



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103282031 A

(43) 申请公布日 2013. 09. 04

(21) 申请号 200880021537. 9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 05. 16

A61K 31/198 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 3/10 (2006. 01)

07290635. 7 2007. 05. 16 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 12. 23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2008/056076 2008. 05. 16

(87) PCT申请的公布数据

W02008/138995 EN 2008. 11. 20

(71) 申请人 约瑟夫·傅立叶大学

地址 法国格勒诺布尔

申请人 国家健康医学研究所

国家科研中心

(72) 发明人 X·勒韦尔夫 N·塔勒沃

R·法维耶

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 焦丽雅

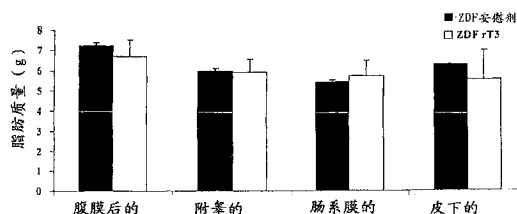
权利要求书2页 说明书33页 附图43页

(54) 发明名称

包含甲状腺激素的新药物组合物以及它们的治疗应用

(57) 摘要

本发明涉及一种药物组合物,其包括至少一种选自下列的激素作为活性物质:3',5',3-三碘甲腺原氨酸(rT3),rT3衍生的激素,或者rT3的前体,如与对促进rT3的形成敏感的分子连接的T4,联合药学上可接受的载体。



1. 一种包含至少一种激素作为活性物质联合药学上可接受的载体的药物组合物,该激素选自:

-3',5',3-三碘甲腺原氨酸(rT3),

-rT3衍生的激素,如3',3-二碘甲腺原氨酸,5',3-二碘甲腺原氨酸,3'-碘化甲腺原氨酸,5'-碘化甲腺原氨酸或3-碘化甲腺原氨酸,或者

-rT3的前体,如与对促进rT3的形成敏感的分子连接的T4。

2. 权利要求1的药物组合物,其中所述的活性物质是rT3。

3. 权利要求1到2中任一项的药物组合物,其以用于释放大约0.01 μ g/kg/天到大约250 μ g/kg/天,特别地大约0.01 μ g/kg/天到大约25 μ g/kg/天,特别地大约0.1 μ g/kg/天到大约15 μ g/kg/天的活性物质,更特别地大约0.1 μ g/kg/天到大约5 μ g/kg/天的活性物质,最特别地大约0.1 μ g/kg/天到1 μ g/kg/天的活性物质的合适形式。

4. 权利要求1或3的药物组合物,包括大约5 μ g到大约1.5g活性物质,特别地大约75mg到大约750mg活性物质的剂量单位。

5. 选自以下的至少一种激素的应用:

-3',5',3-三碘甲腺原氨酸(rT3),

-rT3衍生的激素,如3',3-二碘甲腺原氨酸,5',3-二碘甲腺原氨酸,3'-碘化甲腺原氨酸,5'-碘化甲腺原氨酸或3-碘化甲腺原氨酸,或者

-rT3的前体,如与对促进rT3的形成敏感的分子连接的T4,用于制备设计用于治疗以下疾病的药物:

-高血糖,胰岛素抗性, β 胰腺细胞功能不全,或相关的病理,

-其中胆固醇和/或甘油三酯血浆浓度高于正常浓度的病理,或血脂异常,或者

-与超重相关或与脂肪沉积过量相关的病理。

6. 权利要求5的应用,用于制备设计用于治疗选自下列病理的药物:糖尿病,特别是1或2型糖尿病, β 胰腺细胞功能不全,肥胖,超重或相关的病理,高胆固醇血症,高甘油三酯血症,血脂异常,乙醇的和非乙醇的肝性脂肪变性,动脉粥样硬化,与代谢障碍相关的肝脏疾病,胆囊病,皮下脂肪沉积,特别是蜂窝组织或血管舒缩性鼻炎。

7. 权利要求5或6的应用,其中所述的激素是rT3。

8. 权利要求1到4中任一项的药物组合物,其中所述的药学上可接受的载体指药学上可接受的固体或液体,稀释或包胶,填充或携带剂,其通常用于制备药物组合物的制药工业。

9. 权利要求1到4或8中任一项的药物组合物,适于经过口服,静脉内,肌内,皮下,经皮,鼻,腹膜内,舌下或直肠途径给药。

10. 权利要求1到4或8或9中任一项的药物组合物,其中所述的药学上可接受的载体允许连续,优选恒定释放所述活性物质。

11. 包括以下物质的产品:

-至少一种选自下列的激素:3',5',3-三碘甲腺原氨酸(rT3),rT3衍生的激素,如3',3-二碘甲腺原氨酸,5',3-二碘甲腺原氨酸,3'-碘化甲腺原氨酸,5'-碘化甲腺原氨酸或3-碘化甲腺原氨酸,或rT3的前体,如与对促进rT3的形成敏感的分子连接的T4,

-至少一种激活胰腺分泌胰岛素的活性物质,尤其选自,或者允许减慢葡萄糖的消化吸

收,作为组合产物用于同时,独立或者连续治疗糖尿病的应用。

包含甲状腺激素的新药物组合物以及它们的治疗应用

发明领域

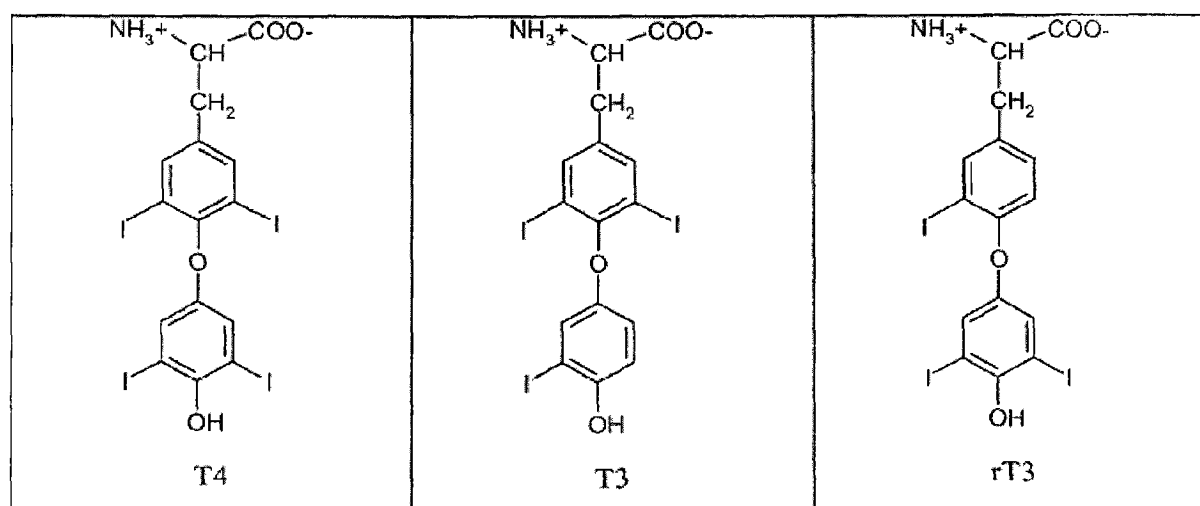
[0001] 本发明涉及包含甲状腺激素的新药物组合物以及它们的治疗应用。

[0002] 发明背景

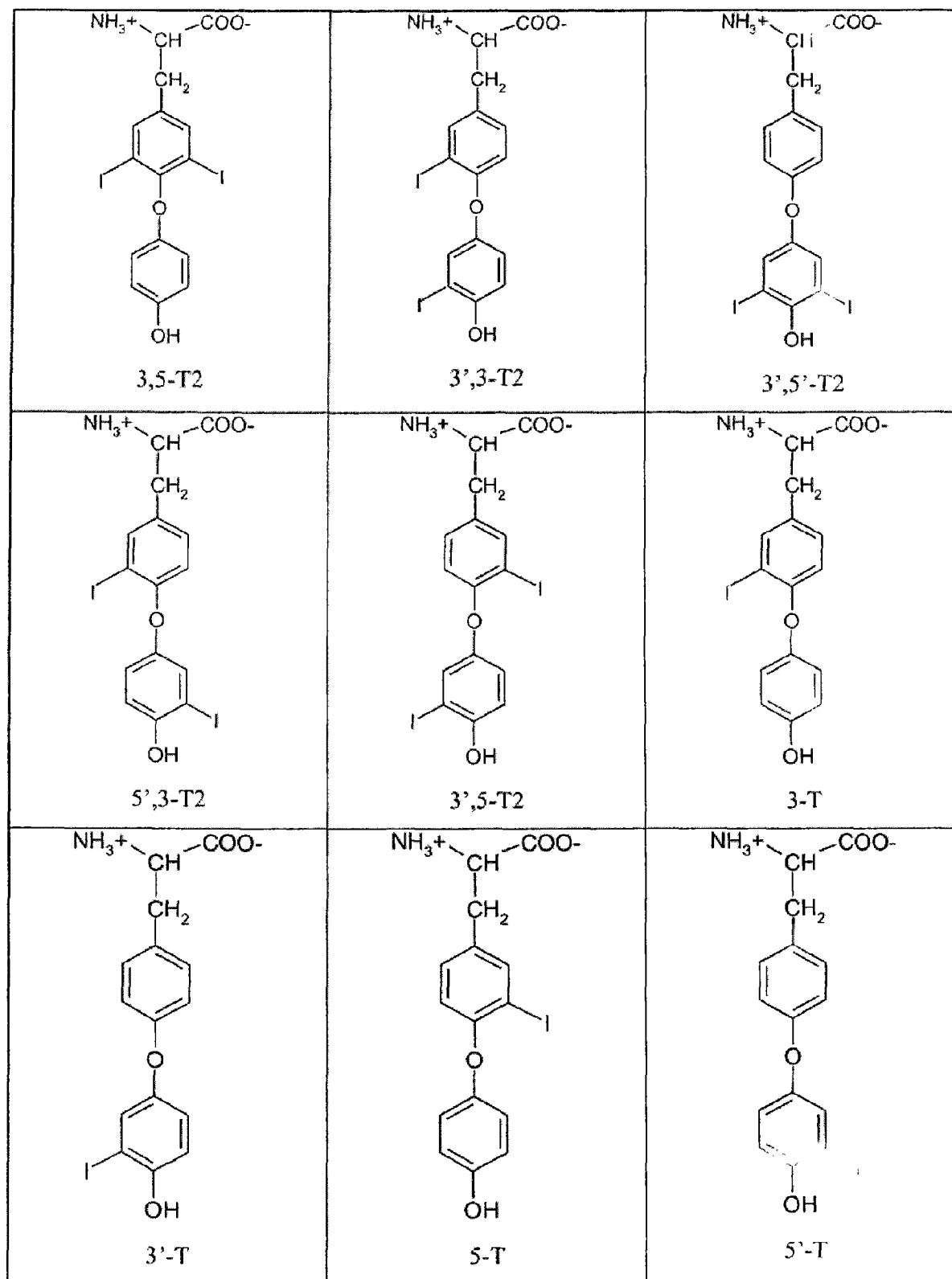
[0003] 甲状腺激素已经知道很长时间了。甲状腺激素家族是T4激素,和由T4的连续单脱碘作用产生的衍生碘化甲状腺原氨酸。Hulbert A. J 描述了T4的脱碘作用级联通道 (Biol. Rev., 2000)。T4通过外环5'-脱碘作用产生T3,或者通过内环5'-脱碘作用产生rT3。T3通过外环5'-脱碘作用产生3,5-T2,或者通过内环5'-脱碘作用产生3,3'-T2。rT3通过外环5'-脱碘作用产生3,3'-T2,或者通过内环5'-脱碘作用产生3',5'-T2。通过内环5'-脱碘作用从3,5-T2,或者通过外环5'-脱碘作用从3,3'-T2获得3-T1。通过内环5'-脱碘作用从3,3'-T2,或者通过外环5'-脱碘作用从3',5'-T2获得3'-T1。

[0004] 作为信息,表1给出了甲状腺激素家族的几个成员的化学式。

[0005]



[0006]



[0007] 表1 碘化甲腺原氨酸激素的化学式

[0008] 甲状腺激素,特别是 T3 激素的已知作用,主要是由与甲状腺激素的两个核受体, TR α -1 和 TR β -1 的结合产生的, TR α -1 和 TR β -1 属于核受体 TR- α 和 TR- β 家族,而且被认为具有不同的作用。这些受体认为是对 T3 高特异性的,特别是关于碘的数量和空间排列 (Bolger et al, J. Biol. Chem., 1980; Koerner et al., J. Biol. Chem., 1975; Dietrich

et al., J. Med. Chem., 1977)。由于甲状腺核受体的这个发现,大部分科学家已经专注于甲状腺激素的翻译转变作用。

[0009] T3 激素高效结合核受体,但是 T4 激素结合效率较低。来源于 T4 和 T3 的激素不与核受体结合 (Koerner et al., J. Biol. Chem., 1975 ;Lazar, Endocrine Rev., 1993 ; Hulbert, Bio. Rev., 2000 ;Oppenheimer, Biochimie, 1999 ;Yen, Physiol. Rev., 2001)。

[0010] T3 激素用于治疗肥胖的应用是本领域技术人员公知的。然而,由于 T3 激素严重的副作用,特别是心脏副作用,它的应用是非常有限的。甲状腺机能减退的治疗依赖于 T3, T3 可以直接使用或通过它的非常少的活性前体 T4 激素的转化体内产生 (Yen, Physiol. Rev., 2001)。T3 被认为是天然的活性甲状腺激素。

[0011] 甲状腺激素如 T3 通过核受体通道诱导的作用,是以很低的浓度观察到的生理学重要的作用。当把 T3 施用给那些没有遭受甲状腺机能减退的个体时,这些作用经常是有害的。这些作用可以认为是与核受体通道相关的“甲状腺机能亢进作用”。

[0012] 国际申请 W02005/009433 和相应的科技论文已经公开了 3,5-T2 对高能代谢的作用 (Lanni et al., The FASEB Journal, 2005)。更特别地,接受高脂肪饮食和用每天 3,5-T2 腹膜注射治疗的正常大鼠,获得低于未治疗大鼠的体重和脂肪沉积。3,5-T2 激素因此建议用于治疗肥胖和相关的病理。

[0013] rT3 激素通常被认为是非活性激素,而且认为代表甲状腺激素的灭活通道 (Yen, Physiol. Rev., 2001)。因此,增加的 rT3 血浆浓度经常发现于低 T3 综合征中。最近,已经在星形细胞的建立和构建中公开了 rT3 的大脑作用 (Farwell et al. Endocrinology, 2006)。

[0014] 在现有技术中,还从来没有公开甲状腺激素对胰岛素和血糖具有作用。

[0015] 糖尿病是一种特征为高血糖的慢性病。

[0016] 1 型糖尿病起因于分泌胰岛素的胰腺细胞的破坏。1 型糖尿病的治疗特别在于施用胰岛素。

[0017] 2 型糖尿病在群体中比 1 型糖尿病更常见,而且通常与肥胖相关。2 型糖尿病的特征为两种相互依赖的异常:胰岛素抗性,和由于对血糖过多的应答而致的降低的胰岛素产生。

[0018] 2 型糖尿病的治疗特别在于,在降低血糖和糖尿病患者的体重中,使用胰岛素的拮抗剂药物,或由 β 细胞分泌的胰岛素的拮抗剂。

[0019] 肥胖是发达国家以及发展中国家中的一个重要的公众健康问题。涉及肥胖的机理还没有真正了解。涉及肥胖的因子尤其为营养(脂肪和甜味饮食)和环境条件(物理活动,社会环境,食品利用率)。

[0020] 需要抗慢性疾病如糖尿病,肥胖和血脂异常的更有效和更合适的治疗(特别是在副作用,患者的舒适如使用频率和施用途径方面)。

发明内容

[0021] 本发明的一个目的是提供包含甲状腺激素作为活性物质的新药物组合物。

[0022] 本发明的另一个目的是提供用于治疗代谢失调的新药物组合物,其不诱导甲状腺机能亢进。

[0023] 本发明的另一个目的是提供一种用于治疗糖尿病的新的治疗类药物。

[0024] 本发明的另一个目的是提供一种用于同时,单独或连续使用的组合物产物,其设计用于治疗糖尿病。

[0025] 本发明涉及一种包含至少一种激素作为活性物质的药物组合^{1/4},该激素选自:

[0026] $-3'$, $5'$, $3'$ -三碘甲腺原氨酸(rT3),

[0027] $-rT3$ 衍生的激素,如 $3'$, $3'$ -二碘甲腺原氨酸($3'$, $3'$ -T2), $5'$, $3'$ -二碘甲腺原氨酸($5'$, $3'$ -T2), $3'$ -碘化甲腺原氨酸($3'$ -T), $5'$ -碘化甲腺原氨酸($5'$ -T) 或 $3'$ -碘化甲腺原氨酸($3'$ -T),或者

[0028] $-rT3$ 的前体,如与对促进 rT3 的形成敏感的分子连接的 T4,

[0029] 联合一种药学上可接受的载体。

[0030] 与现有技术提出 rT3 为非活性的教导相反,本发明人已经发现 rT3 激素以及它衍生的激素可被用作药物。

[0031] 而且,与其他的甲状腺激素如 T3 的作用相反,根据本发明激素的作用似乎不涉及核受体通道,因为 rT3 已知对 TH 受体具有极少的亲合力。

[0032] rT3 激素和 rT3 衍生的激素是甲状腺激素的生理型,其对于治疗甲状腺机能减退或作为甲状腺机能亢进诱导物是非活性的。与 $3,5'$ -T2 相反,这些激素不能通过 T3 获得,T3 是活性的甲状腺激素。

[0033] 根据本发明人所述, rT3, rT3 衍生的激素或 rT3 前体,首次显示具有高能活性,而且对血糖和胰岛素敏感性以及血浆浓度具有作用。

[0034] 本发明人认为使用 rT3 和它衍生的激素是获得有利的新陈代谢效应而不诱导甲状腺机能亢进的生理学方法。

[0035] 而且,本发明人认为 rT3 仅仅对糖尿病个体的血糖具有有利作用,对非糖尿病个体没有降低血糖的作用(参见实施例部分)。

[0036] 根据本发明,术语“ $3'$, $5'$, $3'$ -三碘甲腺原氨酸”指逆转 T3 或 rT3。

[0037] 通过表达“rT3 衍生的激素”,指具有至少一个碘的任何化合物,其是对通过天然存在的和/或人工方法,特别是通过除去一个或几个碘,获自 rT3 敏感的。

[0038] 通过“天然存在的方法”,特别指 rT3 衍生的激素是经过酶如碘化甲腺原氨酸脱碘酶获得的,该碘化甲腺原氨酸脱碘酶从 rT3 除去一个或几个碘。几个生物反应可能是获得想要的衍生激素所需的。

[0039] 通过表达“经过人工方法”,特别指 rT3 衍生的激素是经过化学合成,生物化学合成或重组技术获得的。

[0040] 优选的 rT3 衍生的激素是二碘甲腺原氨酸和碘化甲腺原氨酸。优选的 rT3 衍生的激素是 $3'$, $3'$ -二碘甲腺原氨酸了, $3'$, $5'$ -二碘甲腺原氨酸, $5'$, $3'$ -二碘甲腺原氨酸, $3'$ -碘化甲腺原氨酸, $5'$ -碘化甲腺原氨酸或 $3'$ -碘化甲腺原氨酸。

[0041] 通过表达“rT3 的前体”,指对提供 rT3 敏感的任何化合物。rT3 的前体可以是天然激素,合成或重组激素,或修饰的激素。

[0042] 通过表达“天然激素”,指在生物如动物或人中发现的激素,该激素是从所述生物纯化和分离的。

[0043] 通过表达“合成或重组激素”,指通过化学或生化合成或重组技术获得的激素。

[0044] 通过表达“修饰的激素”,指进行化学修饰以添加功能性基团的激素。所述的功能

性基团可以修饰所述激素的活性,或防止所述激素降解。

[0045] 在本发明的一个有利的实施方案中,rT3 的前体是 T4 激素,也称作“甲状腺氨酸”。

[0046] rT3 前体优选与对促进 rT3 形成敏感的分子联合使用。rT3 的前体和所述分子可以同时,单独或连续使用。

[0047] 特别地,当 T4 激素用作 rT3 前体时,对促进 rT3 形成敏感的所述分子是:

[0048] - 允许 rT3 激素而不是 T3 激素优先形成的甲腺原氨酸脱碘酶,或所述甲腺原氨酸脱碘酶的拮抗剂,或

[0049] - 允许 T3 激素而不是 rT3 激素优先形成的脱碘酶的拮抗剂。

[0050] 本发明尤其涉及如上所述限定的药物组合物,其中所述活性物质是 rT3。

[0051] 本发明特别涉及如上所述限定的药物组合物,其以用于释放大约 0.01 $\mu\text{g/kg/天}$ 到大约 250 $\mu\text{g/kg/天}$,特别地大约 0.01 $\mu\text{g/kg/天}$ 到大约 25 $\mu\text{g/kg/天}$,特别地大约 0.1 $\mu\text{g/kg/天}$ 到大约 15 $\mu\text{g/kg/天}$ 的活性物质,更特别地大约 0.1 $\mu\text{g/kg/天}$ 到大约 5 $\mu\text{g/kg/天}$ 的活性物质,最特别地大约 0.1 $\mu\text{g/kg/天}$ 到 1 $\mu\text{g/kg/天}$ 的活性物质释放的合适形式。

[0052] 活性物质的剂量尤其取决于给药途径,本领域技术人员很容易确定该给药途径。

[0053] 本发明更进一步涉及如上所述限定的药物组合物,包括逐渐释放大约 5 μg 到大约 1.5 μg 活性物质,特别地大约 75mg 到大约 750mg 活性物质的剂量单位,其相当于上述用于 70kg 人的 $\mu\text{g/kg/天}$ 或 mg/kg/天 的范围内的值。

[0054] 举例来说,用于治疗 70kg 人,剂量将为:

[0055] - 大约 5 μg 到大约 150mg,特别地大约 5 μg 到大约 15mg,特别地大约 50 μg 到大约 10mg,特别地大约 50 μg 到大约 3mg,最特别地大约 50 μg 到大约 500 μg 活性物质以获得 8 天治疗,

[0056] - 大约 20 μg 到大约 500mg,特别地大约 20g 到大约 50mg,特别地大约 200 μg 到大约 30mg,特别地大约 200 μg 到大约 10mg,最特别地大约 200 μg 到大约 2mg 活性物质以获得 30 天治疗,

[0057] - 大约 60 μg 到大约 1.5g,特别地大约 60 μg 到大约 150mg,特别地大约 600 μg 到大约 100mg,特别地大约 600 μg 到大约 30mg,最特别地大约 600 μg 到大约 6mg 活性物质以获得 90 天治疗。

[0058] 通过表达“剂量单位”,指包含在一个药物单位中的活性物质的量。

[0059] 取决于给药途径和药物组合物的剂型,包含在剂量单位中的活性物质可以在一段时间内快速或连续释放。药物组合物也可以是缓释药物。

[0060] 本发明的药物组合物可以在 24 小时内以一次或多次部分剂量或一个剂量施用。可以在 24 小时内同时或在不同时间摄取部分,两倍或其他多剂量。

[0061] 在一个有利的实施方案中,本发明的药物组合物以特别的剂量施用,其允许连续释放至少 24h,优选至少 1 周,更优选至少 1 个月,最优选至少 2 个月,特别是 3 个月的时间。

[0062] 本发明还涉及选自以下的至少一种激素的应用:

[0063] -3',5',3- 三碘甲腺原氨酸 (rT3),

[0064] -rT3 衍生的激素,如 3',3- 二碘甲腺原氨酸,5',3- 二碘甲腺原氨酸,3'- 碘化甲腺原氨酸,5'- 碘化甲腺原氨酸,或 3- 碘化甲腺原氨酸,或者

- [0065] -rT3 的前体,如 T4,联合对促进 rT3 形成敏感分子,
- [0066] 用于制备设计用于治疗下列疾病的药物:
- [0067] - 高血糖,胰岛素抗性,β 胰腺细胞功能不全,或相关的病理,
- [0068] - 其中胆固醇和 / 或甘油三酯血浆浓度高于正常浓度的病理,或血脂异常,或者
- [0069] - 与超重相关或与脂肪沉积过量相关的病理。
- [0070] 在一个有利的实施方案中,本发明涉及如上所述限定的应用,用于制备设计用于治疗 1 型和 2 型糖尿病,高血糖,胰岛素抗性,β 胰腺细胞功能不全或者相关的病理的药物。
- [0071] 发明人首次表明 rT3, rT3 衍生的激素或者 rT3 前体能降低血糖和胰岛素血浆浓度。
- [0072] 高血糖的特征在于空腹葡萄糖浓度高于 1.1g/l (或者 110mg/dl 或 5.5mmol/l),特别地高于 1.20g/L。rT3, rT3 衍生的激素或 rT3 前体的应用允许降低血糖到正常浓度。
- [0073] 通过表达“葡萄糖的正常浓度”,指包括从 4.4mmol/l 到 5.5mmol/l 的葡萄糖血浆浓度,“异常”血糖的定义为空腹血糖 > 5.55mmol/l,糖尿病的空腹血糖 > 6.1mmol/l (Meggs et al., Diabetes, 2003)。
- [0074] 使用如参考文献的葡萄糖氧化酶方法,通过经典血液测试测定血糖 (Yeni-Komshian et al., Diabetes Care, 2000, p171-175; Chew et al., MJA, 2006, p445-449; Wallace et al., Diabetes Care, 2004, p1487-1495)。
- [0075] rT3, rT3 衍生的激素或 rT3 前体的应用还能改善胰岛素抗性。
- [0076] 胰岛素抗性的特征在于胰岛素血浆浓度高于 8mU/l 或 60pmol/l (Wallace et al., Diabetes Care, 2004, p1487-1495)。
- [0077] 胰岛素抗性是一种其中胰岛素的正常量不足以从脂肪,肌肉和肝细胞产生应答的疾病,也即对胰岛素的生理作用的抗性。
- [0078] 它定义为在研究的群体中,胰岛素敏感性测定的最低四分值 (例如血糖钳技术期间胰岛素刺激的葡萄糖吸收) 或空腹胰岛素的最高四分值或体内平衡模型评价 (HOMA) 胰岛素抗性指数 (Alberti et al. " Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation", Diabetic Med, 1998, p539-553; Wallace et al., Diabetes Care, 2004, p1487-1495)。
- [0079] 上述活性物质的应用允许降低胰岛素血浆浓度到正常浓度,增加对胰岛素的敏感性,和改善葡萄糖和脂质的代谢。
- [0080] 通过表达“胰岛素的正常浓度”,指包括从 5 到 8mU/l (36 到 60pmol/l) 的胰岛素血浆浓度。
- [0081] 通过经典的血液测试评估胰岛素浓度 (RIA assay with human antibody; Yeni-Komshian et al., Diabetes Care, 2000, p171-175; Chew et al., MJA, 2006, p445-449; Wallace et al., Diabetes Care, 2004, p1487-1495)。
- [0082] 可通过 HOMA 测定对胰岛素的敏感性 (体内平衡模型评估) 方法 (Wallace et al., Diabetes Care, 2004, p1487-1495, see Figure 2 on page 1489)。
- [0083] 令人惊讶地,利用上述活性物质似乎能改善胰腺 β 细胞存活,和因此所述胰岛素分泌细胞的再生。

[0084] 通过胰岛素浓度的测定来评估所述细胞的再生 (RIA assay with human antibody; Yeni-Komshian et al., Diabetes Care, 2000, p171-175; Chew et al., MJA, 2006, p445-449; Wallace et al., Diabetes Care, 2004, p1487-1495)。

[0085] 对 ZDF 大鼠获得的结果表明, 用 rT3 治疗诱导降低葡萄糖浓度, 并增加血浆胰岛素浓度。

[0086] 在 Goto-Kakizaki (GK) 大鼠中, 其是一种 2 型糖尿病的遗传模型, 在胎儿时期就存在 β 细胞量的限制, 这种限制保持到成熟动物中。 β 细胞量的限制被认为是在该模型中导致显性糖尿病的程序中的关键事件。相较于非糖尿病的 Wistar 大鼠, 在 GK 模型中, 细胞再生的效率较低。GK 大鼠中的这种缺陷, 是由于改变的 β 细胞再生潜能的遗传倾向性和环境因子如慢性高血糖的结果, 慢性高血糖导致成年动物特异性的降低的 β 细胞增殖能力。这些结果描述于 Movassat 等, Diabetologia, 1997, p916-925 和 Plachot 等, Histochem Cell Biol., 2001, p131-139 中, 以其全部内容引入这里作为参考。

[0087] 假设慢性高血糖诱导胰腺 β 细胞的破坏, 从而降低的胰岛素分泌, 恢复的正常胰岛素浓度意味着 β 细胞再生。

[0088] 通过 HOMA 方法, 可以使 β 细胞的功能量与胰岛素分泌的水平相关。根据动物模型, 本领域技术人员可以设想进行胰腺质量的直接评估。

[0089] 根据另一个实施方案, 本发明涉及上述限定的应用, 用于制备设计用于治疗其中胆固醇和 / 或甘油三酯血浆浓度高于正常浓度的病理, 或血脂异常, 或者与超重相关或与脂肪沉积过量相关的病理的药物。

[0090] 胆固醇浓度高于正常浓度意味着血浆浓度高于 2.5g/l。

[0091] 甘油三酯浓度高于正常浓度意味着血浆浓度高于 2g/l。

[0092] 血脂异常的特征在于甘油三酯浓度高于 1.7mmol/l, 和 / 或 HDL- 胆固醇含量低于 1mmol/l (男性) 或 1.3mmol/l (女性) (Chew, MJA, 2006, p445-449, 参见标题 "Clinical definitions of the metabolic syndrome")。

[0093] 脂肪沉积过量的特征在于体重指数: (重量, kg / 身高, m^2) 高于 25kg/ m^2 , 肥胖的特征为体重指数高于 30kg/ m^2 。

[0094] 本发明进一步涉及上述限定的应用, 用于制备设计用于治疗选自下列的病理的药物: 糖尿病, 特别是 1 型或 2 型糖尿病, β 胰腺细胞功能不全, 肥胖, 超重或相关的病理, 高胆固醇血症, 高甘油三酯血症, 血脂异常, 乙醇和非乙醇肝脂质沉着症, 动脉粥样硬化, 与代谢异常相关的肝脏疾病, 胆囊病, 皮下脂肪沉积, 特别是蜂窝组织或血管舒缩性鼻炎。

[0095] 在一个有利的实施方案中, 本发明涉及如下所述的应用, 其中所述激素是 rT3。

[0096] 本发明尤其涉及如上所述限定的药物组合物, 其中所述药学上可接受的载体指药学上可接受的固体或液体, 稀释或包胶, 填充或携带剂, 其通常用于制备药物组合物的制药工业。

[0097] 本发明涉及如上所述限定的药物组合物, 适于通过口服, 静脉内, 肌内, 皮下, 经皮, 鼻, 腹膜内, 舌下或直肠路径给药。

[0098] 在口服路径中, 药物口服施用, 特别是以片剂, 糖衣片剂, 丸剂, 糖浆或酏剂, 糖衣丸, 锭剂, 糖锭, 含水或含油混悬液, 液体溶液, 可分散性粉剂或颗粒, 乳液, 硬或软胶囊的形状。

[0099] 在静脉或系统路径中,通过单次注射或经过连续灌输,最终经过泵,把药物施用到血液中。

[0100] 在皮肤路径中,把药物用于皮肤。剂型可以是软膏剂,乳剂,洗液,溶液,粉末或凝胶。

[0101] 在皮下路径中,可以把药物直接注射到正好皮肤下面的脂肪组织中,或者把药物包含在嵌入皮肤下的胶囊中。

[0102] 在经皮路径中,药物通过皮肤到达血液而不需要注射。特别地,药物包含在用于皮肤的贴剂中。关于小片的剂型,药物可以与化学制品如乙醇混合以增强皮肤渗透。

[0103] 剂型包括速释,延长释放,脉冲释放,可变释放,控释,定时释放,持续释放,延迟释放,长效作用及其组合。

[0104] 剂型包括,非限制性的,片剂,多层片剂,双层片剂,咀嚼药片,迅速溶解片剂,泡腾片剂,糖浆,混悬液,乳液,胶囊,软胶囊,硬胶囊,糖锭,咀嚼糖锭,珠子,粉末,颗粒剂,颗粒,微粒,可分散的颗粒,扁囊剂,乳剂,局部用剂,贴剂,植入物,可注射剂(包括皮下,肌内,静脉内和皮内),灌输剂。

[0105] 在本发明的一个有利的实施方案中,药物组合物适于经皮,特别是通过贴剂施用。

[0106] 在一个有利的实施方案中,药物组合物的施用部分避免药物通过肝脏,肝脏容许激素的严重降解。

[0107] 在本发明的另一个有利的实施方案中,药物组合物适于皮下给药,特别是通过注射到皮肤下面的胶囊剂给药。

[0108] 本发明还涉及一种如上所述限定的药物组合物,其中所述的药学上可接受的载体允许连续,优选恒定释放所述活性物质,该活性物质选自:

[0109] $-3'$, $5'$, 3- 三碘甲腺原氨酸 (rT3),

[0110] $-rT3$ 衍生的激素,如 $3'$, 3- 二碘甲腺原氨酸 ($3'$, 3-T2), $5'$, 3- 二碘甲腺原氨酸 ($5'$, 3-T2), $3'$ - 碘化甲腺原氨酸 ($3'$ -T), $5'$ - 碘化甲腺原氨酸 ($5'$ -T) 或 3- 碘化甲腺原氨酸 (3-T), 或者

[0111] $-rT3$ 的前体,如与对促进 rT3 形成敏感的分子连接的 T4。

[0112] 连续,优选恒定释放活性物质允许获得:

[0113] - 相较于通过另外的给药模式获得结果,对代谢失调增加的作用,或

[0114] - 在以前没有阳性结果的动物模型中,对代谢失调新观察到的作用。

[0115] 通过表达“连续释放”,指在至少 24 小时,优选至少 1 个月,最优选至少 2 个月,尤其是 3 个月,连续释放药物。而且,本发明的连续释放可能对应于不连续释放。实际上一次释放可以与另一次释放间隔一个短的时间间隔,以便在两次释放之间,药物浓度在血液中基本上保持恒定,或者在血液中保持足够有效的量。该短的时间间隔例如 10s 到 3 小时,优选 1 分钟到 2 小时,更优选 5 分钟到 1 小时。

[0116] 通过表达“恒定释放”,指在至少 24 小时,优选至少 1 个月,最优选至少 2 个月,尤其是 3 个月,连续释放药物,释放的药物的量/时间单位基本上是恒定的。

[0117] 例如通过贴剂或使用注射到皮肤下的胶囊来获得连续和恒定释放。而且,也可以使用连续释放激素,并放置于皮肤下的电注射器,或电泵。注射器或泵也可以置于腹膜腔中。

[0118] 而且,可以通过药物的控释(CR)剂型来提供连续和恒定释放。

[0119] 控释剂型允许随时间缓慢释放药物,以便药物浓度在血液中基本上保持恒定,或者在血液中保持足够有效的量。

[0120] 例如可以制备控释药物,以便活性组分可以包埋到不溶物质(例如,一些丙烯酸树脂,几丁质,PEG(聚乙二醇).....),或者缓慢降解的物质的基质中。为了被释放,药物必须找到从基质中的洞出去的方式。在一些控释剂型中,基质膨胀形成凝胶,而且药物必须溶于基质以便扩散于基质外表面中。

[0121] 在另一个实施方案中,本发明的rT3,rT3衍生的激素和rT3前体,与另一种甲状腺激素,如3,5-T2或3',5-T2同时,单独或连续联合使用。

[0122] 本发明还涉及一种产物,其包括:

[0123] -至少一种选自3',5',3-三碘甲腺原氨酸(rT3),rT3衍生的激素,如3',3-二碘甲腺原氨酸,5',3-二碘甲腺原氨酸,3'-碘化甲腺原氨酸,5'-碘化甲腺原氨酸,或3-碘化甲腺原氨酸,或rT3前体,如与对促进rT3形成敏感的分子连接的T4的激素,

[0124] -激活胰岛素的胰液分泌的至少一种活性物质,特别选自抗糖尿病的口服药物,或者允许减慢葡萄糖的消化吸收的至少一种活性物质,

[0125] 作为用于同时,单独或连续使用的组合物产物,其设计用于治疗糖尿病。

[0126] 本发明还涉及营养或食品组合物,其包括至少一种选自以下的激素:

[0127] -3',5',3-三碘甲腺原氨酸(rT3),

[0128] -rT3衍生的激素,如3',3-二碘甲腺原氨酸,5',3-二碘甲腺原氨酸,3'-碘化甲腺原氨酸,5'-碘化甲腺原氨酸或3-碘化甲腺原氨酸,或者

[0129] -rT3的前体,如与对促进rT3形成敏感的分子连接的T4。

[0130] 本发明还涉及一种用于改善肉类品质,尤其是猪肉品质的方法,其通过控制脂肪组织与瘦肉组织质量之间的比例,尤其是通过:

[0131] -相较于用正常饮食饲养的动物的脂肪组织质量,降低动物中的脂肪组织质量,和

[0132] -相较于用正常饮食饲养的动物的瘦肉组织质量,保持或增加瘦肉组织的质量,

[0133] 通过施用营养或食品组合物,其包括至少一种选自以下的激素:

[0134] -3',5',3-三碘甲腺原氨酸(rT3),

[0135] -rT3衍生的激素,如3',3-二碘甲腺原氨酸,5',3-二碘甲腺原氨酸,3'-碘化甲腺原氨酸,5'-碘化甲腺原氨酸或3-碘化甲腺原氨酸,或者

[0136] -rT3的前体,如与对促进rT3形成敏感的分子连接的T4。

附图说明

[0137] 在下面的附图中,星号或星(*)表示p值<0.05,或者特定标明的p值的显著结果。

[0138] 高剂量激素对应于25μg/100g体重(BW),低剂量激素对应于体重(BW)的2.5μg/100g,超低剂量对应于体重的0.25μg/100g。

[0139] 图1A和1B

[0140] 用高剂量的rT3或3,3'-T2治疗的Wistar大鼠的生长率(体重(BW)的25μg/100g)

[0141] 图 1A 和 1B 表示 21 天内相对于时间（以天）的大鼠的重量（以 g）。用甲状腺激素处理的大鼠的重量以白色矩形的曲线表示，用安慰剂处理的大鼠的重量用黑色菱形表示。

[0142] 图 1A：大鼠用 rT3 处理。

[0143] 图 1B：大鼠用 3,3'-T2 处理。

[0144] 图 2A 和 2B

[0145] 用高剂量的 rT3 或 3,3'-T2 (25 μ g/100g BW) 处理的 Wistar 大鼠的食物摄入

[0146] 图 2A, 2B 和 2C 表示 21 天内相对于时间（以天）的大鼠的食物摄入，以克 / 天计。用甲状腺激素处理的大鼠的食物摄入以白色矩形的曲线表示，用安慰剂处理的大鼠的食物摄入用黑色菱形表示。

[0147] 图 2A：大鼠用 rT3 处理。

[0148] 图 2B：大鼠用 3,3'-T2 处理。

[0149] 图 3A 和 3B

[0150] 用高剂量的 rT3 或 3,3'-T2 (25 μ g/100g BW) 处理的 Wistar 大鼠的能量消耗

[0151] 图 3A 和 3B 表示相对于时间（以分钟）的大鼠的能量消耗 (EE)，以千卡 / 天 / kg^{0.75}。用甲状腺激素处理的大鼠的能量消耗以白色三角形（图 3A）或白色菱形（图 3B）的曲线表示，用安慰剂处理的那些大鼠的能量消耗以黑色圆形表示。

[0152] 水平黑线表示大鼠处于黑暗的时间。

[0153] 图 3A：大鼠用 rT3 处理。

[0154] 图 3B：大鼠用 3,3'-T2 处理。

[0155] 图 4A 和 4B

[0156] 用高剂量的 rT3 或 3,3'-T2 (25g/100g BW) 处理的 Wistar 大鼠的呼吸商 (RQ)。

[0157] 图 4A 和 4B 表示相对于时间（以分钟）的大鼠的呼吸商。用甲状腺激素处理的大鼠的呼吸商以白色三角形（图 4A）或白色菱形（图 4B）的曲线表示，用安慰剂处理的那些大鼠的呼吸商以黑色圆形表示。

[0158] 水平黑线表示大鼠处于黑暗的时间。

[0159] 图 4A：大鼠用 rT3 处理。

[0160] 图 4B：大鼠用 3,3'-T2 处理。

[0161] 图 5A, 5B 和 5C

[0162] 用高剂量 rT3 处理的 Wistar 大鼠的脂肪组织，骨骼肌和棕色脂肪组织的质量和相对质量 (250 μ g/kg BW)。

[0163] 用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示，用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0164] 星号相应于 p 值 < 0.01。

[0165] 图 5A：上面的图给出了不同脂肪组织（腹膜后的，附睾的，肠系膜的和皮下脂肪）的质量 (g)，下面的图给出了这些脂肪组织的相对质量 (g/100g BW)。

[0166] 图 5B：左边的图给出了骨骼肌（比目鱼肌和跖肌）的质量 (g)，右边的图给出了这些肌肉的相对质量 (mg/100g BW)。

[0167] 图 5C：左边的图给出了肩胛间棕色脂肪组织的质量 (g)，右边的图给出了这些组织的相对质量 (g/100g BW)。

[0168] 图 6A, 6B 和 6C

[0169] 用高剂量 3,3'-T2 (250g/kg BW) 处理的 Wistar 大鼠的脂肪组织, 骨骼肌和棕色脂肪组织的质量和相对质量。

[0170] 用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0171] 星号相应于 p 值 < 0.01 。

[0172] 图 6A : 上面的图给出了不同脂肪组织 (腹膜后的, 附睾的, 肠系膜的和皮下脂肪) 的质量 (g), 下面的图给出了这些脂肪组织的相对质量 (g/100g BW)。

[0173] 图 6B : 左边的图给出了骨骼肌 (比目鱼肌和跖肌) 的质量 (g), 右边的图给出了这些肌肉的相对质量 (mg/100g BW)。

[0174] 图 6C : 左边的图给出了肩胛间棕色脂肪组织的质量 (g), 右边的图给出了这些组织的相对质量 (g/100g BW)。

[0175] 图 7A, 7B, 7C 和 7D

[0176] 用 250g/kg BW/ 天的 rT3 或 3,3'-T2 处理的动物的肝或粒体氧消耗速率 (J_{O_2} , 以 nmol 表示的 O_2 /min/mg 蛋白)。

[0177] 使用利用不同基质孵育的线粒体进行测定 (1.0mg 线粒体蛋白 /ml) :

[0178] -GM : 谷氨酸盐 / 苹果酸盐 (5mM/2.5mM)

[0179] -SR : 琥珀酸盐 / 鱼藤酮 (5mM/5 μ M),

[0180] -GMS : 谷氨酸盐 / 苹果酸盐 / 琥珀酸盐 (5mM/2.5mM/5mM),

[0181] -Palm : 棕榈酰肉毒碱 (55 μ M),

[0182] -Octa : 辛酰基肉毒碱 (100 μ M),

[0183] -TMPD/ 抗坏血酸 (0.5mM/0.5mM) 和

[0184] -TMPD/ 抗坏血酸 /DNP (0.5mM/0.5mM/75 μ M) OK

[0185] 在存在基质, 和添加 1mM ADP (腺苷二磷酸) 之后, 记录 J_{O_2} (状态 3)。

[0186] 添加寡霉素到线粒体混悬液中, 以确定非磷酸化呼吸速率 (状态 4)。

[0187] 用甲状腺激素处理的大鼠的氧消耗以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的氧消耗以黑色表示。

[0188] 星号相应于 p 值 < 0.01 。

[0189] 图 7A : 用 rT3 处理的大鼠获得的结果, 状态 4。

[0190] 图 7B : 用 3,3'-T2 处理的大鼠获得的结果, 状态 4。

[0191] 图 7C : 用 rT3 处理的大鼠获得的结果, 状态 3。

[0192] 图 7D : 用 3,3'-T2 处理的大鼠获得的结果, 状态 3。

[0193] 图 8A, 8B, 8C 和 8D

[0194] 用 250g/kg BW/ 天的 rT3 或 3,3'-t2 处理的 Wistar 大鼠的肌肉线粒体氧消耗速率 (J_{O_2} , 以 nmol 表示的 O_2 /min/mg 蛋白)。

[0195] 使用利用不同基质孵育的线粒体进行所有测定 (0.2mg 线粒体蛋白 /ml) :

[0196] -GM : 谷氨酸盐 / 苹果酸 (5mM/2.5mM)

[0197] -SR : 琥珀酸盐 / 鱼藤酮 (5mM/5 μ M),

[0198] -GMS : 谷氨酸盐 / 苹果酸盐 / 琥珀酸盐 (5mM/2.5mM/5mM),

- [0199] -Palm :棕榈酰肉毒碱 (55 μ M), 和
- [0200] -Octa :辛酰基肉毒碱 (100 μ M)。
- [0201] 在存在基质, 和添加 1mM ADP (腺苷二磷酸) 之后, 记录 JO_2 (状态 3)。
- [0202] 添加寡霉素到线粒体混悬液中, 以确定非磷酸化呼吸速率 (状态 4)。
- [0203] 用甲状腺激素处理的大鼠的氧消耗以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的氧消耗以黑色表示。
- [0204] 星号相应于 p 值 < 0.01。
- [0205] 图 8A :用 rT3 处理的大鼠获得的结果, 状态 4。
- [0206] 图 8B :用 3,3' -T2 处理的大鼠获得的结果, 状态 4。
- [0207] 图 8C :用 rT3 处理的大鼠获得的结果, 状态 3。
- [0208] 图 8D :用 3,3' -T2 处理的大鼠获得的结果, 状态 3。
- [0209] 图 9A 和 9B
- [0210] 用低剂量 rT3 (25 μ g/kg BW/天) 处理的 Wistar 大鼠的肝线粒体氧消耗速率 (JO_2 , 以 nmol 表示的 O_2 /min/mg 蛋白)。
- [0211] 用甲状腺激素处理的大鼠的氧消耗以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的氧消耗以黑色表示。
- [0212] 使用利用不同基质孵育的线粒体进行所有测定 (1.0mg 线粒体蛋白 /ml) :
- [0213] -GM :谷氨酸盐 / 苹果酸 (5mM/2.5mM)
- [0214] -SR :琥珀酸盐 / 鱼藤酮 (5mM/5 μ M),
- [0215] -GMS :谷氨酸盐 / 苹果酸盐 / 琥珀酸盐 (5mM/2.5mM/5mM),
- [0216] -Palm :棕榈酰肉毒碱 (55 μ M),
- [0217] -Octa :辛酰基肉毒碱 (100 μ M),
- [0218] -TMPD/ 抗坏血酸 (0.5mM/0.5mM) 和
- [0219] -TMPD/AsC/DNP :TMPD/ 抗坏血酸 /DNP (0.5mM/0.5mM/75 μ M)
- [0220] 星号相应于 p 值 < 0.01。
- [0221] 图 9A :在存在基质, 和添加 1mM ADP 之后, 记录 JO_2 (状态 3)。
- [0222] 图 9B :添加寡霉素之后记录 JO_2 , 以确定非磷酸化呼吸速率 (状态 4)。
- [0223] 图 10A, 10B, 10C, 10D 和 10E
- [0224] 用 250 μ g/kg BW/天的 rT3 或 3,3' -T2 处理的 Wistar 大鼠的葡萄糖, 甘油三酯, 胆固醇, FFA (游离脂肪酸) 和 HDL (高密度脂蛋白) 的血浆浓度。
- [0225] 在处死当天对大鼠的静脉血进行这些测定。
- [0226] 用 rT3 处理的大鼠的结果以白色表示, 用 3,3-T2 处理的大鼠的结果以灰色表示, 用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。
- [0227] 星号相应于 p 值 < 0.01。
- [0228] 图 10A :葡萄糖 (mmol/l)
- [0229] 图 10B :甘油三酯 (TG) (g/l)
- [0230] 图 10C :胆固醇 (g/l)
- [0231] 图 10D :FFA (mol/l)
- [0232] 图 10E :HDL (g/l)

[0233] 图 11A, 11B, 11C 和 11D

[0234] 用高剂量 rT3 (25 μ g/kg BW) 处理之后第 0 天和第 8 天 Wistar 大鼠的重量。用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0235] 图 11A : 连续和恒定施用 (皮下注射小球)

[0236] 图 11B : 每天腹膜内 (IP) 注射

[0237] 图 11C : 每天口服摄取 (per os)

[0238] 图 11D : 每天皮下 (sc) 注射

[0239] 图 12A, 12B, 12C, 12D

[0240] 处理 8 天之后, 用高剂量 rT3 (25 μ g/kg BW) 处理的 Wistar 大鼠的脂肪组织的质量。用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0241] 图 12A : 连续和恒定施用 (皮下注射小球)

[0242] 图 12B : 每天腹膜内 (IP) 注射

[0243] 图 12C : 每天口服摄取 (per os)

[0244] 图 12D : 每天皮下 (sc) 注射

[0245] 图 13A, 13B, 13C, 13D

[0246] 处理 8 天之后, 用高剂量 rT3 (25 μ g/kg BW) 处理的 Wistar 大鼠的棕色脂肪组织的质量。用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0247] 图 13A : 连续和恒定施用 (皮下注射小球)

[0248] 图 13B : 每天腹膜内 (IP) 注射

[0249] 图 13C : 每天口服摄取 (per os)

[0250] 图 13D : 每天皮下 (sc) 注射

[0251] 图 14A, 14B, 14C, 14D

[0252] 处理 8 天之后, 用高剂量 rT3 (25 μ g/kg BW) 处理的 Wistar 大鼠的骨骼肌的质量。用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示, 用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0253] 图 14A : 连续和恒定施用 (皮下注射小球)

[0254] 图 14B : 每天腹膜内 (IP) 注射

[0255] 图 14C : 每天口服摄取 (per os)

[0256] 图 14D : 每天皮下 (sc) 注射

[0257] 图 15A, 15B, 15C, 15D

[0258] 用高剂量 rT3 (25 μ g/kg BW) 处理的 Wistar 大鼠的能量消耗。图 15A, 15B, 15C, 15D 表示相对于时间 (以分钟) 的大鼠的能量消耗 (EE), 以 $\text{Kcal}/\text{天}/\text{kg}^{0.75}$ 计。用甲状腺激素处理的大鼠的能量消耗以黑色四方形曲线表示, 用安慰剂处理的大鼠的能量消耗以白色圆形表示。

[0259] 图 15A : 连续和恒定施用 (皮下注射小球)

[0260] 图 15B : 每天腹膜内 (IP) 注射

[0261] 图 15C : 每天口服摄取 (per os)

[0262] 图 15D : 每天皮下 (sc) 注射

[0263] 图 16A, 16B, 16C, 16D

[0264] 用高剂量 rT3 (25 μ g/100g BW) 处理的 Wistar 大鼠的呼吸商。图 16A, 16B, 16C, 16D 表示相对于时间 (以分钟) 的大鼠的呼吸商。用甲状腺激素处理的大鼠的呼吸商以黑色四方形曲线表示, 用安慰剂处理的大鼠的呼吸商以白色圆形表示。

[0265] 图 16A : 连续和恒定施用 (皮下注射小球)

[0266] 图 16B : 每天腹膜内 (IP) 注射

[0267] 图 16C : 每天口服摄取 (per os)

[0268] 图 16D : 每天皮下 (sc) 注射

[0269] 图 17 :

[0270] 血液 rT3 剂量。测定通过腹膜内注射 (IP, 四方形), 口服摄取 (per os, 三角形) 或皮下注射 (sc, 星形), 用高剂量 rT3 处理的 Wistar 大鼠 24 小时的 rT3 浓度。在用安慰剂 (菱形) 处理的动物中测定基线 rT3 水平。

[0271] 图 18

[0272] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的第 0 天, 和 8, 16 和 21 天之后, ZDF 大鼠的血液葡萄糖浓度。用安慰剂处理的动物的葡萄糖浓度以黑色表示, 用低剂量 rT3 处理的动物的葡萄糖浓度以白色表示。星号 (*) 表示显著差异。

[0273] 图 19

[0274] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的第 0 天, 和 8, 16 和 21 天之后, ZDF 大鼠的血液胰岛素浓度。用安慰剂处理的动物的胰岛素浓度以黑色表示, 用低剂量 rT3 处理的动物的胰岛素浓度以白色表示。星号 (*) 表示显著差异。

[0275] 图 20

[0276] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理 (白色) 或用安慰剂处理 (黑色) X 天以后, ZDF 大鼠的胰腺质量, 以克计算。

[0277] 图 21

[0278] 用安慰剂 (左) 或用低剂量 rT3 (右) 处理 21 天的 ZDF 大鼠的摄影。

[0279] 图 22

[0280] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理第 0 天, 和 8, 16 和 21 天之后, ZDF 大鼠的体重 (g)。用 rT3 处理的 ZDF 大鼠的质量以白色四方形表示, 用安慰剂处理的 ZDF 大鼠的质量以黑色菱形表示。

[0281] 图 23

[0282] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理第 0 天, 和 8, 16 和 21 天之后, ZDF 大鼠的食物摄入 (g/天)。用 rT3 处理的 ZDF 大鼠的食物摄入以白色四方形表示, 用安慰剂处理的 ZDF 大鼠的食物摄入以黑色菱形表示。

[0283] 图 24

[0284] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的 ZDF 大鼠的能量消耗。用甲状腺激素处理的 ZDF 大鼠的能量消耗以白色四方形曲线表示, 用安慰剂处理的 ZDF 大鼠的能量消耗以黑色菱形表示。

[0285] 图 25

[0286] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的 ZDF 大鼠的呼吸商 (RQ)。用甲状腺激素处理的大鼠的呼吸商以白色四方形曲线表示, 用安慰剂处理的大鼠的呼吸商以黑色菱形表

示。

[0287] 图 26

[0288] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的 ZDF 大鼠的脂肪组织质量。用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0289] 图 27

[0290] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的 ZDF 大鼠的棕色脂肪组织质量。用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0291] 图 28

[0292] 用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的 ZDF 大鼠的骨骼肌质量。用甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0293] 图 29

[0294] 用 2.5 μ g/100g BW rT3 处理的 ZDF 大鼠中的血浆 FFA 浓度(游离脂肪酸)。在处死当天对大鼠的静脉血进行这些测定。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。星号(*)表示显著差异。

[0295] 图 30

[0296] 用 2.5 μ g/100g BW rT3 处理的 ZDF 大鼠中的血浆甘油三酯浓度。在处死当天对大鼠的静脉血进行这些测定。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。星号(*)表示显著差异。

[0297] 图 31

[0298] 用 2.5 μ g/100g BW rT3 处理的 ZDF 大鼠中的血浆胆固醇浓度。在处死当天对大鼠的静脉血进行这些测定。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。星号(*)表示显著差异。

[0299] 图 32

[0300] 用 2.5 μ g/100g BW rT3 处理的 ZDF 大鼠中的血浆 HDL(重密度脂蛋白)浓度。在处死当天对大鼠的静脉血进行这些测定。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0301] 图 33

[0302] 用 2.5 μ g/100g BW rT3 处理的 nOSTZ 大鼠中,OGTT 3h 以后葡萄糖浓度曲线下面积。大鼠用 2g/kg 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0303] 图 34

[0304] 用 2.5 μ g/100g BW rT3 处理的 nOSTZ 大鼠中,OGTT(口服葡萄糖耐量试验)3h 以后胰岛素浓度曲线下面积。大鼠用 2g/kg 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0305] 图 35

[0306] 用 2.5 μ g/100g BW rT3 处理的 nOSTZ 大鼠中,血浆中葡萄糖浓度的动力学。大鼠用 2g/kg 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0307] 图 36

[0308] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 n0STZ 大鼠中,血浆中胰岛素浓度的动力学。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0309] 图 37

[0310] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 n0STZ 大鼠的胰腺质量。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。星号 (*) 表示显著差异。

[0311] 图 38

[0312] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 GK 大鼠中,OGTT 3h 以后葡萄糖浓度曲线下面积。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0313] 图 39

[0314] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 GK 大鼠中,OGTT (口服葡萄糖耐量试验) 3h 以后胰岛素浓度曲线下面积。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0315] 图 40

[0316] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 GK 大鼠中,血浆中葡萄糖浓度的动力学。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0317] 图 41

[0318] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 GK 大鼠中,血浆中胰岛素浓度的动力学。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0319] 图 42

[0320] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 GK 大鼠的胰腺质量。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0321] 图 43

[0322] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 Wistar 大鼠中,OGTT 3h 以后葡萄糖浓度曲线下面积。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0323] 图 44

[0324] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 Wistar 大鼠中,OGTT (口服葡萄糖耐量试验) 3h 以后胰岛素浓度曲线下面积。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0325] 图 45

[0326] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 Wistar 大鼠中,血浆中葡萄糖浓度的动力学。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0327] 图 46

[0328] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 Wistar 大鼠中,血浆中胰岛素浓度的动力学。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠

鼠的结果以黑色菱形表示。

[0329] 图 47

[0330] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 Wistar 大鼠中的胰腺质量。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0331] 图 48

[0332] 用高剂量 ($25 \mu\text{g}/100\text{g}$ 体重 (BW)) 或低剂量 ($2.5\text{Mg}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的生长率。用高剂量处理的大鼠的重量以白色四方形曲线表示,低剂量处理的大鼠的重量以白色三角形曲线表示,用安慰剂处理的大鼠的重量以黑色菱形曲线表示。

[0333] 图 49

[0334] 用高剂量 ($25 \mu\text{g}/100\text{g}$ 体重 (BW)) 或低剂量 ($2.5\text{Mg}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的食物摄入。用高剂量处理的大鼠的食物摄入以白色四方形曲线表示,低剂量处理的大鼠的食物摄入以白色三角形曲线表示,用安慰剂处理的大鼠的食物摄入以黑色菱形曲线表示。

[0335] 图 50

[0336] 用超低剂量 ($0.25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的生长率。用超低剂量处理的大鼠的重量以白色四方形曲线表示,用安慰剂处理的大鼠的重量以黑色菱形表示。

[0337] 图 51

[0338] 用高剂量 ($25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) 或低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的能量消耗。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的能量消耗以白色四方形曲线表示,用低剂量甲状腺激素处理的大鼠的能量消耗以白色三角形曲线表示,用安慰剂处理的大鼠的能量消耗以黑色菱形表示。

[0339] 图 52

[0340] 用超低剂量 ($0.25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的能量消耗。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的能量消耗以白色四方形曲线表示,用安慰剂处理的大鼠的能量消耗以黑色菱形表示。

[0341] 图 53

[0342] 用高剂量 ($25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) 或低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的呼吸商 (RQ)。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的呼吸商以白色四方形曲线表示,用低剂量甲状腺激素处理的大鼠的呼吸商以白色三角形曲线表示,用安慰剂处理的大鼠的呼吸商以黑色菱形表示。

[0343] 图 54

[0344] 用超低剂量 ($0.25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的呼吸商。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的呼吸商以白色四方形曲线表示,用安慰剂处理的大鼠的呼吸商以黑色菱形表示。

[0345] 图 55

[0346] 用高剂量 ($25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) 或低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的脂肪组织质量。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示,用低剂量甲状腺激素处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0347] 图 56

[0348] 用高剂量 (25 μ g/100g BW) rT3 或低剂量 (2.5 μ g/100g BW) rT3 处理的 Wistar 大鼠的肌肉组织的质量。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示,用低剂量甲状腺激素处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0349] 图 57

[0350] 用高剂量 (25 μ g/100g BW) rT3 或低剂量 (2.5 μ g/100g BW) rT3 处理的 Wistar 大鼠的棕色脂肪组织的质量。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的结果以白色表示,用低剂量甲状腺激素处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0351] 图 58A 和 58B

[0352] 用高剂量 (25 μ g/100g BW) rT3 或低剂量 (2.5 μ g/100g BW) rT3 处理的 Wistar 大鼠的线粒体氧消耗 (JO_2 , 以 nmol 表示的 $\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白)。用高剂量甲状腺激素处理的大鼠的氧消耗以白色表示,用低剂量甲状腺激素处理的大鼠的氧消耗以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的氧消耗以黑色表示。使用利用不同基质孵育的线粒体 (1.0mg 线粒体蛋白 / ml) 进行所有的测定:

[0353] -GM:谷氨酸盐 / 苹果酸 (5mM/2.5mM)

[0354] -SR:琥珀酸盐 / 鱼藤酮 (5mM/5 μ M),

[0355] -GMS:谷氨酸盐 / 苹果酸盐 / 琥珀酸盐 (5mM/2.5mM/5mM),

[0356] -Palm:棕榈酰肉毒碱 (55 μ M),

[0357] -Octa:辛酰基肉毒碱 (100 μ M),

[0358] -TMPD/ 抗坏血酸 (0.5mM/0.5mM) 和

[0359] -TMPD/AsC/DNP:TMPD/ 抗坏血酸 /DNP (0.5mM/0.5mM/75 μ M)

[0360] 星号相应于 p 值 < 0.01。

[0361] 图 58A:在存在基质,和添加 1mM ADP 之后,记录 JO_2 (状态 3)。

[0362] 图 58B:添加寡霉素之后记录 JO_2 ,以确定非磷酸化呼吸速率 (状态 4)。

[0363] 图 59

[0364] GPdH 酶的活性。在来自从安慰剂 (黑色) 25 μ g/A, 100g rT3 (白色) 或 2.5 μ g/100g (灰色) 提取的肝的线粒体中,测定线粒体三磷酸甘油脱氢酶的活性。

[0365] 图 60A, 60B, 60C 和 60D

[0366] 用高剂量 rT3 (25 μ g/100g BW), 或低剂量 (2.5 μ g/100g BW) rT3 处理的 Wistar 大鼠中的血浆甘油三酯,胆固醇,FFA (游离脂肪酸) 和 HDL (高密度脂蛋白) 浓度。处死当天 (也即,处理 21 天以后),对大鼠的静脉血进行这些测定。用高剂量 rT3 处理的大鼠的结果以白色表示,用低剂量 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0367] 星号相应于 p 值 < 0.01。

[0368] 图 60A:FFA (μ mol/l)

[0369] 图 60B:甘油三酯 (TG) (g/l)

[0370] 图 60C:胆固醇 (g/l)

[0371] 图 60D:HDL (g/l)

[0372] 图 61

[0373] 用低剂量 (2.5 μ g/100g BW) rT3 处理的 Wistar 大鼠的体重。用皮下小球处理的

大鼠的结果以白色显示,用皮下泵处理的大鼠的结果以浅灰色表示,用腹膜内泵处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0374] 图 62

[0375] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的不同脂肪组织 (腹膜后的, 附睾的, 肠系膜的和皮下脂肪) 的脂肪质量。用皮下小球处理的大鼠的结果以白色显示,用皮下泵处理的大鼠的结果以浅灰色表示,用腹膜内泵处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0376] 图 63

[0377] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的棕色脂肪组织质量。用皮下小球处理的大鼠的结果以白色显示,用皮下泵处理的大鼠的结果以浅灰色表示,用腹膜内泵处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0378] 图 64

[0379] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的 mGPDH 活性。用皮下小球处理的大鼠的结果以白色显示,用皮下泵处理的大鼠的结果以浅灰色表示,用腹膜内泵处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0380] 图 65

[0381] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的 EE。用皮下小球处理的大鼠的结果以白色显示,用皮下泵处理的大鼠的结果以浅灰色表示,用腹膜内泵处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0382] 图 66

[0383] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的 Wistar 大鼠的 RQ。用皮下小球处理的大鼠的结果以白色显示,用皮下泵处理的大鼠的结果以浅灰色表示,用腹膜内泵处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0384] 图 67

[0385] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的,用或不用 PTU (丙硫氧嘧啶) 和 IOP (碘番酸) 处理的 Wistar 大鼠的体重。用 PTU-IOP 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用 PTU-IOP 和 rT3 处理的大鼠的结果以白色四方形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0386] 图 68

[0387] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的,用或不用 PTU (丙硫氧嘧啶) 和 IOP (碘番酸) 处理的 Wistar 大鼠的食物摄入。用 PTU-IOP 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用 PTU-IOP 和 rT3 处理的大鼠的结果以白色四方形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0388] 图 69

[0389] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) rT3 处理的,用或不用 PTU (丙硫氧嘧啶) 和 IOP (碘番酸) 处理的 Wistar 大鼠的能量消耗。用 PTU-IOP 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用 PTU-IOP 和 rT3 处理的大鼠的结果以白色四方形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0390] 图 70

[0391] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) $r\text{T3}$ 处理的,用或不用 PTU(丙硫氧嘧啶)和 IOP(碘番酸)处理的 Wistar 大鼠的呼吸商。用 PTU-IOP 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用 PTU-IOP 和 $r\text{T3}$ 处理的大鼠的结果以白色四方形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0392] 图 71

[0393] 用高剂量 ($25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) $r\text{T3}$ 处理的,用或不用 PTU(丙硫氧嘧啶)和 IOP(碘番酸)处理的 Wistar 大鼠的线粒体氧消耗速率(JO_2 ,以 nmol 表示的 $\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白)。用 PTU+IOP 处理的大鼠的氧消耗以灰色表示,用 PTU-IOP 和 $r\text{T3}$ 处理的大鼠的氧消耗以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的氧消耗以黑色表示。使用利用不同基质孵育的线粒体 (1.0mg 线粒体蛋白/ ml) 进行所有的测定:

[0394] -GM:谷氨酸盐/苹果酸 ($5\text{mM}/2.5\text{mM}$)

[0395] -SR:琥珀酸盐/鱼藤酮 ($5\text{mM}/5 \mu\text{M}$),

[0396] -GMS:谷氨酸盐/苹果酸盐/琥珀酸盐 ($5\text{mM}/2.5\text{mM}/5\text{mM}$),

[0397] -Palm:棕榈酰肉毒碱 ($55 \mu\text{M}$),

[0398] -Octa:辛酰基肉毒碱 ($100 \mu\text{M}$),

[0399] -TMPD/抗坏血酸 ($0.5\text{mM}/0.5\text{mM}$) 和

[0400] -TMPD/AsC/DNP:TMPD/抗坏血酸/DNP ($0.5\text{mM}/0.5\text{mM}/75 \mu\text{M}$)

[0401] 在存在基质,和添加 1mM ADP 之后,记录 JO_2 (状态 3)。

[0402] 图 72

[0403] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) $r\text{T3}$ 处理的,用或不用 PTU(丙硫氧嘧啶)和 IOP(碘番酸)处理的 Wistar 大鼠的 mGPDH 活性。用 PTU+IOP 处理的大鼠的活性以灰色表示,用 PTU+IOP 和 $r\text{T3}$ 处理的大鼠的活性以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的活性以黑色表示。

[0404] 图 73

[0405] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) $r\text{T3}$ 处理的,用或不用 PTU(丙硫氧嘧啶)和 IOP(碘番酸)处理的 Wistar 大鼠的棕色脂肪组织质量。用 PTU-IOP 处理的大鼠的棕色脂肪组织质量以灰色表示,用 PTU-IOP 和 $r\text{T3}$ 处理的大鼠的棕色脂肪组织质量以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的棕色脂肪组织质量以黑色表示。

[0406] 图 74

[0407] 用低剂量 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) $r\text{T3}$ 处理的,用或不用 PTU(丙硫氧嘧啶)和 IOP(碘番酸)处理的 Wistar 大鼠的 T4 激素的血浆浓度。用 PTU+IOP 处理的大鼠的 T4 浓度以深灰色表示,用 PTU+IOP 和 T3 处理的大鼠的 T4 浓度以白色表示,用安慰剂处理的大鼠的 T4 以灰色表示。

[0408] 图 75

[0409] 喂饲高脂肪高蔗糖食物 8 周以后,和用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ $r\text{T3}$ 处理的 Wistar 大鼠中,OGTT 3h 之后葡萄糖浓度曲线下面积。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 $r\text{T3}$ 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0410] 图 76

[0411] 喂饲高脂肪高蔗糖食物 8 周以后,和用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ $r\text{T3}$ 处理的 Wistar 大鼠中,OGTT(口服葡萄糖耐量试验)3h 之后胰岛素浓度曲线下面积。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂

饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

[0412] 图 77

[0413] 喂饲高脂肪高蔗糖食物 8 周以后,和用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 Wistar 大鼠中,血浆中的葡萄糖浓度的动力学。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0414] 图 78

[0415] 喂饲高脂肪高蔗糖食物 8 周以后的 Wistar 大鼠中,和用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的大鼠中,血浆中的胰岛素浓度的动力学。大鼠用 $2\text{g}/\text{kg}$ 葡萄糖喂饲。用 rT3 处理的大鼠的结果以白色三角形表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色菱形表示。

[0416] 图 79

[0417] 用 $2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}$ rT3 处理的 Wistar 大鼠中,白天和夜晚期间的肝脂肪生成。用 rT3 处理的大鼠的结果以灰色表示,用安慰剂处理的大鼠的结果以黑色表示。

具体实施方式

[0418] 实施例 1 :rT3 激素或 rT3 衍生的激素用于治疗肥胖和血脂异常的应用

[0419] 1. 材料和方法

[0420] 动物处理

[0421] 成年雄性大鼠饲养于基础和应用生物能量学实验室的动物室内设施中 (Wistar 株) 或购自 Charles-River Laboratories, Domaine des oncs, L' ARBRESLE France [(遗传的肥胖血糖量正常 (Zucker 或 Fa/Fa) 或糖尿病的 (ZDF)], 分别关在不锈钢悬挂笼子中, 并保持 22°C , $50 \pm 10\%$ 相对湿度, 和 12h:12h 的光照:黑暗环境。所有动物都不限量喂饲标准的大鼠食物 (Safe A04, Villemoisson, France) 和自来水。一周两次 / 三次记录体重和食物摄入, 并在相同的时间提供新鲜食物以确保对动物的饮食行为最小的干扰。

[0422] 小球植入

[0423] 8 周龄大鼠 ($300\text{g} \pm 10\text{g}$) 通过同时腹膜内注射安定 $4\text{mg}/\text{kg}$ 和氯胺酮 $100\text{mg}/\text{kg}$ 麻醉。为了在手术期间 (10min) 保持体温, 把动物置于温暖的毯子上。肩胛间剃毛后, 0.5cm 皮肤的小切割允许利用 10 刻度精确度套管针进行小球 (包含 rT3 或 $3'$, 3-T2) 的皮下植入。美国创新研究 (Sarasota, Florida, USA) 制造的小球由生物可降解基质组成, 其能在动物中有效和连续地释放活性产物。

[0424] $3, 3', 5$ 三碘甲腺原氨酸 (反向 T3) 或 $3-3'$ 二碘甲腺原氨酸 ($3-3'$ T2) 以不同的剂量使用 ($5, 0.5$, 或 $0.1\text{mg}/\text{小球}$) 和植入, 以提供 60 天内连续和恒定的药物传递 (其代表 25g , $2.5 \mu\text{g}$ 或 $0.5 \mu\text{g}/\text{天}/100\text{g BW}$)。

[0425] 间接量热法

[0426] 通过间接量热法研究能量消耗以及氧化的基质 (碳水化合物或脂质) 的性质。这个原理是基于通过每个动物的 CO_2 释放 (VCO_2) 和 O_2 消耗 (VO_2) 的测定。它假定 O_2 完全涉及呼吸链中的基质氧化 (导致水产生), 同时 CO_2 释放与基质脱羧作用相关 (在 Krebs' 循环中)。这些测定允许评估能量消耗 (EE) 和呼吸商 (VO_2/VCO_2 , RQ)。EE 表示休息和活动期间的绝对能量消耗。RQ 是相对测定, 其表示涉及氧化途径的碳水化合物对脂质的比率。1.0 的比率表明专门的碳水化合物氧化, 而 0.7 的比率表明专门的脂质氧化。这 2 个极端值之

间的每个值都表明每个基质的相对比例（注意没有评估蛋白质氧化）。举例来说，禁食期间 RQ 接近 0.7，表明脂质氧化，相反地喂养以后 RQ 增加到接近 1，表明由食物摄入和血液胰岛素上升引起的碳水化合物氧化。同样，喂饲高碳水化合物饮食的动物的 RQ 高于喂饲高脂肪饮食的动物。

[0427] 间接量热法系统 (Panlab, Barcelona, Spain) 包括笼子, 泵, 流量控制器, 阀和分析仪。它是计算机控制的, 以便在 4 个单独的笼子中连续测定 O_2 和 CO_2 浓度以及空气流量, 这 4 个单独的笼子允许同时进行 4 个测定。把大鼠隔离到 4 个新陈代谢室中的一个, 而且室内空气用作参考以定期监控环境的 O_2 和 CO_2 浓度。

[0428] 以预先确定的间隔, 计算机发送信号来储存差示 CO_2 和 O_2 浓度, 流速, 其允许用数据获取硬件 (Metabolism, Panlab, Barcelona, Spain) 计算 VCO_2 , VO_2 , RQ 和 EE (Weir 等式)。

[0429] 身体结构, 血液和组织取样

[0430] 在实验时间的结尾, 通过断头处死动物, 以避免全身麻醉药对线粒体代谢公知的影响。立即收集血样, 冷冻血浆用于随后的血清代谢产物和激素的测定。快速切除和称重肝, 肌肉和脂肪储存。肝中叶被快速冷冻夹紧。肌肉 (跖肌, 比目鱼肌和腓肠肌) 冷冻于在液氮中预冷的异戊烷中。肠系膜脂肪由从胃 - 食道括约肌到直肠末端的胃肠道周围的脂肪组织组成, 在辨别和切取胰腺中要特别小心。腹膜后的脂肪垫认为是沿着腰部肌肉的每个肾后面的明显储库。附睾脂肪包括附睾上面的脂肪组织。为了皮下储库的测定, 对每个动物的右边, 从脊柱与右髋部之间的腹部中线到第一根肋骨, 取一块矩形皮肤。取出肩胛间的棕色脂肪组织, 并解剖除去相邻的肌肉和白色脂肪组织。心室, 右肾和脾也切除, 称重和冷冻。

[0431] 线粒体分离

[0432] 大部分肝和每个四头肌的红色部分进行漂洗, 并切碎到分离培养基 (250mM 蔗糖, 20mM Tris-HCl 和 1mM EGTA-Tris, pH 7.4) 中。通过以 800g 离心 10min 除去细胞核和细胞碎片。然后通过以 8,000g 10 分钟旋转两次, 从上清液分离线粒体。线粒体沉淀重悬于 0.5ml 分离缓冲液中并保持于冰中。通过双金鸡宁酸法 (Pierce, Rockford, Illinois) 测定线粒体蛋白。最终的线粒体混悬液保持在冰上, 并用于测定耗氧率。

[0433] 线粒体氧消耗

[0434] 在装有 2ml 培养基 (125mM KCl, 10mM Pi-Tris, 20mM Tris-HCl, 0.1mM EGTA, pH 7.2), 带有 Clark 型 O_2 电极的孵育室中, 于 30°C 测定线粒体氧消耗的速率 (JO_2)。使用利用以下不同基质孵育的线粒体 (1.0 或 0.2mg 线粒体蛋白 /ml 用于肝和骨骼肌) 进行所有的测定: 谷氨酸盐 / 苹果酸盐 (5mM/2.5mM) 和琥珀酸盐 (5mM), 单独或者组合, 棕榈酰肉毒碱 (55 μ M) 和辛酰基肉毒碱 (100 μ M)。对于每种基质, 在存在单独的基质时 (状态 2), 和添加 1mM ADP 之后 (状态 3), 记录 JO_2 。添加寡霉素 (1.25 μ g/mg 蛋白) 到线粒体混悬液中, 以确定非磷酸化呼吸速率 (状态 4)。用内装的电磁搅拌器和跳棒 (baffle) 不断地搅拌培养基。通过状态 3/ 状态 4 比率评估线粒体氧化磷酸化的效率, 其测定了通过磷酸化作用施加于氧化的调节程度 (呼吸调节率, RCR)。

[0435] 氧化磷酸化效率

[0436] 利用基于己糖激酶 (EC 2.7.1.1) 加上葡萄糖的 ADP 再生系统, 从 ATP 合成速率 (J_{ATP}) 对呼吸速率 JO_2 , 测定用 5mM 谷氨酸盐 / 2.5mM 苹果酸盐 / 5mM 琥珀酸盐或辛酰基肉毒

碱 (100 μ M) 作为呼吸基质的 ATP/O 比率。在包含 125mM KCl, 1mM EGTA, 5mM Tris-Pi, 20mM Tris-HCl, 0.1% 脱脂 BSA (pH 7.2) 的培养基中, 如上所述测定 J_{ATP} 和 J_{O_2} 。在存在 20mM 葡萄糖, 1mM $MgCl_2$, 和 125 μ M ATP 时, 从葡萄糖-6-磷酸盐形成测定 J_{ATP} 。通过添加增加浓度的己糖激酶来调节 J_{O_2} 和 J_{ATP} (Nogueira et al, J Bioenerg Biomemb., 34 :55-66, 2002)。

[0437] 酶活性

[0438] 分光光度进行呼吸链复合物 I, II 和 IV 的特定活性的测定。需要总共 8-10 μ g 线粒体蛋白来确定复合物 I 和 II 的活性, 4 μ g 用于复合物 IV。酶活性表示为每 min 和每 mg 线粒体蛋白还原的或氧化的基质的 nmol。

[0439] 复合物 I 的测定 (鱼藤酮敏感性 NADH- 泛醌氧化还原酶, EC1.6.99.3) : 使用癸基泛醌 (100 μ M) 作为电子受体和 NADH (200M) 作为供体, 在包含 BSA (3.75mg/ml) 的 10mM KH_2PO_4/K_2HPO_4 缓冲液 (pH 7.5) 中, 和存在 KCN (2mM) 和抗霉素 A (7.5 μ M) 时进行分析。然后在添加鱼藤酮 (4 μ M) 之前和之后, 其允许计算复合物 I 的鱼藤酮敏感性特异性活性, 于 340nm 测定 NADH 的氧化。

[0440] 复合物 II 的测定 (琥珀酸盐-泛醌还原酶, EC 1.3.99.1) : 通过于 600nm 测定由于 DCPIP 的还原 (100 μ M) 而致的 UV 吸光度的降低, 来定量琥珀酸盐-泛醌氧化还原酶活性。在包含 50mM KH_2PO_4/K_2HPO_4 (pH 7.5) 的培养基中, 存在癸基泛醌 (100 μ M), 鱼藤酮 (2 μ M) 和 KCN (2mM) 时进行测定。

[0441] 复合物 IV 的测定 (细胞色素 c 氧化酶, EC 1.9.3.1) : 在 50 mM KH_2PO_4/K_2HPO_4 缓冲液 (pH 7.0) 中, 于 550nm 测定细胞色素 C (100 μ M) 氧化来进行分析。

[0442] 存在草酸盐二硝基硫代苯酸 (dinitrothiobenzoic acid) 和乙酰辅酶 A 时, 在 150mM Tris 缓冲液 pH 8 中, 通过测定 412nm 处由于硫醇盐离子的形成而致的 UV 吸光度来确定柠檬酸合酶活性 (Garaitetal, Free Rad Biol Med, 2005)。

[0443] 3 个冻融循环以后, 对分离的线粒体上清液测定线粒体甘油 3-磷酸脱氢酶 (mGPDH) 活性。40 μ g 线粒体孵育于包含 9.3 μ M 抗霉素 A, 5 μ M 鱼藤酮和癸基泛醌 (50 μ M) 的 KH_2PO_4/K_2HPO_4 缓冲液 (50mM, pH 7.5) 中。于 37°C 600nm 处分光光度测定通过 mGPDH 对 50 μ M 二氯靛酚 (DCIP) 的还原, 酶活性表示为 μ mol. $\min^{-1}$.mg prot $^{-1}$ 。

[0444] 细胞色素

[0445] 通过比较完全氧化的 (铁氰化钾) 对完全还原的 (很少的连二亚硫酸钠晶体) 细胞色素的光谱, 在平行试验中测定线粒体呼吸链的细胞色素含量。已知在每种细胞色素的吸光度对每种其他细胞色素的主要极大和极小值中的影响, 可以推导具有 4 个未知数的一组 4 个联立方程式, 并计算每种细胞色素的浓度 (Williams, Arch BiochemBiophys. ;107 : 537-43, 1964)。

[0446] 肝细胞分离

[0447] 禁食 20-24h 的 Wistar 大鼠用戊巴比妥钠麻醉 (10mg/100g 体重 i.p.), 并根据 Groen 等 (Eur. J Biochem. 122 :87-93, 1982) 改良的 Berry 和 Friend 的方法 (J. Cell. Biol. 43 :506-520, 1969) 分离肝细胞。简短地, 将导管插入门静脉中, 用无 Ca^{2+} Krebs-Ringer 碳酸氢盐缓冲液 (25ml/min ; 37°C, pH = 7.4, 连续充气 95% O_2 -5% CO_2) 顺行灌注 2min 以从肝脏除去血液。用相同的灌流介质通过后腔静脉逆行灌注 10min (25ml/min)。接着, 用补充有 0.25mg/ml 胶原酶的 100ml Krebs-Ringer 培养基进行回流灌注

(20min, 以 40ml/min) (type IV, Sigma, St. Louis, MO)。切割肝脏, 并在恒定充气下 (95% O_2 -5% CO_2) 在灌流介质中振动 2min。最后, 细胞悬液过滤通过尼龙纱布 (孔径大小, 120 μm), 用包含 1.6mM Ca^{2+} 的 Krebs-Ringer 碳酸氢盐缓冲液洗涤两次, 然后用补充有 1% BSA 的相同缓冲液洗涤 3 次。

[0448] 肝细胞灌注

[0449] 根据 Groen 等 (Eur. J Biochem. 122 :87-93, 1982) 改良的 vander Meer 和 Tager (FEBS Lett. 67 :36-40, 1976) 的方法灌注肝脏细胞。肝细胞 (225-250mg 干燥块) 置于 37°C 15ml 灌注室中, 并用连续充气 (95% O_2 -5% CO_2) 的包含 0.2% BSA 的 Krebs-Ringer 碳酸氢盐溶液 (pH = 7.4) 灌注 (5ml/min)。在平行的两个灌注室中一式两份进行实验。在小室出口, 用 Clark 电极 (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, OH) 监控灌注液 O_2 含量, 以评估肝细胞混悬液的 O_2 吸收。40min 以后, 当 O_2 吸收到达稳定状态时, 存在或不存在 0.4mM 碘苯腈辛酸酯时, 用增加量的甘油 (0.15, 0.30, 0.60, 1.2, 2.4, 4.8 和 9.6mM) 灌注肝细胞。在 20min 的每个稳定状态结尾, 2min 间隔收集灌注液和细胞样品, 用于随后的葡萄糖, 乳酸盐, 丙酮酸盐, 乙酰醋酸盐和 P- 羟基丁酸盐浓度测定。样品于 4°C 储存, 并在实验结束以后的 12h 内进行分析。而且, 从小室取样 300 μl 的细胞悬液用于胞内和胞外分馏。为了该目的, 用 Zuurendonk 和 Tager 描述的洋地黄皂苷分馏法分离线粒体胞质腔 (Biochim. Biophys. Acta 333 :393-399, 1974)。简要地, 把细胞悬液置于 2.2ml 微量离心管中, 其中装有包含 4°C 2mM 洋地黄皂苷的等渗培养基 (Merck, Lyon, France)。15s 以后, 离心管以 10,000g 离心 15s, 以沉淀线粒体, 通过下面的 800 μl 硅油层 (Rhodorsil 640V 100, Rhone-Poulenc) 到 250 μl $HClO_4$ (10% 质量 / 体积) + 25mM EDTA 中。立即取出上清液 (700 μl), 用 $HClO_4$ (5% 质量 / 体积) 脱去蛋白质, 并中和。然后中和细胞内内含物, 并保持于 -20°C, 用于测定细胞内代谢产物 (DHAP 和 G3P, 分光光度测定法) 和腺嘌呤核苷酸含量 (HPLC)。

[0450] Western 印迹分析

[0451] 对于 mGPDH 定量, 如前面所述的进行聚丙烯酰胺凝胶电泳和免疫印迹法 (23)。简要地, 使裂解的肝细胞与 200 μl 包含 40mM 三 (羟甲基) 氨基甲烷 pH 6.8, 1% SDS, 6% 甘油和 1% β - 巯基乙醇的缓冲液混合。然后该混合物在 100°C 加热 10min, 并用 5% 成层凝胶和 12.5% 分离凝胶进行一维十二烷基硫酸钠 (SDS)-PAGE 12 小时。电泳分离以后, 蛋白质以恒压转移到 PVDF 膜上。蛋白质转移以后, 膜封闭 2h, 然后用 mGPDH 特异性的单克隆抗体 (Dr. J. Weitzel 的馈赠) 孵育 2h, 然后暴露于第二抗体 (缀合到辣根过氧化物酶的山羊抗鼠免疫球蛋白 G, Bio-Rad, 以 1 : 10000 的稀释度)。通过增强的化学发光检测方法 (RPN 2106, Amersham) 来目测检验 mGPDH。用光密度计扫描进行来自点的条带的定量, 而且数据数字上表达为集成光密度任意单位。

[0452] RNA 纯化和逆转录 - 偶联 PCR

[0453] 使用 Tripure RNA 分离试剂 (Roche Diagnostics) 从组织提取总 RNA。通过在 260 和 280nm 处测定最佳密度来检验浓度和纯度。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳 (Eurobio) 来检验它们的完整性。使用 β 肌动蛋白作为参照, 通过半定量逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 测定 mRNA 浓度。引物序列如表 1 所示。对于每个靶 mRNA, 用处于 25 μl 终体积中的 100UM-MLV 逆转录酶 (Promega), 5 μl M-MLV RT 5X 缓冲液, 20U RNA 酶蛋白抑制剂核糖核酸酶抑制剂,

12 皮摩尔脱氧核苷三磷酸盐和 15 皮摩尔特异性反义引物,从 0.1 μ g 总 RNA 进行 RT。反应包括在 70°C 5min(RNA 和反义引物),然后 42°C 60min(所有的混合物),接着于 70°C 15min。冷冻以后,5 μ l 用于 PCR 反应。添加 5 μ l RT 培养基到 45 μ l PCR 混合物(5 μ l 10X REDTaq PCR 缓冲液)中,其包含 6 皮摩尔 $MgCl_2$,8 皮摩尔脱氧核苷三磷酸盐,2.5U REDTadDNA 聚合酶(Sigma),15 皮摩尔相应的反义引物和 22.5 皮摩尔正义引物。PCR 条件是:94°C 2min,接着 28 个循环,35 个循环或 18 个循环分别用于 UCP3,UCP2 和 肌动蛋白(1 个循环=94°C 1min,60°C 1min,72°C 1min)。72°C 10min 结束 PCR。在用溴化乙锭预染的 2% 琼脂糖凝胶上分析产物。为了定量相对条带的强度,用 DC120 相机(Kodak)拍照,并用 Kodak Digital Science 1D 2.0(柯达科学成像系统)确定每个靶对 β 肌动蛋白的比率用于每个样品。

[0454] 2. 结果

[0455] 如图 1 中所示(A 和 B),对照(安慰剂处理的)Wistar 大鼠身体显示 21 天内 150g 的正常生长率(也即,大约 40%的体重增加)。用 rT3(图 1A)或 3,3'-T2(图 1B)处理的大鼠不显示任何体重增加,21 天以后体重与初始值没有显著差异。

[0456] 这表明在这些幼小成年动物中非常有力地防止了正常的体重增加。

[0457] 如图 2 所示(A 和 B),安慰剂组的食物摄入在实验时间内是稳定的大约每天 30g 食物。两组处理的动物显示相似的变化,小球皮下引入以后立即食物摄入减少(从第 4 天直到第 7 天),该小球包含 rT3(图 1A)或 3,3'-T2(图 1B),然后食物摄入增加,其显示高于安慰剂动物的值。

[0458] 因此两组处理动物中体重的减少与增加的食物摄入相关。

[0459] 通过间接量热法(参见材料和方法部分)评估大鼠在 24 小时(=1440 分钟)的时间内的能量消耗(EE),并对数值进行分析。所有的动物组,安慰剂(图 3A 和 3B),rT3(图 3A)或 3,3'-T2(图 3B)处理的,显示与安定的昼夜周期不同,这些啮齿类动物的典型夜间活动和进食行为方面白天/夜晚的变化。两组处理的大鼠显示显著增加的能量消耗,其达到对照值的 25 到 30。

[0460] 这个很重要的结果表明,两种处理在夜间和白天期间都大量增加了新陈代谢消耗。

[0461] 呼吸商(RQ)定义为释放的二氧化碳与消耗的氧之间的比率: $VC O_2 / V O_2$ 。基本上接受了这个比率表明了被氧化基质的来源(碳水化合物对脂质)。如果碳水化合物代表唯一的能源,该值等于 1,如果脂质代表唯一的能量基质则是 0.7。

[0462] 由于已经显示了 EE,RQ 在白天与夜晚之间也发生变化(图 4A 和 4B)。当动物进食并因此氧化更多碳水化合物时,夜晚期间 RQ 是较高的。相反地,昼夜周期期间 RQ 较低表明了禁食状态,脂质是主要的基质。关于 rT3(图 4A),似乎白天期间 RQ 几乎等于安慰剂,夜晚期间则较高。这表明较高比例的碳水化合物或者,更可能,从碳水化合物的净脂质合成(导致 RQ 值高于 1),这些动物提供的值是喂饲状态期间基质氧化和基质(脂质合成)的总和。相较于安慰剂,这些变化是很实质性的。在 3,3'-T2 组(图 4B)中,夜晚期间的变化与 rT3 描述的几乎相同,表明喂饲状态期间也很可能地净脂质合成。然而昼夜周期期间,或者紧接着黑暗以后,似乎 RQ 低于安慰剂的,其表明这些禁食动物中较高的脂肪氧化。

[0463] 用 rT3 或安慰剂处理的大鼠的身体结构方面的变化,提供作为绝对值(g)或作为总体重的百分比,因为 3 周后两组动物显示不同的重量(参见图 1A)。

[0464] 相较于安慰剂, rT3 组中腹膜后, 肠系膜和皮下脂肪质量显著较低 ($p < 0.01$), 附睾质量没有不同 (图 5A)。这种差异是实质性的, 无论数据表示为绝对值或相对值。有趣地, 肌肉质量完全不受影响 (图 5B), 而棕色脂肪组织, 一种已知涉及代谢效率和热量产生的组织, 在 rT3 处理的动物中显著增加 (图 5C)。

[0465] 这些结果清楚地表明, rT3 处理以后体重的降低纯粹是由于脂肪质量的损失, 瘦肉体重不受影响。

[0466] 用 3,3'-T2 获得了类似的结果 (图 6A 和 6B), 其导致获得关于 3,3'-T2 对脂肪质量 (显著降低) 和瘦肉体重 (不受体重) 的影响的相同结论。有趣地, 通过处理也显著增加了棕色脂肪组织。

[0467] 评估了在肝线粒体呼吸链水平, 两种处理 (rT3 或 3,3'-T2) 对氧化与磷酸化作用之间结合的功效率的影响 (图 7A 和 7B)。测定了不同治疗动物组 (rT3, 图 7A 和 3,3'-T2, 图 7B) 对安慰剂的非磷酸化线粒体的呼吸率 (也即在存在寡霉素时)。两种情况中 (rT3 和 3,3'-T2), 相较于安慰剂, 呼吸要高得多, 这表明由于处理而致的较低效率的结合。不同的条件谷氨酸盐 / 苹果酸盐, 琥珀酸盐 - 鱼藤酮, 谷氨酸盐 / 苹果酸盐 / 琥珀酸盐, 棕榈酰辅酶 A, 辛酰基辅酶 A, 表示提供给呼吸链的不同基质。

[0468] 图 7C 和 7D 表示利用不同的基质供给在磷酸化条件中 (也即在存在 ADP 时) 获得的肝线粒体的最大呼吸速率 (参见上面的图 7): TMPD 抗坏血酸研究了复合物 4 (细胞色素 c 氧化酶), 不具有或具有 DNP 非连接状况。在所有条件中示意地, 用 rT3 (图 7C) 或 3,3'-T2 (图 7B) 的处理, 导致了很显著增加的呼吸速率, 这表明这些处理增加了所有基质包括脂肪酸的最大呼吸量。

[0469] 很有趣地, 用肌肉线粒体获得了完全不同的结果。实际上, rT3 和 3,3'-T2 实质上都没有影响非磷酸化 (状态 4, 图 8A 和 8B) 和磷酸化 (状态 3, 图 8C 和 8D) 状况。实际上, 存在导致降低呼吸的一些小作用, 棕榈酰和辛酰基辅酶 A 除外。

[0470] 因此, 这表明虽然 rT3 和 3,3'-T2 都显示了对肝线粒体强大的影响, 其导致降低的氧化磷酸化效率和增加的最大呼吸量, 但是几乎没有发现对肌肉线粒体的影响, 尽管施用药物给每种组织 (从小球的皮下进行性释放)。

[0471] 图 9A 和 9B 显示与图 7A 和 C 中提供的相似的数据。但是动物用低 10 倍的 rT3 剂量处理 ($25 \mu\text{g/kg}$ 代替图 7 中的 $250 \mu\text{g/kg}$)。虽然在较低的程度, 但是获得基本上类似的发现。不过降低的效率和较高的最大呼吸量发现是显著的。

[0472] 图 10 显示了两种处理对葡萄糖 (图 10A), 甘油三酯 (图 10B), 胆固醇 (图 10C), 游离脂肪酸 (图 10D) 和 HDL (图 10E) (大鼠几乎没有 LDL) 血浆浓度的影响。两种处理稍微增加了这些正常动物 (非糖尿病动物) 中的禁食葡萄糖, 其表明这些处理都没有导致可能的低血糖作用。有趣地, 用 rT3 和 3,3'-T2, 甘油三酯和胆固醇显著低于安慰剂。如在动物中观察到的, 血浆脂肪酸较高, 其显示高的脂肪分解速度和脂肪酸氧化速度, 如用间接量热法获得的数据已经表明。

[0473] 总之, 脂肪质量降低而瘦肉体重 (肌肉质量) 似乎不受影响完全解释了在体重中观察到的显著作用。尽管增加的食物消耗, 观察到的这种影响, 是由于增加的能量消耗, 其通过间接量热法测定证实。因为这些动物的正常饮食在脂质含量方面是相当少的 (4-5%), 如通过脂肪质量的强烈降低和可能地通过一种耗费多的通道新脂肪形成所示的,

以脂肪储存为代价获得增加的脂肪氧化,其可以解释在喂饲期间观察到的较高 RQ。关于能量代谢中的总增加的数据(间接量热法),与肝分离的线粒体中获得的数据非常一致,其表明呼吸链水平可能存在的能量浪费过程,以及与显著较高的最大呼吸量相关的 ATP 合成。最有趣地,在肌肉线粒体中都没有观察到这些作用,其表明浪费过程影响肝比肌肉质量更多,而且涉及脂质氧化。

[0474] 因此,在 rT3 和 3,3'-T2 中都增强了脂质氧化和能量消耗,其导致仅仅脂肪组织质量的显著降低。

[0475] 实施例 2:给药 rT3 激素用于治疗肥胖的比较

[0476] 1. 材料和方法

[0477] 材料与方法是实施例 1 中描述的那些。

[0478] 动物

[0479] Wistar 大鼠用于这些研究。

[0480] 施用

[0481] Wistar 大鼠用 rT3 激素通过每天腹膜内注射 (IP) ($25 \mu\text{g}/100\text{gBW}$),每天皮下注射 (SC) ($25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$),或包括在大鼠食物中 per os 施用进行处理。使用小球进行连续和恒定施用 ($25 \mu\text{g}/100\text{gBW}$)。

[0482] 2. 结果

[0483] 为了比较 rT3 施用对大鼠重量的影响,Wistar 大鼠通过小球处理 8 天,其扩散连续和恒定剂量的 rT3 ($25 \mu\text{g}/100\text{g BW}/\text{天}$),或通过腹膜内或皮下注射 rT3 (注射 $25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) 或通过口服施用 (摄取 $25 \mu\text{g}/100\text{g BW}$) 每天进行处理。

[0484] 如图 11 中所示,处理 8 天以后,仅仅连续和恒定施用 rT3 降低了大鼠体重 (图 11A),但是腹膜内注射 (图 11B),或皮下注射 (图 11D),和 per os 施用相同剂量的 rT3 (图 11C) 对动物质量都没有影响。

[0485] 为了证实这些数据,测定用 4 种不同 rT3 施用处理的动物中脂肪组织的单独重量。如前面全部质量观察到的,仅仅用连续和恒定 rT3 施用处理的动物具有显著的白色脂肪组织质量降低 (图 12A),而注射 (图 12B 和 12D) 或口服施用 (图 12C) 都没有影响。无论怎样给药,肌肉质量 (图 14A-D) 都没有变化,而且仅仅在用连续和恒定剂量 rT3 (图 13A) 处理的大鼠中棕色脂肪组织质量显著增加。

[0486] 为了证实对处理动物的新陈代谢的影响,通过 24 小时时间内的间接量热法来评估 EE。图 15 显示仅仅用连续和恒定剂量 rT3 处理的大鼠具有增强的新陈代谢扩张 (图 15A),而其他途径的施用没有改变处理的大鼠的新陈代谢 (图 15B-D)。以相同的方法,900min 以后,仅仅用连续和恒定剂量 rT3 处理的大鼠的 RQ 与用安慰剂处理的大鼠具有显著差异 (图 16A)。

[0487] 因此,所有这些数据都证实仅仅连续和恒定施用 rT3,处理 8 天以后,能显著降低动物的体重,其通过诱导脂肪酸代谢的增加而仅仅影响白色脂肪组织。

[0488] 为了理解非连续处理为何不能获得这些结果,注射以后,24 小时测定动物中的循环 rT3。图 17 中的图表显示了腹膜内注射的 rT3 迅速降解,而且 5 小时以后相较于注射剂量降低了 5 倍。Per os 施用在血液中没有获得与腹膜内注射后观察到的浓度相似的 rT3 浓度。皮下施用似乎是最佳的施用途径,因为血液中的 rT3 浓度一段较长的时间内基本上保

持与注射的浓度相同,但是 rT3 在 24 小时后仍然类似完全被降解。

[0489] 实施例 3 :rT3 激素或 rT3 衍生的激素用于治疗糖尿病的应用

[0490] 1. 材料和方法

[0491] 材料和方法为实施例 1 中描述的那些。

[0492] 动物

[0493] 大鼠是遗传的肥胖血糖量正常的 (Zucker 或 Fa/Fa), 10-11 周龄糖尿病大鼠 (ZDF), 遗传的非超重糖尿病 (2 型糖尿病) 大鼠 (Goto-Kakizaki (GK) 模型), 非超重糖尿病 (2 型糖尿病) 大鼠 n0STZ 模型, 或进行 8 周高脂肪高蔗糖饮食的正常 Wistar 大鼠 (一种胰岛素抗性的营养诱导模型)。

[0494] 血液取样

[0495] 研究当天, 禁食过夜以后 (18h), 在苏醒的大鼠中从尾静脉采血。

[0496] 血液参数

[0497] 分析下列生化参数: 血糖, 胰岛素血症, HbA1c, TG 和胆固醇。

[0498] 用大鼠标准 (RPA 554Amersham bioscience, RIA FT4-immunotech, 分别用于 TSH 和 T4), 通过放射免疫分析测定促甲状腺激素 (TSH) 和甲状腺氨酸 (T4)。

[0499] 用商业试剂盒 (Linco Research) 确定胰岛素水平。

[0500] 酶学方法测定葡萄糖和 3- 羟基丁酸盐 (3-HB), 通过比色分析测定非酯化的脂肪酸 (NEFA) (Wako Chemicals)。

[0501] 通过经典的常规自动化装置, 测定甘油三酯和胆固醇。

[0502] 2. 结果

[0503] ZDF 模型 : 糖尿病和肥胖大鼠

[0504] ZDF 糖尿病大鼠是用于研究抗糖尿病治疗的较好的模型, 因为由于联合了中度肥胖和胰腺退化, 这些动物在它们生活期间发展了严重的高血糖症。到目前为止, 当高血糖症确定时, 治疗是无效的。

[0505] 然后 ZDF 大鼠用低剂量的 rT3 处理 21 天 ($2.5 \mu\text{g}/100\text{g BW}/\text{天}$), 8, 16 和 21 天之后测定血糖, insulinaemia。

[0506] 图 18 显示了相较于用安慰剂处理的大鼠, 在用低剂量 rT3 处理的大鼠中血糖较大的降低。这种降低在 8 天以后出现, 而且保持了 21 天。与血糖的降低相关, 胰岛素水平在用 rT3 处理的大鼠中保持, 而从实验起始到开始反映胰腺退化之后 21 天胰岛素水平进行性降低 (图 19)。

[0507] 令人惊讶地, 用 rT3 处理的大鼠中胰岛素水平与胰腺质量的增加相关 (图 20)。

[0508] 这些数据表明, rT3 能逆转 ZDF 大鼠已存在的糖尿病, 可能通过包括 β - 胰腺细胞自身更新的机制。通过该方式, ZDF 大鼠恢复了它们调节血糖的能力。

[0509] ZDF 大鼠也是患有高甘油三酯血症的肥胖动物。所以也评价了 rT3 处理的作用。

[0510] 图 21 显示了一方面用 rT3 处理的大鼠与用安慰剂处理的大鼠类似, 另一方面在 rT3 处理的动物中脂肪质量降低。

[0511] 确实, 如图 22 所示, 当它们用 rT3 激素处理时动物重量降低; 这种重量降低与食欲丧失无关 (图 23)。

[0512] 图 24 显示了与安慰剂处理的 ZDF 大鼠相比较, 用 rT3 处理的 ZDF 大鼠能量消耗增

加。而且,相较于安慰剂处理的 ZDF 大鼠,用 rT3 处理的 ZDF 大鼠中 RQ 也增加(图 25)。

[0513] 有趣地,如图 26 所示,即使 rT3 处理的动物的总重量降低,ZDF 大鼠的白色脂肪组织似乎不受 rT3 处理的影响。但是如前面所示,EE 的增加与棕色脂肪组织质量的增加相关(图 27)。

[0514] 而且,肌肉质量不受 rT3 处理影响(图 28)。

[0515] 为了更好地理解脂质代谢,分析了游离脂肪酸(FFA,图 29),甘油三酯(图 30),胆固醇(图 31)和高密度脂蛋白(HDL,图 32)的脂质分布模式。

[0516] 在用 rT3 处理的大鼠中,ZDF 血液中的 FFA 显著增加(图 29),而甘油三酯显著降低(图 30)。这些大鼠是轻微的胆固醇血症(cholesterolemic),胆固醇水平不受 rT3 处理影响。

[0517] 总之,施用到 ZDF 大鼠中的低剂量 rT3 具有双重作用:

[0518] -rT3 降低了处理的动物的总重量,与增加的能量消耗和 RQ 以及棕色脂肪组织质量的增加相关,但是白色脂肪组织质量没有显著减少。能量消耗增加(+50%),RQ 值表示氧化的基质增加。这种 RQ 值的增加是自相矛盾的,因为它表明全部的葡萄糖氧化。但是,由于大鼠营养中低的脂质含量,生物体把葡萄糖转变成脂质(脂质生成),新形成的脂质然后被降解(脂质裂解)。脂肪酸分布模式确证了这些数据。通过该方式,生物体燃烧能量以建立和降解储备物,其导致大鼠重量的全部降低。图 79 所示的结果强烈证实了这种假设,其中在用 rT3 处理的 Wistar 大鼠中肝的脂质生成增加 4 倍。

[0519] -rT3 对胰腺细胞增殖具有影响,其允许释放胰岛素,然后能纠正 ZDF 大鼠中的高葡萄糖血液浓度。这是第一次甲状腺激素涉及胰腺细胞增殖。

[0520] nOSTZ 模型:糖尿病大鼠。

[0521] nOSTZ 大鼠是患有中度胰岛素抗性的糖尿病非肥胖大鼠,而且正好在出生后接受了链脲霉素注射,所述产物杀死胰腺细胞。

[0522] 通过口服葡萄糖耐量试验(OGTT)检测这些动物的葡萄糖耐受性。动物用 2g/kg BW 葡萄糖喂饲,并测定血液中的葡萄糖浓度和胰岛素浓度。

[0523] 相较于用安慰剂处理的大鼠,在用低剂量 rT3(2.5 μ g/100g BW)处理的大鼠中,OGTT 3h 之后,葡萄糖浓度曲线(AUC)下面的面积显著降低(图 33)。相反,与用安慰剂处理的大鼠相比,在用 rT3 处理的大鼠中胰岛素浓度的 AUC 同时大大增加(图 34)。这些数据表明 rT3 处理能通过增加胰岛素血液浓度来降低血液葡萄糖浓度。

[0524] 为了证实这些结果,绘制 OGTT 的动力学曲线 20 分钟。然后在该时间测定葡萄糖浓度(图 35)和胰岛素浓度(图 36)。

[0525] 在图 35 中,OGTT 之后的第一个 5 分钟内,用 rT3 处理的大鼠更快地调节血液葡萄糖浓度。这种葡萄糖浓度的调控与用 rT3 处理的动物中胰岛素浓度的高度增加相关(图 36)。用安慰剂处理的 nOSTZ 大鼠中缺乏胰岛素应答(图 36)。

[0526] 因此,rT3 处理能纠正葡萄糖调节功能紊乱。OGTT 中观察到的胰岛素水平的增加与 rT3 处理的动物的胰腺质量增加相关(图 37)。

[0527] 因此,rT3 处理调节胰腺增殖。

[0528] GK 模型:糖尿病大鼠。

[0529] GK 大鼠是患有中度胰岛素抗性的糖尿病非肥胖大鼠,并且具有低于对照大鼠的胰

腺细胞。胰腺细胞在胰岛素分泌中也是效率较低的。

[0530] 通过口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 检测这些动物的葡萄糖耐受性。动物用 2g/kg BW 葡萄糖喂饲,并测定血液中的葡萄糖浓度和胰岛素浓度。

[0531] 相较于用安慰剂处理的大鼠,在用低剂量 rT3 (2.5 μ g/100g BW) 处理的大鼠中,OGTT 3h 之后,葡萄糖浓度曲线 (AUC) 下面的面积显著降低 (图 38)。相关的,与用安慰剂处理的大鼠相比,在用 rT3 处理的大鼠中胰岛素浓度的 AUC 同时大大增加 (图 39)。这些数据表明 rT3 处理能通过增加胰岛素血液浓度来降低血液葡萄糖浓度。

[0532] 为了证实这些结果,绘制 OGTT 的动力学曲线 20 分钟。然后在该时间测定葡萄糖浓度 (图 40) 和胰岛素浓度 (图 41)。

[0533] 在图 40 中,OGTT 之后的第一个 5 分钟内,用 rT3 处理的大鼠更快地调节血液葡萄糖浓度。这种葡萄糖浓度的调控与用 rT3 处理的动物中胰岛素浓度的增加相关 (图 41)。用安慰剂处理的 GK 大鼠中缺乏胰岛素应答 (图 41)。

[0534] 因此,rT3 处理能纠正葡萄糖调节功能紊乱。OGTT 中观察到的胰岛素水平的增加与 rT3 处理的动物的胰腺质量增加相关 (图 42)。

[0535] 因此,rT3 处理调节胰腺增殖。

[0536] Wistar 大鼠:非糖尿病大鼠。

[0537] Wistar 大鼠是没有胰岛素抗性的非糖尿病,非肥胖大鼠,但是与人类类似,它们随着年龄倾向于变得轻微肥胖和胰岛素抗性。但是这被假设为是“生理学的”。

[0538] 通过口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 检测这些动物的葡萄糖耐受性。动物用 2g/kg BW 葡萄糖喂饲,并测定血液中的葡萄糖浓度和胰岛素浓度。

[0539] 当与用安慰剂处理的大鼠相比较时,在用低剂量 rT3 处理的大鼠中,OGTT 3h 之后,葡萄糖浓度曲线 (AUC) 下面的面积稍微降低,但是不是显著性降低 (图 43&45)。相反,与用安慰剂处理的大鼠相比,在用 rT3 处理的大鼠中胰岛素浓度的 AUC 同时显著降低 (图 44 和 46)。这些数据表明 rT3 处理能增加胰岛素敏感性。有趣地,相较于安慰剂组,在 rT3 组中注意到胰腺质量的中度,尽管显著的增加。

[0540] 实施例 4:比较 rT3 激素的剂量对肥胖的治疗。

[0541] 1. 材料和方法

[0542] 材料和方法是前面实施例中描述的那些。

[0543] 2. 结果

[0544] 用高剂量 (25 μ g/100g BW),低剂量 (2.5 μ g/100g BW) 或超低剂量 (0.25 μ g/100g BW) 的 rT3 处理 Wistar 大鼠。

[0545] 图 48 显示相较于用安慰剂处理的大鼠,用高剂量或低剂量 rT3 处理的 Wistar 大鼠的治疗降低体重,而不改变食欲 (图 49)。图 50 中提供的相似数据显示超低剂量的 rT3 也降低动物的体重。

[0546] 处理 20 天以后,超低剂量 rT3 和高剂量 rT3 提供相似的结果。

[0547] 对于前面有关 rT3 的代谢影响的数据,评价了用高,低和超低剂量 rT3 处理的 Wistar 大鼠的能量消耗。

[0548] 如图 51 所示,相较于低剂量,高剂量 rT3 显著增加了 Wistar 大鼠的 EE,低剂量 rT3 处理的大鼠的 EE 与用安慰剂处理的大鼠的 EE 很相似。超低剂量 rT3 提供了与低剂量类似

的结果（图 52）。

[0549] 关于 RQ, 相较于安慰剂, 用高剂量和低剂量 rT3 处理的动物它们的 RQ 增加（图 53）, 而用超低剂量 rT3 处理的动物它们的 RQ 降低（图 54）。

[0550] 因此, 虽然高, 低和超低剂量 rT3 的代谢累积是不同的, 但是所有剂量的甲状腺激素对处理的动物的体重都具有显著影响。

[0551] 结果, 包括从 0.25 μ g/100g BW 到 25 μ g/100g BW 的剂量可用于治疗肥胖。

[0552] 图 55 比较了对用高或低剂量 rT3 处理的白色脂肪组织质量的影响。低剂量 rT3 降低脂肪质量的效率低于用高剂量 rT3 处理的效率。以类似的方式, 高剂量 rT3 诱导了棕色脂肪组织的高度增加, 而低剂量导致了中等增加（图 57）。

[0553] 因此, 不同剂量的 rT3 不影响肌肉组织质量（图 56）。

[0554] 图 58A&B 比较了高 (25 μ g/100mg BW) 和低 (2.5 μ g/100mg BW) rT3 对线粒体磷酸化作用（状态 3, 图 58A）和非磷酸化作用（状态 4, 图 58B）呼吸速率的影响。rT3 的施用导致状态 3 和状态 4 的呼吸速率的剂量依赖性增加, 同时所有测试的基质都表明途径的綜合影响。

[0555] 类似地, 两组处理的线粒体甘油 -3- 磷酸脱氢酶的酶活性以剂量依赖性方式显著增加。

[0556] 关于用高或低剂量 rT3 处理的 Wistar 大鼠的脂质分布模式, 高剂量以比低剂量更好的效率刺激 FFA 的释放（图 60A）, 和甘油三酯的降解（图 60B）。

[0557] 对于甘油（图 60C）和 HDL（图 60D）, 高和低剂量对这些脂质的减少发挥相同的作用。

[0558] 所有这些数据证实, 高, 低和超低剂量 rT3 都适合用于降低体重。

[0559] 实施例 5 : 比较 rT3 激素的施用对肥胖的治疗。

[0560] 1. 材料和方法

[0561] 连续皮下释放 (sc 小球) 的作用已经显示显著优于相同剂量的口服或腹膜内非连续施用。但是通过比较通过皮下或腹膜内植入的渗透泵进行 rT3 的连续施用进一步研究施用位点的作用, 以通过皮下小球施用的处理作为参考。Wistar 大鼠用安慰剂, 皮下小球或者皮下或腹膜内渗透泵处理 21 天。连续施用 rT3 (2.5 μ g/100g)。

[0562] 2. 结果

[0563] 通过 3 种不同的施用方法连续和恒定施用低剂量的 rT3 来处理 Wistar 大鼠 :

[0564] - 皮下小球,

[0565] - 置于皮肤下面的渗透泵, 和

[0566] - 置于腹膜腔内的渗透泵。

[0567] 21 天之后分析这三种施用的结果。

[0568] 图 61 显示所有施用方法都导致了处理动物体重的显著降低。证实处理组之间没有显著差异。

[0569] 图 62 表明所有方法都导致白色脂肪组织质量的显著降低。处理组之间注意到一些较小的差异, 但是所有的影响都是很小的。

[0570] 图 63 表明小球和皮下泵比腹膜内泵更显著地增加棕色脂肪组织, 但是所有的处理都是有效的。

[0571] 图 64 表明 3 种施用方法都增强线粒体 GPdH 活性,而且小球施用增强得更多。而且所有的处理都是有效的。

[0572] 图 65 和 66 分别显示了用 3 种施用方法处理的动物的能量消耗和呼吸商。

[0573] 所有的方法提供了相似的结果,也即与质量减少相关的代谢活性增加。

[0574] 因此所有的连续和恒定剂量 rT3 的测试施用方法,提供了令人满意的结果以用于肥胖的治疗。这些结果表明对于功效来说,施用的速率比注射的位点(sc 对 ip)更重要。

[0575] 实施例 6:内源甲状腺激素在连续和恒定 rT3 处理的作用中的功能。

[0576] 1. 材料和方法

[0577] 所有前面的实施例已经证实了 rT3 施用对肥胖,血脂异常和糖尿病的治疗的效果。

[0578] 为了理解处理作用的模式,用抑制甲状腺激素 PTU 和 IOP 合成和脱碘作用的药物产品处理 Wistar 大鼠。

[0579] 动物(Wistar)进行丙基-硫脲嘧啶(溶于饮用水中的 PTU)和碘番酸(IOP 每周一次 sc 注射)处理,其导致所有脱碘酶(I,II 和 III 型)的完全抑制。这种处理导致严重的甲状腺机能减退状况的诱导。此外,这种处理通过脱碘作用削弱了所有甲状腺激素的外周代谢。一些大鼠还进行了 rT3 的皮下施用(2.5 μ g/100g)。对照,PTU+IOP 和 PTU+IOP+rT3 构成 3 组,实验的持续时间为 3 周。

[0580] 2. 结果

[0581] 图 67 表明 PTU+IOP 处理诱导了动物重量的较大降低。而且,添加 rT3 增加了由 PTU-IOP 诱导的降低。注意用或不用 rT3,PTU-IOP 处理的大鼠的食欲保持没有变化是重要的(图 68)。

[0582] 因而,由于 PTU 和 IOP 抑制了甲状腺激素的内源合成,数据表明用于处理的 rT3 发挥作用,而不干扰施用的激素或其他内源激素的代谢。为了证实这些假设,在用或不用 PTU+IOP 处理的大鼠中分析 T4 浓度。如图 74 所示,当用 PTU+IOP 处理大鼠时,动物的血浆中缺乏 T4 激素。

[0583] 图 69 和 70 表明相较于安慰剂,当用 PTU+IOP 处理动物时,EE 和 RQ 分别降低,但是当施用 rT3 时,EE 和 RQ 增加。这些数据证实了施用的 rT3 的内源独立性。

[0584] 图 71 和 72 表明,PTU+IOP 施用诱导的严重甲状腺机能减退,导致利用谷氨酸盐/苹果酸盐(GM),琥珀酸盐(S)和谷氨酸盐/苹果酸盐/琥珀酸盐(GMS,图 71)降低的状态 3 呼吸速率,和 mGPdH 活性(图 72)。用 rT3 处理(2.5 μ g/100g)纠正了 PTU+IOP(状态 3)或刺激物(mGPdH)的作用。

[0585] 关于棕色脂肪组织,PTU+IOP 处理增加了高能脂肪组织的质量,但是当大鼠用 rT3 处理时,也增加了这种质量。

[0586] 总之,所有这些数据证明了 rT3 施用对处理大鼠的体重和代谢活性都有影响,而不干扰内源甲状腺激素,也没有进一步的 rT3 脱碘作用。

[0587] 实施例 7:高脂肪高蔗糖饮食。

[0588] 营养诱导的胰岛素抗性的临床相关状况已知为高脂肪高蔗糖饮食(HF)。因此,研究了 rT3 对 OGTT 测试的葡萄糖和胰岛素应答的影响。Wistar 大鼠喂饲包含 45.5%脂肪(38%猪油和 7.5%大豆油)和 34%碳水化合物(25%为蔗糖)的饮食 8 周。如上所述的进

行 OGTT。

[0589] 图 75 显示 rT3 (2.5 μ g/100g) 导致血液葡萄糖的显著降低,其表示为曲线下的面积 (AUC, 图 75),或者随着时间血浆浓度变化 (图 77)。平行地,对于 AUC (图 76) 和随时间的变化 (图 78),胰岛素水平都显著降低。

[0590] 这些结果证实用 rT3 的处理用于增加由于不合适的饮食导致的胰岛素抗性的状况中胰岛素敏感性的作用。

[0591] 实施例 8:新的肝脂质生成。

[0592] 综合到一起,rT3 的作用显示与体重降低相关的增加的能量消耗,食物摄入方面没有重要变化,血液葡萄糖和甘油三酯水平降低,而游离脂肪酸增加。这表明脂肪酸氧化增加 (因为在分离的线粒体中发现脂肪酸氧化)。但是通过间接量热法进行的葡萄糖对脂肪酸氧化的综合测定是不确定的,因为 RQ 有时增加有时降低。一个假设是低脂肪含量的啮齿动物中国狗,在有些情况中,脂肪酸在被氧化之前,必须首先从碳水化合物合成。当然,当脂肪酸氧化被强烈激活时,这可能尤其与例如高剂量的 rT3 相关。

[0593] 为了证实这种观点,使用稳定同位素,测定了内源甘油三酯合成的速率。

[0594] 图 79 显示, rT3 强烈刺激了脂质的内源性 (肝) 合成。有趣地,这种作用白天期间是最大的,也即,在动物倾向于脂质氧化而不储存的禁食情况中,储存是内源合成的生理学目标。

[0595] 这些结果证实了, rT3 能同时激活导致无效循环的脂肪分解,脂质氧化和脂肪生成,其可以解释基础能量消耗的相当大的增加。

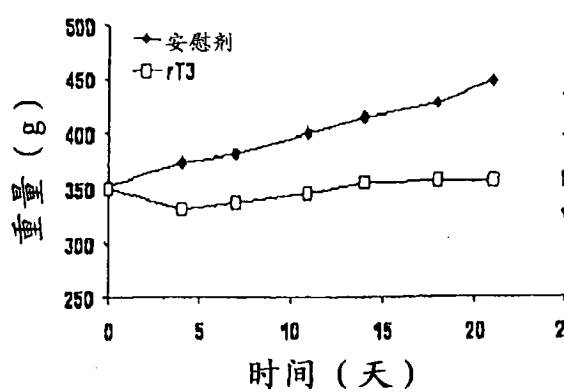


图 1A

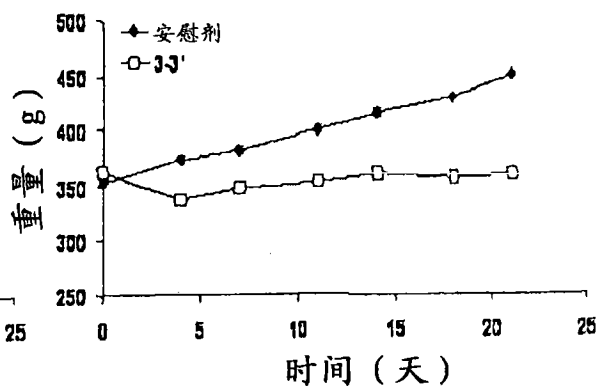


图 1B

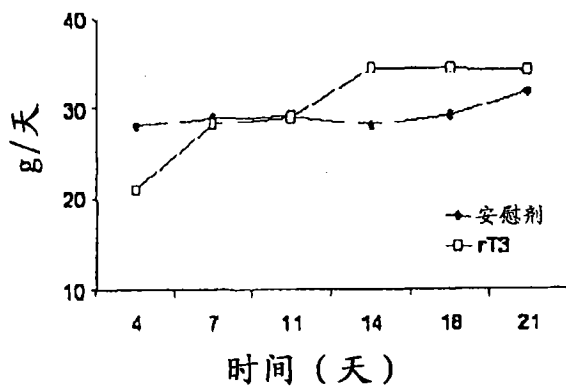


图 2A

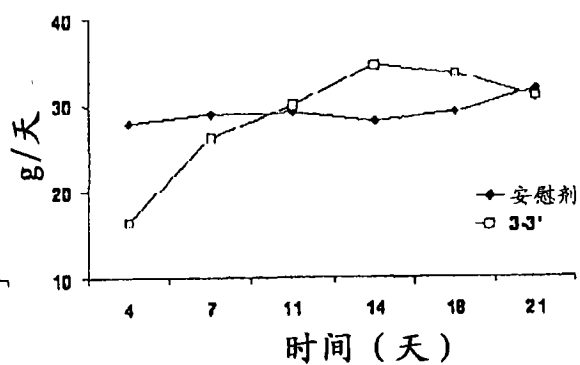


图 2B

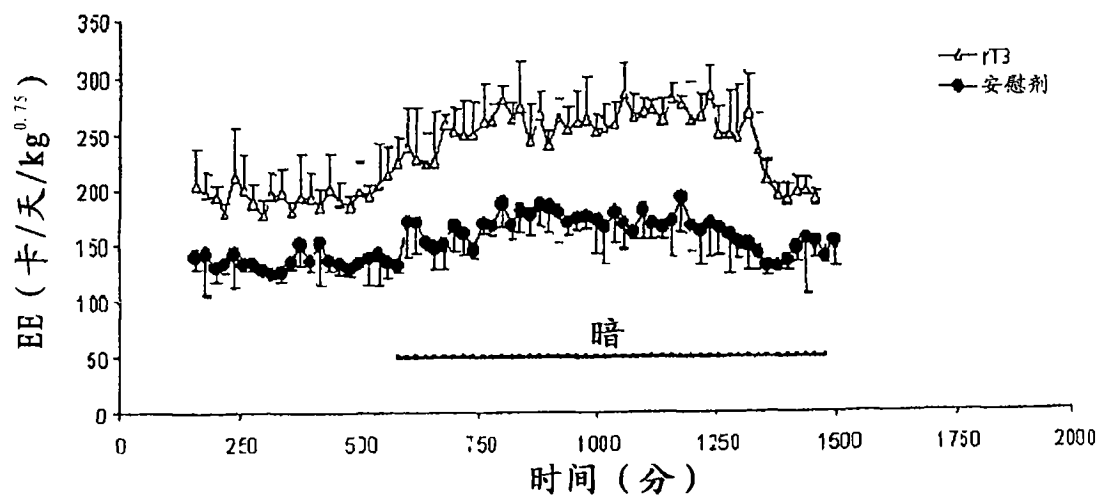


图 3A

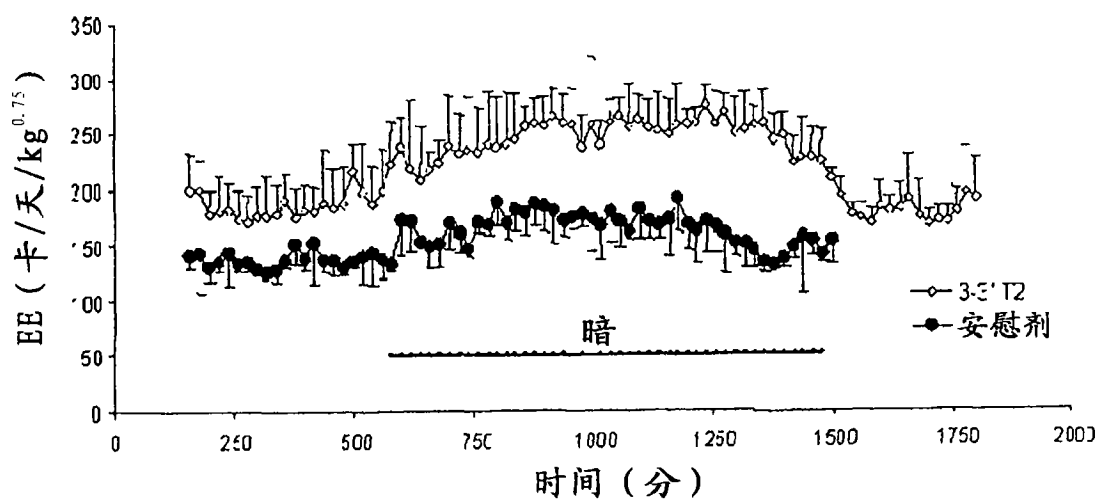


图 3B

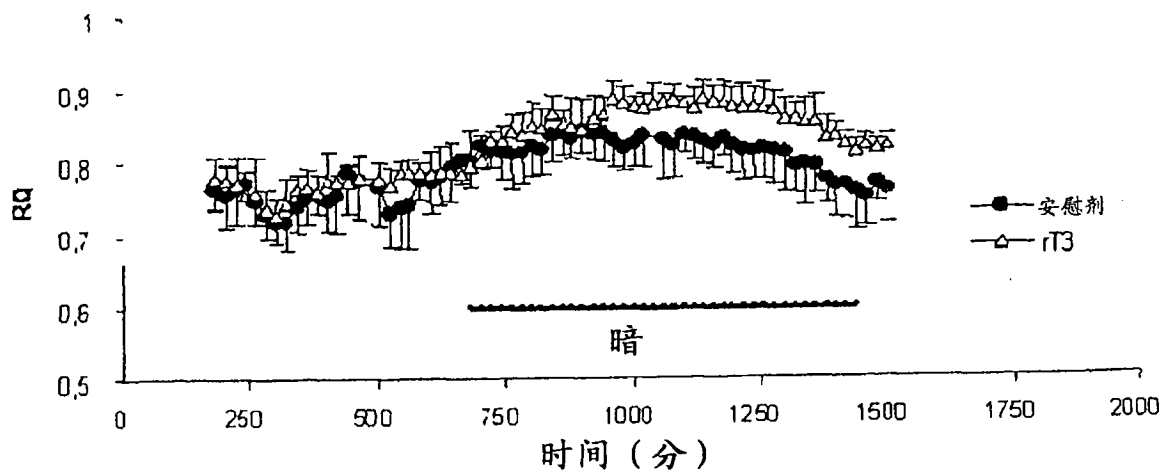


图 4A

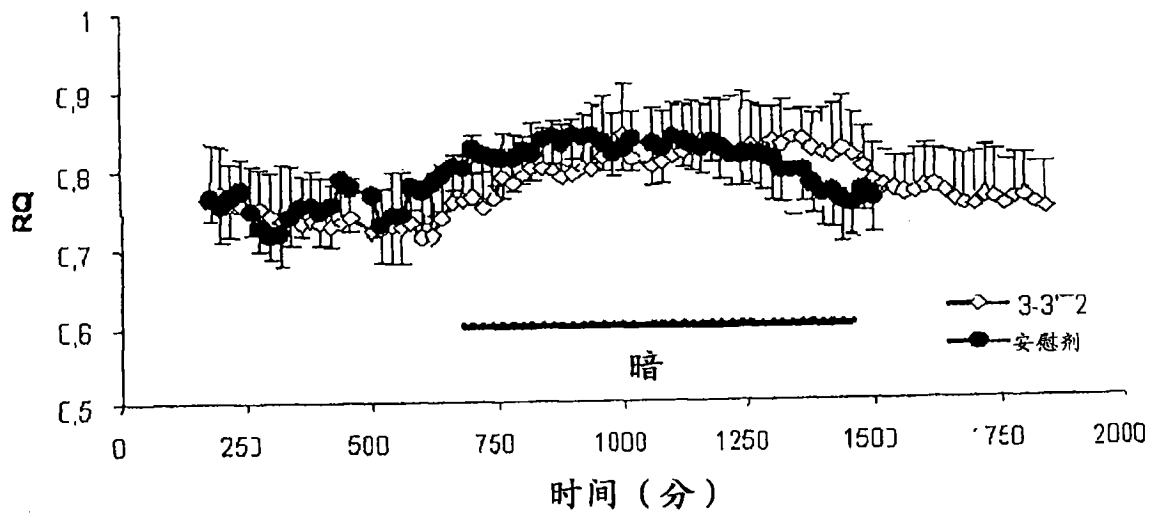


图 4B

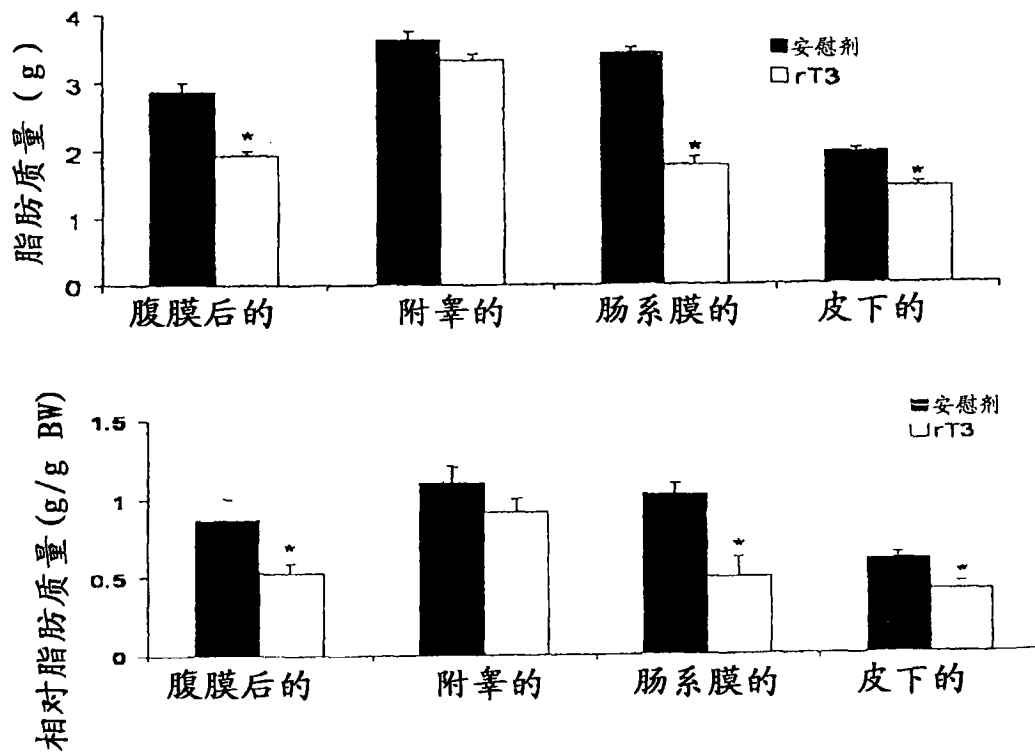


图 5A

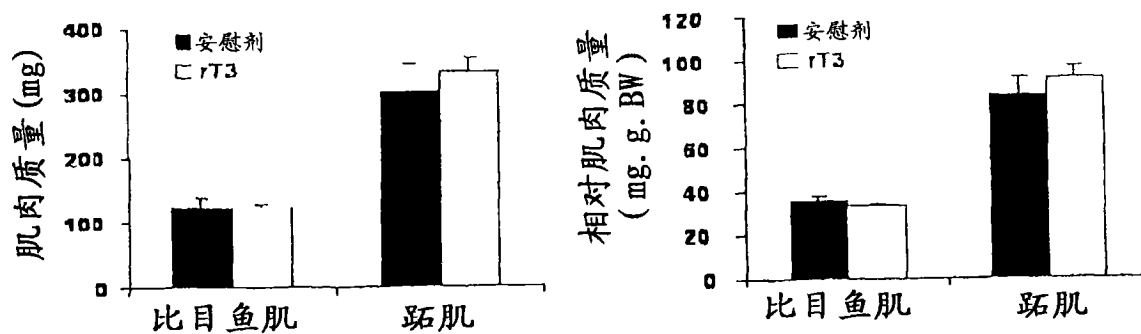


图 5B

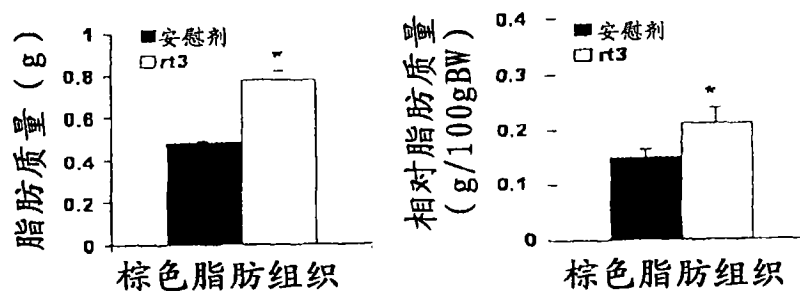


图 5C

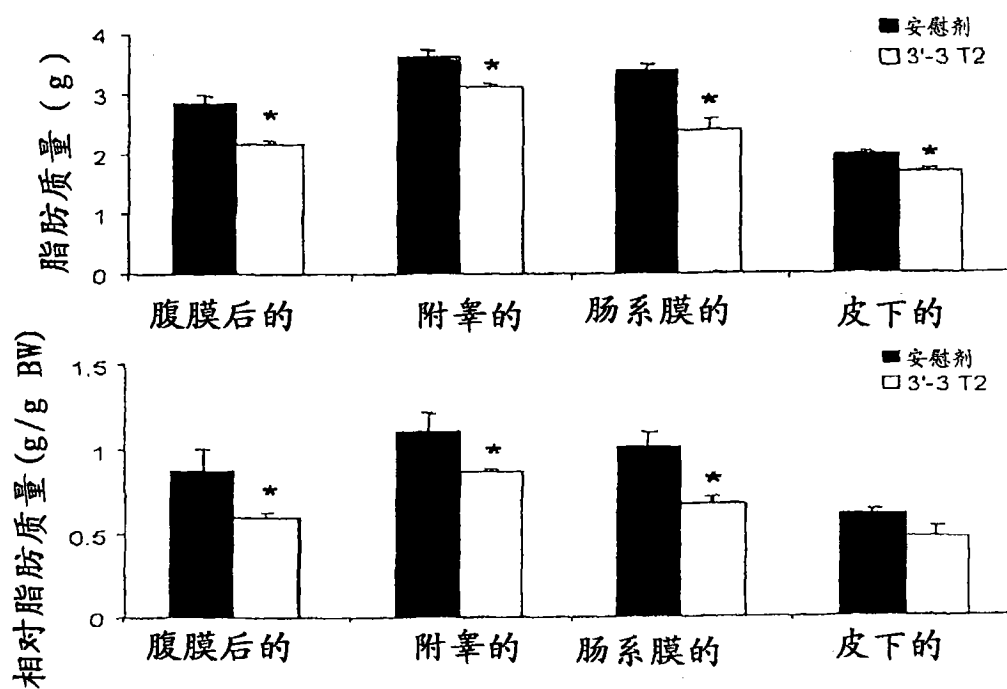


图 6A

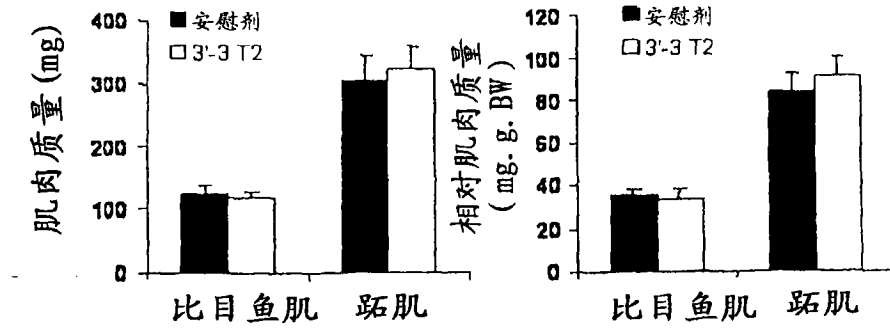


图 6B

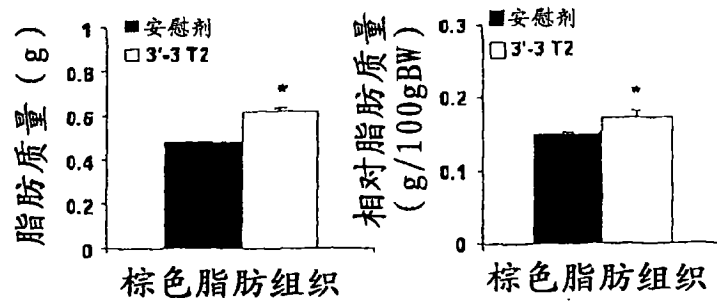


图 6C

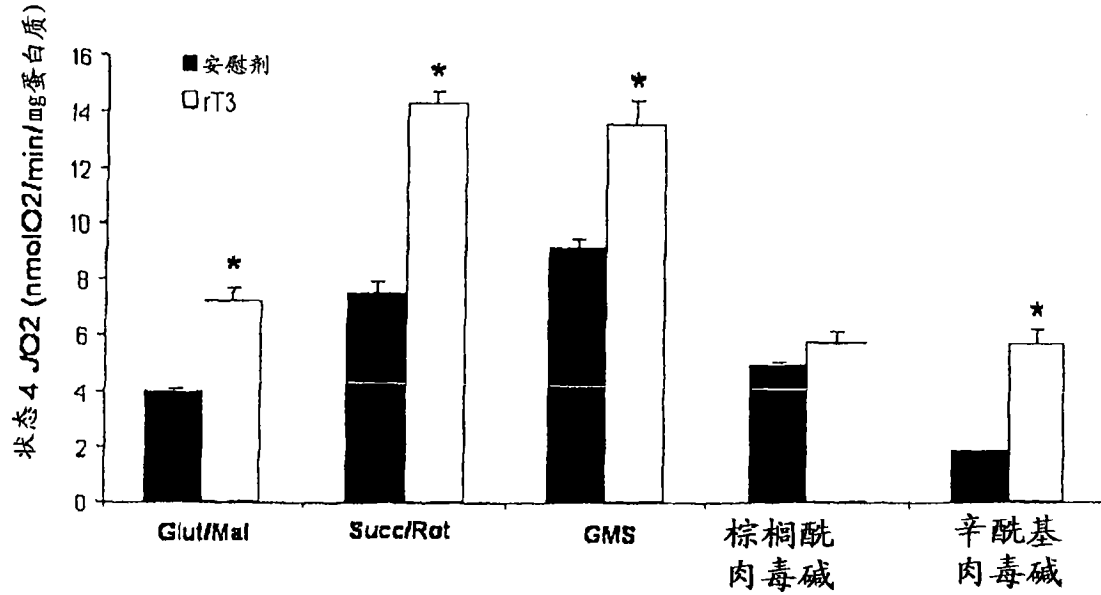


图 7A

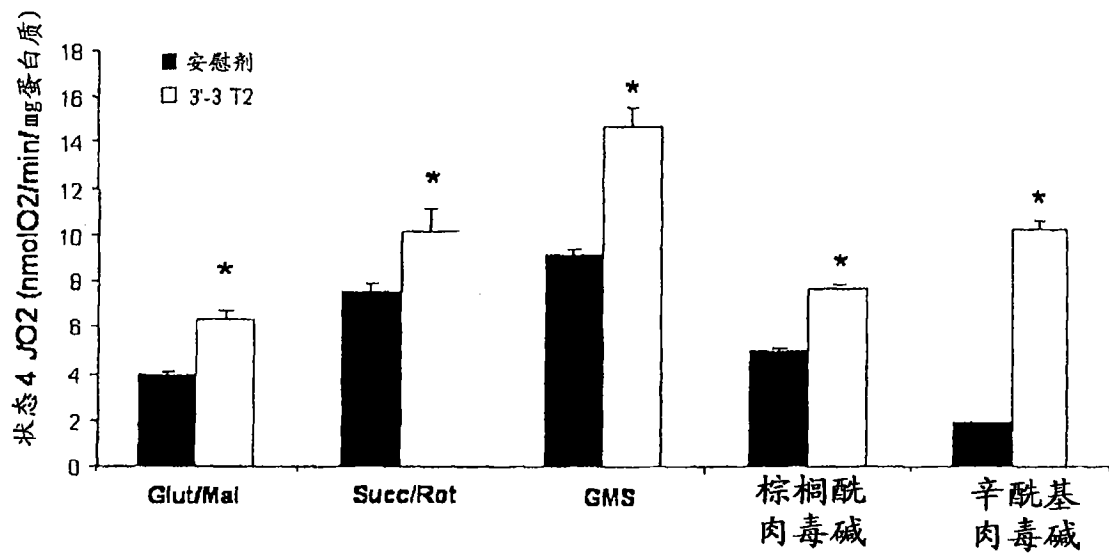


图 7B

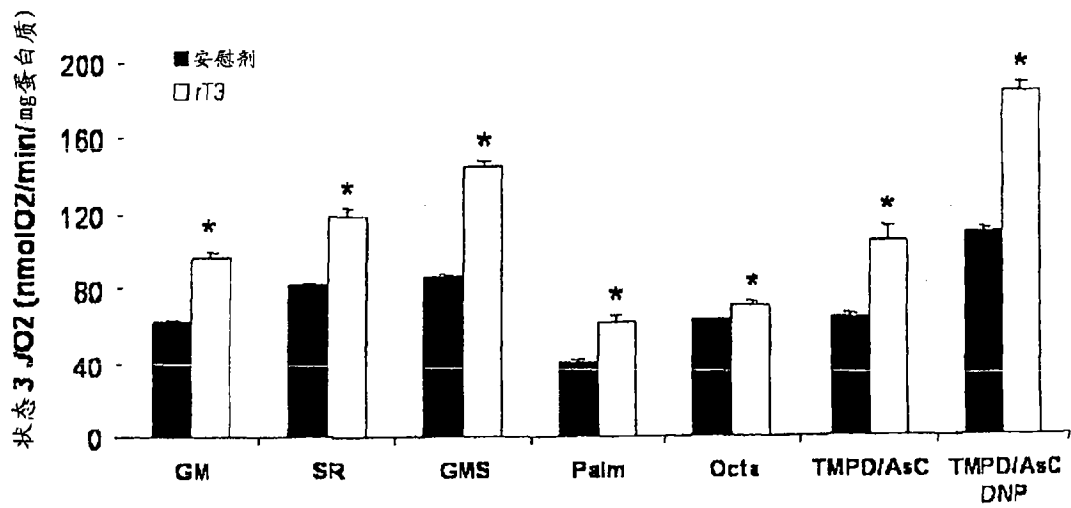


图 7C

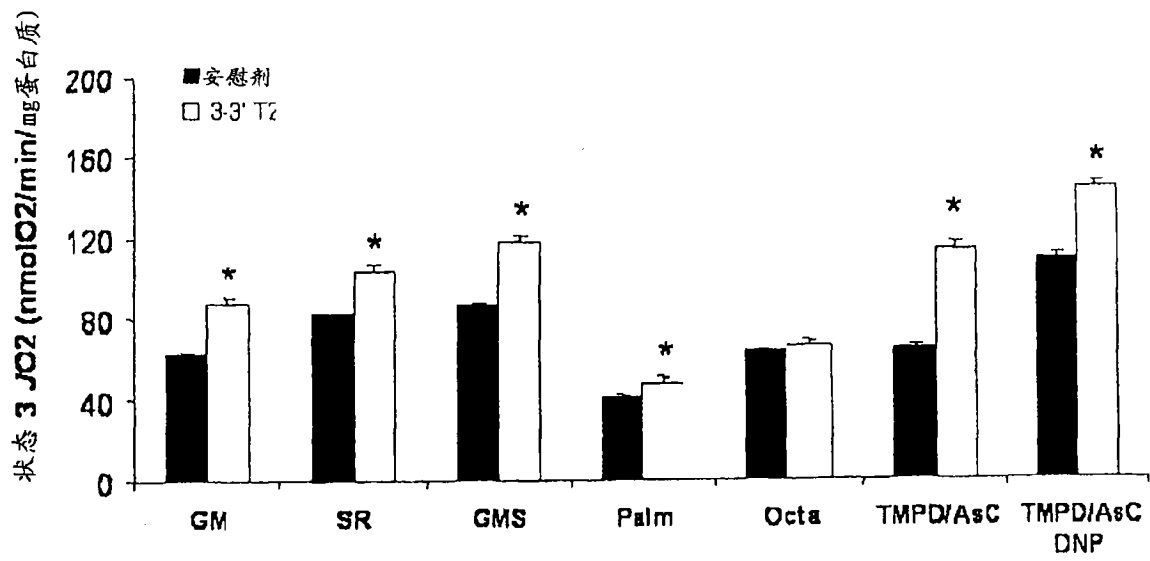


图 7D

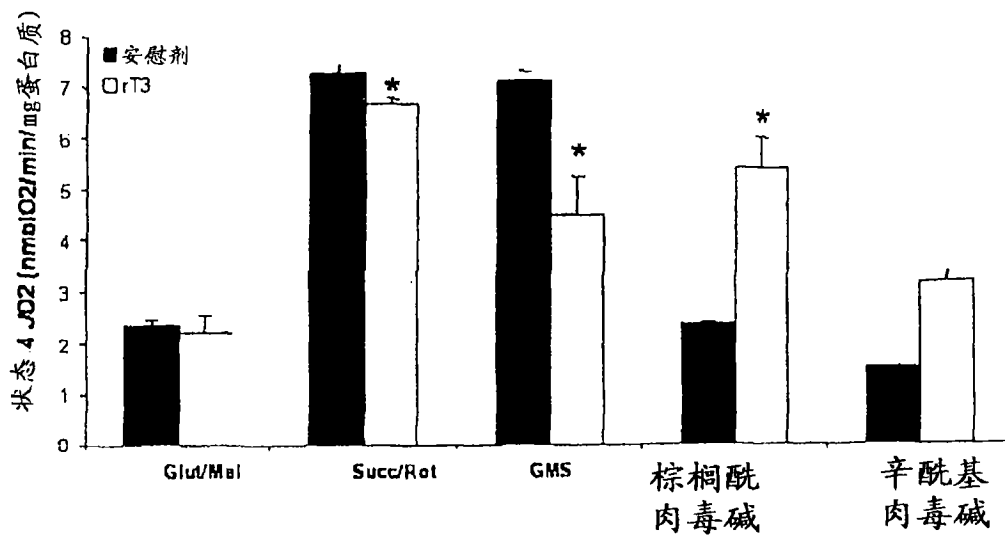


图 8A

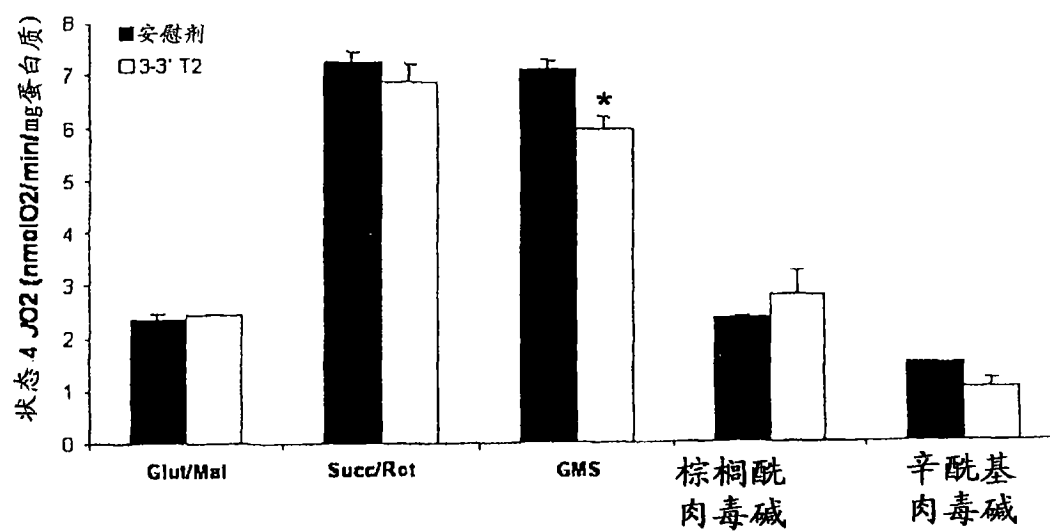


图 8B

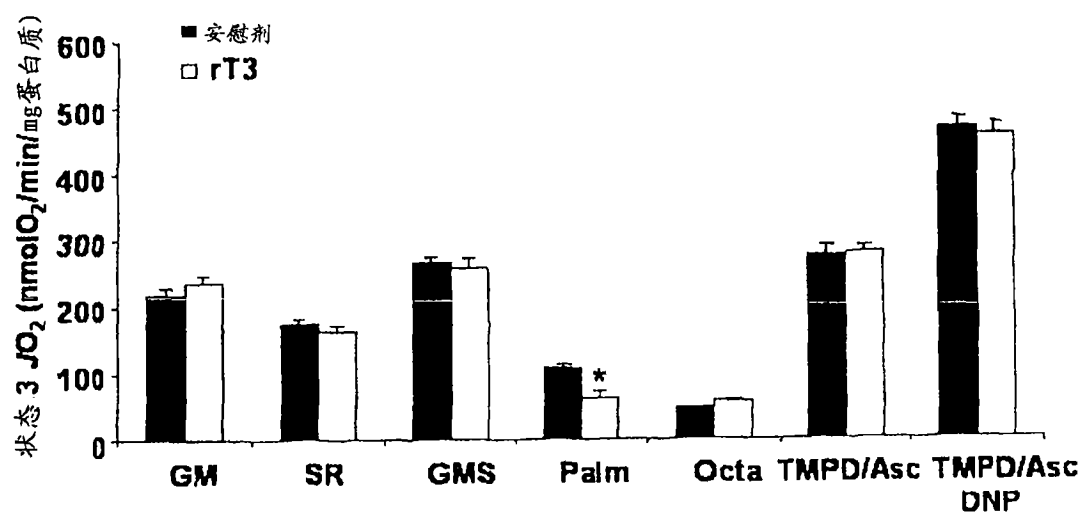


图 8C

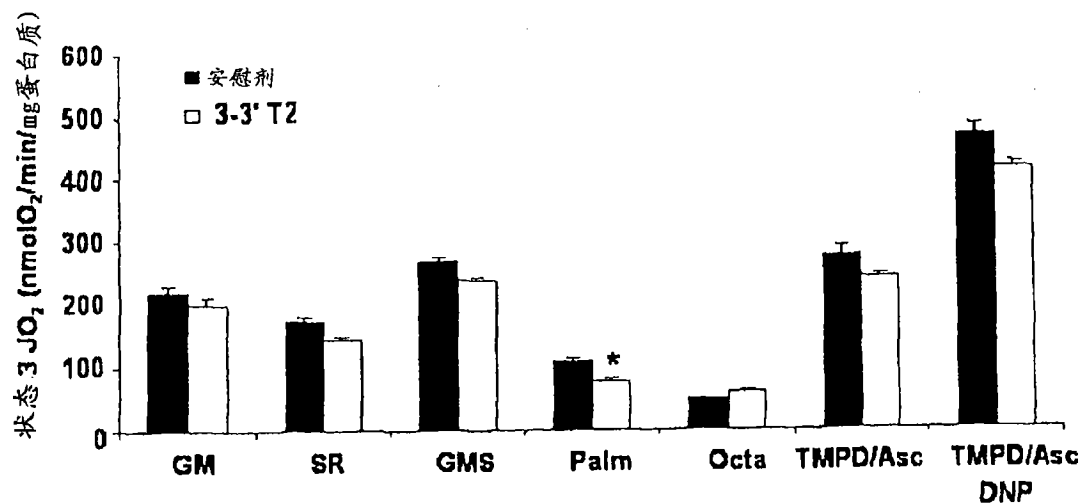


图 8D

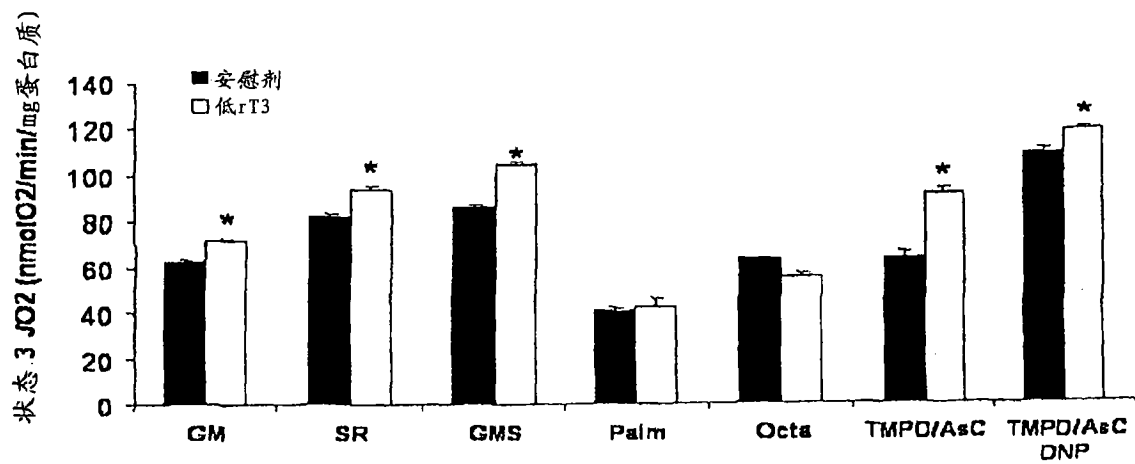


图 9A

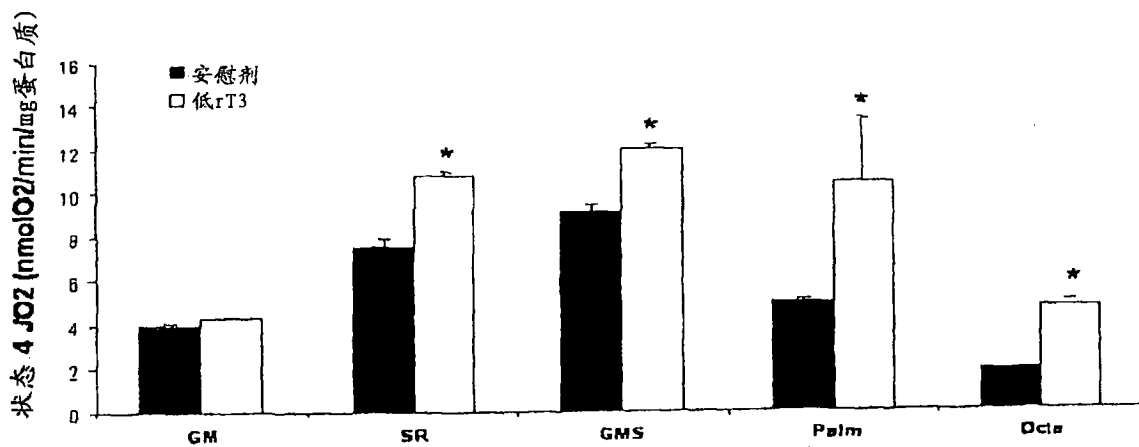


图 9B

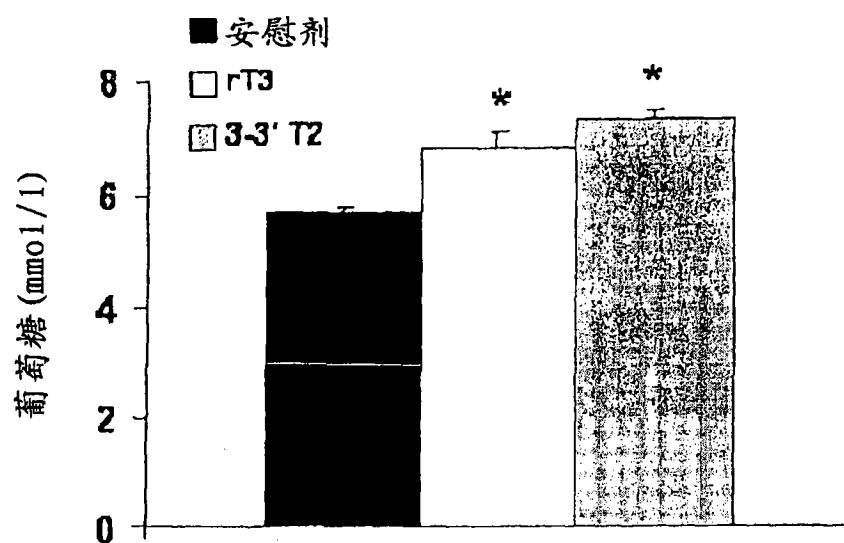


图 10A

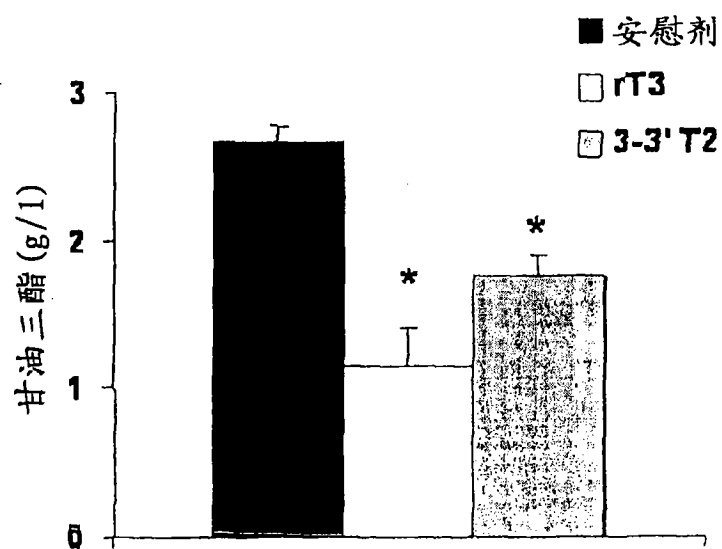


图 10B

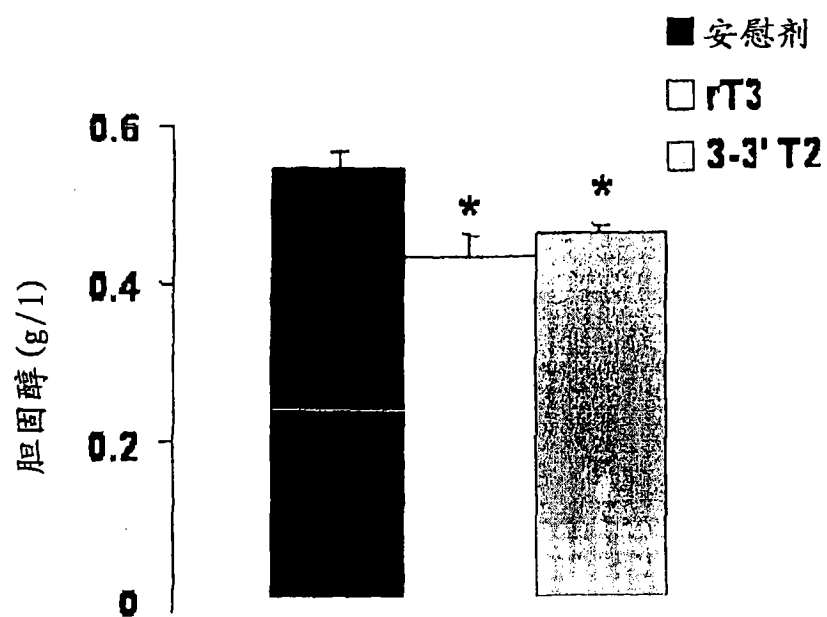


图 10C

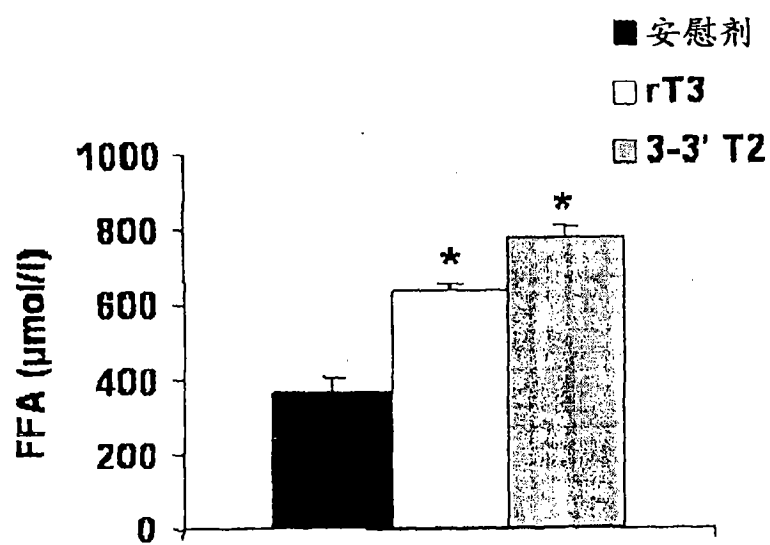


图 10D

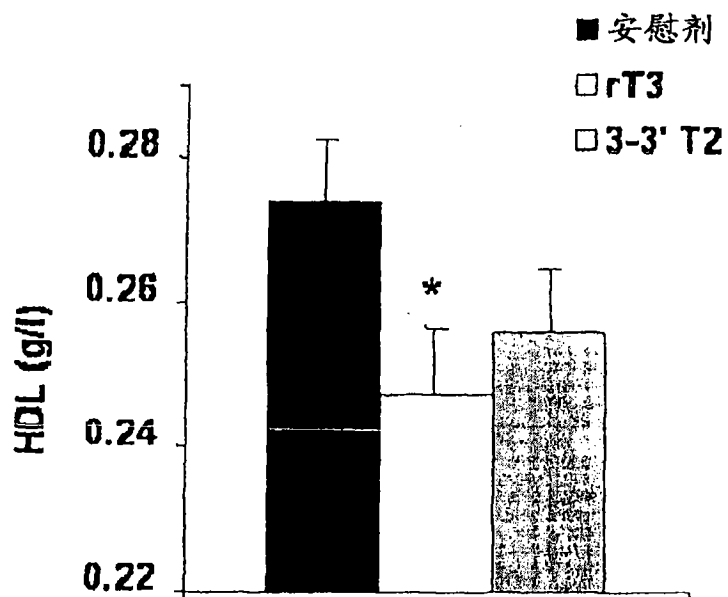


图 10E

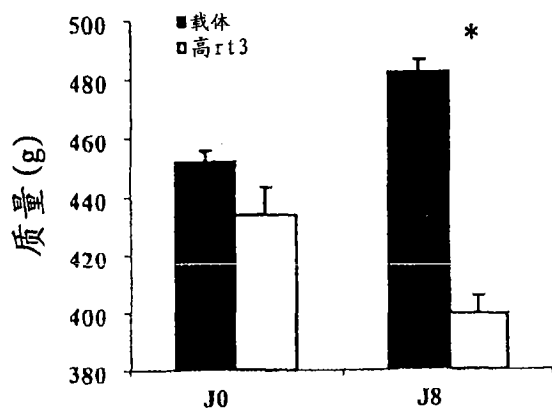


图 11A

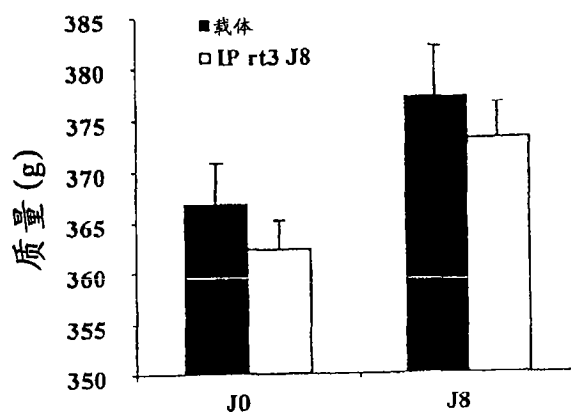


图 11B

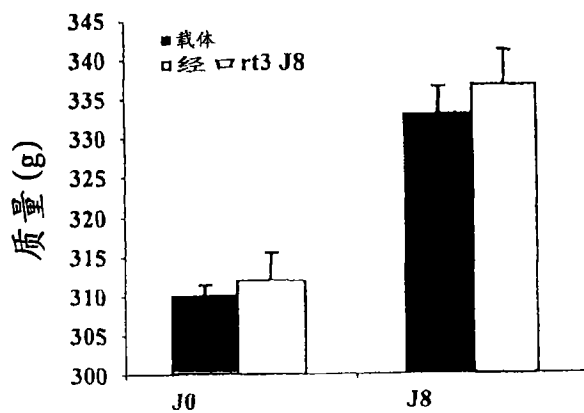


图 11C

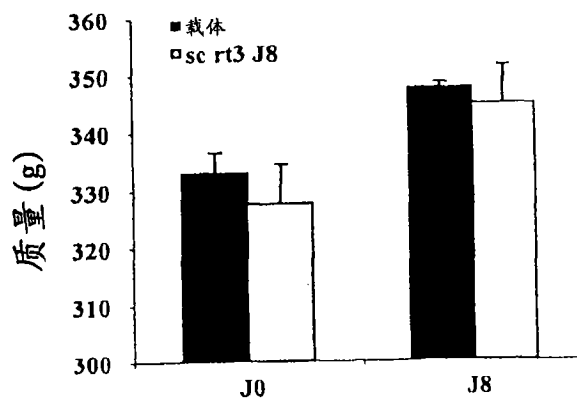


图 11D

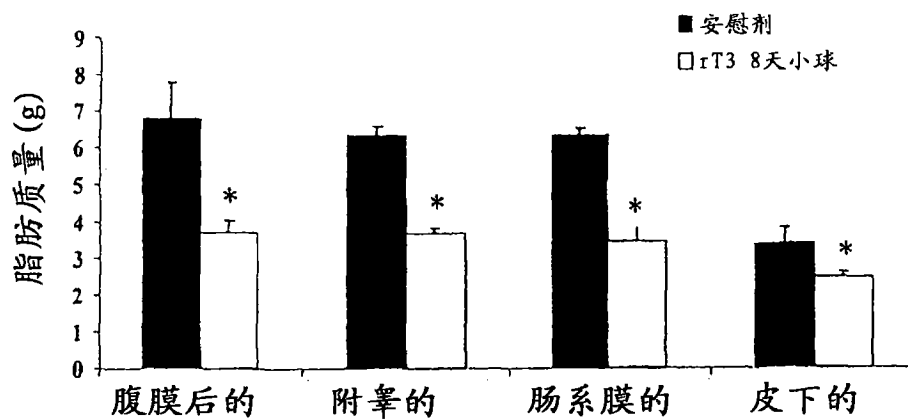


图 12A

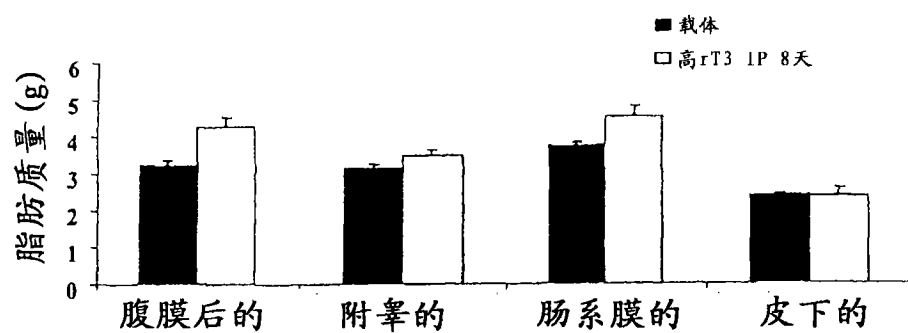


图 12B

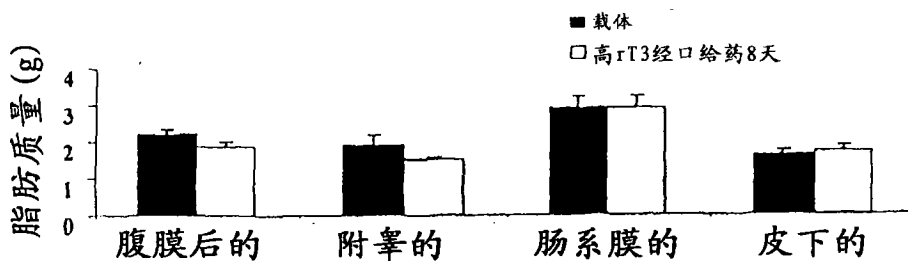


图 12C

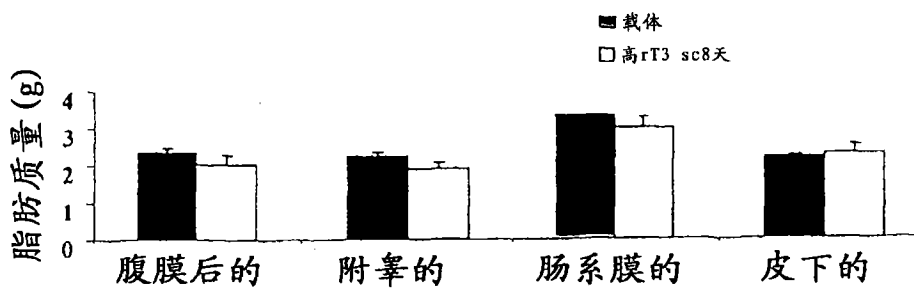


图 12D

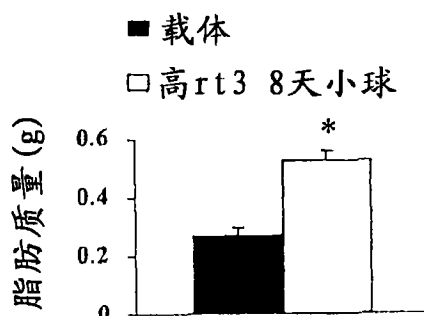


图 13A

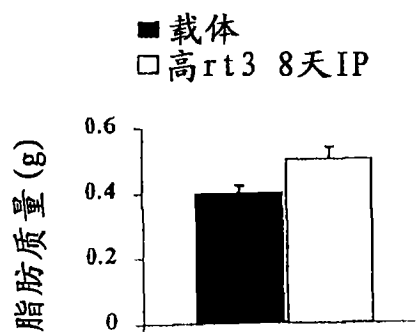


图 13B

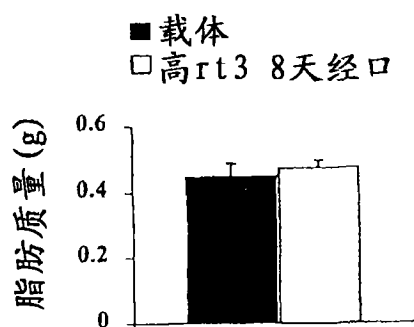


图 13C

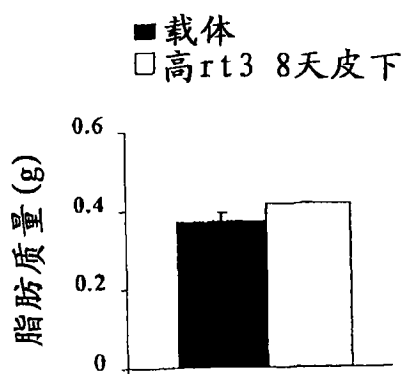


图 13D

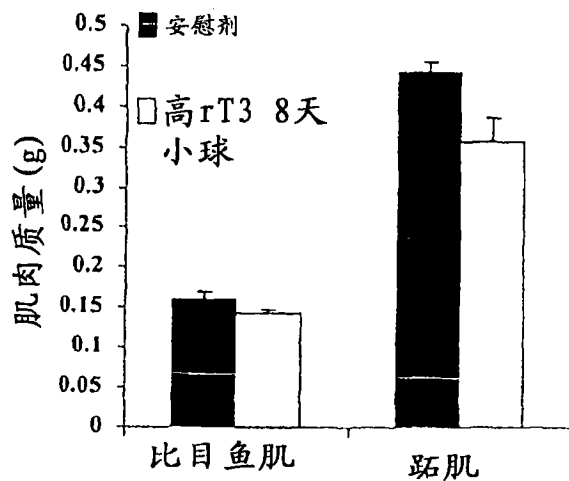


图 14A

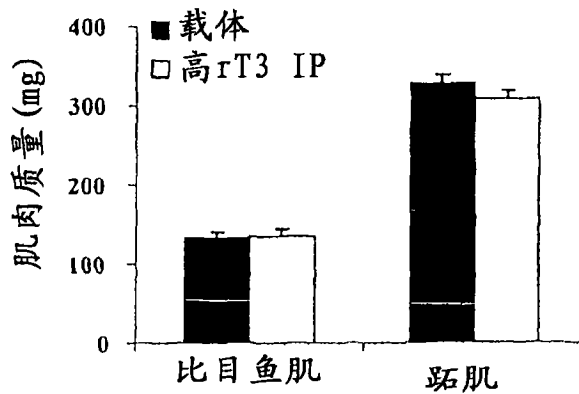


图 14B

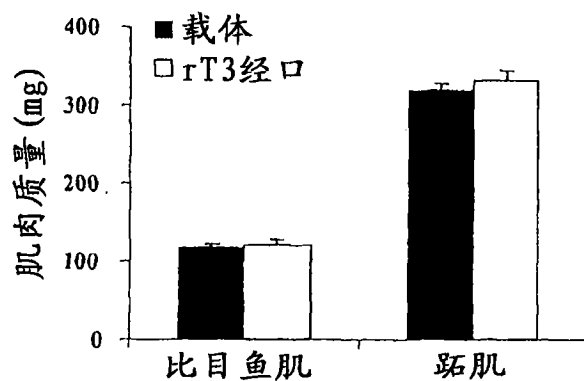


图 14C

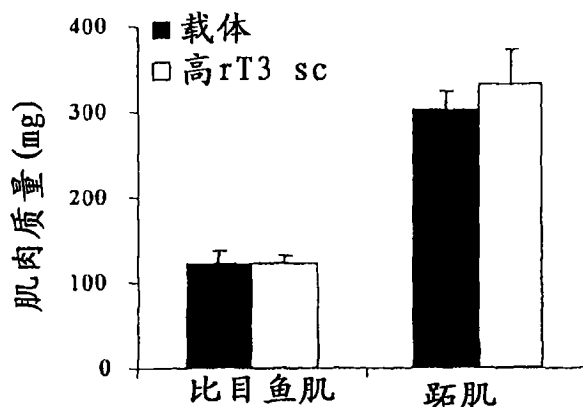


图 14D

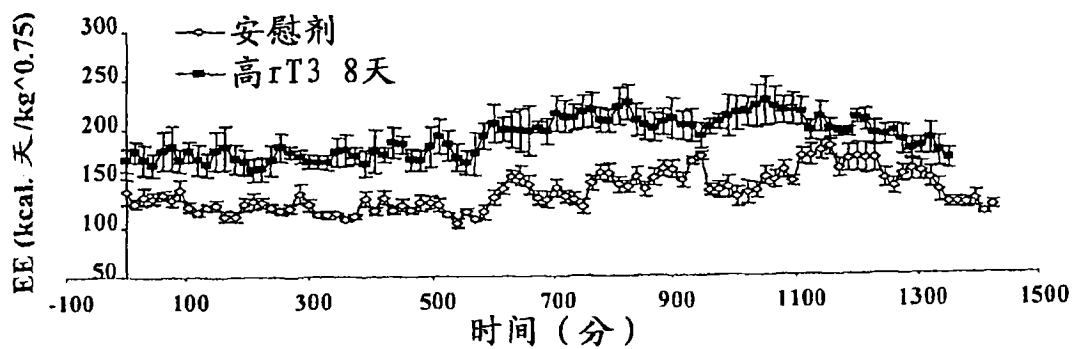


图 15A

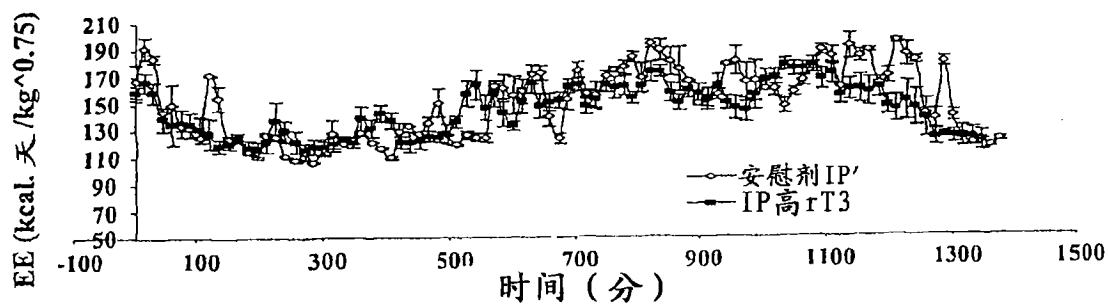


图 15B

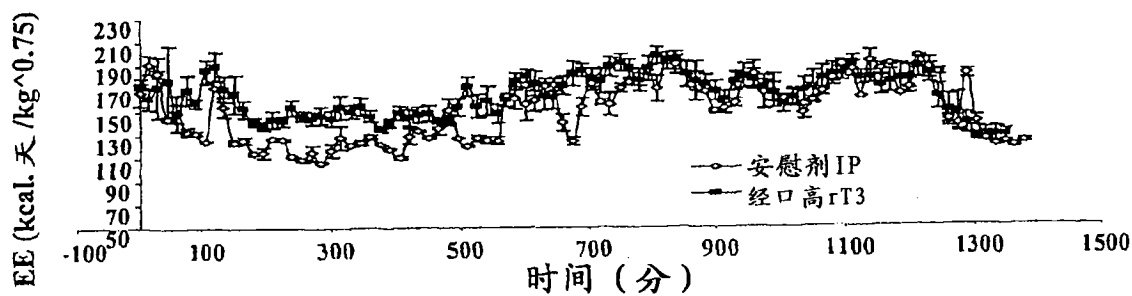


图 15C

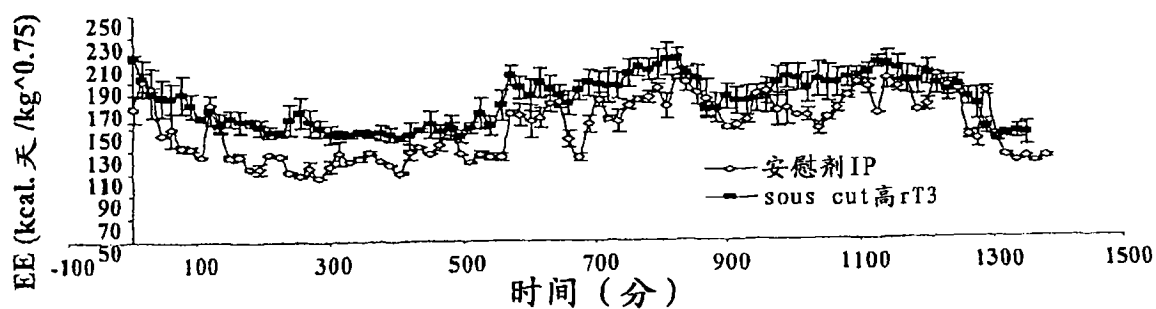


图 15D

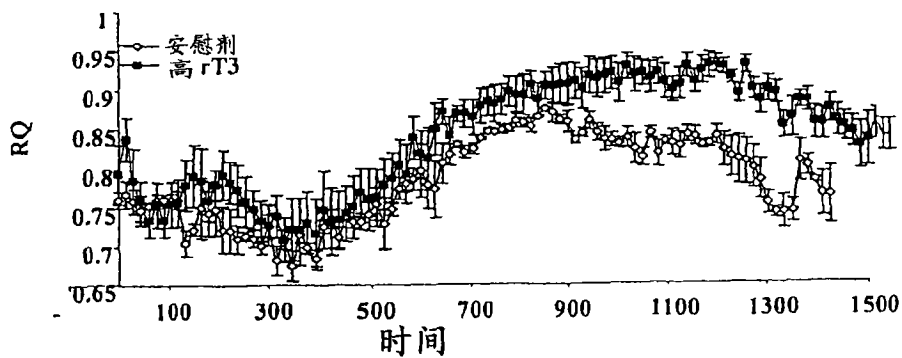


图 16A

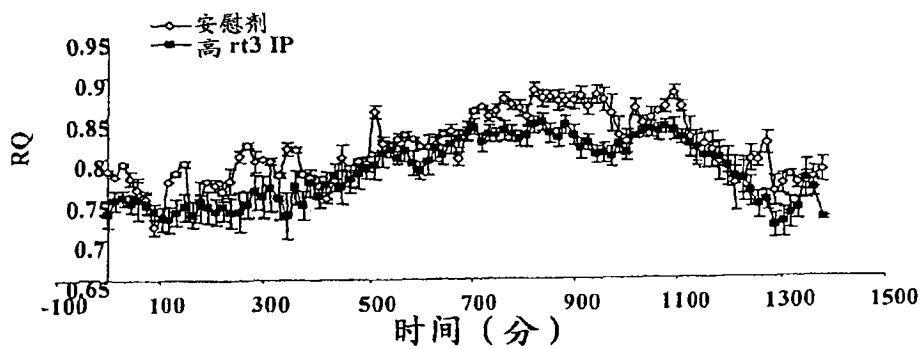


图 16B

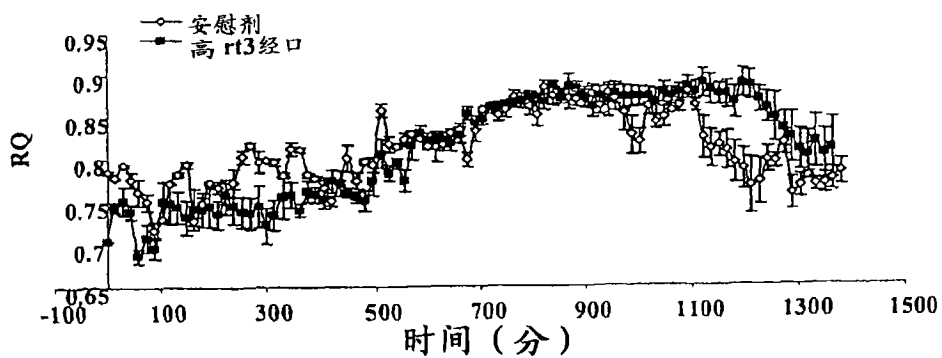


图 16C

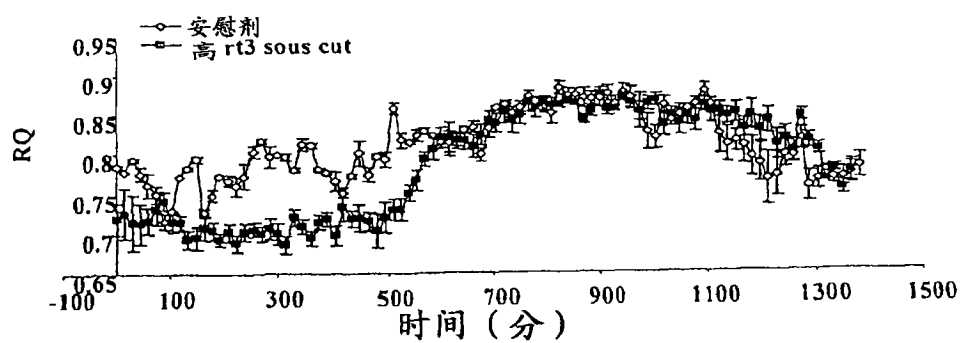


图 16D

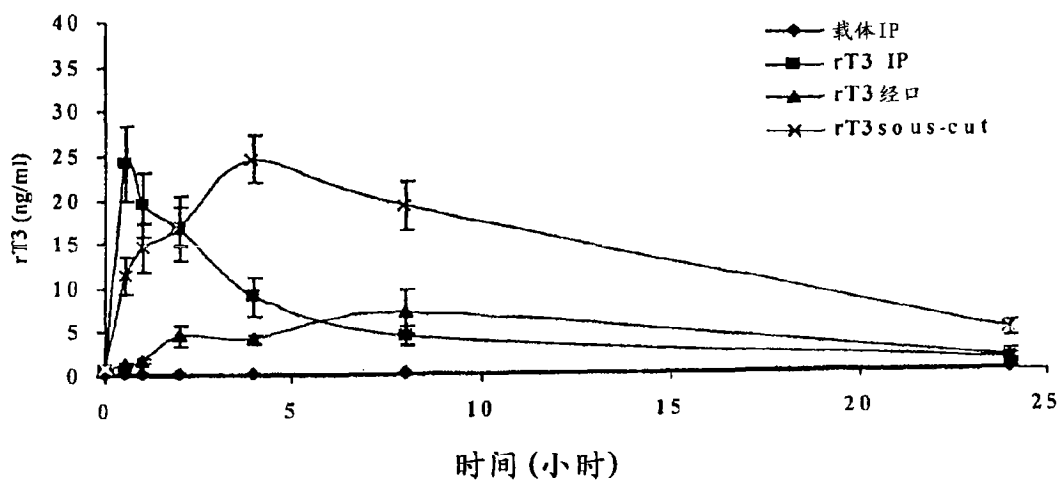


图 17

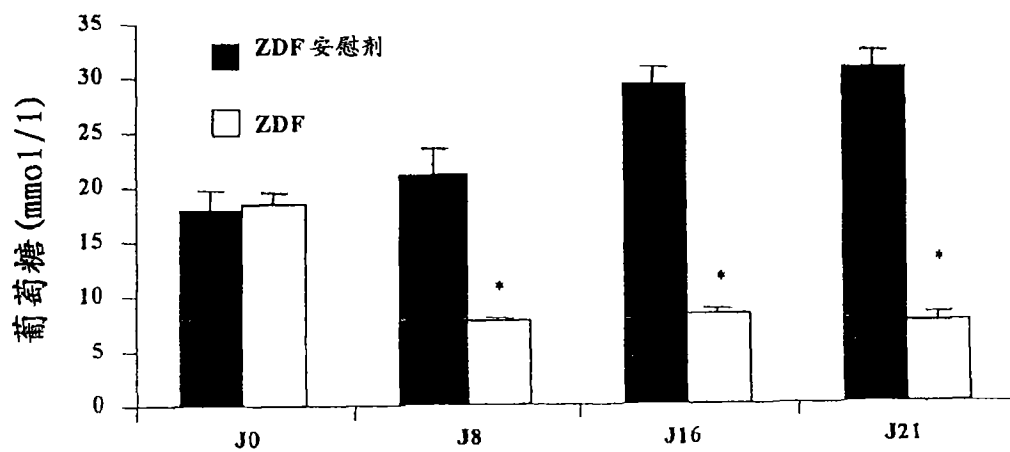


图 18

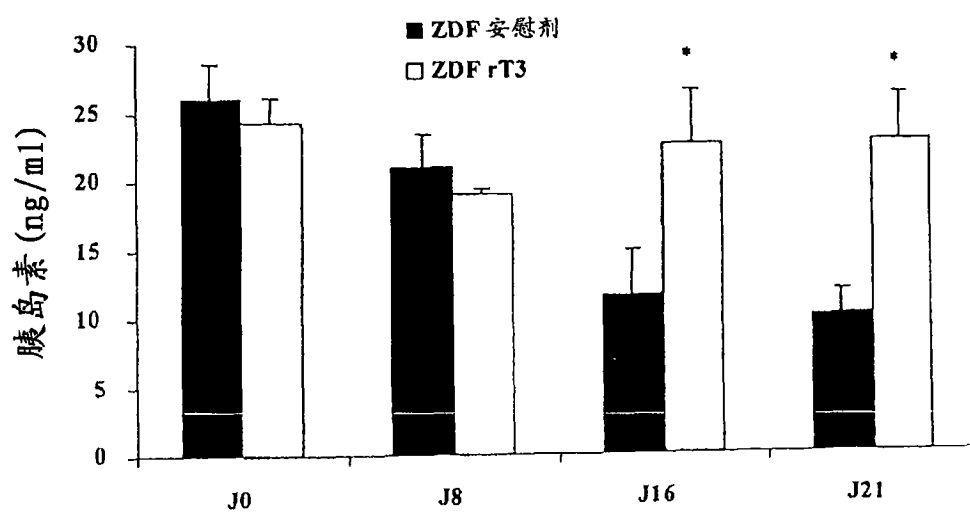


图 19

胰腺

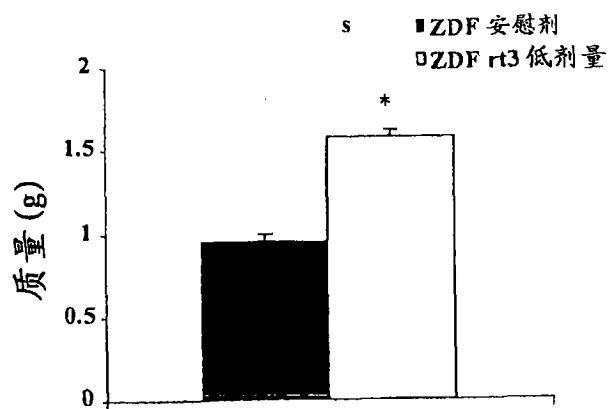


图 20

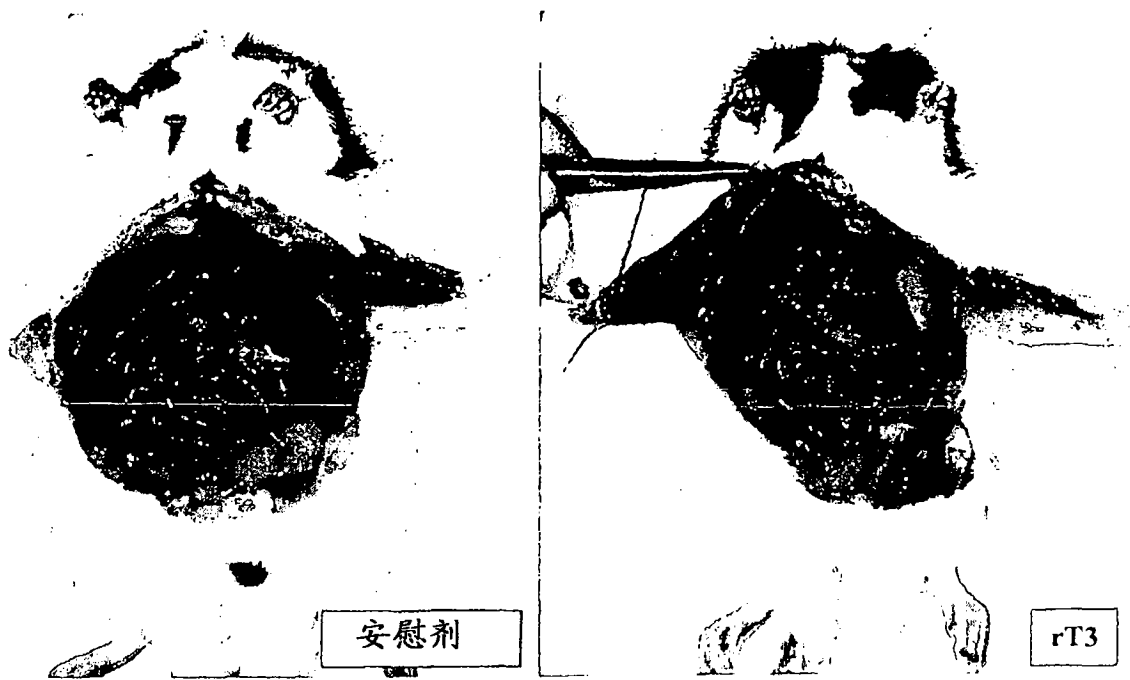


图 21

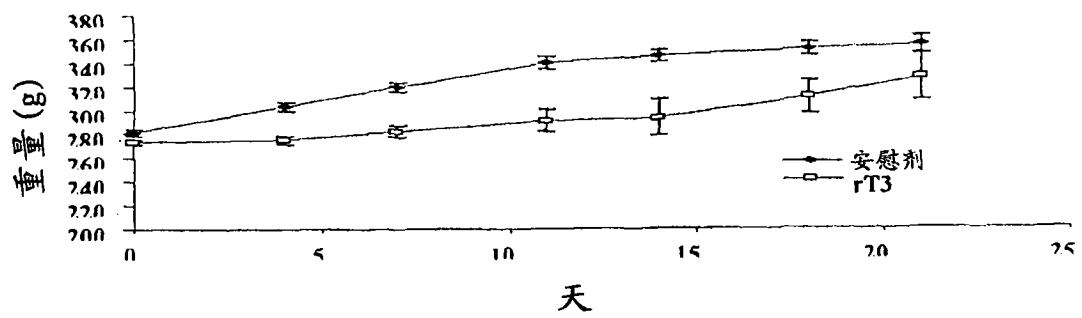


图 22

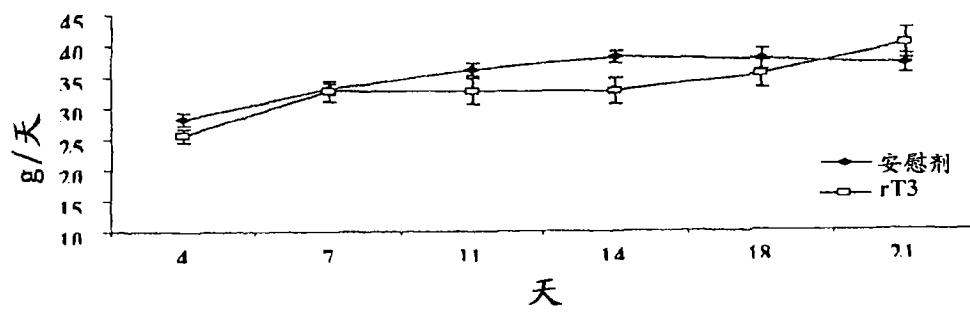


图 23

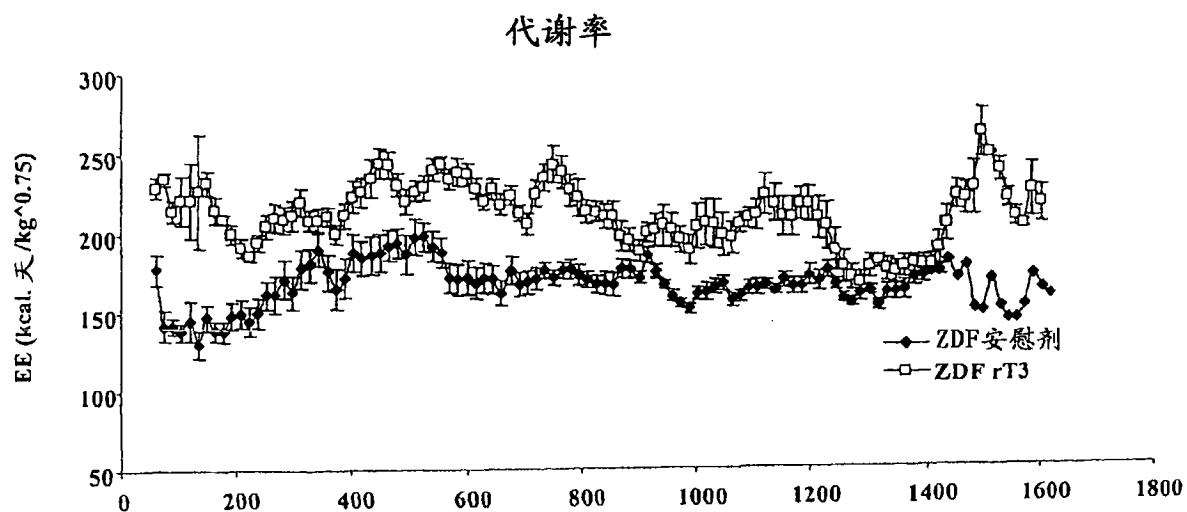


图 24

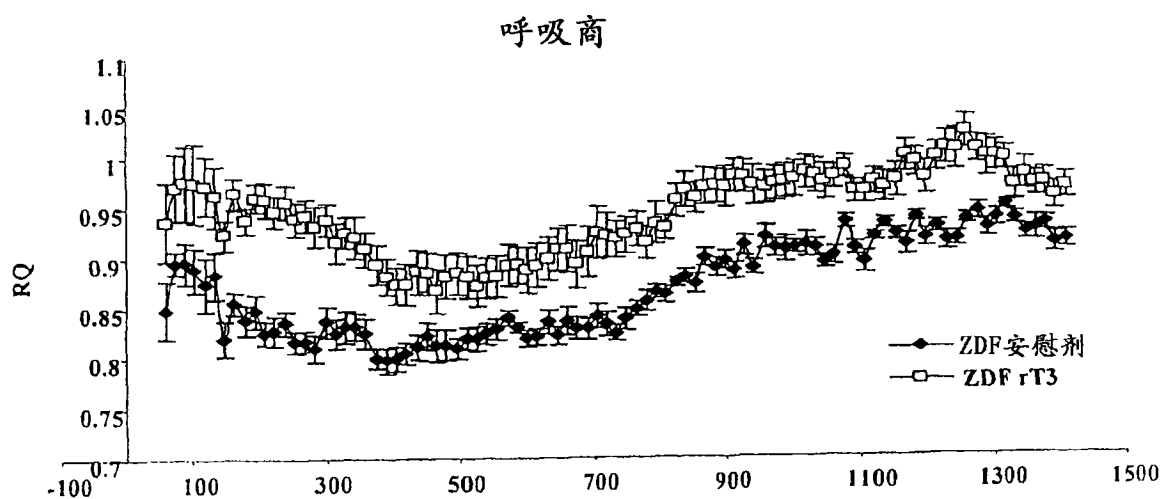


图 25

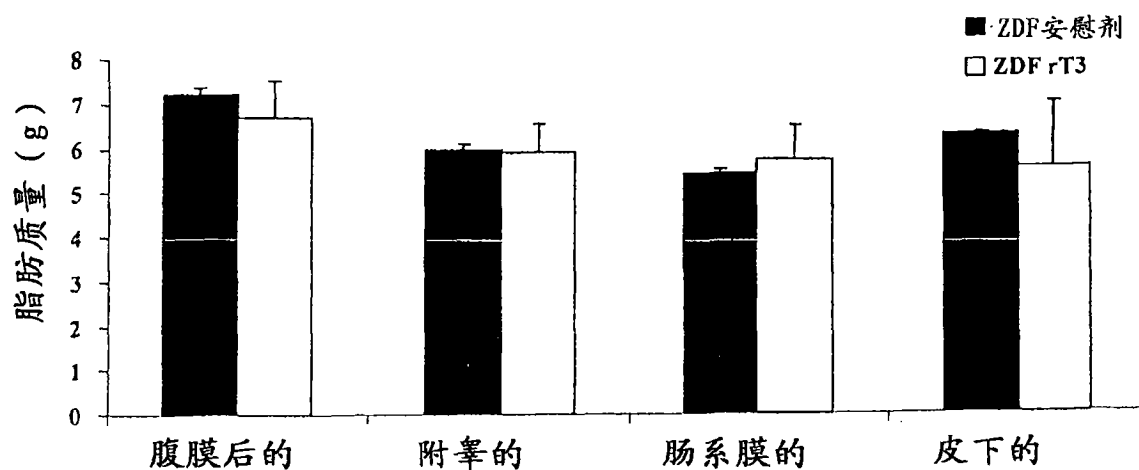


图 26

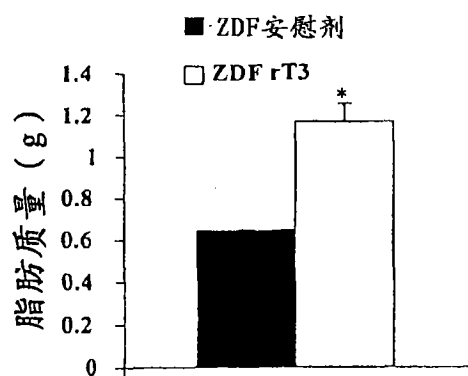


图 27

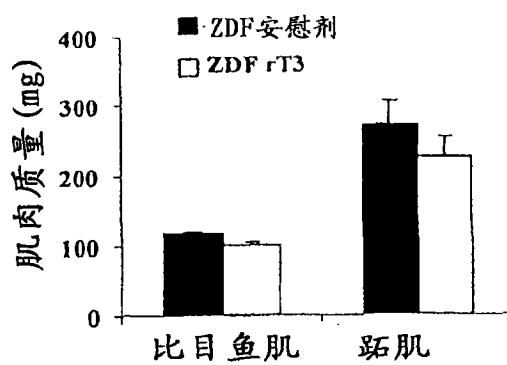


图 28

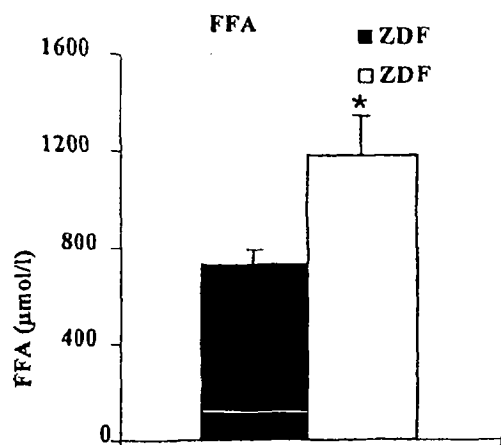


图 29

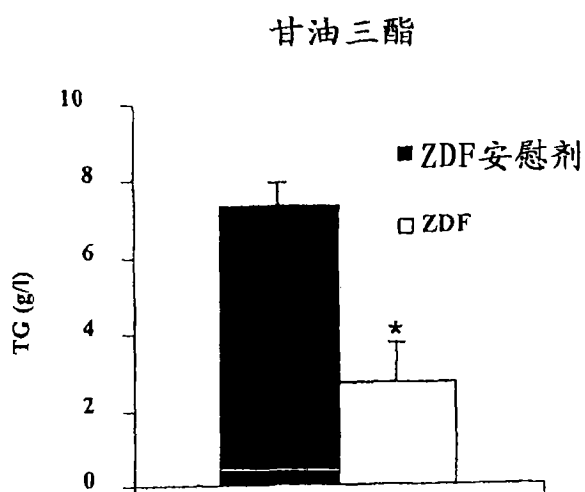


图 30

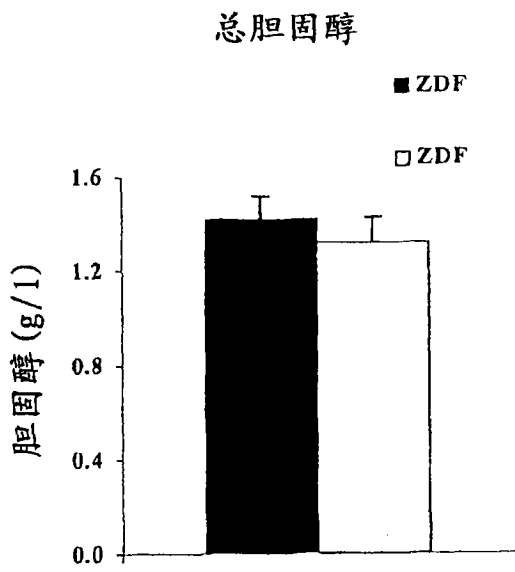


图 31

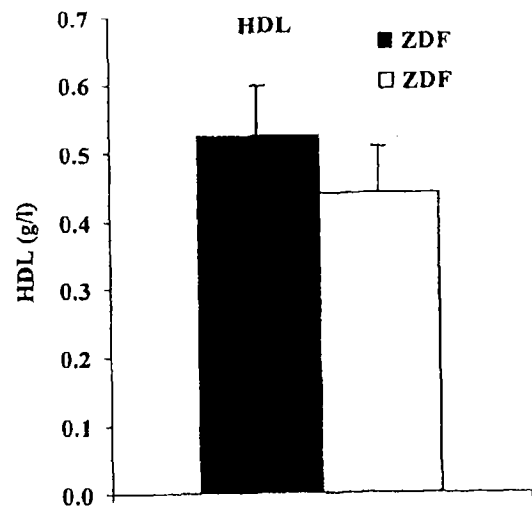


图 32

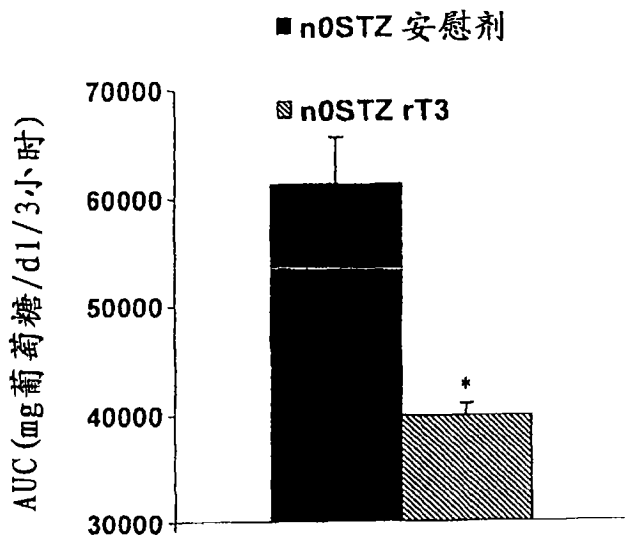


图 33

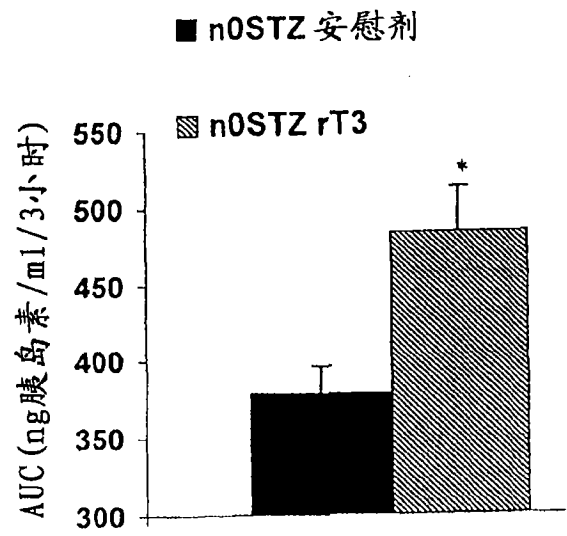


图 34

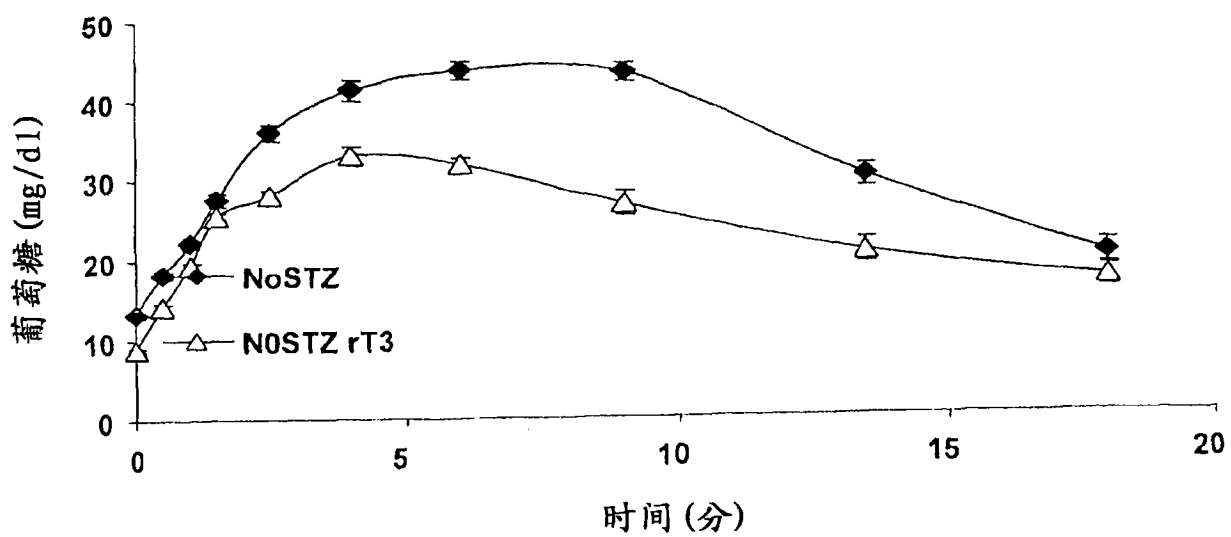


图 35

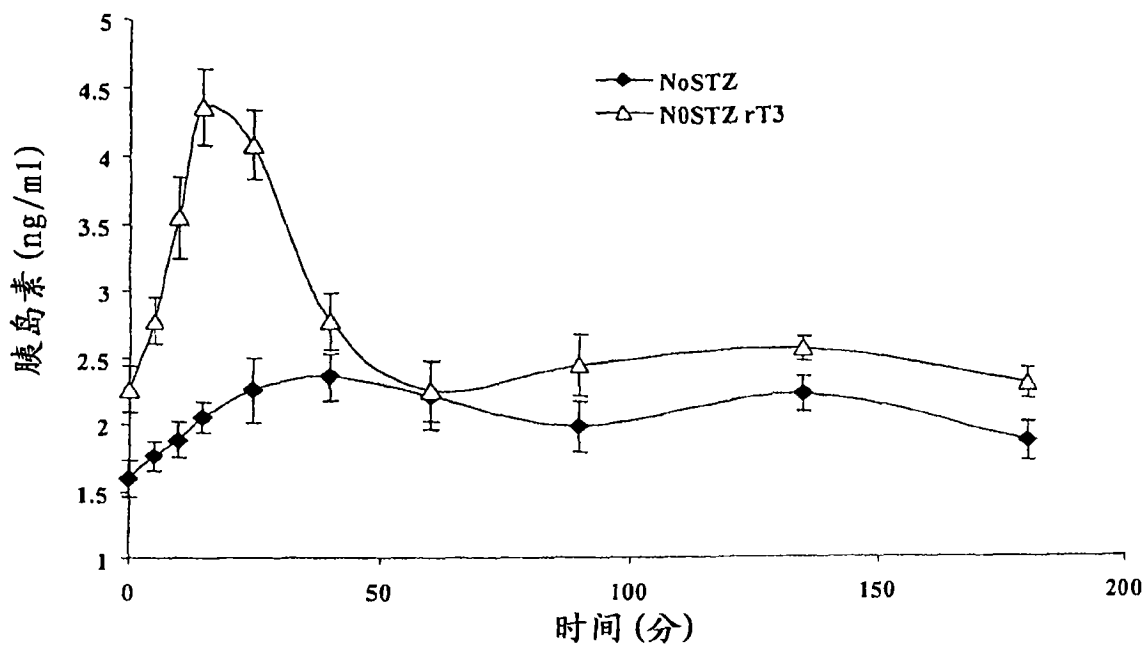


图 36

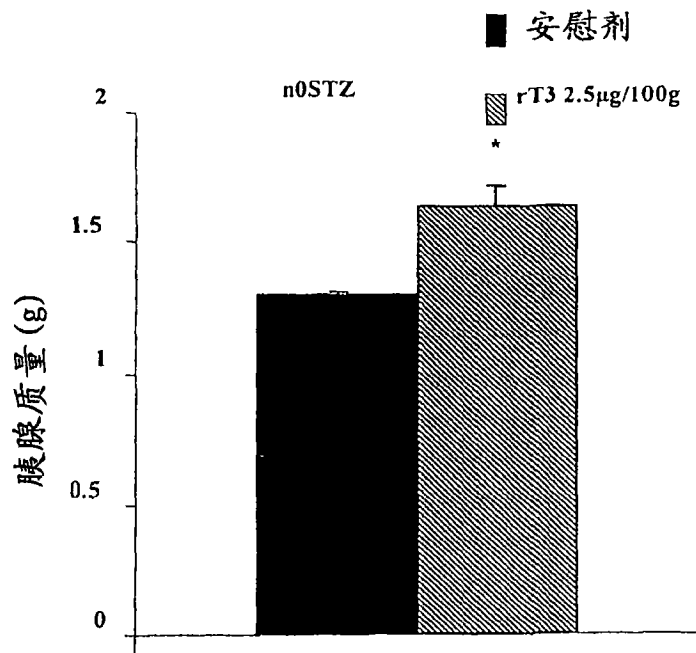


图 37

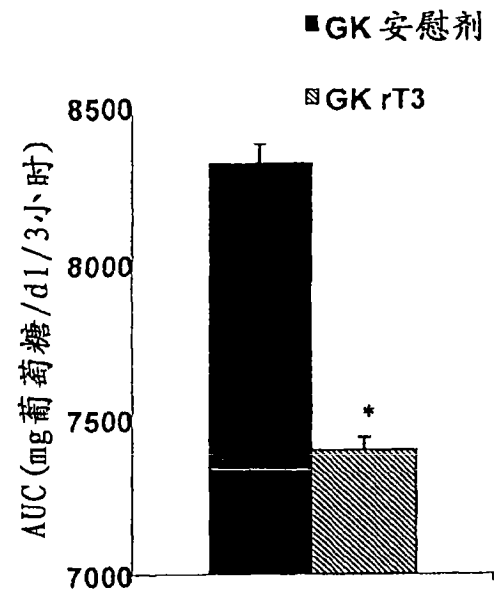


图 38

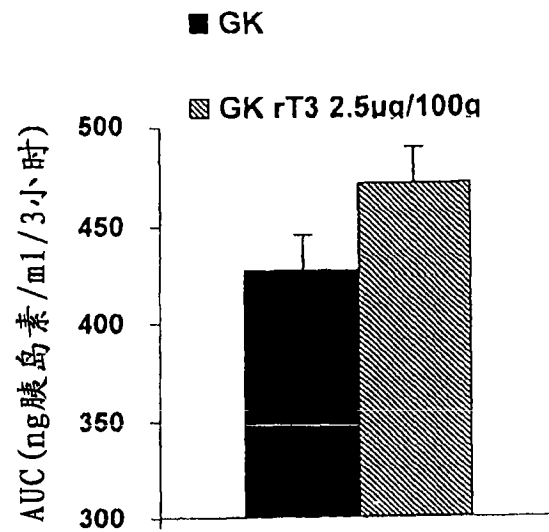


图 39

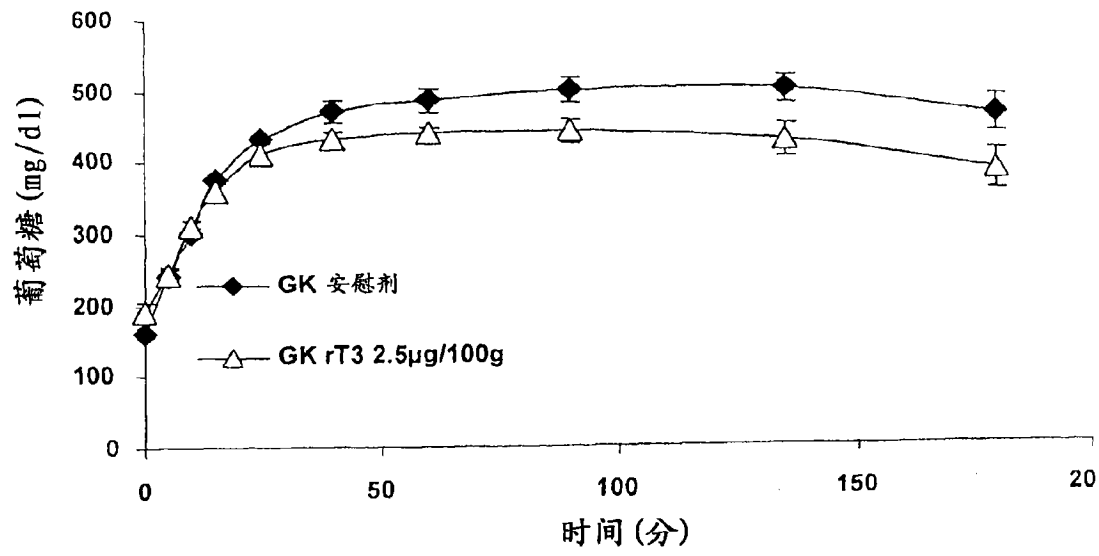


图 40

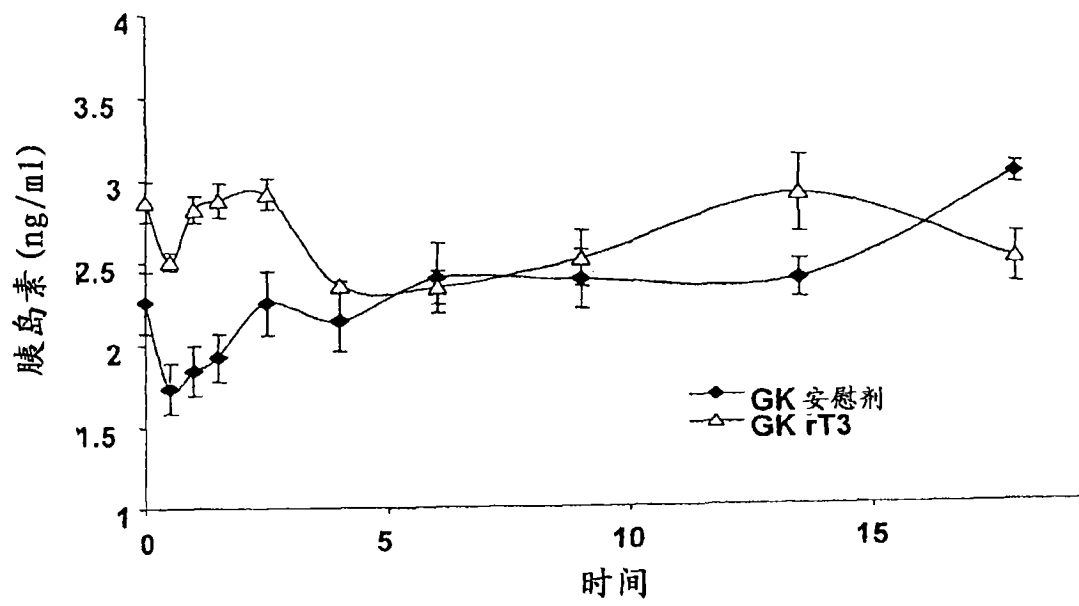


图 41

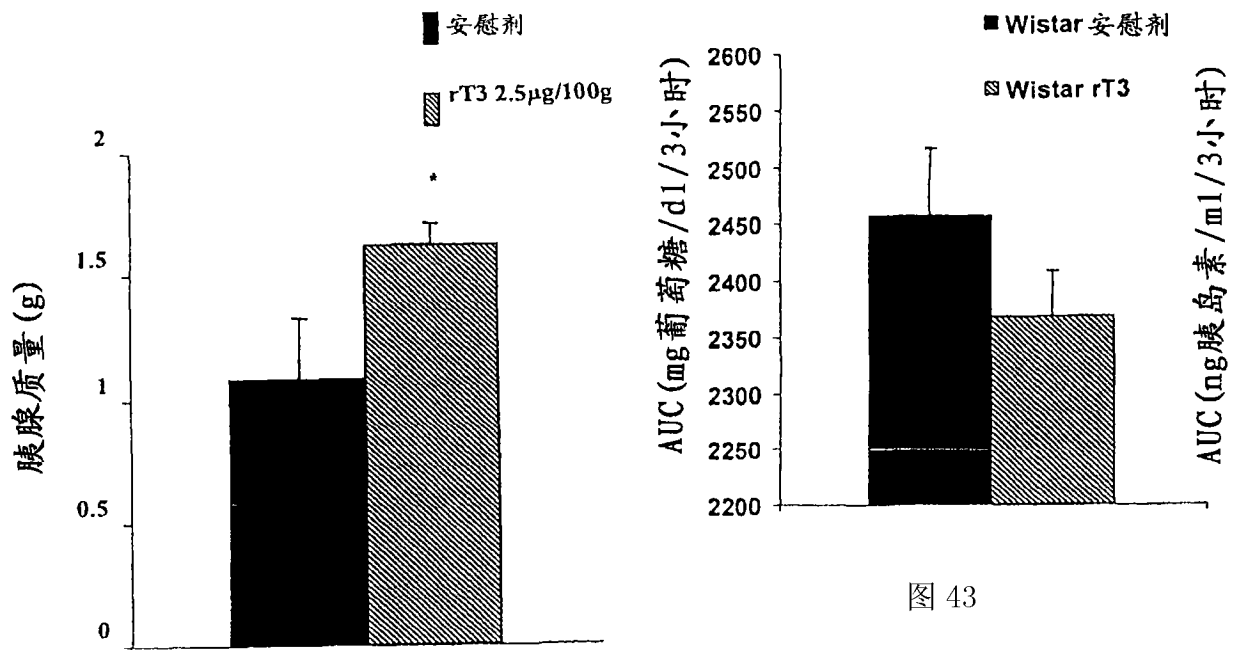


图 42

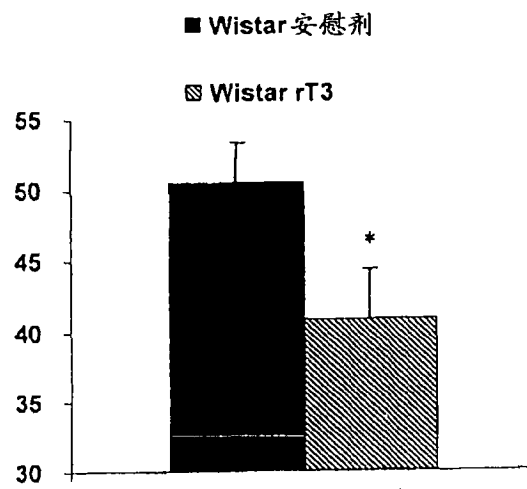


图 44

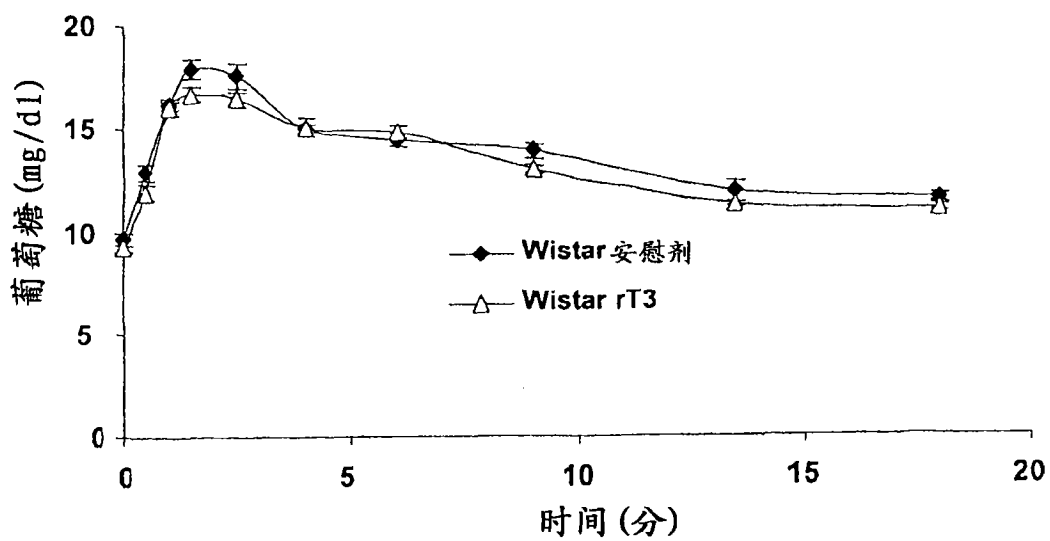


图 45

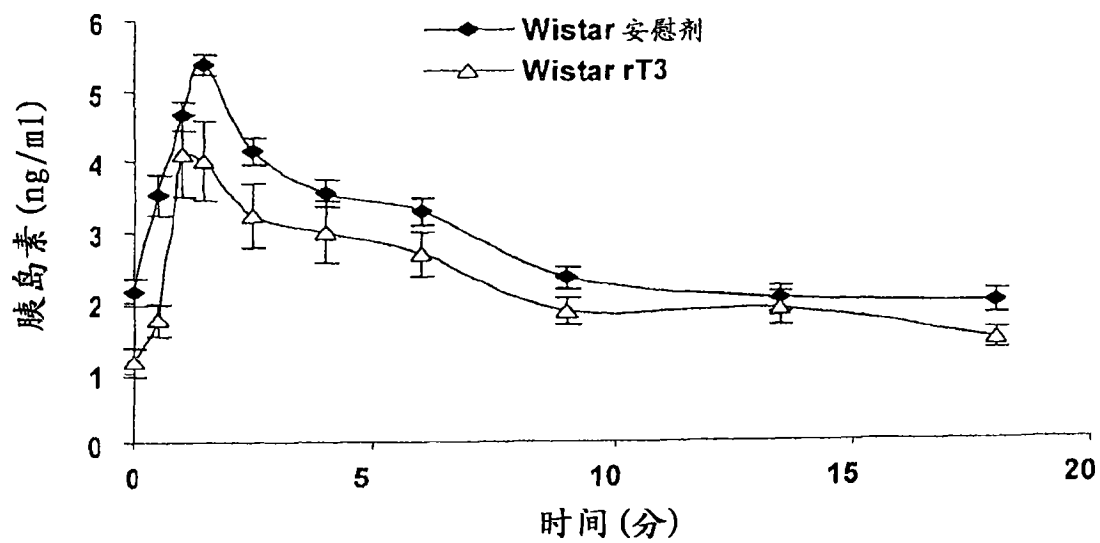


图 46

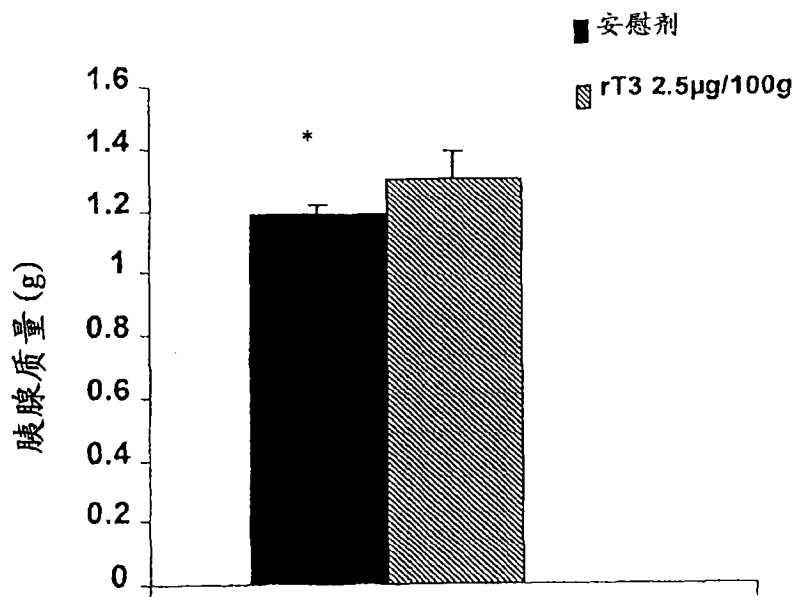


图 47

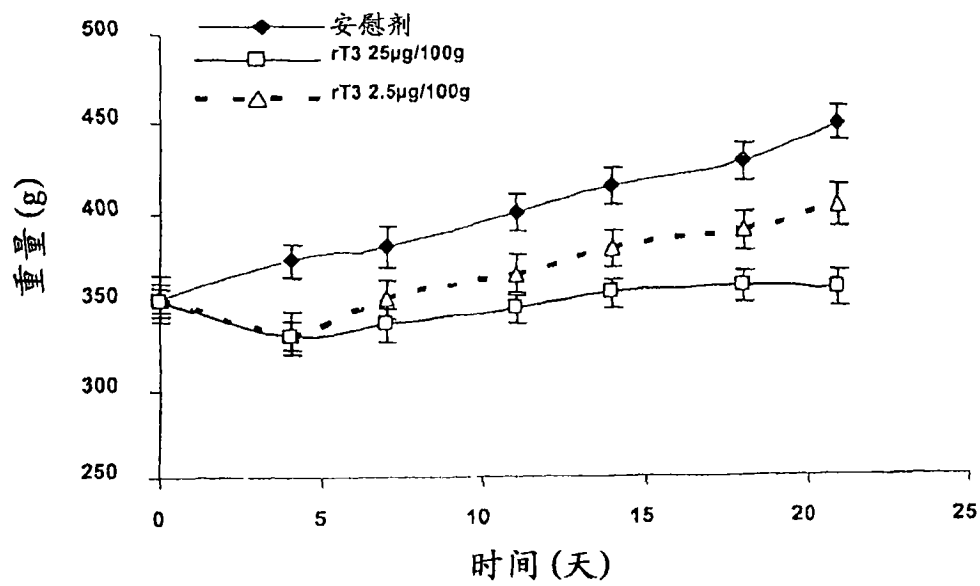


图 48

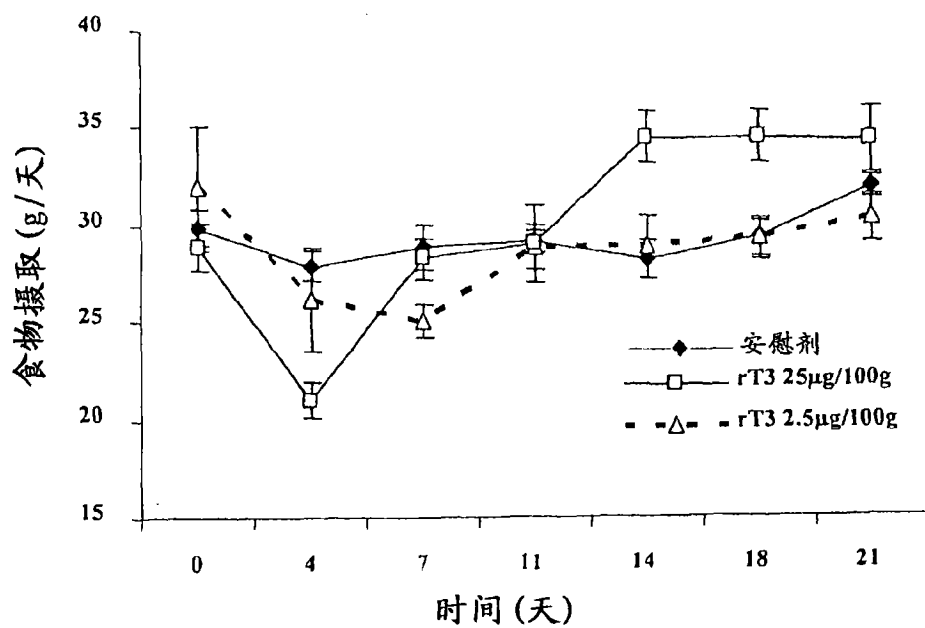


图 49

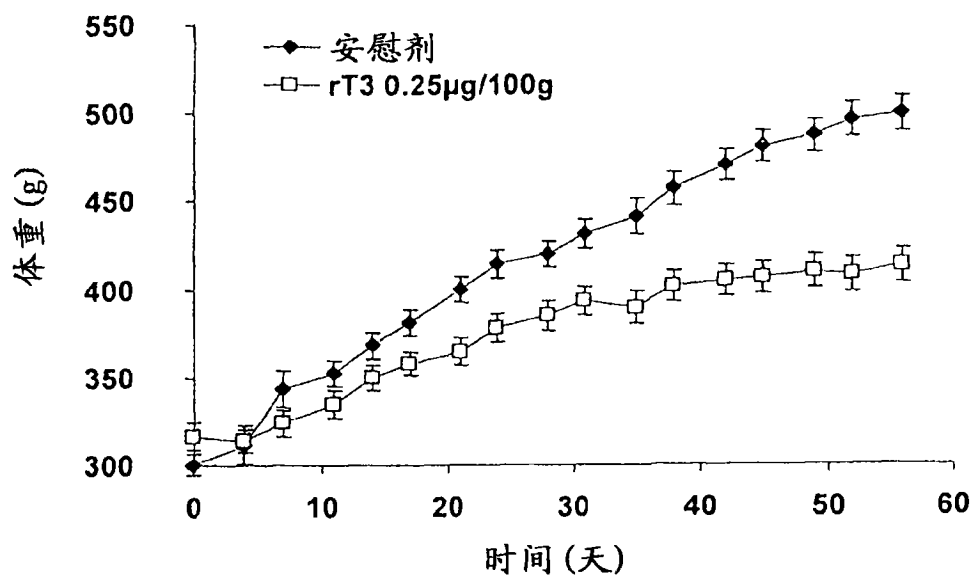


图 50

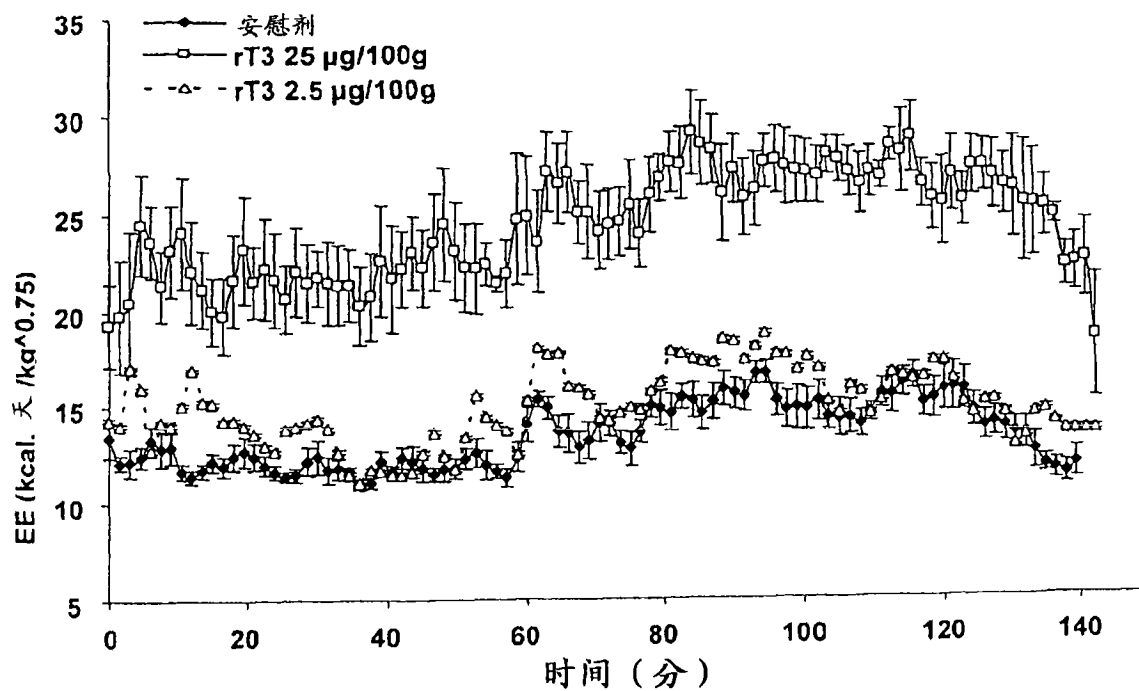


图 51

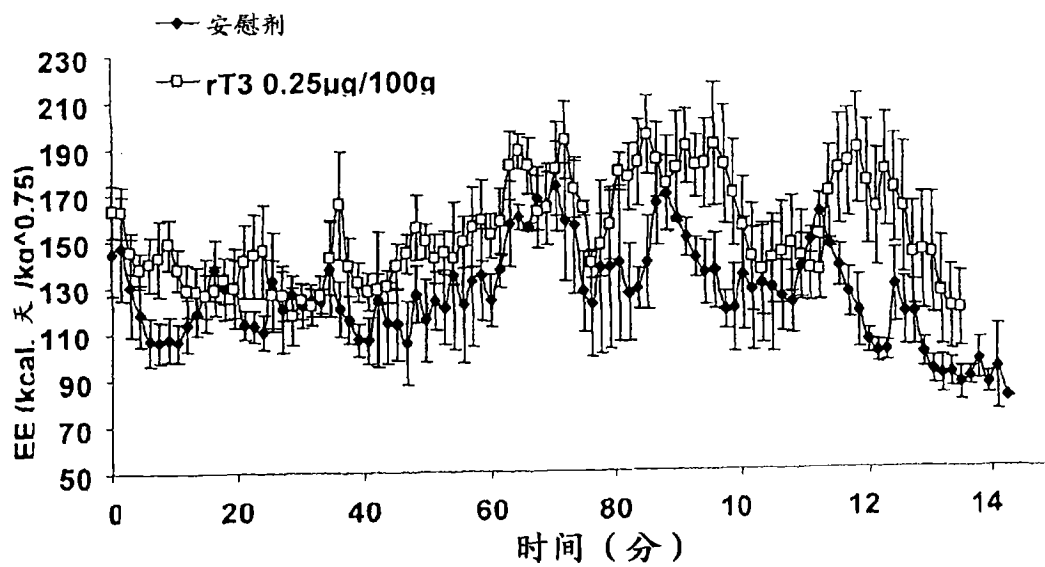


图 52

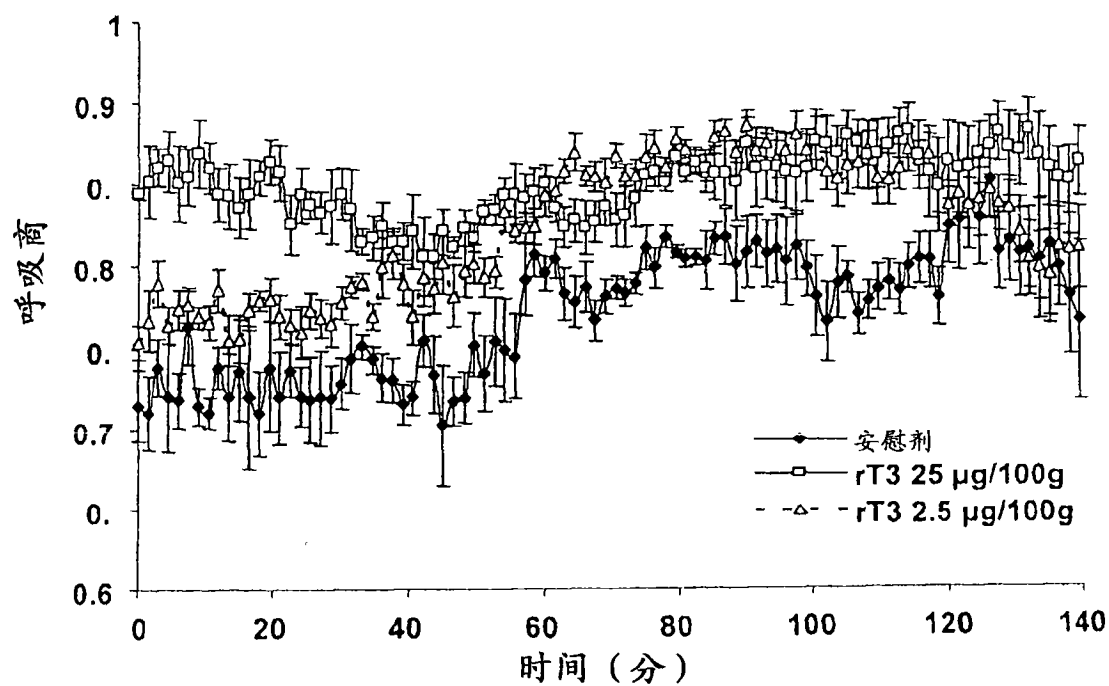


图 53

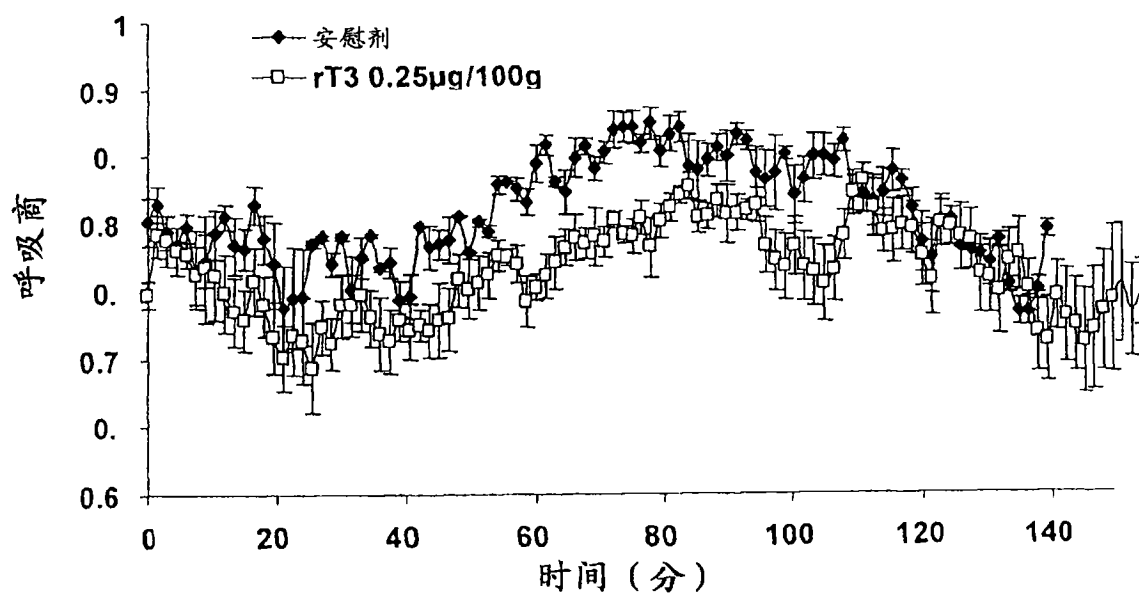


图 54

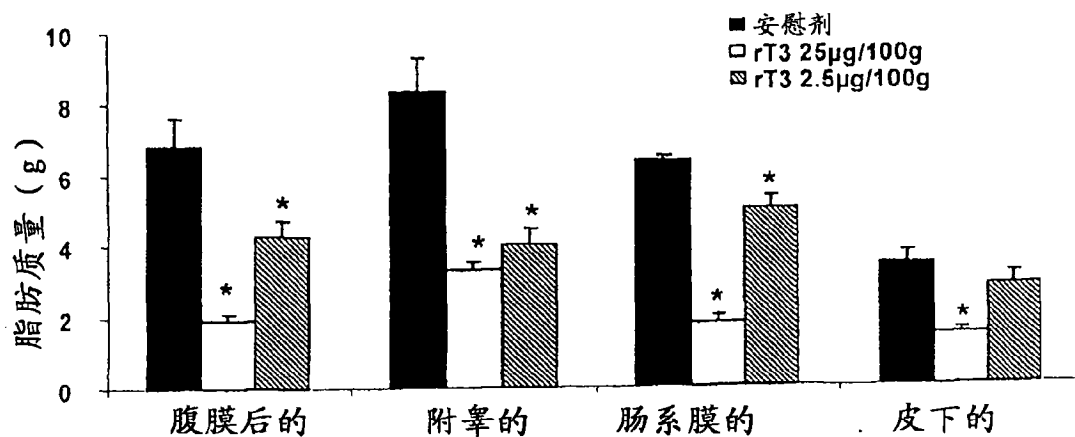


图 55

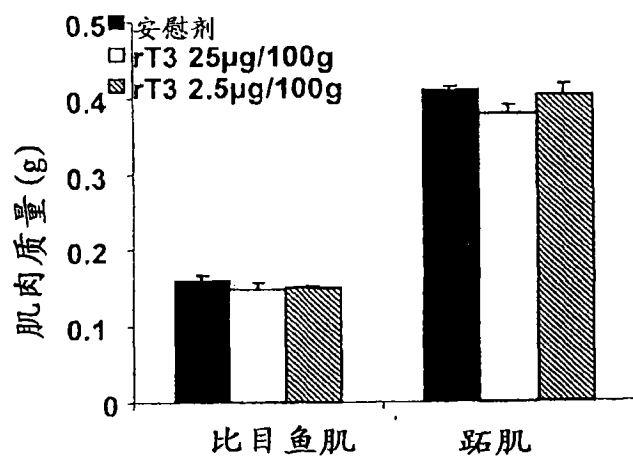


图 56

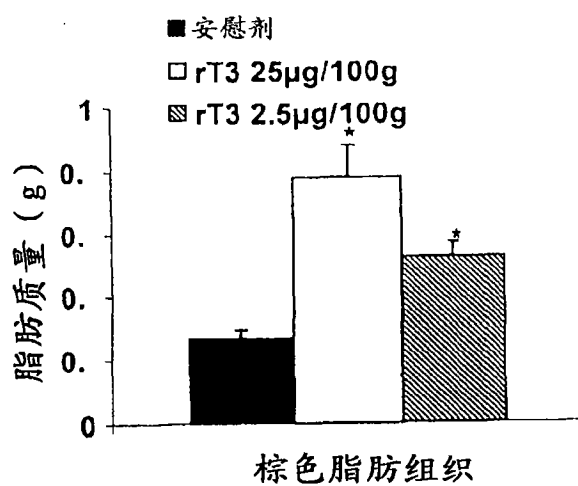


图 57

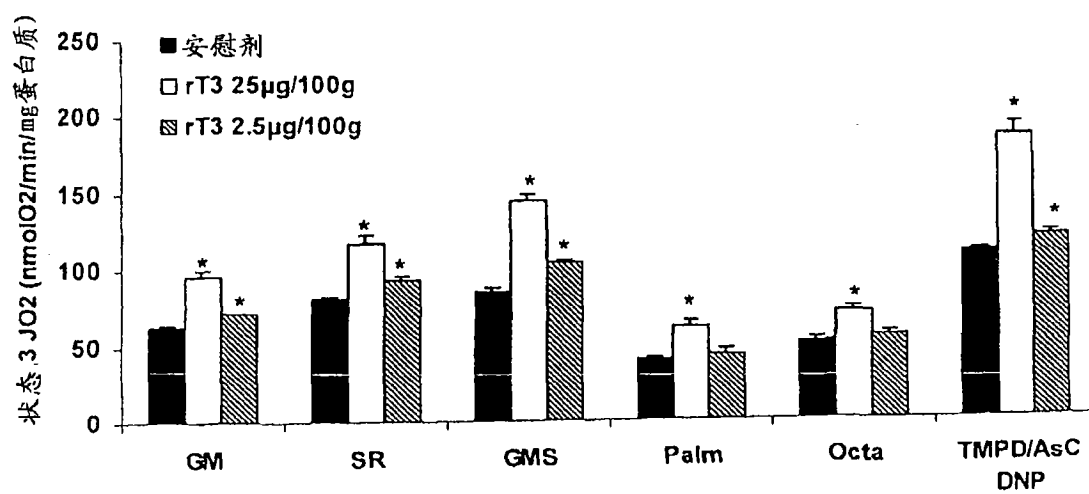


图 58A

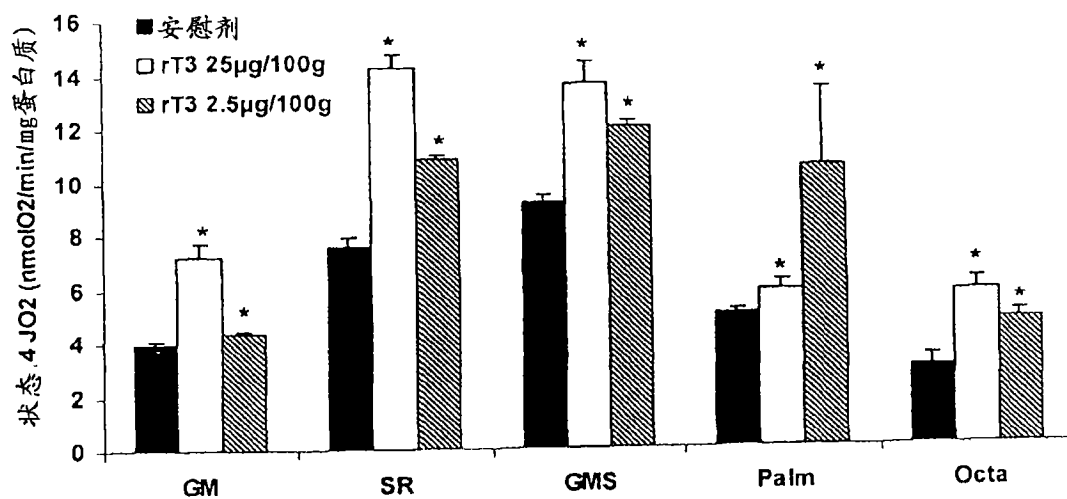


图 58B

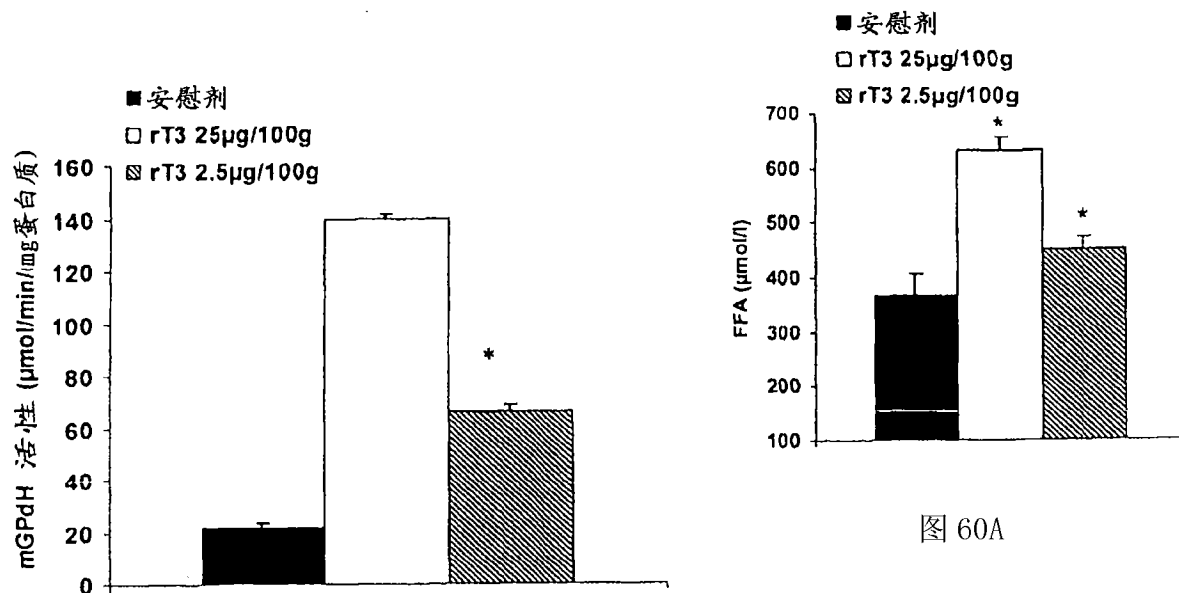


图 60A

图 59

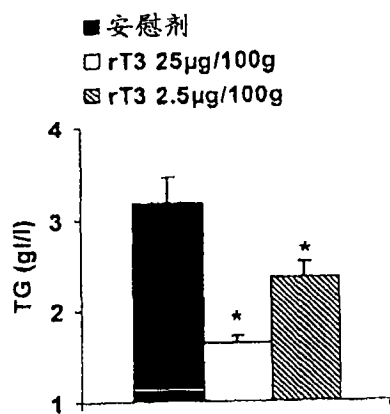


图 60B

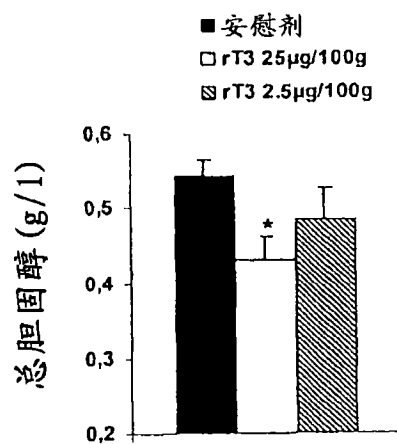


图 60C

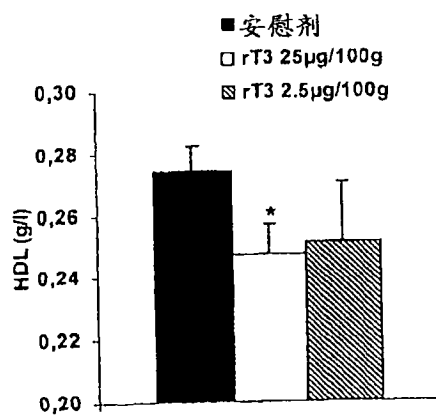


图 60D

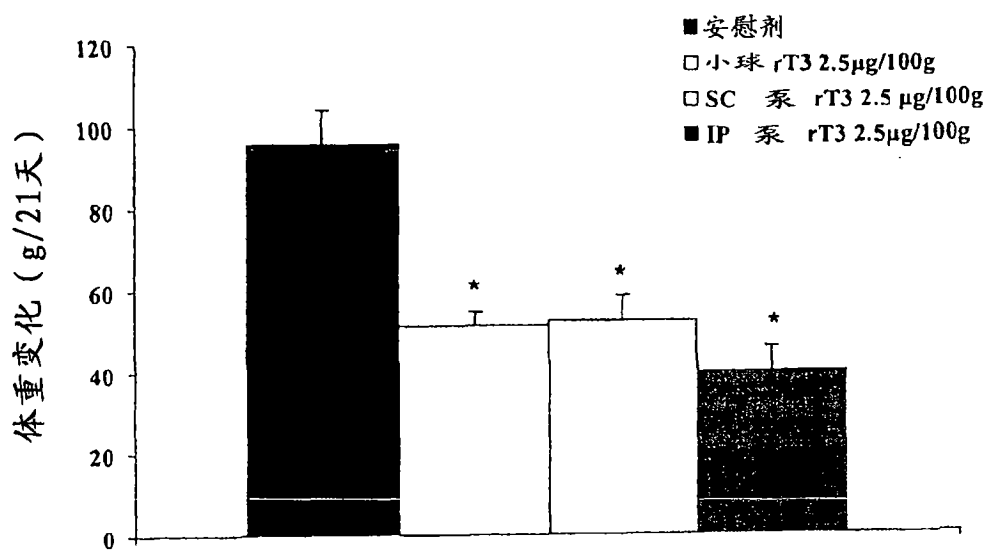


图 61

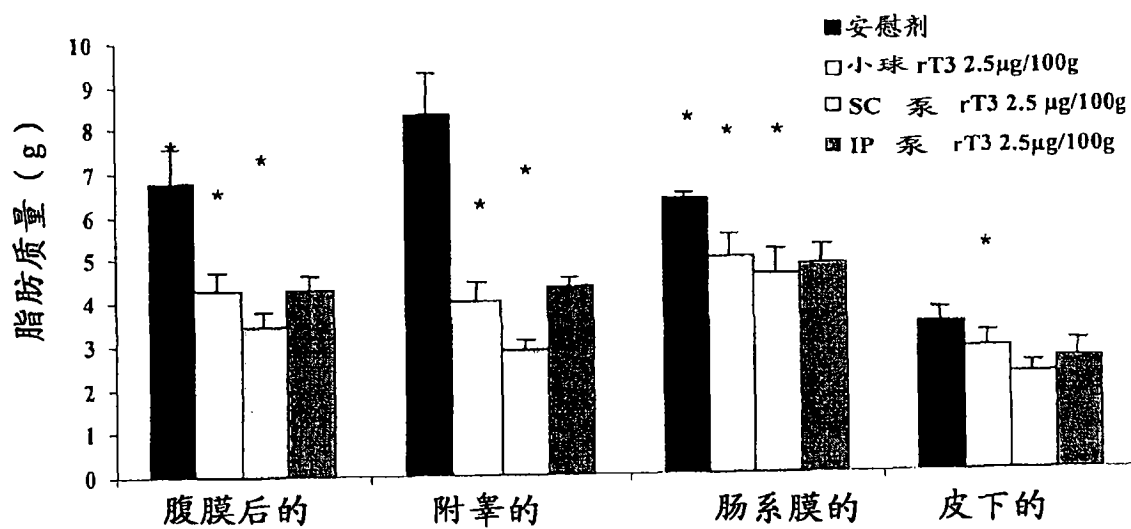


图 62

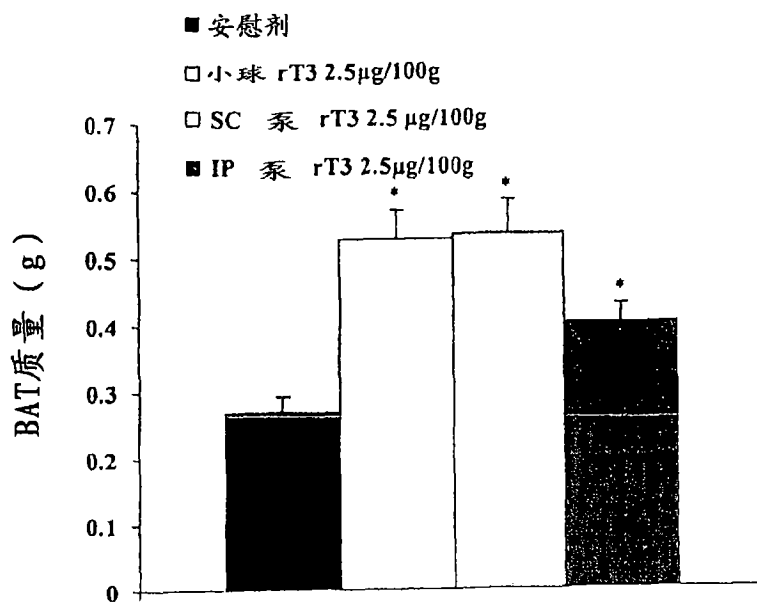


图 63

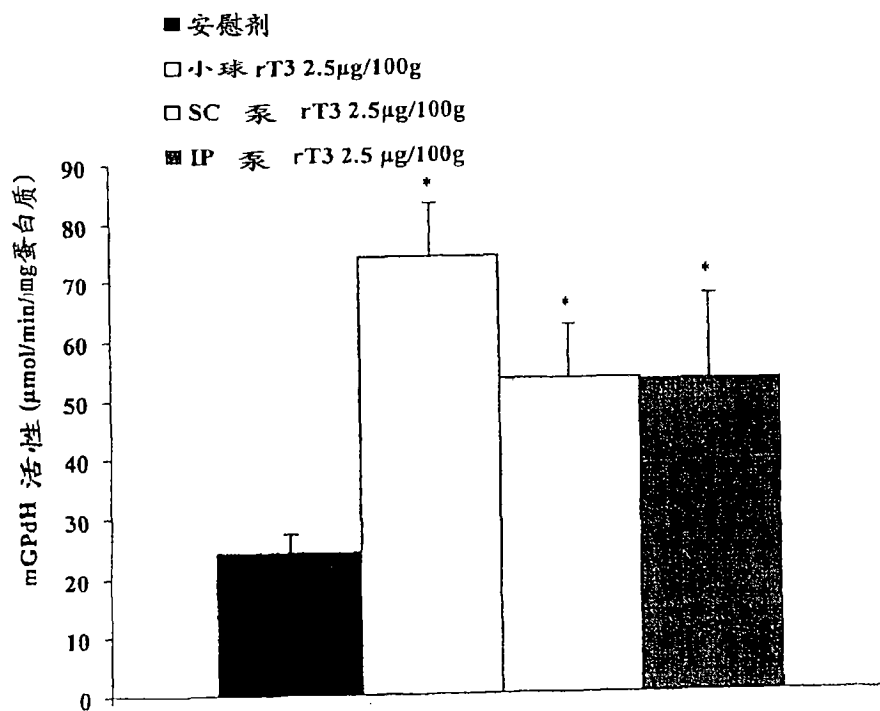


图 64

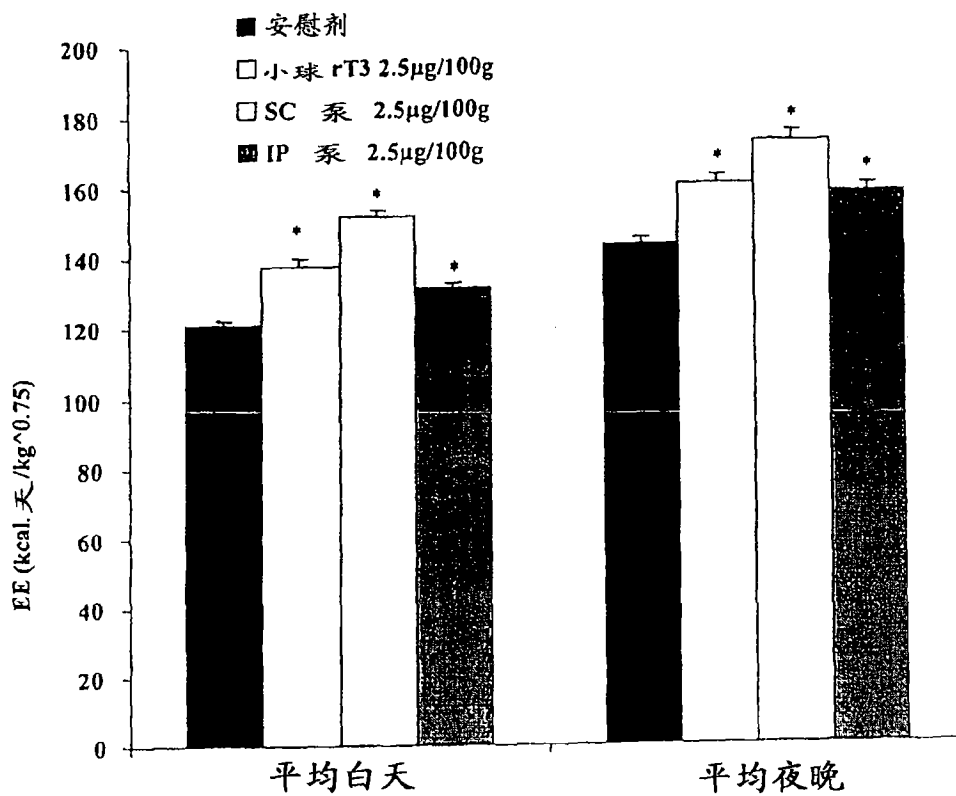


图 65

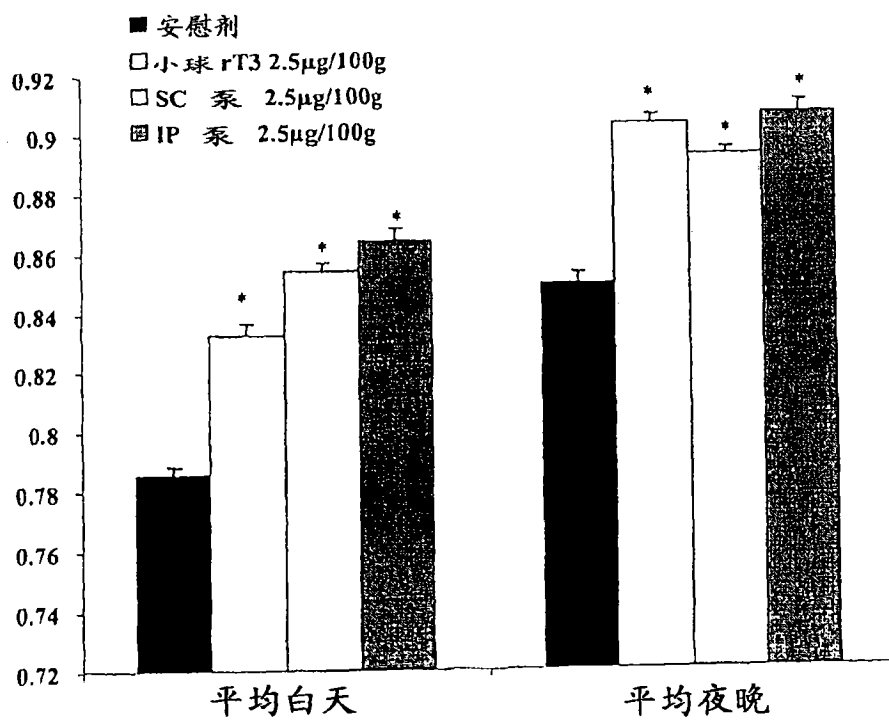


图 66

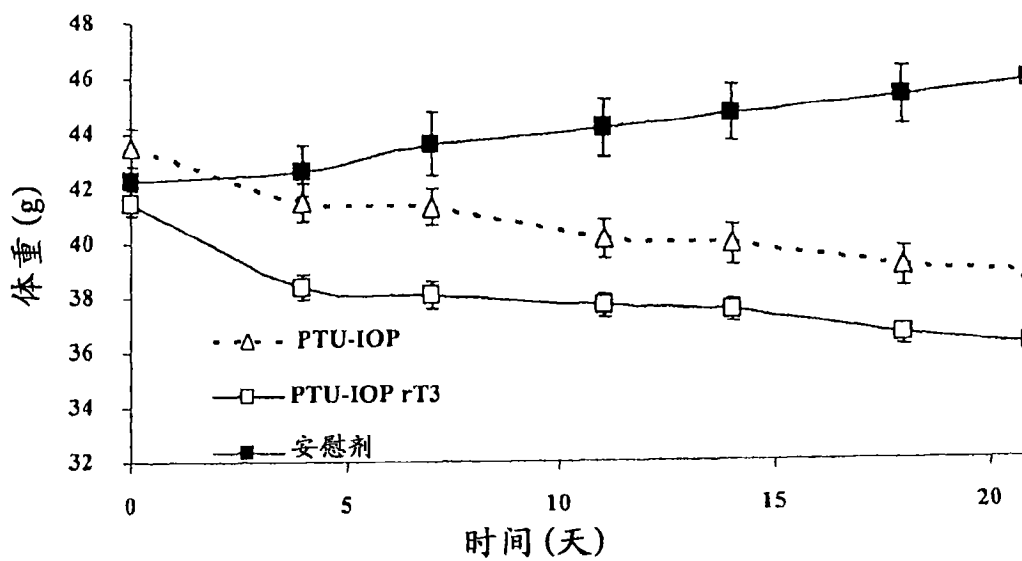


图 67

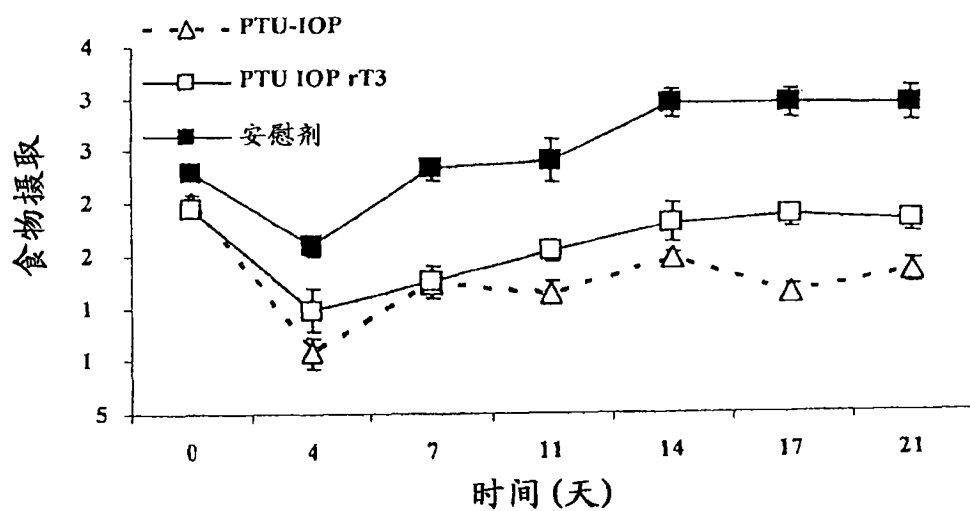


图 68

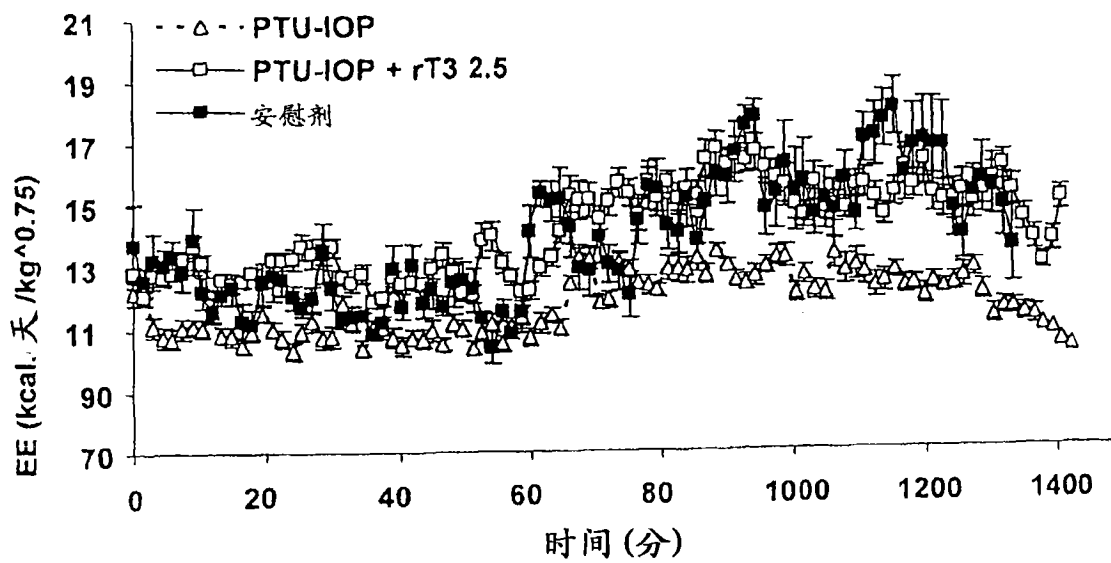


图 69

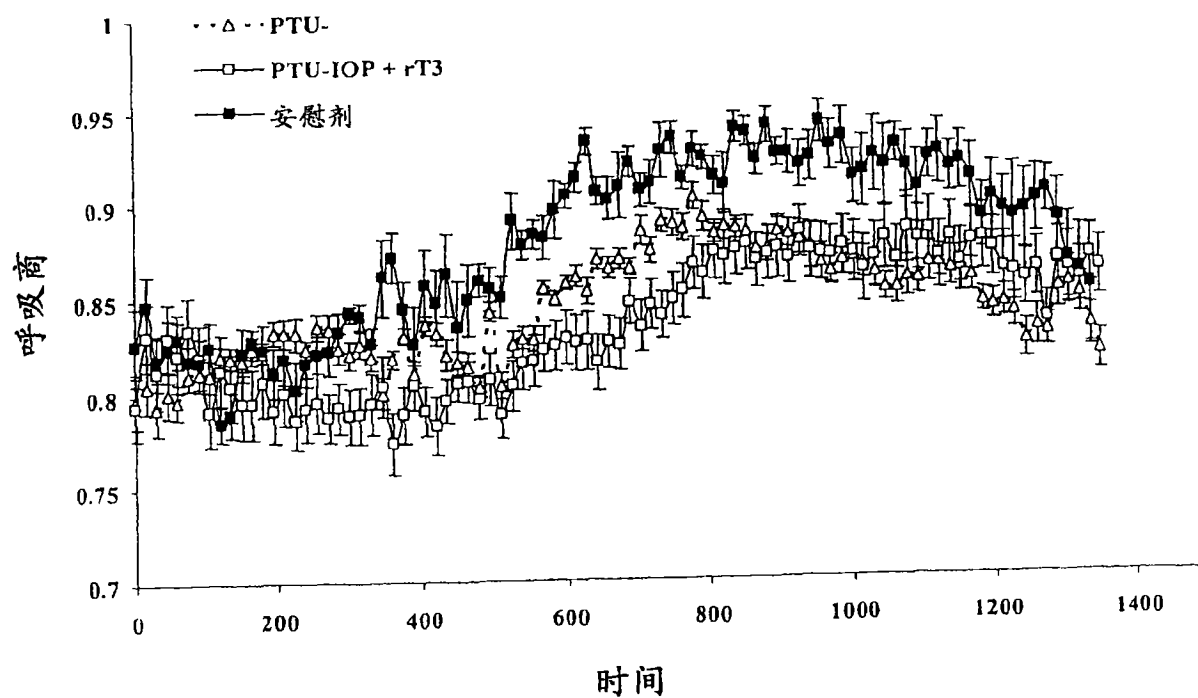


图 70

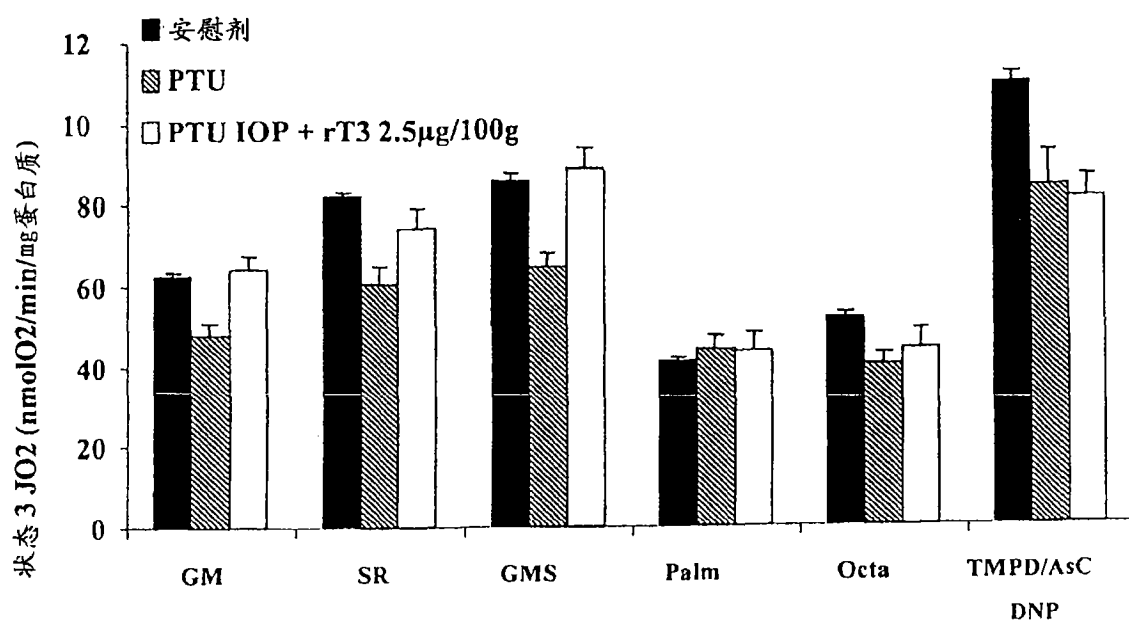


图 71

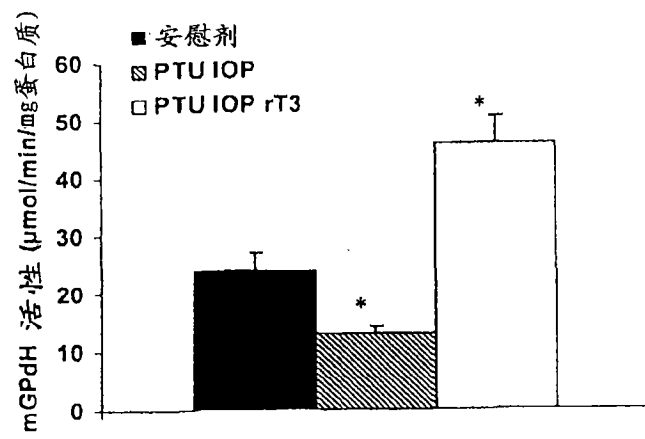


图 72

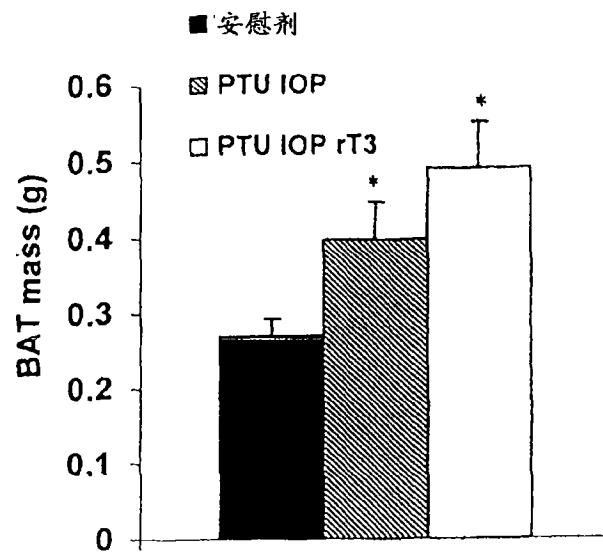


图 73

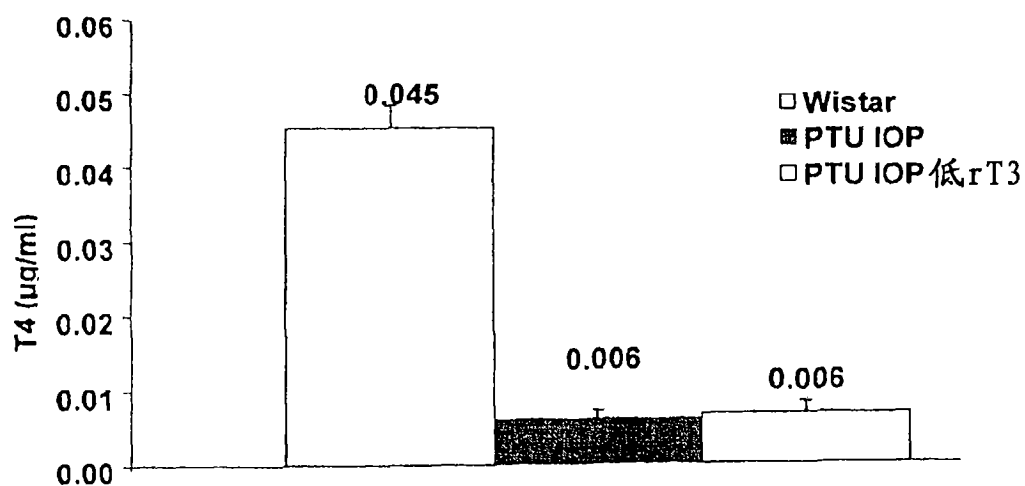


图 74

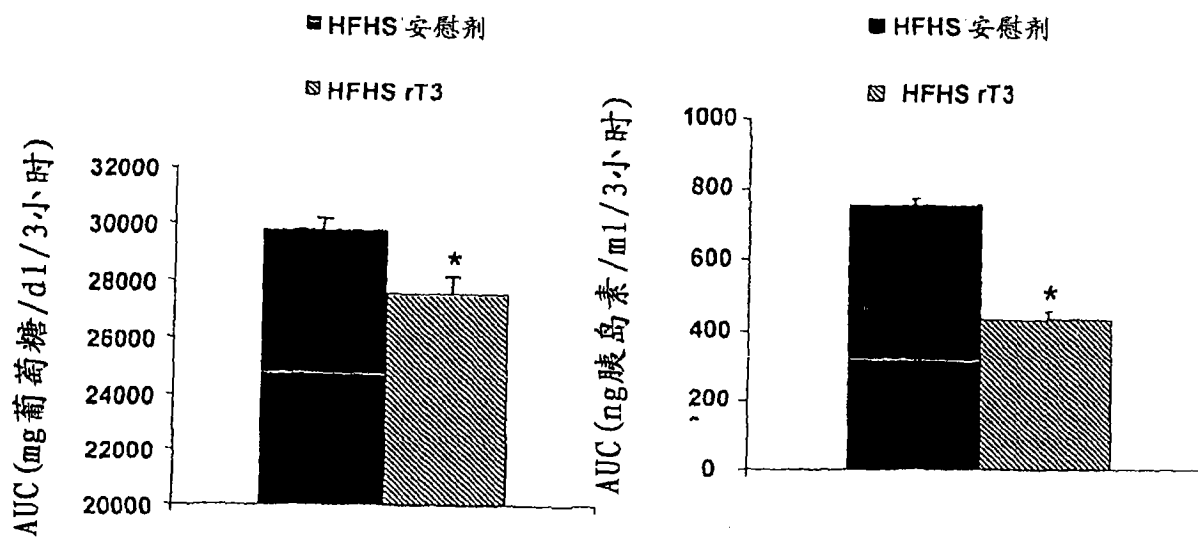


图 75

图 76

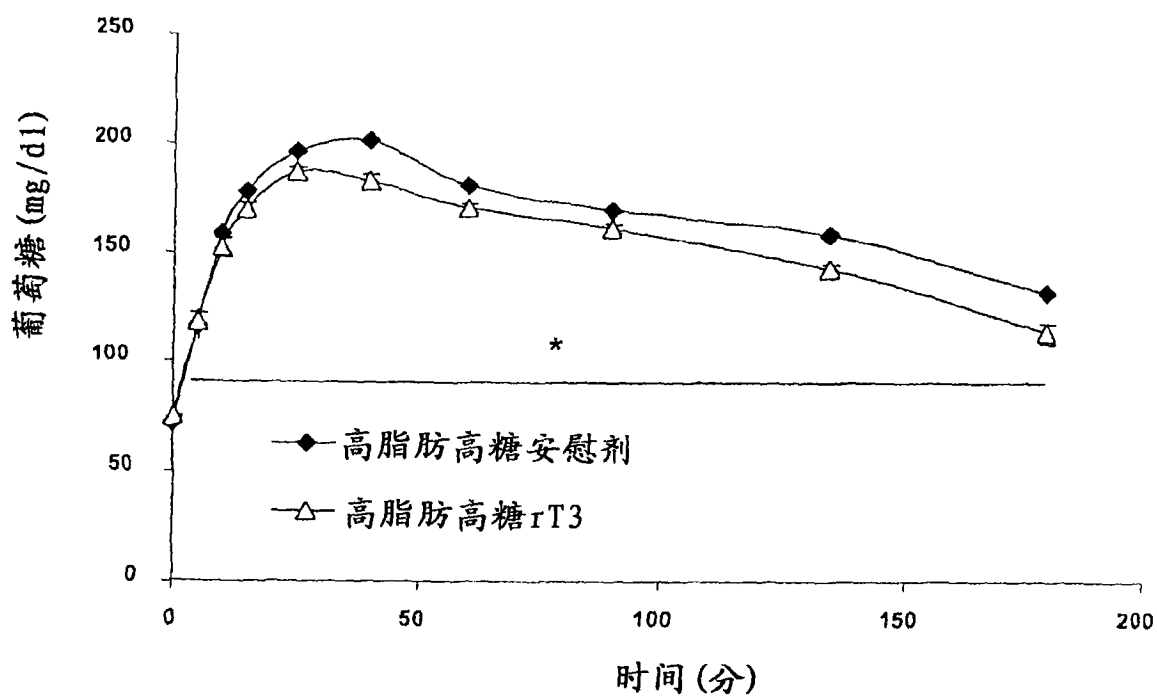


图 77

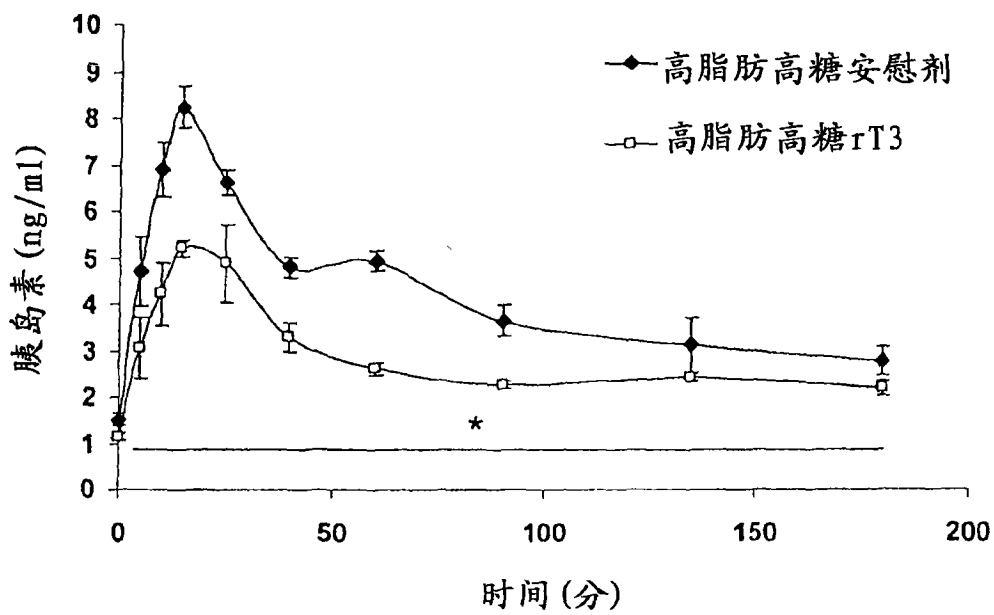


图 78

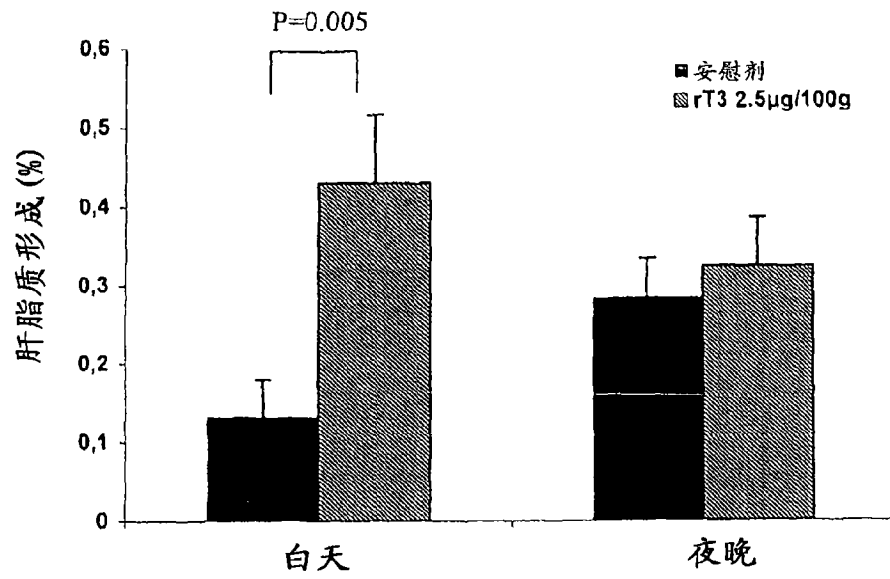


图 79