

# 线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂对冠心病大鼠心肌细胞影响及机制研究

谢玉霞 姜海兵 杨洁 张静 梁铖 刘文宁

**摘要** 目的 探讨线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂对冠心病大鼠心肌细胞影响及机制。方法 将 50 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、二氮嗪低、中、高剂量组,每组 10 只。除对照组外,其余各组大鼠以高脂饲料喂养 6 周后,均以 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的剂量腹腔注射垂体后叶素,每 24h 注射 1 次,共 3 次,构建冠心病大鼠模型,造模后检测血清中肿瘤坏死因子 -  $\alpha$  (tumor necrosis factor -  $\alpha$ , TNF -  $\alpha$ )、白细胞介素 - 1 $\beta$  (interleukin - 1 $\beta$ , IL - 1 $\beta$ )、白细胞介素 - 6 (interleukin - 6, IL - 6) 水平;苏木精 - 伊红 (hematoxylin - eosin, HE) 染色观察心肌组织结构变化;原位缺口末端转移酶标记法检测大鼠心肌细胞凋亡;Western blot 法检测心肌组织内向整流钾通道 6.2 亚基 (inwardly rectified potassium channel 6.2, Kir6.2) 和细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 1/2 的表达水平。**结果** 冠心病大鼠造模成功,与模型组比较,各给药组大鼠血清炎性细胞因子 TNF -  $\alpha$ 、IL - 1 $\beta$ 、IL - 6 显著下降 ( $P < 0.05$ );HE 染色结果表明,各给药组大鼠心肌组织结构损伤显著改善;且心肌细胞凋亡数目显著减少 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,各给药组 Kir6.2 表达量显著上升,且呈剂量依赖性,ERK1/2 表达量亦显著下降 ( $P < 0.05$ )。**结论** 线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂二氮嗪能够对冠心病大鼠起到治疗作用,其机制可能为降低炎症反应,以及通过抑制 ERK1/2 的表达来缓解心肌细胞凋亡。

**关键词** 冠心病 线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂 凋亡 机制

中图分类号 R541.4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.03.016

**Effect of Mitochondrial ATP - sensitive Potassium Channel Opener on Myocardial Cells in Rats with Coronary Heart Disease and Its Mechanism.** Xie Yuxia, Jiang Haibing, Yang Jie, et al. The Second Department of Cardiovascular Medicine, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine of Xinjiang Medical University, Xinjiang Medical University, Xinjiang 830000, China

**Abstract Objective** To investigate the effect and mechanism of mitochondrial ATP - sensitive potassium channel opener on myocardial cells in rats with coronary heart disease. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into control group, model group and diazoxide low, medium and high dose groups, with 10 rats in each group. Except the control group, the rats in the other groups were fed with high - fat diet for 6 weeks, and the pituitrin was injected intraperitoneally at a dose of 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and injected once every 24 hours for 3 times to construct a rat coronary heart disease model. The serum inflammatory factors TNF -  $\alpha$ , IL - 1 $\beta$ , IL - 6 were detected after the model. Myocardial tissue structure changes were observed by HE staining. Myocardial apoptosis was detected by in situ nick end transferase labeling. Expression levels of Kir6.2 and ERK 1/2 was detected by Western blot. **Results** The model of coronary heart disease was successful. Compared with the model group, serum inflammatory factors TNF -  $\alpha$ , IL - 1 $\beta$  and IL - 6 were significantly decreased in each group ( $P < 0.05$ ). HE staining showed that each gave the myocardial tissue damage of the rats in the drug group was improved to some extent, and the number of cardiomyocyte apoptosis was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the expression of Kir6.2 in each drug group was significantly increased in a dose - dependent manner. The expression of ERK1/2 was also significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The mitochondrial ATP - sensitive potassium channel opener diazoxide can treat coronary heart disease in rats, which may reduce inflammation and inhibit cardiomyocyte apoptosis by inhibiting the expression of ERK1/2.

**Key words** Coronary heart disease; Mitochondrial ATP - sensitive potassium channel opener; Apoptosis; Mechanism

冠心病作为严重危害人类健康的疾病之一,近年

来的发病逐渐趋于年轻化,且病死率一直居高不下<sup>[1,2]</sup>。冠心病的发病以动脉粥样硬化为基础,动脉粥样硬化引发心肌细胞的损伤,推进冠心病的病理进程,缓解心肌细胞的损伤亦是临床上控制冠心病的重要环节之一<sup>[3,4]</sup>。因此,发现更多能够有效控制心肌细胞损伤的药物至关重要。ATP 敏感性钾离子通道

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (2017D01C171)

作者单位:830000 乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区中医医院心血管二科(谢玉霞、杨洁、张静、梁铖、刘文宁),心血管四科(姜海兵)

通讯作者:姜海兵,电子邮箱:mgnice@163.com

是位于心脏和血管平滑肌上且能够被细胞内 ATP 和其他腺嘌呤核苷酸抑制的内向整流  $K^+$  通道,其中线粒体 ATP 敏感性钾离子通道 (mitochondrial ATP-sensitive potassium channels, mitoKATP) 广泛的存在于线粒体内膜上,当细胞内 ATP 消耗降低时,该通道开放,促进线粒体氧化磷酸化产生 ATP<sup>[5,6]</sup>。二氮嗪作为 mitoK-ATP 开放剂已经被证明具有对抗心肌损伤的作用,但其对心肌细胞的作用机制研究尚不完善。本研究旨在探讨二氮嗪对冠心病大鼠心肌细胞影响及机制,为临床研究提供帮助<sup>[7,8]</sup>。

### 材料与方 法

1. 材料:健康清洁级 SD 大鼠,50 只,体质量  $150 \pm 20\text{g}$  [新疆医科大学动物实验中心,实验动物许可证号:SCXK(新)2018-0011];高脂饲料(南京卡文斯生物技术有限公司);垂体后叶素(安徽宏业药业有限公司);苯妥英钠(南京谷歌生物技术有限公司);TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 检测试剂盒(福麦斯生物技术有限公司);原位缺口末端转移酶标记法(TdT-mediated dUTP nick-end labeling, TUNEL)凋亡检测试剂盒(北京素莱宝科技有限公司);Kir6.2、ERK1/2、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体,山羊抗鼠二抗(武汉三鹰生物技术有限公司);电泳仪(南京大学仪器厂);微型垂直电泳槽(上海天能科技有限公司);凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2. 冠心病大鼠造模:50 只大鼠随机分为 5 组,分别为对照组、模型组、二氮嗪低、中、高剂量组;除对照组外,其余各组大鼠高脂饮食 6 周后腹腔注射垂体后叶素( $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ),1 次/24h,共 3 次,构建冠心病大鼠模型;造模后给药治疗 14 天,二氮嗪低、中、高剂量组给药剂量分别为  $3\text{mg}/\text{kg}$ 、 $5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $7\text{mg}/\text{kg}$ ,每天灌胃给药 1 次,对照组和模型组给予等体积的 0.9% 氯化钠注射液。

3. Elisa 检测血清炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平:实验结束后,腹腔注射  $50\text{mg}/\text{kg}$  苯妥英钠麻醉大鼠,腹主动脉取 5ml 全血,室温静置 4h 后,  $3500\text{r}/\text{min}$ ,  $4^\circ\text{C}$  离心 15min,分离上层血清,按照 Elisa 试剂盒检测方法,主要步骤为铺好一抗的 96 孔板内加入  $40\mu\text{l}$  待测样品和  $10\mu\text{l}$  生物素标记抗体后,加入  $100\mu\text{l}$  辣根过氧化物酶标记抗体,  $37^\circ\text{C}$  孵育 75min,清洗 96 孔板后加入显色剂显色,终止后于酶标仪 450nm 处测吸光度,根据标准曲线计算血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 含量。

4. HE 染色检测心肌组织病理变化:给药结束后,腹腔注射  $50\text{mg}/\text{kg}$  苯妥英钠麻醉大鼠,摘除大鼠心脏并将其置于冰上,用医用纱布包裹轻轻按压排净心脏内血液,并在距心尖 2mm 处沿横向将其切开,取宽约 2mm 的心脏组织放于组织固定液中固定 72h,其余部分于  $-80^\circ\text{C}$  保存。固定后将组织用梯度乙醇脱水、透明、石蜡包埋后制成组织切片,然后将石蜡切片进行透明水化,HE 染色、封片后于显微镜下拍照,观察组织病理变化。

5. TUNEL 检测大鼠心肌细胞凋亡:将制备好的石蜡切片经常规二甲苯及各梯度乙醇脱蜡至水,蒸馏水水化 5min,用  $0.1\text{mol}/\text{L}$  枸橼酸缓冲液( $\text{pH} = 6.0$ )中进行热修复,分别经过 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  甲醇液、0.1% TritonX-100、20% 牛血清、TUNEL 反应混合液、过氧化物酶( peroxidase, POD) 转化剂孵育及磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)冲洗后,二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)溶液显色,并在显微镜下观察,终止后用迈耶苏木精染核,PBS 冲洗后,甘油封片剂封片,显微镜下观察并采集图像。

6. Western blot 法检测心肌组织 Kir6.2 和 caspase-3 的表达水平:取各组大鼠心脏组织约 60mg 于 10ml EP 管中,加入  $500\mu\text{l}$  RIPA 蛋白裂解液及  $5\mu\text{l}$  的蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF),于组织匀浆机中匀浆均匀,然后将各组样品  $4^\circ\text{C}$  低温下裂解 30min 后置于  $4^\circ\text{C}$  离心机中  $12000\text{r}/\text{min}$  离心 10min 并取上清液,采用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)定量法检测总蛋白的含量。进行十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulphate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,用 5% 的牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)对 PVDF 膜封闭 2h,然后以稀释后的 GAPDH、Kir6.2 和 ERK1/2 一抗  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜,洗膜后室温孵育二抗 1.5h,洗膜后将聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜浸入发光液,曝光并拍照,用 Image J 软件曝光结果进行定量分析。

7. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件对各组数据进行统计分析,数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间差异使用方差分析(One-way ANOVA),两组间比较采用 LSD 法,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 血清炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 检测结果:与对照组比较,模型组大鼠血清炎性因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平显著升高( $P < 0.05$ );与

模型组比较,二氮嗪低、中、高给药组其血清炎性因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 显著降低 ( $P < 0.05$ ),呈剂量依赖性(表 1)。

2. HE 染色结果: 对照组大鼠心肌组织结构完整,心肌细胞排列整齐,细胞形态正常,未表现出明显的病理损伤;模型组大鼠心肌结构损伤严重,心肌细胞大面积坏死,心肌细胞水肿严重,有大量炎性细胞浸润,表明造模成功;二氮嗪低剂量组,心肌细胞损伤较模型组有所缓解,炎性细胞浸润有所减少,但仍存在显著的病理损伤;二氮嗪中、高剂量组心肌组织损

伤显著缓解,病变部位局限,心肌细胞排列整齐,心肌水肿减弱,且呈剂量依赖性(图 1)。

表 1 各组大鼠血清炎性因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 检测结果比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10, \text{ng/L}$ )

组别	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6
对照组	7.02 $\pm$ 0.21	3.35 $\pm$ 1.08	2.04 $\pm$ 1.22
模型组	23.33 $\pm$ 1.20*	15.23 $\pm$ 0.05*	7.32 $\pm$ 0.17*
二氮嗪低剂量组	19.04 $\pm$ 0.11*#	13.04 $\pm$ 0.13*#	6.54 $\pm$ 0.12*#
二氮嗪中剂量组	12.20 $\pm$ 2.03*#	9.95 $\pm$ 1.14*#	5.02 $\pm$ 0.47*#
二氮嗪高剂量组	9.00 $\pm$ 0.23*#	5.50 $\pm$ 0.38*#	4.41 $\pm$ 1.38*#

与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.05$

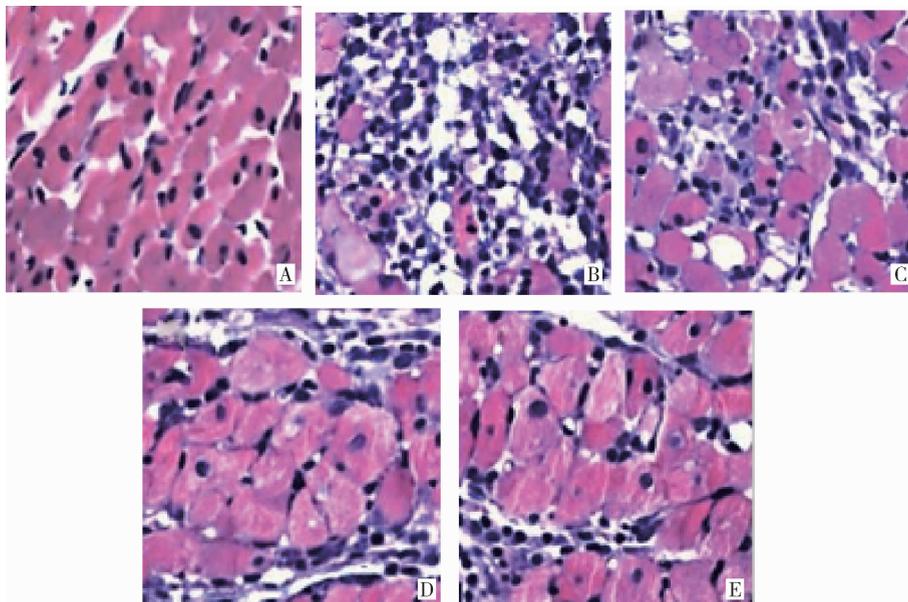


图 1 各组大鼠心肌组织 HE 染色结果 ( $\times 20$ )

A. 对照组; B. 模型组; C. 二氮嗪低剂量组; D. 二氮嗪中剂量组; E. 二氮嗪高剂量组

3. 原位缺口末端转移酶标记法 (TUNEL) 检测大鼠心肌细胞凋亡结果: 与对照组比较,模型组大鼠心肌细胞凋亡数目显著增多 ( $P < 0.05$ ),提示冠心病大鼠心肌细胞凋亡严重,从而造成心肌组织损伤;与模型组比较,二氮嗪低、中、高剂量组大鼠心肌细胞凋亡数目显著减少 ( $P < 0.05$ ),且呈现剂量依赖性(图 2)。

4. Western blot 法检测 Kir6.2 和 ERK1/2 的表达: 与对照组比较,模型组大鼠心肌组织 Kir6.2 表达量增加 ( $P < 0.05$ ),提示可能是由于冠心病心肌细胞损伤引起 Kir6.2 表达代偿性增高,其余各组 Kir6.2 表达量均显著升高 ( $P < 0.05$ ),提示线粒体 ATP 敏感性钾离子通道处于大量开放状态;与模型组比较,二氮嗪低、中、高剂量组大鼠心肌组织 Kir6.2 表达量均显著提高 ( $P < 0.05$ ),且呈剂量依赖性。与对照组比较,模型组大鼠心肌组织 ERK1/2 表达量显著增高

( $P < 0.05$ ),与模型组比较,二氮嗪低、中、高剂量组 ERK1/2 表达量显著减少 ( $P < 0.05$ ),且呈剂量依赖性(图 3)。

### 讨 论

冠心病作为心血管疾病之一,一直是国内外心血管方向研究的重点,心血管疾病大多发病机制复杂,治疗困难,且患者预后较差。目前临床治疗冠心病的主要是通过手术和药物治疗,在药物治疗中,保护心肌细胞,阻止其进一步损伤是重要的环节<sup>[9]</sup>。有研究表明,心肌细胞特有的 ATP 敏感性钾离子通道的开放对心肌细胞有显著的保护作用,主要表现在线粒体内膜上的 ATP 敏感性钾离子通道开放可以促进线粒体氧化磷酸化产能,二氮嗪作为高选择性线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂,低剂量即可有效诱导其开放<sup>[10-12]</sup>。本研究通过构建冠心病大鼠模型,探究

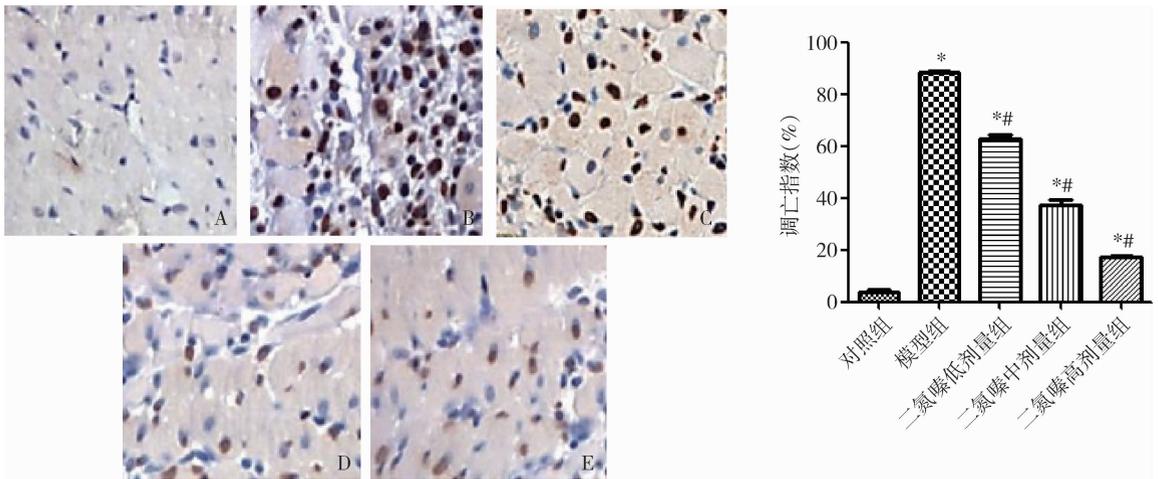


图2 TUNEL法检测各组大鼠心肌细胞凋亡结果(×20)

A. 对照组; B. 模型组; C. 二氮嗪低剂量组; D. 二氮嗪中剂量组; E. 二氮嗪高剂量组;

F. 各组大鼠心肌细胞凋亡指数统计结果; 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.05$

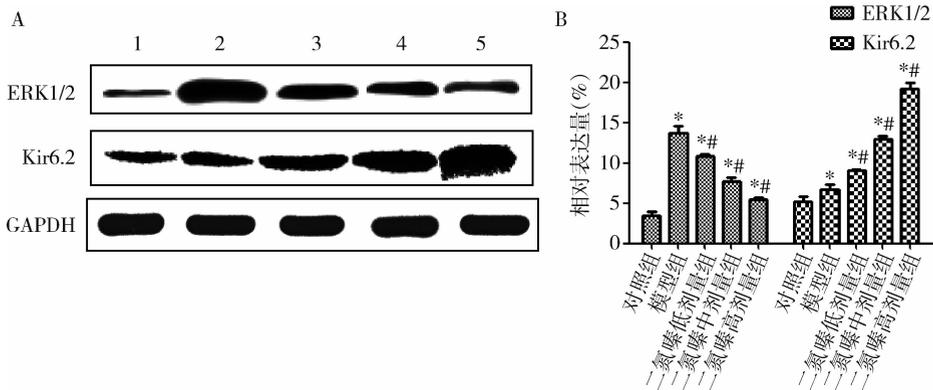


图3 各组大鼠心肌组织 Kir6.2 和 ERK1/2 表达水平

A. Western blot 法检测结果; 1. 对照组; 2. 模型组; 3. 二氮嗪低剂量组; 4. 二氮嗪中剂量组; 5. 二氮嗪高剂量组;

B. 各组大鼠心肌组织蛋白相对表达量; 与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.05$

了二氮嗪对冠心病大鼠心肌组织细胞的影响及机制。

炎症反应贯穿冠心病发生发展的全过程, 已有研究表明, 冠心病患者血清炎症细胞因子  $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$  的升高导致动脉粥样硬化加速、血栓形成加速、血管通透性增加等病理现象, 而  $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$  等炎症细胞因子亦可作为动脉粥样硬化的治疗靶点<sup>[13]</sup>。本研究结果显示, 二氮嗪能够显著降低冠心病大鼠血清炎症细胞因子  $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$  的水平, 提示二氮嗪具有能够显著抑制炎症反应的作用。

细胞凋亡是指细胞内部一系列基因调控的改变而引起的细胞程序性死亡, 已有研究表明, 动脉粥样硬化、冠心病、心律失常等心血管疾病均与心肌细胞的凋亡有关<sup>[14-16]</sup>; 在细胞早期凋亡的过程中会消耗

大量的 ATP, 引起细胞能量代谢不足而大面积凋亡, 二氮嗪作为线粒体 ATP 依赖性钾离子通道开放剂能够增加线粒体产能为细胞提供能量, 缓解细胞的凋亡<sup>[17]</sup>。本研究结果显示, 二氮嗪能够显著抑制冠心病大鼠心肌细胞的凋亡, 且呈剂量依赖性, 提示二氮嗪或可通过抑制细胞凋亡而缓解冠心病的进程。

Kir6.2 是线粒体 ATP 敏感性钾离子通道之一, 本研究发现, 二氮嗪能够显著促进 Kir6.2 的表达, 且呈剂量依赖性, 说明二氮嗪在体内有效促进线粒体 ATP 敏感性钾离子通道的开放。在炎症反应中, ERK1/2 信号通路的激活始于转运和活化 Raft, 后者磷酸化激活 ERK1/2<sup>[18]</sup>。ERK 是一种丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK), 可将细胞外刺激信号转导至细胞及其核内, 介导细胞生物化学反应,

如凋亡、增殖、转化等<sup>[19,20]</sup>。本研究发现,二氮嗪能够显著抑制冠心病大鼠心肌细胞 ERK1/2 的表达。

综上所述,线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂二氮嗪能够对心肌组织结构有显著的保护作用,并且能够缓解冠心病大鼠心肌细胞的凋亡,其作用机制可能为抑制体内炎症反应,以及降低冠心病大鼠心肌组织中 ERK1/2 的表达,从而抑制心肌细胞的凋亡,但具体的治疗机制还需要进一步探讨。

参考文献

- 1 王阶,李军,毛静远,等. 冠心病心绞痛主要证型的辨证诊断标准[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(2):154 - 155
- 2 钱鲁,殷日鹏. MIF 基因启动子区 - 173 多态性与冠心病相关性研究[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(4):32 - 35
- 3 王维铁,张旭,许日昊,等. 冠心病患者冠状动脉病变程度与颈动脉粥样硬化及脑梗死的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(2):171 - 174
- 4 高爽,王臻楠,顾耘. 血管内皮细胞功能障碍与动脉粥样硬化关系的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(20):2966 - 2970
- 5 成红,李超,贾慧群. 心肌缺血预处理与胞膜 ATP 敏感性钾通道[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2018, 39(5):517 - 521
- 6 孙朝阳,周坤,马翔. 线粒体 ATP 敏感性钾离子通道开放剂改善冠心病大鼠模型心肌氧化应激损伤的分子机制[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2019, 18(2):136 - 140
- 7 苏浩,杨莹莹,谭文,等. 二氮嗪再灌注处理通过抑制细胞内 ROS 信号保护心肌细胞[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(6):2702 - 2707
- 8 李清,崔薇,刘刚,等. ERK1/2 信号通路和 STAT3 信号通路在大鼠二氮嗪后处理心肌保护作用中的关系[J]. 中华麻醉学杂志, 2015, 5:628 - 631
- 9 钟巧青,朱凌燕,张国刚. 动脉粥样硬化性心血管疾病合并糖尿病患者发病机制与临床特点及治疗对策[J]. 中国心血管病研究, 2018, 16(12):1069 - 1072

- 10 梅红芳,蔡晓. ATP 敏感性钾离子通道在脑缺血缺氧中的双重作用[J]. 医学综述, 2016, 22(6):1088 - 1091
- 11 Yuanyuan L, Xiumei G, Min C, et al. Role of adenosine triphosphate - sensitive potassium channel in hydrogen sulfide - induced inhibition of high glucose induced osteoblast damage [J]. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi, 2017, 35(5):473 - 478
- 12 张琳,喻田,任思宏,等. 二氮嗪后处理对大鼠缺血再灌注损伤心肌线粒体蛋白质表达的影响[J]. 山东医药, 2016, 56(38):32 - 34
- 13 赵剑,夏大胜,李彬,等. 冠心病患者血清内脂素水平与炎症标志物及组织因子的关系[J]. 新医学, 2014, 45(10):652 - 655
- 14 魏景迅,徐会圃,程艳丽,等. 凋亡和自噬在氧化应激所致心肌细胞损伤中的作用[J]. 临床心血管病杂志, 2016, 32(3):308 - 313
- 15 Dong Y, Liu C, Zhao Y, et al. Role of noncoding RNAs in regulation of cardiac cell death and cardiovascular diseases [J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75(2):291 - 300
- 16 Meng X, Ji Y, Wan Z, et al. Inhibition of miR - 363 protects cardiomyocytes against hypoxia - induced apoptosis through regulation of Notch signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 90:509 - 516
- 17 Zhang Y, Li X, Huang Z, et al. Enhancement of cell permeabilization apoptosis - inducing activity of selenium nanoparticles by ATP surface decoration. [J]. Nanomedicine, 2013, 9(1):74 - 84
- 18 Li X, Feng K, Li J, et al. Curcumin Inhibits apoptosis of chondrocytes through activation ERK1/2 signaling pathways induced autophagy [J]. Nutrients, 2017, 9(4):414 - 429
- 19 Chen G, Liu J, Jiang L, et al. Peiminine protects dopaminergic neurons from inflammation - induced cell death by inhibiting the ERK1/2 and NF -  $\kappa$ B signalling pathways [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(3):821 - 831
- 20 Satoh R, Hagihara K, Matsuura K, et al. Identification of ACA - 28, a 1' - acetoxychavicol acetate analogue compound, as a novel modulator of ERK MAPK signaling, which preferentially kills human melanoma cells [J]. Genes Cells, 2017, 22(7):608 - 618

(收稿日期:2019 - 07 - 01)  
(修回日期:2019 - 09 - 18)

(上接第 64 页)

- 4 Ho HP, Olsson M, Pharm M, et al. The serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces sex steroid - related aggression in female rats: an animal model of premenstrual irritability [J]. Neuropsychopharmacology, 2001, 24(5):502 - 510
- 5 Rygula R, Abumaria N, Gabriele F, et al. Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress [J]. Behav Brain Res, 2005, 162(1):130 - 134
- 6 Jaramillo C, Lorenza M, Balcazar IB, et al. Using vaginal wall impedance to determine estrous cycle phase in Lewis rats [J]. Lab Animal, 2012, 41(5):122 - 128
- 7 Marques DA, Débora de C, Silva GSFD, et al. Ventilatory, metabolic and thermal responses to hypercapnia in female rats: effects of estrous

cycle, ovariectomy and hormonal replacement [J]. J Appl Physiol, 2015, 119(1):61 - 68

- 8 Iwasaki S, Inoue K. Maternal - infant separation impedes changes in feeding behavior during estrous cycle of rats [J]. Exp Animals, 2015, 64(4):383 - 390
- 9 郭浩,王林,陈新,等. 警母犬阴道黏液电阻值测定检测排卵试验 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2017, 2:36 - 37
- 10 Bäckström T, Bixo M, Johansson M, et al. Allopregnanolone and mood disorders [J]. Prog Neurobiol, 2014, 113:88 - 94
- 11 Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations [J]. Brazil J Biol, 2002, 62(4a):609 - 614

(收稿日期:2019 - 02 - 20)  
(修回日期:2019 - 03 - 08)