

·基础研究·

^{131}I 诱导甲状腺功能减退大鼠主动脉内皮功能异常相关机制的研究

刘倩¹ 庞华² 周静² 刘影² 程刚²

¹核工业四一六医院·成都医学院第二附属医院核医学科 610000; ²重庆医科大学附属第一医院核医学科 400016

通信作者: 程刚, Email: chg05@163.com

【摘要】 目的 探究放射性 ^{131}I 诱导大鼠甲状腺功能减退(简称甲减)模型中血清一氧化氮(NO)、炎症介质肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)的表达水平及在大鼠甲减模型中主动脉内皮细胞中一氧化氮合酶(NOS)蛋白的表达情况,以期寻找一个较为安全的 ^{131}I 治疗剂量。方法 健康雄性SD大鼠45只,其中36只分别腹腔注射2.775、5.550、11.100、16.650 MBq ^{131}I +0.5 mL生理盐水,构建大鼠甲减模型,分为4组,每组9只;剩余9只作为正常对照组,只注射0.5 mL生理盐水。分别于注射后第4、8、16周时每组各处死大鼠3只,用ELISA法检测大鼠血清中NO、TNF- α 和IL-6水平,用化学发光免疫分析法检测血清中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,提取主动脉标本检测总的NOS活性,应用Western-blotting分析大鼠主动脉标本中主动脉内皮型NOS(eNOS)、神经型NOS(nNOS)与诱导型NOS(iNOS)蛋白表达水平。组间两两比较采用 t 检验。结果 血清中FT₃、FT₄、TSH水平检测结果发现除2.775 MBq剂量组外的其他3组大鼠均甲减模型构建成功,且5.550 MBq组作为放射性 ^{131}I 治疗的剂量是较为合适的。5.550 MBq组大鼠血清NO水平在注射 ^{131}I 后第4周升高至24.01 $\mu\text{mol/L}$ 后逐渐减少;血清中IL-6水平在第4、8、16周时分别为209.23、291.87、302.97 pg/mL,与正常对照组相比,第8、16周差异均有统计学意义($t=8.841$ 、14.224, 均 $P<0.05$)。TNF- α 水平在第4、8、16周时分别为1441.23、1601.85、1521.51 pg/mL,与正常对照组相比,差异均有统计学意义($t=21.021$ 、17.578、14.498, 均 $P<0.05$)。eNOS在不同时间点的表达量为25 985、16 306、6248,各组蛋白水平明显降低,与正常对照组相比,除第4周时蛋白水平差异无统计学意义($t=3.546$, $P>0.05$)外,第8、16周时差异均有统计学意义($t=8.841$ 、14.224, 均 $P<0.05$)。nNOS表达量为24 562、36 114、58 211,第4周时下降,第8、16周时逐渐升高,与正常对照组相比,第4、16周时的差异均有统计学意义($t=5.751$ 、7.251, 均 $P<0.05$)。iNOS在不同时间点的表达量为55 973、50 575、62 364,与正常对照组相比,各组均明显增加,差异均有统计学意义($t=21.017$ 、16.412、24.981, 均 $P<0.05$)。结论 放射性 ^{131}I 所致甲减对于心脏具有一定的影响,大剂量的 ^{131}I 可能会刺激合成甲状腺激素减少,从而导致甲减,最终影响其血管内皮NOS基因及蛋白表达,对心血管系统产生影响。

【关键词】 碘放射性同位素; 甲状腺功能减退症; 主动脉内皮; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 主动脉内皮

基金项目: 重庆市卫生局医学科研项目(2011-2-107)

DOI: [10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.01.007](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.01.007)

Effect and mechanism of aortic endothelium of hypothyroidism rats induced by ^{131}I

Liu Qian¹, Pang Hua², Zhou Jing², Liu Ying², Cheng Gang²

¹Department of Nuclear Medicine, the 2nd Affiliated Hospital of Chengdu Medical College Nuclear Industry 416 Hospital, Chengdu 610000, China; ²Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Corresponding author: Cheng Gang, Email: chg05@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of nitric oxide(NO), inflammatory mediators(TNF- α , IL-6) in serum and nitric oxide synthase(NOS) protein in aortic endothelial cells of rats with hypothyroidism induced by radioactive ^{131}I , in order to find a safe dose of ^{131}I for the prevention of hypothyroidism heart disease. **Methods** Forty-five male rats were selected. The hypothyroidism model was established by intraperitoneal injection of 2.775, 5.550, 11.100, 16.650 MBq ^{131}I + 0.5 mL saline into 36 male rats, with 9 rats in each group. The remaining 9 rats were taken as normal control group and only 0.5 mL saline was injected to each rat. Three rats were sacrificed in each group at 4, 8, and 16 weeks after ^{131}I administration. The serum levels of IL-6, TNF- α and the aortal content of total-NOS activity were determined with chemiluminescence immunoassay. Western blotting was used to analyze the expression of rat aortic specimens of eNOS, nNOS, and iNOS, and count data were analyzed by the *t* test. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant. **Results** The serum levels of FT₃, FT₄ and TSH showed that all the groups of hypothyroidism model of rats were successfully constructed except 2.775 MBq group, and 5.550 MBq was regarded as an optimum dosage. The serum level of NO in rats(5.550 MBq) at 4 week increased to 24.01 mol/L and then reduced gradually; the level of serum IL-6 in 4, 8, and 16 were 209.23, 291.87, and 302.97 pg/mL, respectively. Compared with normal control, statistical differences were observed at 8 and 16 week($t=8.841, 14.224$, both $P < 0.05$). The levels of TNF- α were 1441.23, 1601.85, and 1521.51 pg/mL, respectively, with statistical differences at different time points($t=21.021, 17.578, 14.498$, all $P < 0.05$). The expression of aortic endothelial NOS(eNOS) at different time points was 25 985, 16 306, and 6248. Compared with normal control, the levels of protein in each group decreased, no statistical significance was observed at 4 week($t=3.546, P > 0.05$) and statistical differences were observed at 8 and 16 week($t=8.841, 14.224$, both $P < 0.05$). The expression of NOS(nNOS) was 24 562, 36 114 and 58 211, down at 4 week($t=3.546, P > 0.05$), and gradually increased at 8 and 16 week($t=5.751, 7.251$, both $P > 0.05$). The expression of inducible nitric oxide synthase(iNOS) was 55 973, 50 575 and 62 364, and all groups increased statistically($t=21.017, 16.412, 24.981$, all $P < 0.05$). **Conclusion** The hypothyroidism induced by ^{131}I has certain effect on the heart, and our study can provide a new idea for prevention of hypothyroid heart disease for clinical practice and reduction of cardiovascular disease.

【Key words】 Iodine radioisotopes; Hypothyroidism; Aorta endothelium; Nitric oxide; Nitric oxide synthase; Aorta endothelium

Fund program: Medical Scientific Research Project of Chongqing Municipal Health Bureau (2011-2-107)

DOI: [10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.01.007](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.01.007)

甲状腺功能减退症(简称甲减)是放射性 ^{131}I 治疗甲状腺功能亢进症(简称甲亢)时一个最主要的并发症。目前, ^{131}I 治疗甲亢已经有60多年的历史,在欧美国家已成为了治疗成人甲亢的首选治疗方法,我国自1958年开始应用 ^{131}I 治疗,近几年, ^{131}I 在治疗甲亢和甲状腺恶性肿瘤方面的优势逐渐被国内医师和患者所认可,较多医院选择将 ^{131}I 治疗作为甲亢的首选治疗方式^[1]。 ^{131}I 治疗后容易发生甲减^[2],其中 ^{131}I 治疗甲亢后的甲减占了较大的比重,在青少年和儿童中的发生率甚至高达95%^[3-5]。越来越多的证据表明,甲减对于心血管系统有严重影响,大大增加了心血管疾病的发生率。亚临床与

明显的甲减都会引起心输出量降低、外周阻力增高和血管内皮功能受损^[6],甲减与动脉粥样硬化关系密切^[7],对心血管系统有重要影响。一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种能引起平滑肌细胞舒张的化合物,从多个方面参与调节心血管系统的功能。NO主要由一氧化氮合酶(nitric oxide synthases, NOS)以L-精氨酸(L-arginine)为底物合成。NOS主要由内皮性一氧化氮合酶(eNOS)、诱生性一氧化氮合酶(iNOS)及神经性一氧化氮合酶(nNOS)3种亚型构成,且均在心血管系统中扮演着重要的角色。因此,随着放射性 ^{131}I 治疗甲亢的逐渐普及, ^{131}I 治疗后甲减发生率的逐渐增加,其对于心

血管系统的影响不容忽视,所以对NO的研究也进入了一个新时代^[8]。

本实验用¹³¹I诱导的大鼠甲减模型,研究甲减以及辐射对大鼠主动脉内皮功能异常中NO的作用及其机制,以期寻找一个较为安全的¹³¹I治疗剂量,为临床上预防¹³¹I治疗甲亢所导致的甲减性心脏病提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

大鼠TNF- α 、IL-6、NO、NOS酶活性相关酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒均购于南京建成生物工程研究所有限公司; iNOS、eNOS、nNOS抗体均购于南京建成生物工程研究所有限公司。大鼠抗NOS酶单克隆抗体和抗辣根过氧化物酶标记的二抗均购于北京中山金桥生物技术有限公司。T₃、T₄、TSH试剂盒均购于北京杰辉博高生物技术有限公司。4℃低温高速Legend Micro 17R离心机(德国IKA公司)、Synersy HT酶标仪(美国BioRod公司)均由重庆医科大学生命科学研究院提供。

1.2 材料

4~6周龄健康雄性SD大鼠[(200±10)g]45只,购于重庆医科大学动物实验中心,饲养等级为IVC级别,许可证号:SYXK(渝)2018-0003。

1.3 方法

1.3.1 ¹³¹I诱导甲减大鼠模型的建立

分别将2.775、5.550、11.100、16.650 MBq的¹³¹I+0.5 mL生理盐水腹腔注射至健康雄性SD大鼠中,构建大鼠甲减模型,每组9只,共36只。剩余9只雄性SD大鼠作为正常对照组,只注射0.5 mL生理盐水,同条件下饲养。

1.3.2 免疫分析法检测血清中游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT₃)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT₄)和TSH的水平

将不同剂量组和对照组的大鼠分别在给药后第4、8、16周时主动脉取血后处死,每次每组3只,每只取血2管,每管2 mL。离心10 min(离心力17 000×g, 4500转/min)后,取血清。然后根据试剂盒说明,分别检测每只大鼠的血清FT₃、FT₄和TSH水平,其中,FT₃、FT₄水平用放射免

疫法测定,TSH水平用ELISA试剂盒测定。根据血清激素及体质量结果选取最佳剂量组,进行后续研究。

1.3.3 ELISA法检测大鼠血清中NO、TNF- α 和IL-6水平

最佳剂量组及正常对照组大鼠分别在给药后第4、8、16周时主动脉取血处死,每组3只,每只取血2管,每管2 mL,离心10 min(离心力17 000×g, 4500转/min)后,提取血清。根据ELISA试剂盒操作说明检测NO、TNF- α 、IL-6水平,TNF- α 和IL-6水平于酶标仪A450 nm处读数,NO活性于A550 nm处读数。

1.3.4 大鼠主动脉NOS酶活性的检测

最佳剂量组及正常对照组大鼠分别在给药后第4、8、16周时取血处死后剥离主动脉,于-80℃环境中保存。将剥离出的主动脉用研钵研碎,加入生理盐水,混合成10%组织匀浆,离心10 min后(离心力17 000×g, 2500转/min),取上清,采用蛋白浓度检测法测定主动脉组织蛋白浓度,根据ELISA试剂盒操作说明检测NOS酶活性,并于酶标仪A530 nm处读数。

1.3.5 Western-blotting检测主动脉标本eNOS、nNOS与iNOS蛋白水平表达

取上一步骤中剥离的主动脉,提取总蛋白,使总蛋白变性,通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE电泳),转移到聚偏氟乙烯膜。在室温下振荡孵育1 h。随后,该膜在稀释浓度为1:1000的nNOS、eNOS、iNOS一抗作用下4℃孵育过夜。膜清洗后在1:5000抗辣根过氧化物酶标记的二抗作用下室温孵育1 h。3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)染色,显影。

1.4 统计学分析

使用SPSS 22.0软件对实验数据进行分析。计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布和方差齐性,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同剂量组大鼠血清的FT₃、FT₄、TSH水平

由表1可知,正常对照组与2.775 MBq剂量组间甲状腺功能差异无统计学意义(FT₃: $t = 1.547 \sim 1.615$, 均 $P > 0.05$; FT₄: $t = 2.014 \sim 2.103$, 均 $P > 0.05$; TSH: $t = 1.254 \sim 1.528$, 均 $P > 0.05$)。在其

表 1 不同剂量¹³¹I 诱导的 SD 大鼠模型在不同时间的甲状腺功能检测结果(每组 n=3, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Thyroid function of treated rats at different doses of ¹³¹I (each group n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	FT ₃ (ng/mL)	FT ₄ (pmol/L)	TSH(mIU/L)
正常对照组			
4周	1.17±0.11	13.36±0.28	7.65±0.32
8周	1.22±0.11	13.36±0.50	8.03±0.83
16周	1.17±0.12	13.47±0.54	8.31±0.23
2.775 MBq组			
4周	1.02±0.30	12.55±1.01	9.02±0.58
8周	1.25±0.82	12.41±0.98	8.43±1.56
16周	1.10±0.14	12.52±0.83	8.56±0.23
5.550 MBq组			
4周	0.79±0.03*	9.87±2.21*	16.01±2.02*
8周	0.64±0.15*	6.99±1.05*	19.02±2.25*
16周	0.58±0.15*	6.05±0.44*	20.61±0.79*
11.100 MBq组			
4周	0.53±0.70*	7.77±0.93*	19.08±4.01*
8周	0.31±0.09*	6.25±1.31*	21.87±0.56*
16周	0.30±0.01*	5.29±0.42*	22.52±2.58*
16.650 MBq组			
4周	0.42±0.04*	5.54±1.22*	21.51±2.20*
8周	0.30±0.02*	4.87±0.10*	23.46±1.22*
16周	0.26±0.05*	5.25±0.16*	23.82±4.25*

注：表中，*：与正常对照组比较，差异均有统计学意义（ $t=5.017\sim 20.369$ ，均 $P<0.05$ ）。FT₃：游离三碘甲腺原氨酸；FT₄：游离甲状腺素；TSH：促甲状腺激素。

他组，与正常对照组比较随着剂量的增加，血清 FT₃、FT₄ 水平逐渐下降，差异均有统计学意义（FT₃： $t=5.324\sim 14.210$ ，均 $P<0.05$ ；FT₄： $t=5.017\sim 13.587$ ，均 $P<0.05$ ）；另外，随着剂量的增加血清 TSH 浓度在各时间点逐渐升高，且差异均具有统计学意义（ $t=5.214\sim 20.369$ ， $P<0.05$ ）。同时，结合各剂量组的不同时间点大鼠的体质量数据(表 2)可知，除 2.775 MBq 剂量组外，与正常对照组相比，其余 3 组大鼠的体质量变化均有统计学意义（ $t=1.987\sim 13.542$ ，均 $P<0.05$ ），说明甲减模型构建成功，且 5.550 MBq 组作为放射性¹³¹I 治疗的剂量是较为合适的，故选取 5.550 MBq 组大鼠进行接下来的研究。

2.2 ELISA 法检测 5.550 MBq 剂量组甲减大鼠血清中 NO、TNF-α、IL-6 水平的结果

图 1 和图 2 显示甲减大鼠在使用 5.550 MBq ¹³¹I 治疗时血清中的 TNF-α 和 IL-6 的表达水平。

TNF-α 水平在第 4、8、16 周时分别为 1441.23、1601.85、1521.51 pg/mL，与正常对照组相比，差

表 2 不同剂量组各个时间点¹³¹I 诱导的 SD 大鼠体质量 (每组 n=3, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Body weight of treated rats at different doses of ¹³¹I at different time (each group n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	大鼠体质量(g)		
	4周	8周	16周
正常对照组	211.33±10.21	325.23±15.07	304.76±19.01
2.775 MBq组	218.67±11.03	331.33±16.20	404.00±17.28
5.550 MBq组	304.76±19.01*	415.25±22.01*	513.31±9.89*
11.100 MBq组	189.67±11.58*	207.67±16.91*	209.04±6.55*
16.650 MBq组	192.54±12.48*	217.67±16.07*	211.96±10.04*

注：表中，*：与正常对照组比较，差异均有统计学意义（ $t=1.987\sim 13.542$ ，均 $P<0.05$ ）。

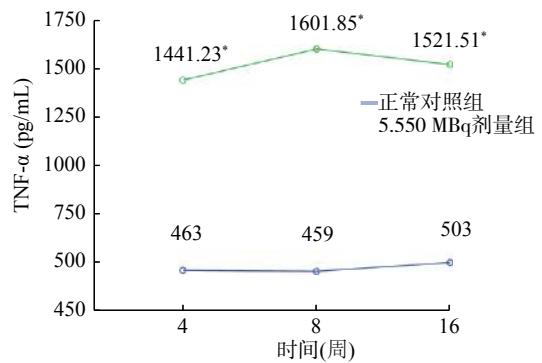


图 1 5.550 MBq 剂量组甲减 SD 大鼠与正常对照组 SD 大鼠在不同时间的 TNF-α 水平 图中，TNF-α：肿瘤坏死因子-α；*：与正常对照组比较，差异均有统计学意义（ $t_{4w}=21.021$ 、 $t_{8w}=17.578$ 、 $t_{16w}=14.498$ ，均 $P<0.05$ ）。

Fig. 1 The content of TNF-α in serum at different time in hypothyroid rats treated with 5.550 MBq ¹³¹I versus normal group

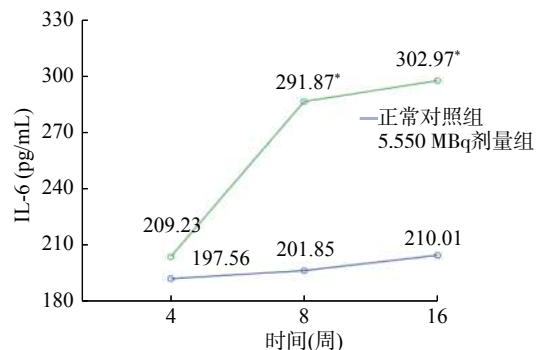


图 2 5.550 MBq 剂量组甲减 SD 大鼠与正常对照组 SD 大鼠在不同时间点的 IL-6 水平 图中，IL-6：白细胞介素 6；*：与正常对照组比较，差异均有统计学意义（ $t_{8w}=8.841$ 、 $t_{16w}=14.224$ ，均 $P<0.05$ ）。

Fig. 2 The content of IL-6 in serum at different time in hypothyroid rats treated with 5.550 MBq ¹³¹I versus normal group

异均有统计学意义($t=21.021$ 、 17.578 、 14.498 , 均 $P<0.05$), 其中在第8、16周时的TNF- α 水平高于第4周。血清中IL-6水平在第4、8、16周时分别为209.23、291.87、302.97 pg/mL, 与正常对照组比较, IL-6水平在第4周时差异无统计学意义($t=2.825$, $P>0.05$), 在第8、16周时, 差异均有统计学意义($t=8.841$ 、 14.224 , 均 $P<0.05$)。图3显示, 与正常对照组相比, 5.550 MBq剂量组血清NO水平在第4周时水平高于正常对照组, 差异有统计学意义($t=31.014$, $P<0.05$), 而在第8周($t=4.214$, $P>0.05$)和第16周($t=7.014$, $P<0.05$)时均有所下降。

2.3 不同时间点 5.550 MBq 剂量组甲减大鼠主动脉 NOS 酶活性结果

由图4可知, 5.550 MBq 剂量组甲减大鼠的主

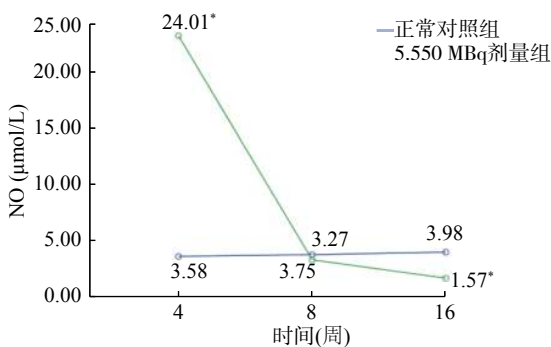


图3 5.550 MBq 剂量组甲减 SD 大鼠与正常对照组 SD 大鼠在不同时间的 NO 水平 图中, NO: 一氧化氮; *: 与正常对照组比较, 差异均有统计学意义 ($t_{4w}=31.014$, $t_{16w}=7.014$, 均 $P<0.05$)。

Fig. 3 The levels of NO in serum at different time in hypothyroid rats treated with 5.550 MBq ^{131}I versus normal group.

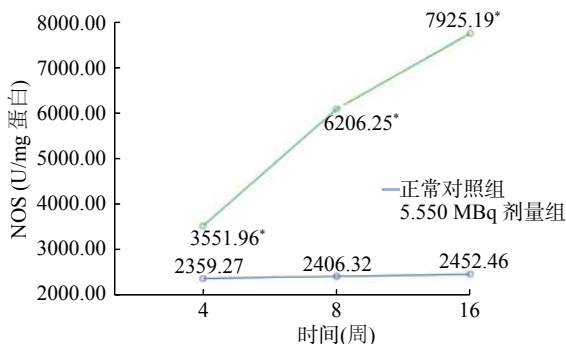


图4 5.550 MBq 剂量组甲减大鼠与正常组 SD 大鼠在不同时间的 NOS 活性 图中, NOS: 一氧化氮合酶; *: 与正常对照组比较, 差异有统计学意义 ($t_{4w}=5.089$ 、 $t_{8w}=9.672$ 、 $t_{16w}=13.394$, 均 $P<0.05$)。

Fig. 4 Total-NOS activity in aorta in hypothyroid rats treated with 5.550 MBq ^{131}I versus normal group

动脉内皮总 NOS 活性随时间的延迟持续升高, 与正常组相比, 差异均有统计学意义 ($t_{4w}=5.089$ 、 $t_{8w}=9.672$ 、 $t_{16w}=13.394$, 均 $P<0.05$)。

2.4 Western-blotting 检测 5.550 MBq 剂量组甲减大鼠主动脉标本 eNOS、nNOS 与 iNOS 蛋白水平表达的结果

5.550 MBq 剂量组甲减大鼠的 Western-blotting 分析结果见图5。eNOS 在不同时间点的表达量为25 985、16 306、6248, 与正常对照组相比, eNOS 蛋白水平明显降低, 但是在第4周时差异无统计学意义($t_{4w}=3.546$, $P>0.05$; $t_{8w}=8.841$, $t_{16w}=14.224$, 均 $P<0.05$)。nNOS 表达量为24 562、36 114、58 211, nNOS 蛋白水平在第4周时下降, 但在第8、16周时逐渐增加, 差异有统计学意义($t=5.751$ 、 7.251 , 均 $P<0.05$)。在各个时间点, iNOS 表达量为55 973、50 575、62 364, 蛋白表达水平均较正常对照组明显增加, 差异均有统计学意义 ($t_{4w}=21.017$ 、 $t_{8w}=16.412$ 、 $t_{16w}=24.981$, 均 $P<0.05$)。

3 讨论

Furchgott 和 Zawadzki^[9]最早发现当血管内皮受到刺激时, 会释放一种血管活性物质, 当时命名为内皮源性舒张因子 (endothelium-derived relaxing

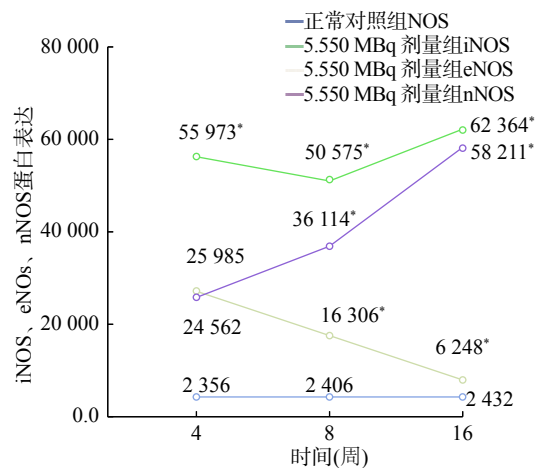


图5 Western blotting 检测 5.550 MBq 剂量组甲减大鼠与正常对照组 SD 大鼠在不同时间的 NOS 蛋白表达对比图 图中, eNOS: 内皮型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; nNOS: 神经型一氧化氮合酶; *: 与正常对照组比较, 差异均有统计学意义 (eNOS: $t_{8w}=8.841$ 、 $t_{16w}=14.224$, 均 $P<0.05$; nNOS: $t_{8w}=5.751$ 、 $t_{16w}=7.251$, 均 $P<0.05$; iNOS: $t_{4w}=21.017$ 、 $t_{8w}=16.412$ 、 $t_{16w}=24.981$, 均 $P<0.05$)。

Fig. 5 Western-blotting detection of eNOS, nNOS and iNOS protein levels in aorta in hypothyroid rats treated with 5.550 MBq ^{131}I versus normal group

factor, EDRF)。数年后, Ignarro 等^[10]的研究证实 EDRF 就是 NO。之后在对 NO 的研究中证实, 其是最重要的一种血管舒张因子, 生物半衰期只有 4~8 s, 能够调节血管张力, 参与抗氧化、抗炎、抗凝血, 增强纤溶活性, 具有抑制白细胞黏附和迁移, 抑制平滑肌细胞迁移和增殖, 以及抑制血小板聚集和黏附等功能。NO 合酶亚型主要有以下 3 种: eNOS 主要存在于内皮细胞中; nNOS 在神经系统中广泛存在; iNOS 则存在于免疫细胞中, 如单核细胞和巨噬细胞。eNOS 和 nNOS 被称为组织性一氧化氮合酶 (constitutive NOS, cNOS), 能产生少量 NO, 可作为细胞信号分子。iNOS 在异常情况下表达, 比如心衰、炎症时由细胞内抗原、某些肿瘤细胞或微生物产物诱导产生大量 NO。NO 生物活性下降主要来自于两方面的原因: 一方面是 NOS 的活性下降, 合成 NO 减少, 二是各种氧化应激导致 NO 降解加速^[11]。现在的观点认为: nNOS 除了存在于神经系统中, 还存在于平滑肌和骨骼肌中; eNOS 存在于平滑肌和血小板中; iNOS 存在于平滑肌以及肝脏中, 其在生理条件下也有适量表达^[8]。这 3 种 NOS 能够在心肌细胞中表达, 且均在心血管系统中扮演着重要的角色, 张陆燕^[12]认为 TSH 增高可能会刺激血管内皮细胞 eNOS 低水平表达, 这可能会促进动脉粥样硬化的发生和发展。陈刚等^[13]研究发现冠心病患者中有 35.29% 合并亚临床甲减。故本实验探求¹³¹I 治疗甲亢所导致的甲减以及辐射对于大鼠主动脉内皮功能异常中的相关机制, 从而探索临床上¹³¹I 治疗甲亢的一个较为安全的剂量。

在以往的研究中, 大多采用内科抗甲状腺药物喂养大鼠, 抑制甲状腺激素合成的关键酶, 建立慢性甲减模型^[14-16], 少数则应用外科切除大鼠甲状腺建立急性甲减模型^[17]。而¹³¹I 诱导的甲减模型与临床上放射性¹³¹I 治疗甲亢后甲减类似, 也属于慢性甲减, 故本实验采用此方法构建甲减模型。有文献报道, ¹³¹I 剂量从 2.775~16.650 MBq 不等, 而比较有效的剂量是 2.775~10.249 MBq^[18]。本研究中, 从对不同时间点各剂量组大鼠的称重结果可以看出, 2.775 MBq 剂量组大鼠与正常对照组大鼠体质量增长不明显, 5.550 MBq 剂量组体质量增加明显, 然而 11.100、16.650 MBq 两组大鼠体质量反而呈现下降趋势, 我们考虑可能是由于¹³¹I 剂量过

大而导致 TSH 急剧增高, 从而使大鼠甲状腺激素分泌不足呈现出呆小症的表现, 因此, 我们认为 5.550 MBq 可能是一个最佳的治疗剂量。5.550 MBq 剂量组的大鼠血清中, IL-6 和 TNF- α 水平在各时间点均高于正常值。TNF- α 水平在不同时间点与正常对照组比较差异均有统计学意义, 其中在第 8、16 周时差异较为明显。除第 4 周外, 其余时间点的甲减大鼠血清中 NO 水平均较低, 在第 8、16 周时明显下降。主动脉 NOS 活性检测中, 甲减组 eNOS 蛋白水平与正常对照组相比明显降低; nNOS 蛋白水平在第 4 周时下降, 然后在第 8、16 周时逐渐增加; 在各个时间点, iNOS 蛋白表达水平与正常对照组相比明显增加。故本研究所得最佳剂量为 5.550 MBq, 与相关文献报道相符。而大剂量的¹³¹I 可能会刺激合成甲状腺激素减少, 在这个过程中会导致甲减而影响血管内皮 NOS 基因及蛋白表达, 从而对心血管系统产生影响。

有研究表明, 甲减患者的 NO 会呈现低水平表达^[19-20], 他们认为亚临床甲减可导致患者血管内皮损伤并加重炎症反应, 从而增加患心血管疾病的风险。然而在本研究中, 第 4 周时 NO 的水平显著增高, 考虑其原因可能是¹³¹I 所致的放射性损伤, 因为在注射后 1 个月内, ¹³¹I 在体内的效果较强, 随后才逐渐弱化。本研究最佳剂量组即 5.550 MBq 组表现出了较低的血清 NO 水平和较高的主动脉 NOS 活性, 与文献报道相符^[21], 但也有研究结果与本研究结果相反^[22], 如有学者提出辐射可以提高甲减患者的 NO 水平^[23-25]。然而, 目前只有少数文献报道采用 Western blot 对主动脉 eNOS、nNOS 和 iNOS 进行研究。本研究发现甲减大鼠主动脉内皮型出现 NOS 的水平降低, 这与已有研究结果一致^[26]; 不过, Sarati 等^[21]研究发现, 主动脉 iNOS、eNOS 和 nNOS 表达水平均不同于本研究, 而且 McAllister 等^[15]观察到了与本研究相反的 nNOS 蛋白表达情况。导致这种差异的原因可能是在动物和实验方法的选择上不同, 致使所得到的 NO 水平及 NOS 活性也不尽相同。由于目前有关甲减所导致的 NO 水平和 NOS 活性变化等相关问题仍存在争议, 因此, 进一步了解¹³¹I 治疗后甲减影响心血管系统的机制是十分必要的, 而且目前相关研究文献很少, 故本研究通过对甲减大鼠主动脉内皮中 NO 水平及 NOS 活性进行研究后发现最

佳剂量为 5.550 MBq, 大剂量的¹³¹I 可能会刺激合成甲状腺激素减少, 从而导致甲减最终影响其血管内皮 NOS 基因及蛋白表达, 进而对心血管系统产生影响。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展, 不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 刘倩负责现场实验、论文撰写; 庞华负责论文审阅; 周静负责现场实验; 刘影负责文献查询; 程刚负责方法建立。

参 考 文 献

- [1] 郭宝帅, 赵雪琦, 李晓阳. 碘 131 对甲状腺功能亢进的治疗进展[J/OL]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(43): 83-84[2018-07-26]. <http://www.doc88.com/p-1126632858297.html>. DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.43.031.
- Guo BS, Zhao XQ, Li XY. Progress in the treatment of hyperthyroidism with iodine 131[J/OL]. World Latest Medicine Information (ElectronicVersion), 2018, 18(43): 83-84[2018-07-26]. <http://www.doc88.com/p-1126632858297.html>. DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.43.031.
- [2] 潘红方, 邱夏芹. 小剂量甲状腺素治疗老年甲状腺功能减退症的临床疗效[J]. 包头医学院学报, 2016, 32(8): 80-81. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2016.08.046.
- Pan HF, Qiu XQ. Clinical efficacy of low-dose thyroxine in the treatment of senile hypothyroidism[J]. J Baotou Med Coll, 2016, 32(8): 80-81. DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2016.08.046.
- [3] Alexander EK, Larsen PR. High dose of ¹³¹I therapy for the treatment of hyperthyroidism caused by Graves' disease[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(3): 1073-1077. DOI: 10.1210/jcem.87.3.8333.
- [4] Gómez N, Gómez JM, Ortí A, et al. Transient hypothyroidism after iodine-131 therapy for Grave's disease[J]. J Nucl Med, 1995, 36(9): 1539-1542.
- [5] Aizawa Y, Yoshida K, Kaise N, et al. The development of transient hypothyroidism after iodine-131 treatment in hyperthyroid patients with Graves' disease: prevalence, mechanism and prognosis[J]. Clin Endocrinol(Oxf), 1997, 46(1): 1-5. DOI: 10.1046/j.1365-2265.1997.d01-1737.x.
- [6] Ashizawa K, Imaizumi M, Usa T, et al. Metabolic cardiovascular disease risk Factors and their clustering in subclinical hypothyroidism[J]. Clin Endocrinol(Oxf), 2010, 72(5): 689-695. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2009.03697.x.
- [7] Mc Quade C, Skugor M, Brennan DM, et al. Hypothyroidism and moderate subclinical hypothyroidism are associated with increased all-cause mortality independent of coronary heart disease risk factors: a PreCIS database study[J]. Thyroid, 2011, 21(8): 837-843. DOI: 10.1089/thy.2010.0298.
- [8] Dias RG, Negrão CE, Krieger MH. Nitric oxide and the cardiovascular system: cell activation, vascular reactivity and genetic variant[J]. Arq Bras Cardiol, 2011, 96(1): 68-75.
- [9] Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine[J]. Nature, 1980, 288(5789): 373-376. DOI: 10.1038/288373a0.
- [10] Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1987, 84(24): 9265-9269. DOI: 10.1073/pnas.84.24.9265.
- [11] Dias RG, Negrão CE, Krieger MH. Nitric oxide and the cardiovascular system: cell activation, vascular reactivity and genetic variant[J]. Arq Bras Cardiol, 2011, 96(1): 68-75.
- [12] 张陆燕. 促甲状腺激素 (TSH) 对血管内皮细胞影响的作用及机制的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- Zhang LY. Effect and mechanism of thyroid stimulating hormone (TSH) on vascular endothelial cells[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2013.
- [13] 陈刚, 廖志良, 刘笃秋, 等. 亚临床甲状腺功能减退症与冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关性[J]. 海南医学, 2017, 28(3): 372-373. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2017.03.009.
- Chen G, Liao ZL, Liu DQ, et al. Relationship between subclinical hypothyroidism and coronary atherosclerotic heart disease[J]. Hainan Med J, 2017, 28(3): 372-373. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2017.03.009.
- [14] Hosseini M, Dastghaib SS, Rafatpanah H, et al. Nitric oxide contributes to learning and memory deficits observed in hypothyroid rats during neonatal and juvenile growth[J]. Clinics (Sao Paulo), 2010, 65(11): 1175-1181. DOI: 10.1590/S1807-59322010001100021.
- [15] McAllister RM, Albarracin I, Price EM, et al. Thyroid status and nitric oxide in rat arterial vessels[J]. J Endocrinol, 2005, 185(1): 111-119. DOI: 10.1677/joe.1.06022.
- [16] Quesada A, Sainz J, Wangenstein R, et al. Nitric oxide synthase activity in hyperthyroid and hypothyroid rats[J]. Eur J Endocrinol, 2002, 147(1): 117-122. DOI: 10.1530/eje.0.1470117.
- [17] Engin AB, Sepici-Dincel A, Gonul II, et al. Oxidative stress-induced endothelial cell damage in thyroidectomized rat[J]. Exp Toxicol Pathol, 2012, 64(5): 481-485. DOI: 10.1016/j.etp.2010.11.002.
- [18] Torlak V, Zemunik T, Modun D, et al. ¹³¹I-induced changes in rat thyroid gland function[J]. Braz J Med Biol Res, 2007, 40(8): 1087-1094. DOI: 10.1590/S0100-879X2006005000127.
- [19] 韦凌云, 杨丕坚, 李舒敏, 等. 亚临床甲状腺功能减退症患者血管内皮功能与促甲状腺激素的相关性[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(2): 191-192. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2014.02.037.
- Wei LY, Yang PJ, Li SM, et al. Correlation between vascular endothelial function and thyroid stimulating hormone in patients with subclinical hypothyroidism[J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2014, 28(2): 191-192. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2014.02.037.
- [20] Gao C, Li T, Liu J, et al. Endothelial Functioning and Hemodynamic Parameters in Rats with Subclinical Hypothyroid and the Effects of Thyroxine Replacement[J/OL]. PLoS One, 2015, 10(7): e0131776[2018-07-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4497722>. DOI: 10.1371/journal.pone.0131776.
- [21] Sarati LI, Martinez CR, Artés N, et al. Hypothyroidism: age-

related influence on cardiovascular nitric oxide system in rats[J]. *Metabolism*, 2012, 61(9): 1301-1311. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.01.022.

[22] Fellet AL, Arza P, Arreche N, et al. Nitric oxide and thyroid gland: modulation of cardiovascular function in autonomic-blocked anaesthetized rats[J]. *Exp Physiol*, 2004, 89(3): 303-312. DOI: 10.1113/expphysiol.2004.027201.

[23] Lacoste-Collin L, Jozan S, Pereda V, et al. Influence of A Continuous Very Low Dose of Gamma-Rays on Cell Proliferation, Apoptosis and Oxidative Stress[J]. *Dose Response*, 2015, 13(1): 1-17. DOI: 10.2203/dose-response.14-010.Lacoste-Collin.

[24] Ibuki Y, Goto R. Ionizing radiation-induced macrophage activation: augmentation of nitric oxide production and its significance[J/OL]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2004: 617-626[2018-07-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=15579255>.

[25] Nowosielska EM, Wrembel-Wargocka J, Cheda A, et al. Enhanced cytotoxic activity of macrophages and suppressed tumor metastases in mice irradiated with low doses of X-rays[J]. *J Radiat Res*, 2006, 47(3/4): 229-236.

[26] Rodríguez-Gómez I, Moliz JN, Quesada A, et al. L-Arginine metabolism in cardiovascular and renal tissue from hyper-and hypothyroid rats[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2016, 241(5): 550-556. DOI: 10.1177/1535370215619042.

(收稿日期: 2018-07-27)

《国际放射医学核医学杂志》第六届编辑委员会成员名单

- 顾 问 柴之芳 程天民 樊飞跃 刘昌孝 潘自强 詹启敏 张永学
- 总 编 辑 樊赛军
- 副总编辑 黄 钢 李宝生 李 方 李思进 李亚明 刘 强 孙全富 谭 建 王军平 王 铁
赵 军
- 编辑委员 (含总编辑、副总编辑)
- 蔡 露(美国) 陈 明 陈文新 陈 跃 程 震 邓大平 董秀玥 樊赛军 樊 卫
方 伟 冯彦林 傅志超 高再荣 顾永清 官 键 韩星敏 何 玲 贺小红 胡步荣
黄 钢 贾 强 姜 炜 金顺子 鞠永健 兰晓莉 李宝生 李 彪 李 方 李剑明
李洁清 李 林 李林法 李思进 李险峰 李小东 李亚明 李幼忱 梁 琰 林岩松
刘鉴峰 刘建军 刘建香 刘 强 刘兴党 刘玉龙 龙鼎新 吕玉民 吕中伟 马云川
缪蔚冰 邵春林 沈 婕 沈 强(美国) 石 峰 石洪成 宋娜玲 宋少莉 孙全富
谭 建 唐亚梅 王 冰(日本) 王春祥 王 凡 王海潮(美国) 王 辉 王军平
王 平 王全师 王 铁 王雪梅 王跃涛 王云华 王振光 吴 华 吴李君 武志芳
肖国有 徐白莹 徐 浩 徐文贵 徐志勇 阎紫宸(中国台湾) 杨国仁 杨 辉
杨吉刚 杨卫东 杨 志 姚稚明 于丽娟 查金顺 章英剑 章 真 张 宏 张锦明
张舒羽 张遵城 赵长久 赵晋华 赵 军 赵路军 赵新明 郑飞波 周美娟 周平坤
周宗玖 朱朝晖 朱茂祥 朱小华 左长京 Hiroshi Toyama(日本)
Hongming Zhuang(美国) Li shuren(奥地利)
- 通讯编委 边艳珠 卜丽红 陈 薇 陈志军 程 兵 程祝忠 戴 东 邓智勇 董 华 董孟杰
段 东 冯学民 傅 鹏 付 鹏 管 樑 何玉林 何之彦 黄建敏 黄 琦 霍 力
金 刚 康 飞 李百龙 李贵平 李素平 李 昕 梁 婷 林端瑜 林志春 刘 斌
刘雪辉 龙再颖 卢 洁 陆克义 罗全勇 马 超 孟召伟 穆晓峰 农天雷 秦永德
史文杰 宋其韬 苏新辉 孙 凯 谭丽玲 王 攀 王任飞 王 伟 王雪鹃 王玉君
王治国 韦智晓 吴彩兰 吴 巍 夏 伟 徐 荣 徐文清 徐 颖 杨爱民 杨忠毅
姚树展 尹雅芙 于海鹏 余 飞 袁耿彪 袁建伟 岳殿超 章 斌 张春银 张金赫
张一帆 张照辉 赵 倩 郑红宾 朱高红 朱国英 朱玉春 周友俊 邹仲敏 左传涛

(以上按姓氏汉语拼音排序)