

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.07.003

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210203.1509.009.html>(2021-02-04)

丙泊酚对睡眠剥夺大鼠甲状腺 PI3K/Akt 通路及细胞凋亡的影响*

李 丽, 刘金柱[△]

(天津市儿童医院/天津大学儿童医院麻醉科 300101)

[摘要] **目的** 探讨丙泊酚对睡眠剥夺(SD)大鼠甲状腺磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)通路及细胞凋亡的影响。**方法** Sprague Dawley 大鼠 50 只分为正常组(Normal 组)、SD 模型组(SD 组)、丙泊酚低剂量组(10 mg/kg)、丙泊酚中剂量组(25 mg/kg)、丙泊酚高剂量组(50 mg/kg),每组 10 只。除 Normal 组模拟正常睡眠外,其余各组大鼠均建立 SD 模型,造模成功后丙泊酚各组腹腔注射相应剂量药物,Normal 组和 SD 组腹腔注射等量生理盐水。观察各组大鼠毛色、行为等一般行为状况,称取大鼠体重,检测血清游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺激素(TSH)水平;取甲状腺组织称重,HE 染色观察甲状腺病理变化;TUNEL 染色观察甲状腺组织细胞凋亡;Western blot 检测甲状腺组织 PI3K、p-Akt、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(caspase-3)、B 细胞白血病 2(Bcl-2)蛋白表达水平。**结果** 与 Normal 组相比,SD 组大鼠出现甲状腺组织滤泡腔减小、高度增生等病理损伤,体重及甲状腺重量、血清 FT4 水平、甲状腺组织 PI3K、p-Akt、Bcl-2 蛋白表达水平降低($P < 0.05$),血清 FT3、TSH 水平、甲状腺细胞凋亡率、caspase-3 蛋白表达水平升高($P < 0.05$);与 SD 组相比,丙泊酚低、中、高剂量组大鼠甲状腺病理损伤减轻,体重、甲状腺重量、血清 FT4 水平及甲状腺组织 PI3K、p-Akt、Bcl-2 蛋白表达水平升高($P < 0.05$),血清 FT3、TSH 水平、甲状腺细胞凋亡率、caspase-3 蛋白表达水平降低($P < 0.05$),且丙泊酚各剂量组上述指标呈剂量依赖性。**结论** 丙泊酚可激活 SD 大鼠甲状腺组织 PI3K/Akt 通路的蛋白表达,抑制甲状腺细胞凋亡和损伤,改善机体甲状腺激素分泌紊乱。

[关键词] 丙泊酚;睡眠剥夺;甲状腺;磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B 通路;细胞凋亡;大鼠

[中图分类号] R965.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)07-1094-06

Effects of propofol on thyroid PI3K/Akt pathway and cellular apoptosis in sleep deprived rats*

LI Li, LIU Jinzhu[△]

(Department of Anesthesiology, Tianjin Municipal Children's Hospital/Tianjin University Children's Hospital, Tianjin 300101, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of propofol on phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) pathway and cellular apoptosis in sleep deprived (SD) rats. **Methods** A total of 50 Sprague Dawley rats were divided into the normal group (Normal group), sleep deprivation model group (SD group), propofol low dose (10 mg/kg), moderate dose (25 mg/kg), high dose (50 mg/kg) groups, 10 cases in each group. Except the Normal group simulated the normal sleep, the rats of the other groups were established the SD model. After successful modeling, the propofol groups were intraperitoneally injected with corresponding dose of drug, the Normal group and SD group were intraperitoneally injected by the same amount of normal saline. Then the general behaviors such as hair color and behavior were observed; the rats were weighed, and the levels of serum free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4) and thyroid stimulating hormone (TSH) were detected; the thyroid tissue was weighed, and the pathological changes were observed by HE staining; apoptosis in thyroid tissue was observed by TUNEL staining; in addition, Western blot was used to detect the expression levels of PI3K, p-Akt, caspase-3 and B-cell leukemia-2 (Bcl-2) protein in thyroid tissues.

* 基金项目:天津医科大学重点实验室基金项目(2016DX04)。 作者简介:李丽(1987-),主治医师,硕士,主要从事小儿麻醉研究。

[△] 通信作者, E-mail: drljzh@sina.com。

Results Compared with those in the Normal group, the SD group appeared the pathogenic injuries such as the decrease of follicular cavity and high hyperplasia of thyroid tissue, the body weight and thyroid weight, serum FT4 level, protein expression levels of PI3K, p-Akt and Bcl-2 in thyroid tissue were decreased ($P < 0.05$), and the levels of serum FT3 and TSH, apoptosis rate of thyroid cells and expression level of caspase-3 protein were increased ($P < 0.05$); compared with those in the SD group, the pathological damage of thyroid in the rats of the propofol low, moderate and high doses groups was alleviated, the body weight and thyroid weight, serum FT4 level, protein expression levels of PI3K, p-Akt and Bcl-2 in thyroid tissue were increased ($P < 0.05$), and the levels of serum FT3 and TSH, apoptosis rate of thyroid cells and expression level of caspase-3 protein were decreased ($P < 0.05$); moreover, the above indexes were dose-dependent in the propofol groups. **Conclusion** Propofol can activate PI3K/Akt pathway protein expression in thyroid tissue of SD rats, inhibit the apoptosis and injury of thyroid cells, and improve the thyroid hormone secretion disorder.

[Key words] propofol; sleep deprivation; thyroid gland; phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B pathway; apoptosis; rats

睡眠剥夺 (sleep deprivation, SD) 是指由于各种原因引起的机体睡眠不足, 可导致患者出现焦虑烦躁、心脑血管意外、免疫功能下降、抑郁自杀等症候^[1]。近年来, SD 也逐渐成为临床研究热点之一^[2]。有研究发现, 连续 SD 可导致甲状腺功能受损, 并引起机体各个系统、器官、组织功能异常^[3-4], 而甲状腺可维持机体各系统、器官和组织的正常功能^[5], 故研究 SD 过程中甲状腺细胞的功能状态, 对阐明 SD 机制和改善 SD 患者身心健康, 具有一定的潜在意义。磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 通路可调控细胞生长、增殖、分化及凋亡等多种细胞生理活动, 且参与甲状腺癌、甲状腺功能减退等病理过程, 是近来研究的热点通路之一^[6-7]。然而, PI3K/Akt 通路在 SD 过程中的调控作用, 研究却相对较少。丙泊酚为短效静脉麻醉药, 具有镇静催眠作用, 有研究显示, 丙泊酚可参与协调大脑皮质交流和运行, 并改善睡眠障碍患者的睡眠状况^[8]。然而丙泊酚是否能够通过影响 SD 患者甲状腺功能, 缓解睡眠不足引起的机体功能异常及不适症状, 还未见报道。本研究建立 SD 大鼠模型, 探讨丙泊酚对 SD 大鼠甲状腺功能及 PI3K/Akt 通路的影响, 以期阐明丙泊酚改善 SD 患者睡眠障碍的其他可能生物学机制, 为临床合理用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 动物

清洁级同遗传背景雄性 Sprague Dawley 大鼠购自广东省医学实验动物中心, 生产许可证号为 SCXK (粤)2018-0002。所有大鼠于天津医科大学动物中心饲养, 实验室许可证号为 SYXK (津)2004-0001。饲养条件: 自然光照, 自由饮食、饮水, 温度 25 °C, 相对湿

度 50%, 噪音低于 80 分贝, 保持动物房环境及鼠笼清洁、透气。本实验经医院伦理委员会批准, 实验动物符合 3R 原则。

1.1.2 主要试剂及仪器

丙泊酚购自北京凯瑞基生物科技有限公司 (货号: CY19852, 规格: 100 mg); 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司 (货号: G1120); TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自瑞士 Roche 公司 (货号: 11684795910); PI3K 抗体、磷酸化 Akt (p-Akt) 抗体、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (caspase-3) 抗体、B 细胞白血病 2 (Bcl-2) 抗体购自美国 Abcam 公司 (货号分别为: ab39307、ab38449、ab140882、ab196495); BCA 蛋白定量试剂盒和胰蛋白酶购自美国 Pierce 公司 (货号分别为 P0768、P0231)。手动轮转式切片仪购自德国 Leica 公司 (型号 RM2125RTS); 光学显微镜购自日本尼康公司 (型号 SMZ745); 蛋白电泳仪、半干转膜仪购自美国 Bio-Rad 公司 (型号 1659001、Trans-Blot SD); 凝胶成像仪购自杭州米欧仪器有限公司 (型号 GIS-500)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 SD 模型建立及分组

选取大鼠 50 只分为正常组 (Normal 组)、SD 模型组 (SD 组)、丙泊酚低剂量组 (10 mg/kg)、丙泊酚中剂量组 (25 mg/kg)、丙泊酚高剂量组 (50 mg/kg), 每组 10 只。Normal 组在正常条件下持续光照 12 h + 黑暗 12 h 模拟正常睡眠, 其余各组大鼠均参照文献^[9]建立 SD 模型, 具体操作方法: 制作 30 cm × 30 cm × 30 cm 的玻璃箱, 箱中有一直径为 6.3 cm、高 8.0 cm 的圆柱体平台, 在平台周边注满水, 水温保持约 20 °C, 水面距平台约 1.0 cm, 将大鼠放到小平台上 22 h, 并盖上笼盖以防大鼠蹿出, 并给予持续日光照射, 室内温度控制在 18.0 ~ 22.0 °C, 大鼠在平台

上可自行饮食、饮水,若其睡眠,则由于肌肉张力松弛而落入水中,22 h 后将大鼠取离平台,给予正常黑暗环境,让其自由活动 2 h 后,重新放入小平台中进行 SD 22 h,连续 21 d 后观察大鼠行为状态,若大鼠出现狂躁、易“激惹”及尖叫行为且毛色枯暗现象,表明造模成功。各组均于造模成功后开始给药,丙泊酚参照文献[10]用生理盐水配制成 1 mg/mL、2.5 mg/mL、5 mg/mL 的溶液,按 10 mL/kg 的剂量经腹腔注射相应剂量的丙泊酚溶液,Normal 组及 SD 组按 10 mL/kg 的剂量经腹腔注射生理盐水。各组连续给药 7 d,每天 1 次。

1.2.2 大鼠一般行为观察

各组大鼠末次给药 12 h 后,观察毛色、饮食、精神状态等一般行为,并称取大鼠重量。

1.2.3 大鼠标本采集

各组大鼠末次给药 12 h 后,麻醉,取腹主动脉血,全自动免疫分析仪(CLIA)及配套试剂盒用电化学发光法测定血清游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺激素(TSH)水平;处死大鼠,取甲状腺,称取重量后,剪取 0.5 g 组织,置于-80 °C 冰箱保存;其余组织迅速置于 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h,备用。

1.2.4 大鼠甲状腺 HE 染色

4%多聚甲醛溶液中固定 24 h 的甲状腺组织,经脱水、透明、石蜡包埋后切成 4 μm 切片,根据试剂盒说明书进行 HE 染色,并在显微镜下观察甲状腺组织变化。

1.2.5 TUNEL 染色观察甲状腺细胞凋亡情况

石蜡切片经脱蜡、脱水、封闭后添加 TUNEL 工作液室温下孵育 1 h,加入抗荧光猝灭剂进行封片,在共聚焦显微镜下观察切片中细胞凋亡情况,采用 Image-pro plus 定量细胞凋亡率,细胞凋亡率=凋亡细胞数/细胞总数×100%。

1.2.6 Western blot 法检测甲状腺组织 PI3K、p-Akt、caspase-3、Bcl-2 蛋白表达水平

取-80 °C 保存的甲状腺组织,于 4 °C 冰箱中解冻后,用组织匀浆器匀浆,离心分离后,取上清液,蛋白提取试剂盒提取蛋白,蛋白定量 BCA 试剂盒检测蛋白总浓度后,取 50 μg 蛋白上样,进行电泳和转膜反应。TBST 溶液清洗后,加入 5%脱脂牛奶室温下封闭 1 h, TBST 溶液清洗 3 次后,加入一抗(PI3K、p-Akt、caspase-3、Bcl-2、β-actin),稀释倍数分别为 1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:2 000,4 °C 摇床室温孵育过夜, TBST 溶液清洗后加入 HRP 羊抗兔二抗(稀释倍数 1:2 000),37 °C 摇床室温孵育 1 h, TBST 溶液清洗 3 次后,采用增强化学发光法显

色,以凝胶成像仪观察条带并拍照,并以 Image-J 软件分析各组蛋白相对表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两组间比较采用 SNK-*q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般行为、体重、甲状腺重量

Normal 组大鼠行为活动正常,毛色光泽柔顺;与 Normal 组相比,SD 组大鼠出现精神萎靡、身体消瘦、皮毛无光泽,抓取时出现尖叫、狂躁行为,且体重和甲状腺重量减轻($P < 0.05$);与 SD 组大鼠相比,丙泊酚低、中、高剂量组精神萎靡、身体消瘦、皮毛无光泽,抓取时出现尖叫、狂躁行为减少,且体重和甲状腺重量升高($P < 0.05$),且丙泊酚各剂量组上述指标呈剂量依赖性,见表 1。

表 1 各组大鼠体重和甲状腺重量比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体重(g)	甲状腺重量(mg)
Normal 组	432.00 ± 20.00	33.36 ± 2.42
SD 组	303.21 ± 16.44 ^a	23.21 ± 2.04 ^a
丙泊酚低剂量组	359.85 ± 17.57 ^{ab}	26.85 ± 17.57 ^{ab}
丙泊酚中剂量组	397.07 ± 18.26 ^{abc}	29.07 ± 18.26 ^{abc}
丙泊酚高剂量组	423.08 ± 19.68 ^{bcd}	32.28 ± 19.68 ^{bcd}

^a: $P < 0.05$, 与 Normal 组相比; ^b: $P < 0.05$, 与 SD 组相比; ^c: $P < 0.05$, 与丙泊酚低剂量组相比; ^d: $P < 0.05$, 与丙泊酚中剂量组相比。

2.2 各组大鼠血清 FT3、FT4、TSH 水平

与 Normal 组相比,SD 组大鼠血清 FT3、TSH 水平升高($P < 0.05$),FT4 水平降低($P < 0.05$);与 SD 组相比,丙泊酚低、中、高剂量组血清 FT3、TSH 水平降低($P < 0.05$),FT4 水平升高($P < 0.05$),且丙泊酚各剂量组上述指标呈剂量依赖性,见表 2。

2.3 各组大鼠甲状腺组织 HE 染色

Normal 组大鼠甲状腺形态正常,可见甲状腺滤泡呈圆形或椭圆形,滤泡上皮细胞为单层立方状,周围可见毛细血管,细胞核位于细胞中央,滤泡腔内充满中等量粉红色胶质。与 Normal 组相比,SD 组大鼠出现滤泡腔减小,滤泡上皮细胞呈扁平状且排列紊乱,滤泡高度增生,形成无腔细胞团等病理损伤。与 SD 组相比,丙泊酚各剂量组上述病理损伤程度逐渐减少,见图 1。

2.4 各组大鼠甲状腺组织 TUNEL 染色

Normal 组大鼠甲状腺细胞染色正常。与 Normal 组相比,SD 组大鼠细胞形状不规则,大小不一,细胞核固缩且染色较深,棕黄色或棕色颗粒增多,且细胞凋亡率增高($P < 0.05$)。与 SD 组相比,丙泊酚各剂量

组细胞核染色较浅,棕黄色或棕色颗粒明显减少,且细胞凋亡率呈剂量依赖性降低($P < 0.05$),见图 2。

2.5 各组大鼠甲状腺组织 PI3K、p-Akt、caspase-3、Bcl-2 蛋白表达水平

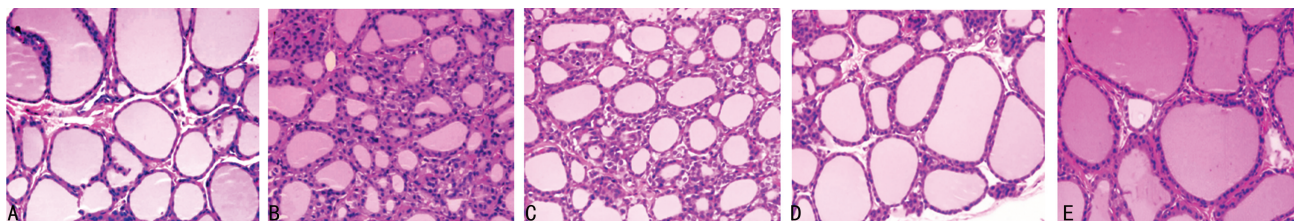
与 Normal 组相比,SD 组大鼠甲状腺组织 PI3K、p-Akt、Bcl-2 蛋白表达水平降低($P < 0.05$),caspase-3 蛋白表达水平升高($P < 0.05$);与 SD 组相比,丙泊酚低、中、高剂量组大鼠甲状腺组织 PI3K、p-Akt、Bcl-2 蛋白表达水平升高($P < 0.05$),caspase-3 蛋白表达水平降低($P < 0.05$),且丙泊酚各剂量组上述指标呈剂

量依赖性,见图 3、表 3。

表 2 各组大鼠血清 FT3、FT4、TSH 水平比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

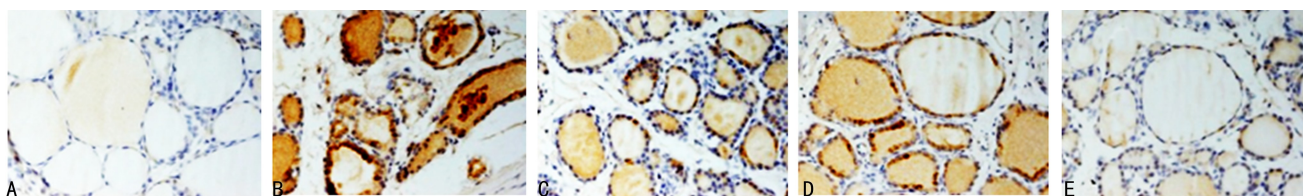
组别	FT3(pmol/L)	FT4(pmol/L)	TSH(mIU/L)
Normal 组	3.09 ± 0.11	14.86 ± 1.29	0.03 ± 0.01
SD 组	3.91 ± 0.14 ^a	11.01 ± 1.01 ^a	0.21 ± 0.04 ^a
丙泊酚低剂量组	3.69 ± 0.13 ^{ab}	12.35 ± 1.12 ^{ab}	0.16 ± 0.03 ^{ab}
丙泊酚中剂量组	3.41 ± 0.12 ^{abc}	13.67 ± 1.16 ^{abc}	0.09 ± 0.02 ^{abc}
丙泊酚高剂量组	3.16 ± 0.11 ^{bcd}	14.78 ± 1.22 ^{bcd}	0.04 ± 19.68 ^{bcd}

^a: $P < 0.05$,与 Normal 组相比;^b: $P < 0.05$,与 SD 组相比;^c: $P < 0.05$,与丙泊酚低剂量组相比;^d: $P < 0.05$,与丙泊酚中剂量组相比。



A: Normal 组; B: SD 组; C: 丙泊酚低剂量组; D: 丙泊酚中剂量组; E: 丙泊酚高剂量组。

图 1 各组大鼠甲状腺组织 HE 染色情况($\times 200$)



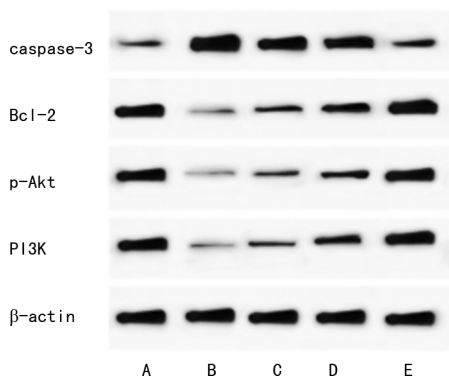
A: Normal 组; B: SD 组; C: 丙泊酚低剂量组; D: 丙泊酚中剂量组; E: 丙泊酚高剂量组。

图 2 各组大鼠甲状腺组织 TUNEL 染色情况($\times 400$)

表 3 各组大鼠甲状腺组织 PI3K、p-Akt、Bcl-2、caspase-3 蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	PI3K/ β -actin	p-Akt/ β -actin	Bcl-2/ β -actin	caspase-3/ β -actin
Normal 组	1.06 ± 0.13	1.07 ± 0.11	1.09 ± 0.12	0.26 ± 0.13
SD 组	0.15 ± 0.10 ^a	0.13 ± 0.14 ^a	0.19 ± 0.14 ^a	1.25 ± 0.10 ^a
丙泊酚低剂量组	0.46 ± 0.12 ^{ab}	0.45 ± 0.13 ^{ab}	0.49 ± 0.13 ^{ab}	0.91 ± 0.11 ^{ab}
丙泊酚中剂量组	0.76 ± 0.11 ^{abc}	0.72 ± 0.12 ^{abc}	0.79 ± 0.12 ^{abc}	0.63 ± 0.12 ^{abc}
丙泊酚高剂量组	1.02 ± 0.10 ^{bcd}	1.01 ± 0.15 ^{bcd}	1.06 ± 0.11 ^{bcd}	0.29 ± 0.13 ^{bcd}

^a: $P < 0.05$,与 Normal 组相比;^b: $P < 0.05$,与 SD 组相比;^c: $P < 0.05$,与丙泊酚低剂量组相比;^d: $P < 0.05$,与丙泊酚中剂量组相比。



A: Normal 组; B: SD 组; C: 丙泊酚低剂量组; D: 丙泊酚中剂量组; E: 丙泊酚高剂量组。

图 3 各组大鼠甲状腺组织 PI3K、p-Akt、Bcl-2、caspase-3 蛋白表达 Western blot 图

3 讨 论

SD 会影响患者的摄食、饮水、排泄及新陈代谢等生理活动,进而影响患者体重和脏器指数。研究证实 SD 模型大鼠可出现体重减轻,脾脏、肺和心脏的脏器系数降低^[11]及烦躁、易“激惹”、尖叫行为^[12]。本研究发现,SD 组大鼠体重及甲状腺重量明显低于 Normal 组,且大鼠出现皮毛颜色变暗、烦躁、尖叫行为,表明造模成功。TSH 可控制甲状腺细胞大小及数目、甲状腺激素合成,并调节甲状腺功能,而 FT3、FT4 能够精确反映机体激素水平^[13]。睡眠不足患者存在下丘脑-垂体-甲状腺轴的功能亢进状态^[14],而抑制甲状腺功能亢进状态,可改善睡眠^[15]。本研究每日对大鼠进

行 SD 22 h, 连续 21 d 后, SD 组大鼠血清 FT3、TSH 水平升高, FT4 水平降低, 推测可能随着 SD 时间延长, 机体调节能力难以代偿, 造成严重的内分泌器官损伤, 导致促甲状腺激素受体分泌不足, TSH 代偿性升高, 造成甲状腺机能异常, FT4 向 FT3 转化增多, 激素分泌紊乱。另外本研究发现 SD 大鼠分泌器官甲状腺出现滤泡腔减小、排列紊乱等病理损伤, 且甲状腺细胞凋亡率明显高于 Normal 组, 进一步证实 SD 延长会使甲状腺分泌功能受损及激素分泌紊乱现象, 这一发现与文献[9]一致。

丙泊酚是一种全身静脉麻醉药, 被广泛应用于多种短小手术的麻醉和镇静。近年研究证实, 丙泊酚可改善 SD 患者睡眠^[8]。肖军等^[16]发现丙泊酚联合刺五加注射液可改善 SD 大鼠睡眠状况。本研究给予 SD 大鼠丙泊酚后, 丙泊酚低、中、高剂量组大鼠体重、甲状腺重量、FT4 水平明显高于 SD 组, FT3、TSH 水平、甲状腺细胞凋亡率均低于 SD 组且接近正常水平, 大鼠毛色发暗、狂躁、尖叫行为及甲状腺组织滤泡腔减小、排列紊乱等病理损伤明显缓解, 推测丙泊酚可能促进大鼠睡眠, 改善了因睡眠不足引起的甲状腺功能损伤及激素分泌紊乱现象, 表明丙泊酚可改善 SD 大鼠睡眠不足引起的甲状腺组织损伤。然而其具体分子生物学机制还不甚明确。

PI3K/Akt 信号通路为细胞内重要信号转导通路之一, 可通过调节凋亡信号蛋白从而影响细胞的分化及存活^[17]。研究证实甲状腺炎患者炎症因子 IL-23 升高, 可抑制 PI3K/Akt 活化, 促进 Akt 下游促凋亡蛋白 caspase-3 表达, 减少抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达, 而促进甲状腺上皮细胞凋亡, 提示炎症刺激可通过抑制 PI3K/Akt 通路激活, 诱导甲状腺上皮细胞凋亡, 促进甲状腺疾病的发生、发展^[18]。机体受到 SD 刺激后, 下丘脑-垂体-甲状腺轴被激活, 可使 TSH 释放增多^[19], 而 TSH 可与 TSHR 结合并通过激活腺苷酸环化酶上调 PI3K/Akt 信号传导途径, 发挥抗凋亡和细胞增殖作用^[20]。本研究发现, SD 组大鼠甲状腺组织中 PI3K、p-Akt、Bcl-2 蛋白表达水平低于 Normal 组, caspase-3 蛋白表达水平高于 Normal 组, 提示 SD 大鼠甲状腺组织中 PI3K/Akt 通路抑制, 凋亡蛋白增加, 然而这与 TSH 升高, 促进 PI3K/Akt 通路激活发挥抗凋亡作用相违背, 推测可能由于随着 SD 时间延长, 机体细胞调节能力难以代偿, TSH 过度在甲状腺滤泡内积聚, 使内分泌器官损伤严重, 而 TSH 代偿性升高可能仍不足以促进 PI3K/Akt 通路激活发挥抗凋亡作用, 这就解释了 TSH 分泌过多与甲状腺功能异常及甲状腺疾病的关系^[21]。而丙泊酚低、中、高剂

量组大鼠甲状腺组织 PI3K、p-Akt、Bcl-2 蛋白表达水平高于 SD 组, caspase-3 蛋白表达水平低于 SD 组, 且趋向于正常, 表明丙泊酚可促进 PI3K/Akt 通路激活, 提示丙泊酚抑制 SD 大鼠甲状腺细胞凋亡, 改善甲状腺激素分泌功能的作用, 可能与激活 PI3K/Akt 通路有关。

综上所述, 丙泊酚可激活 SD 大鼠甲状腺组织 PI3K/Akt 通路蛋白表达, 抑制甲状腺细胞凋亡和损伤, 改善机体激素分泌, 这可能为阐明丙泊酚改善 SD 睡眠和缓解睡眠不足引起的甲状腺功能损伤, 提供一定参考, 但睡眠不足引起甲状腺损伤机制复杂, 本研究未设置通路抑制剂进行验证, 睡眠不足引起的机体功能异常的具体生物学机制仍需继续研究。

参考文献

- [1] SCHWARZ J, GERHARDSSON A, VAN LE EUWEN W, et al. Does sleep deprivation increase the vulnerability to acute psychosocial stress in young and older adults[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2018, 96(1):155-165.
- [2] 孙晓倩. 睡眠剥夺与中枢神经系统疾病关系的研究进展[J]. *天津医科大学学报*, 2018, 24(5):461-465.
- [3] CAMPS T, AMAT M, MANTECA X. A review of medical conditions and behavioral problems in dogs and cats[J]. *Animals (basel)*, 2019, 9(12):1133-1146.
- [4] KIM W, LEE J, HA J, et al. Association between sleep duration and subclinical thyroid dysfunction based on nationally representative data[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(11):2010-2018.
- [5] 程千鹏, 洛佩, 吕肖锋. 甲状腺功能减退症的病因和对机体影响的研究进展[J]. *医学综述*, 2018, 24(9):1766-1770.
- [6] RAMÍREZ-MOYA J, WERT-LAMAS L, SANTISTEBAN P. MicroRNA-146b promotes PI3K/AKT pathway hyperactivation and thyroid cancer progression by targeting PTEN[J]. *Oncogene*, 2018, 37(25):3369-3383.
- [7] YU S T, ZHONG Q, CHEN R H, et al. CRLF1 promotes malignant phenotypes of papillary thyroid carcinoma by activating the MAPK/ERK and PI3K/AKT pathways[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3):371-398.

- [8] 王培,陈怀龙,秦伟伟,等.丙泊酚与睡眠障碍[J].国际麻醉学与复苏杂志,2020,41(2):208-211.
- [9] 谷冬梅,梁钰涵,刘朝琦,等.不完全睡眠剥夺对大鼠甲状腺功能影响的研究[J].环境与健康杂志,2016,33(12):1047-1050.
- [10] 郭瑶,王传光.灯盏花素联合丙泊酚对脑缺血再灌注损伤大鼠的神经保护作用及 Nrf2/HO-1 通路的影响[J].中国药师,2019,22(9):1639-1644.
- [11] 蒋勇,高俊,刘丽达,等.睡眠剥夺对 SD 大鼠体重和脏器系数的影响[J].齐齐哈尔医学院学报,2018,39(1):4-7.
- [12] 董作亮,谭丽,褚晨晨,等.连续 6 天睡眠剥夺对大鼠甲状腺功能及抗甲状腺抗体影响的研究[J].国际内分泌代谢杂志,2014,34(4):225-228.
- [13] 王丽.甲状腺片与优甲乐对甲状腺功能减退患者血清 TSH 水平的影响[J].中国实用医药,2018,13(12):121-122.
- [14] 朱莉,祝国华,张斌,等.血清 T₃、T₄、H-TSH、FT₃、FT₄ 在甲亢和甲减诊断中的评价探讨[J].解放军预防医学杂志,2019,37(5):49-50.
- [15] 谢柯,曾艳.养血清脑颗粒联合西药治疗中青年亚急性失眠疗效及对下丘脑-垂体-甲状腺轴激素水平的影响[J].现代中西医结合杂志,2017,26(18):2001-2003.
- [16] 肖军,朱易凡,张宁新,等.丙泊酚联合刺五加注射液对睡眠剥夺模型大鼠的药效学研究[J].国际医药卫生导报,2010,16(14):1669-1674.
- [17] YIN X,REN M,JIANG H Z, et al. Downregulated AEG-1 together with inhibited PI3K/Akt pathway is associated with reduced viability of motor neurons in an ALS model[J]. Mol Cell Neurosci,2015,68(1):303-313.
- [18] 郑婷婷,许铖铖,毛朝明,等. IL-23 通过 PI3K/AKT 途径诱导甲状腺上皮细胞凋亡[J].细胞与分子免疫学杂志,2016,32(7):954-957.
- [19] AUCH-CHARA K, SCHMID S M, HALLS CHMID M, et al. Pituitary-gonadal and pituitary-thyroid axis hormone concentrations before and during a hypoglycemic clamp after sleep deprivation in healthy men [J]. PLoS One,2013,8(1):542-549.
- [20] SERRANO-NASCIMENTO C, DA SILVA T S, NICOLA J P, et al. The acute inhibitory effect of iodide excess on Sodium/iodide symporter expression and activity involves the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Endocrinology,2014,155(3):1145-1156.
- [21] 朱毅,时立新,张巧,等.贵阳市中老年居民血清 TSH、TPOAb 与甲状腺结节患病率的相关性[J].中国老年学杂志,2018,38(24):5930-5933.

(收稿日期:2020-08-18 修回日期:2020-12-28)