Stockard H, Higgins JT. Unidirectional absorption of gentamycin from the peritoneum during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Pharmacol Ther* 1982; 32 . 113-21.

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 Acta Pharmacologica Sinica 1992 Jul; 13 (4) . 380-384

380-384

地塞米松和肾上腺素对甲状腺功能亢进大鼠的肝糖原和肝胞液糖皮质激素受体的影响<sup>1</sup>

米增慧, 田英<sup>2</sup>, 丛铮<sup>3</sup>

R 933 / 66

(北京医科大学药理教研室, 北京 100083. <sup>2</sup>军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850, 中国)

Influence of dexamethasone and epinephrine on glycogen content and cytosol glucocorticoid receptors in hyperthyroid rat liver<sup>1</sup>

Mi Zeng-Hui, TIAN Ying<sup>2</sup>, CONG Zheng<sup>3</sup>  
(Department of Pharmacology, Beijing Medical University, Beijing 100083; <sup>2</sup>Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

**ABSTRACT** The influence of hyperthyroidism on the action of drugs affecting rat liver glycogen content and its mechanism were investigated. The thyroid-

induced hyperthyroidism of rat served as the model. In normal rats, dexamethasone ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , ip) increased the content of liver glycogen and decreased the  $B_{max}$  of glucocorticoid receptors (GCR) in liver cytosol. These effects were minimized or even disappeared in hyperthyroid rat models. On the other hand, in normal rats, epinephrine ( $0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , ip) decreased the content of liver glycogen. This effect was potentiated in hyperthyroid rat models. Epinephrine did not affect the  $B_{max}$  of GCR in liver cytosol of normal and hyperthyroid rats. These results suggested that hyperthyroidism may be one of the causes effecting the individual differences of drug action, and that the influence of hyperthyroidism on the glycogen-increasing action of dexamethasone correlated well with the changes in glucocorticoid receptor. The mechanism of the influence of hyperthyroidism on the glycogen-decreasing action of epinephrine is to be further explored.

Received 1991 Sep 28 Accepted 1992 Jan 29

<sup>1</sup> Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No 2230744.

<sup>3</sup> To whom correspondence should be sent.

**KEY WORDS** dexamethasone; epinephrine; hyperthyroidism; liver glycogen; glucocorticoid receptors; oxygen consumption; thyroxine

**提要** 以大鼠模型观察甲状腺功能亢进时地塞米松(Dex)和肾上腺素(Epi)对肝糖原作用的改变, 及肝胞液糖皮质激素受体(GCR)的相应变化。结果发现: 甲状腺功能亢进时, Dex 增加肝糖原含量的作用及减少肝胞液 GCR 的作用均减弱, 而且均与甲状腺(Thy)剂量呈依赖关系。提示两者之间具有相关性, 甲状腺功能亢进时, Epi 降低肝糖原含量的作用加强。

**关键词** 地塞米松; 肾上腺素; 甲状腺功能亢进; 肝糖原; 糖皮质激素受体; 耗氧量; 甲状腺素

机体功能状态不同时, 药物的作用可以有量的, 甚至质的不同。阐明此现象的机制有理论和实际意义。提高甲状腺的功能可使糖代谢的稳定性破坏。利用模拟亚临床病例特点的甲状腺功能亢进大鼠模型进行研究, 对于阐明机体功能状态不同时对药物作用的影响是有益的。本研究利用此种模型, 观察在甲状腺功能亢进时, 对肝糖原含量作用相反的两种药物—地塞米松(dexamethasone, Dex)和肾上腺素(epinephrine, Epi)作用的改变。与此同时以放射配基结合分析法测定大鼠肝胞液糖皮质激素受体(glucocorticoid receptors, GCR), 探讨发生这种改变的受体机制。

## MATERIALS AND METHODS

**大鼠** Wistar 种, ♀, 体重  $217 \pm s 32$  g, 北京医科大学动物部和军事医学科学院实验动物中心提供。

**药品** 甲状腺(thyroid, Thy)片, 济南生物化学制药厂产品。Dex 针剂, 广州白云山制药厂产品。Epi 针剂, 北京制药厂产品。甲状腺素放射免疫分析药盒和三碘甲状腺原氨酸放射免疫分析药盒, 中国原子能科学研究院产品。蕙酮, 北京化工厂产品。 $[1,2,4-^3\text{H}]\text{Dex}$ ,  $3.8 \text{ TBq} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 英国 Amersham 公司产品。Dex, 钼酸钠(sodium molybdate), 葡聚糖(dextran) T70 均为美国 Sigma 公司产品。其余均为国产 AR 或 CP 级试剂。

**大鼠耗氧量及其血清  $T_4$ ,  $T_3$  水平测定** 测定耗氧量<sup>[1]</sup>; 用放射免疫分析法<sup>[2]</sup>测定血清  $T_4$ ,  $T_3$  水平。

**大鼠肝糖原测定** 将大鼠断头, 取肝脏 100–120 mg, 加 5% 的三氯醋酸, 制成浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  的肝匀浆。过滤后, 取上清液, 用蕙酮法<sup>[3]</sup>测定肝糖原。

**大鼠肝胞液 GCR 的测定**<sup>[4,5]</sup> 大鼠断头, 由肝门静脉注入灌洗液( $\text{K}_2\text{HPO}_4$  6.7,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  6.7,  $\text{NaCl}$  150  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4) 30–40 ml, 冲去肝内血液。(以下步骤均在 0–4 °C 的条件下进行)。取 2–3 g 肝组织, 加 5 倍(wt : vol)的冰冷的磷酸缓冲液(PBS,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  均为 20  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.3。临用前加钼酸钠 10  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 0.1% 巯基乙醇)制备肝匀浆。3800 × g 离心 15 min, 取上清。39 000 × g 离心 25 min, 取上清液, 加 1/10 体积的葡聚糖包被活性碳(DCC, 葡聚糖 T70 250 mg, PBS 50 ml, 活化的活性碳 2.5 g, 搅拌 2–3 h 后使用), 振荡摇匀。5 min 后用 1100 × g 离心 10 min, 其上清液即为肝胞液。设总结合管 12 支(平行双管)与非特异结合管 6 支, 每管加肝胞液 215  $\mu\text{l}$  和  $[^3\text{H}]\text{Dex}$  25  $\mu\text{l}$ 。 $[^3\text{H}]\text{Dex}$  的浓度分别为 100, 50, 25, 12.5, 6.25 和 3.125  $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。非特异管另加相应浓度为  $[^3\text{H}]\text{Dex}$  10 000 倍的非标记 Dex 10  $\mu\text{l}$ 。总结合管另加 10  $\mu\text{l}$  无水乙醇, 使各管终体积均为 250  $\mu\text{l}$ 。混匀后在 0–4 °C 孵育 22–24 h。加 DCC 300  $\mu\text{l}$ , 摇匀, 静置 10 min 后, 1100 × g 离心 10 min, 取 200  $\mu\text{l}$  上清液加 5 ml 闪烁液(PPO 2.5 g, 甲苯 500 ml, 混匀, 放置 24 h 后使用)。避光放置一夜, 用液闪计数器(LKB 1215 型)测量其放射性。取部分肝胞液用 Coomassie brilliant blue 法<sup>[6]</sup>测定蛋白浓度。所得结果按 Scatchard 法<sup>[7]</sup>算出受体的最大结合量( $B_{\text{max}}$ )和解离常数( $K_d$ )。

## RESULTS

**甲状腺功能亢进大鼠模型** 取 Wistar ♂ 大鼠, 随机分组。对照组每天 ig 生理盐水(NS) 10  $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 给药组每天 ig 甲状腺片悬浮液(Thy) 10  $\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ (含甲状腺片 75 或 100  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 共 10 d。停药当日 4:00 pm 开始禁食。次日, 测定大鼠耗氧量和血清  $T_4$ ,  $T_3$ 。结果可见: 给 Thy 的两组大鼠, 其耗氧量比对照组分别增加 30% ( $P < 0.01$ )和 34% ( $P < 0.05$ ); 血清中  $T_4$  水平分别增加 51% ( $P < 0.05$ )和 75% ( $P < 0.01$ ); 血清  $T_3$  水平分别增加 136% ( $P < 0.05$ )和 236% ( $P < 0.05$ )。这说明: 用 Thy 建立的甲状腺功能亢进大鼠

模型是可靠的(Tab 1).

**Dex 对甲状腺功能亢进大鼠肝糖原含量的影响** 取 Wistar ♂ 大鼠, 随机分组, 分别 ig Thy 悬液或 NS, 共 10 d. 末次给药次日 8:00 am, ip Dex 或 NS, 12:00 am, ig 20% 葡萄糖 20 ml · kg<sup>-1</sup>, 2:00 pm 测定肝糖原含量. Tab 2 表明: Dex 可使正常大鼠肝糖原含量上升到对照水平的 236%. 在给予 Thy (75 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, ig × 10 d) 的基础上给 Dex, 则肝糖原含量约为对照水平的 144%. 若将 Thy 剂量增至 100 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, ig × 10 d, 则给 Dex 后肝糖原含量只有对照水平的 84%. 结果显示: 事先给不同剂量的 Thy, 可使 Dex 增加肝糖原的作用减弱, 甚至消失. 且不同剂量 Thy 的两组大鼠用 Dex 后, 肝糖原含量有显著性差异. 提示此种作用与 Thy 剂量呈正相关.

**Dex 对甲状腺功能亢进大鼠肝胞液 GCR 的影响** 取 Wistar ♂ 大鼠, 随机分组, 分别

ig Thy 或 NS, 共 10 d. 末次给药次日 8:00 am, ip Dex 或 NS, 2:00 pm, 测定肝胞液 GCR. 结果表明: 单用 Dex 可使大鼠肝胞液 GCR 的 B<sub>max</sub> 下降到对照水平的 20%. 在给予 Thy (75 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, ig × 10 d) 的基础上给 Dex, 则肝胞液 GCR 的 B<sub>max</sub> 比单用 Dex 者为高, 约为对照水平的 48%. 若将 Thy 剂量增至 100 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, ig × 10 d, 则给 Dex 后的肝胞液 GCR 的 B<sub>max</sub> 可以上升到对照水平的 83%. 且不同剂量 Thy 的两组大鼠用 Dex 后, 肝胞液 GCR 的 B<sub>max</sub> 有显著性差异. 这说明: 不同程度地提高甲状腺功能可使 Dex 降低大鼠肝胞液 GCR B<sub>max</sub> 的作用有不同程度的减弱. 其作用与 Thy 的剂量呈依赖关系. Dex 对大鼠肝胞液 GCR 的 K<sub>d</sub> 值没有明显作用. 无论正常大鼠给 Dex 还是在甲状腺功能亢进的基础上给 Dex, 均不能对肝胞液 GCR 的亲合力产生明显影响(Tab 2).

**Epi 对甲状腺功能亢进大鼠肝糖原的影响**

Tab 1. Influence of ig thyroid (Thy) on oxygen consumption and serum T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> in normal rats. n=6,  $\bar{x} \pm s$ , \*\*P<0.05, \*\*\*P<0.01 vs control.

Thyroid mg · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> × 10 d	Oxygen consumption		Serum T <sub>4</sub>		Serum T <sub>3</sub>	
	ml · kg <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup>	%	ng · ml <sup>-1</sup>	%	ng · ml <sup>-1</sup>	%
0	44.0 ± 3.2	100	43.0 ± 6.7	100	1.1 ± 0.4	100
75	57.4 ± 5.0**	130	64.8 ± 11.9*	151	2.6 ± 0.8**	236
100	58.8 ± 6.2**	134	75.1 ± 8.4***	175	3.7 ± 1.6*	336

Tab 2. Influence of dexamethasone (Dex) on glycogen and B<sub>max</sub> and K<sub>d</sub> of cytosol glucocorticoid receptors (GCR) in normal and hyperthyroid rat liver.  $\bar{x} \pm s$ , \*P>0.05, \*\*P<0.05, \*\*\*P<0.01 vs group 1 (control). †P>0.05, ††P<0.05, †††P<0.01 vs group 4. †P>0.05, ††P<0.05 vs group 5.

Group	Thy (ig) mg · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> × 10 d	Dex (ip) × 1 d	Liver glycogen (n=10)		<sup>3</sup> H]Dex specific binding (n=7)		
			mg / g wet tissue	%	B <sub>max</sub> fmol / mg <sup>2</sup> protein	%	K <sub>d</sub> nmol · L <sup>-1</sup>
1. Control			25 ± 3	100	311 ± 66	100	25 ± 7
2. Thy	75		12 ± 3***	48	532 ± 77**	171	30 ± 9*
3. Thy	100		5 ± 2***	20	740 ± 84***	238	38 ± 10*
4. Dex		5.0	59 ± 10†††	236	63 ± 25***	20	29 ± 4**
5. Thy + Dex	75	5.0	36 ± 6††††	144	149 ± 48***	48	40 ± 19**
6. Thy + Dex	100	5.0	21 ± 5†††††	84	257 ± 51†††††	83	31 ± 14**

取 Wistar 大鼠, 随机分组. ig Thy 或 NS, 10 d. 末次给药次日 8:00 am, ip 20% 葡萄糖 20 ml · kg<sup>-1</sup>. 9:30 am, 各组分别 ip Epi 或 NS. 10:00 am, 测定肝糖原含量. 结果表明: 正常大鼠给 Thy 75 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, ig × 10 d, 可使 Epi 减少肝糖原含量的作用加强 (Tab 3).

**Epi 对甲状腺功能亢进大鼠肝胞液 GCR 的影响** 取 Wistar 大鼠, 随机分组. ig Thy 或 NS, 共 10 d. 末次给药次日 9:30 am, ip Epi 或 NS. 10:00 am, 测定大鼠肝胞液 GCR. 结果可见: Epi 对正常大鼠肝胞液 GCR 的 B<sub>max</sub> 和 K<sub>d</sub> 没有明显影响. 在给予 Thy 的基础上加用 Epi 时, 肝胞液 GCR 的 B<sub>max</sub> 和 K<sub>d</sub> 与单用 Thy 组比较仍没有显著差异. 表明: 无论甲状腺功能亢进与否, Epi 对肝胞液 GCR 的数量及亲和力均无明显作用 (Tab 3).

DISCUSSION

甲状腺功能亢进时 Dex 增加大鼠肝糖原含量作用减弱, 甚至消失 (Tab 2); Epi 降低大鼠肝糖原含量的作用则加强 (Tab 3). 提示: 甲状腺功能亢进是影响 Dex 和 Epi 对肝糖原含量作用的原因之一.

糖皮质激素同甲状腺激素一样, 对机体的

糖代谢起重要作用. 糖皮质激素的作用主要是通过细胞内 GCR 来实现的. 甲状腺功能亢进时, Dex 和 Epi 对肝糖原含量作用的改变是否也是通过对肝胞液 GCR 调节来实现的? 实验证明: Dex 增加肝糖原含量的作用与肝胞液 GCR 减少直接相关. 这是因为胞浆中的 Dex 与 GCR 结合后移位到细胞核内, 由此诱导与糖原合成有关酶类活性增高而使肝糖原含量增高<sup>15,9)</sup>. 甲状腺素对发育中大鼠胰脏 GCR 具有异种调节<sup>(10)</sup>. 本文也证明连续给予 Thy 确能使大鼠肝胞液 GCR 增多. 而且, 在连续给 Thy 的基础上给 Dex 时, Dex 增加肝糖原含量和降低肝胞液 GCR 的作用均减弱. 此两者减弱程度均与 Thy 的剂量成正相关. 这提示: 甲状腺功能亢进时, Dex 增加大鼠肝糖原含量作用的减弱程度与其降低肝胞液 GCR 作用的减弱程度直接相关. 这可能因为甲状腺激素的异种调节作用, 使胞浆内 GCR 增加, 部分抵消了 Dex 使肝胞液 GCR 下调的作用. 与此同时, 甲状腺激素提高肝胞液 GCR, 又可通过影响 β 受体-腺苷酸环化酶系统活性而提高肝组织细胞对儿茶酚胺类的敏感性<sup>(11)</sup>, 使肝糖原含量减少. 这就部分抵消了 Dex 增加肝糖原含量的作用. 由此可见, 甲状腺功能亢进时, Dex 对肝糖原作用的强度改变, 至少部分是通过甲状腺激素对肝胞液

Tab 3. Influence of epinephrine (Epi) on glycogen and B<sub>max</sub> and K<sub>d</sub> of cytosol glucocorticoid receptors (GCR) in normal and hyperthyroid rat liver.  $\bar{x} \pm s$ , \*P > 0.05, \*\*P < 0.05, \*\*\*P < 0.01 vs group 1 (control). †P > 0.05, ††P < 0.05, vs group 3.

Group	Thy (ig) mg · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> × 10 d	Epi (ip) mg · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> × 1 d	Liver glycogen (n = 10)		[ <sup>3</sup> H]Dex specific binding (n = 5)		
			mg / g wet tissue	%	B <sub>max</sub> fmol / mg protein	%	K <sub>d</sub> nmol · L <sup>-1</sup>
1. Control			23 ± 3	100	306 ± 69	100	27 ± 7
2. Thy	75		12 ± 2 <sup>***</sup>	52	543 ± 88 <sup>**</sup>	177	34 ± 15 <sup>*</sup>
3. Epi		0.20	10 ± 3 <sup>**</sup>	43	269 ± 60 <sup>*</sup>	88	28 ± 14 <sup>*</sup>
4. Thy + Epi	75	0.20	5 ± 2 <sup>***††</sup>	22	503 ± 75 <sup>**††</sup>	164	36 ± 11 <sup>††</sup>

GCR 的调节来实现的。本文只是对其相关做了定性的观察。至于定量的关系，尚需研究。

Epi 对正常大鼠和甲状腺功能亢进大鼠肝胞液 GCR 的数量和亲和力均无明显影响。因此，Epi 并不直接影响肝胞液 GCR。甲状腺功能亢进时，Epi 降低肝糖原作用加强的原因可能是：甲状腺激素直接引起  $\beta$  受体增敏，加强了 Epi 降低肝糖原的作用。另外，甲状腺功能亢进时，大鼠肝胞液 GCR 增加，加强了糖皮质激素对  $\beta$  受体—腺苷酸环化酶系统的影响，也可能加强 Epi 降低肝糖原的作用。这两种作用的相互比重如何，尚待研究。

**ACKNOWLEDGMENT** 本工作得到吕宝璋教授在受体学理论和技术上的指导。

**REFERENCES**

- 1 车锡平、张言志。甲状腺及抗甲状腺药物的实验方法见：徐叔云、卞和廉、陈修，主编。药理实验方法学。第1版。北京：人民卫生出版社，1982：973-4。
- 2 Stringer BMJ, Wynford-Thomas D. Importance of maintaining species homology in thyroid hormone radioimmunoassays: modification of 'human' radioimmunoassay kits for use with rat samples. *Horm Res* 1982; 16 : 392-7.

- 3 Vies JVD. Two methods for the determination of glycogen in liver. *Biochem J* 1954; 57 : 410-21.
- 4 Rousseau GG, Baxter JD, Tomkins GM. Glucocorticoid receptors: relations between steroid binding and biological effects. *J Mol Biol* 1972; 67 : 99-115.
- 5 Shirwany TA, Hubbard JR, Kalmi M. Glucocorticoid regulation of hepatic cytosolic glucocorticoid receptors *in vivo* and its relationship to induction of tyrosine aminotransferase. *Biochim Biophys Acta* 1986; 886 : 162-8.
- 6 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72 : 248-54.
- 7 Scatchard G. The attractions of protein for small molecules and ions. *Ann NY Acad Sci* 1949; 51 : 660-77
- 8 Schmidt TJ, Litwack G. Activation of the glucocorticoid-receptor complex. *Physiol Rev* 1982; 62 : 1131-92.
- 9 Omrani GR, Rosner W, Loeb JN. Induction of hepatic tyrosine aminotransferase by physiological stress: relation to endogenous glucocorticoid secretion and cytosol receptor depletion. *J Steroid Biochem* 1980; 13 : 719-22.
- 10 Lu RB, Lebenthal E, Lee PC. Regulation of rat pancreatic glucocorticoid receptors by thyroxine during development. *Endocrinology* 1988; 123 : 2235-41
- 11 Davies AO, Lefkowitz RJ. Regulation of  $\beta$ -adrenergic receptors by steroid hormones. *Annu Rev Physiol* 1984; 46 : 119-30.

**Instructions to authors**

Please read *Acta Pharmacol Sin* 1992 Jan; 13 (1) : 3-8.  
*Br Med J* 1991 Feb 9; 302 (6772) : 388-41.  
*N Engl J Med* 1991 Feb 7; 324 (6) : 424-8.