

网络出版时间: 2021-05-14 15:11 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210513.1449.011.html>

微透析法研究 NG2 细胞功能变化 对大鼠中缝核兴奋性和抑制性递质含量的影响

杨欣, 全睿, 王慧, 郭海波, 滕柳

摘要 目的 采用中缝核内微量注射 NG2 抗体(NG2-Ab), 研究中缝核 NG2 细胞功能变化对 γ -氨基丁酸(GABA)和谷氨酸(Glu)递质含量的影响, 探讨中缝核中 5-羟色胺(5-HT)与 NG2 细胞的相互作用对 GABA 和 Glu 递质含量变化的影响。方法 70 只大鼠随机分为正常组、对照组、NG2-Ab 组、对氯基丙氨酸(PCPA)组、5-HT 组、PCPA + NG2-Ab 组和 5-HT + NG2-Ab 组。正常组不做任何处理, 其他各组在中缝核内分别微量注射 0.9% 氯化钠溶液、NG2-Ab、PCPA、5-HT、PCPA + NG2-Ab 及 5-HT + NG2-Ab, 采用微透析法收集注射完毕后 20、40、60、80、100、120 min 时间段内中缝核细胞外液, 采用高效液相色谱法(HPLC)分析微透析液中 GABA、Glu 在相应时间内的含量及其变化。结果 与对照组相比: NG2-Ab 组 GABA 和 Glu 含量下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$); PCPA 组 GABA 含量下降, Glu 含量升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 5-HT 组 GABA 含量升高($P < 0.05$), Glu 含量下降($P < 0.01$), 差异有统计学意义。与 PCPA 组相比, PCPA + NG2-Ab 组 GABA 在各时间段含量变化无统计学差异, Glu 含量降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 5-HT 组相比, 5-HT + NG2-Ab 组 GABA 含量变化无统计学差异, Glu 含量降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 NG2 细胞的兴奋性受到抑制后影响大鼠中缝核内 GABA 和 Glu 含量的变化, Glu 含量的变化与 5-HT 的合成有关, 但 GABA 含量的变化与 5-HT 合成无直接关系。

关键词 NG2 细胞; γ -氨基丁酸; 谷氨酸; 5-羟色胺

中图分类号 R 338.63; R 322.81

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)06-0894-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.06.011

在发育和成熟的中枢神经系统中, 存在大量表达硫酸软骨素蛋白多糖的一类细胞, 称为 NG2 细胞, 其抗原属性、形态及功能等有别于其他的胶质细胞, 被认为是第四类神经胶质细胞^[1]。研究^[2]表明 NG2 细胞在体内能够产生少突胶质细胞, 还能产生原浆性星形胶质细胞; 在发育和成熟的中枢神经系

统的多个区域, NG2 细胞和神经元之间存在独特的突触联系, 可能与神经元形成一个独特的神经胶质网络。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是调节睡眠和觉醒的神经递质, 主要来源于中脑中缝核, 中缝核内富含 5-HT 神经元, 同时中缝核内也存在着神经胶质细胞群^[3]。课题组前期研究显示脑内的 5-HT 下降可激活中缝核星形胶质细胞, 但 NG2 细胞功能变化对大鼠中缝核兴奋性和抑制性递质含量的影响尚不明确。因此, 该研究采用微透析的方法, 探讨中缝核中 5-HT 与 NG2 细胞的相互作用对 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)和谷氨酸(glutamic acid, Glu)递质含量变化的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康 SD(Sprague-Dawley)大鼠 70 只, 雄性, 体质量 220 ~ 250 g, 由长沙市天勤生物技术有限公司提供, 许可证号: SCXK(湘)20180010。实验动物饲养在避光、通风、电磁屏蔽状态环境中, 实验温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 45% ~ 50%, 饲料由长沙市天勤生物技术有限公司提供。

1.1.2 实验试剂 甲醇、乙腈(色谱纯)购自德国默克公司; 无水乙酸钠、冰醋酸、四氢呋喃及其余试剂为国产分析纯; Glu 标准品(100 mg, 纯度 $\geq 99\%$)、GABA 标准品(100 mg, 纯度 $\geq 98\%$)购自上海索莱宝生物科技有限公司。

1.1.3 实验仪器 液相色谱仪(型号: 安捷伦 1260)为安捷伦科技(杭州)有限公司产品; 低温高速离心机(型号: Eppendorf 5810R)为美国 Thermo 公司产品; 电子天平(型号: Sartorius BSA124S)为赛多利斯科学仪器(北京)有限公司产品; 超声波清洗器(型号: KQ5200E)为昆山市超声仪器(昆山)有限公司产品; OLABO 数显三用恒温水箱(型号: HH-W420)为鑫贝西生物技术(济南)有限公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及给药 健康雄性 SD 大鼠 70 只, 随机分为正常组、对照组、NG2 抗体(NG2-Ab)

2021-03-02 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81760816)

作者单位: 贵州中医药大学基础医学院, 贵阳 550025

作者简介: 杨欣, 女, 副教授, 博士;

王慧, 女, 教授, 博士, 责任作者, wanghsy@126.com

组、对氨基丙氨酸(p-chlorophenylalanine,PCPA)组、5-羟色胺(5-HT)组、PCPA+NG2-Ab组和5-HT+NG2-Ab组。正常组不做任何处理;对照组中缝核微量注射2 μ l 0.9%氯化钠溶液;NG2-Ab组中缝核微量注射NG2-Ab(2 μ g/ μ l)2 μ l;PCPA组中缝核微量注射PCPA(5 μ g/ μ l)2 μ l;5-HT组中缝核微量注射5-HT(1.25 μ g/ μ l)2 μ l;PCPA+NG2-Ab组中缝核微量注射PCPA(10 μ g/ μ l)1 μ l+NG2-Ab(2 μ g/ μ l)1 μ l。5-HT+NG2-Ab组中缝核微量注射5-HT(2.5 μ g/ μ l)1 μ l+NG2-Ab(2 μ g/ μ l)1 μ l。

1.2.2 标准品及缓冲液配制 GABA、Glu标准储备液的配制:准确称取GABA、Glu标准对照品10.00 mg,配成100 mg/ml标准液,置于40 $^{\circ}$ C冰箱保存。邻苯二甲醛(O-Phthalaldehyde,OPA)柱前衍生:称取0.2 g OPA,溶解于10 ml甲醇(4 $^{\circ}$ C保存);配置衍生剂溶液[0.5 ml OPA+2 ml 0.2 mol/L四硼酸钠缓冲液(PH=9.4)+30 μ l β -巯基乙醇],此衍生剂溶液可保持2 d。取样品或标准品10 μ l,加入上述溶液100 μ l,混匀,反应1 min后通过0.22 μ m滤膜过滤进样。

1.2.3 色谱分析条件 色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C18 (250 mm $\times$ 4.6 mm,填料颗粒直径5 μ m),流动相A为氢味喃-甲醇-0.05 mol/L醋酸钠(PH=6.2,5:75:420 V/V),流动相B为甲醇,检测波长254 nm,柱温25 $^{\circ}$ C,流速1.0 ml/min,进样量10 μ l^[4-5]。梯度洗脱程序:0~6 min,流动相B的体积分数为20%;6~20 min,流动相B的体积分数从20%升至50%;20~30 min,流动相B的体积分数从50%升至100%;30~40 min,流动相B的体积分数从100%降至20%。

1.2.4 微透析实验

1.2.4.1 微透析管的埋置 动物用25%氨基甲酸乙酯(3 ml/kg)腹腔注射麻醉后,俯卧位固定于立体定位仪上。按照Paxinos和Watson大鼠脑立体定位图谱确定中缝核位置(前囟后7.4 mm,旁开0 mm,深度6.4 mm),用颅骨钻钻开一直径为2 mm的颅窗,挑破硬脑膜,在立体定位仪引导下将微透析套管插入中缝核,牙科水泥固定,术后将实验动物置于特定的环境中,单笼饲养,连续3 d腹腔注射4万U青霉素,动物恢复5 d后用于实验^[6]。实验结束后微透析插管部位注入台盼蓝染色,切片,镜下检查插管位置,检查结果表明插管位置均位于中缝核。

1.2.4.2 微透析液的收集 实验动物每日9 a.m.进行微透析液收集。将微透析探针插入预先埋置于中缝核的套管中,微透析管膜长1 mm,外径为0.5 mm。用Ringer氏液以2 μ l/min的速度灌流,每20 min收集1管透析液(40 μ l)。微透析管置入60 min后正式收集微透析液,以取得稳定的基础值。实验给药前分别收集20、40 min微透析液作为实验对照,然后收集给药后第20、40、60、80、100、120 min各时相点的微透析液,用于测定Glu、GABA的含量^[7-9]。样本收集器的温度设定为4 $^{\circ}$ C。收集后的微透析液样品置于-80 $^{\circ}$ C冰箱保存。

1.3 统计学处理 以色谱峰面积(A)为纵坐标,样品浓度(μ g/ml)为横坐标作标准曲线,将实验数据输入Excel表中,根据数据的不同函数关系插入相应的散点图,同时选择显示趋势线和公式及相关系数 R^2 。采用SPSS 17.0统计软件进行统计分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Glu和GABA标准工作曲线 分别吸取Glu和GABA浓度为0、0.625、1.25、2.5、5、10 μ g/ml,加入衍生剂溶液100 μ l。以峰面积为纵坐标,以相应的浓度为横坐标得到回归方程和相关系数。Glu: $Y = 2\,086.6X + 741.35$, $r = 0.990\,7$; GABA: $Y = 3\,040X - 962.05$, $r = 0.990\,1$ 。

2.2 GABA、Glu定性结果 将GABA、Glu标准液在色谱仪上以10 μ l进样作色谱分析。在标准液的定性分析中,根据保留时间以及紫外谱图判定该物质。定性结果见图1A、B。Glu、GABA标准品的保留时间分别为2.186、3.437 min。

2.3 中缝核注射NG2抗体对GABA和Glu含量变化的影响 与对照组相比,NG2-Ab组GABA含量在注射后第80 min和第100 min时间段降低,Glu含量在注射后40 min降低,差异有统计学意义($P < 0.05$) (表1、2)。结果表明中缝核NG2-Ab能影响GABA和Glu含量。

2.4 中缝核注射PCPA对GABA和Glu含量变化的影响 与对照组相比,PCPA组第80 min、第100 min和第120 min GABA含量降低,Glu含量在注射后100 min和120 min升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1、2。

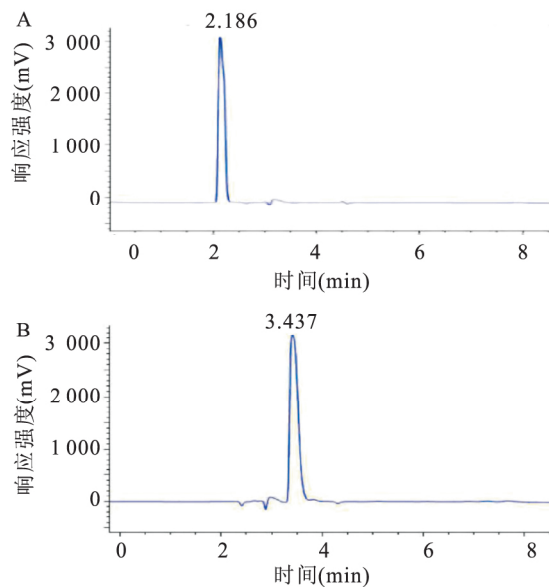


图1 标准品色谱图

A: Glu 标准品色谱图; B: GABA 标准品色谱图

2.5 中缝核注射 5-HT 对 GABA 和 Glu 含量变化的影响 与对照组相比: 5-HT 组 GABA 含量在注射后第 40 min、第 100 min 和第 120 min 升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Glu 含量在第 20 min、第 40 min 降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1、2。

3 讨论

NG2 细胞广泛分布于成熟的中枢神经系统的

灰质及白质中, NG2 细胞不能被其它类型的胶质细胞特异标志物所标记, 如星形胶质细胞、成熟少突胶质细胞、小胶质细胞的特异性标记, 也不被神经元的标志物 MAP2 所标记。因此, NG2 细胞被认为是一种新的胶质细胞类型^[1]。NG2 细胞具有高度分化潜能, 主要分化成参与髓鞘形成的少突胶质细胞。NG2 细胞能表达离子型 Glu 受体和 GABA 受体, 还能与神经元形成兴奋性和抑制性突触联系, 在中枢神经系统信息传递中起到重要作用^[1]。

5-HT 能神经元胞体主要集中在中缝核, 发出上行纤维投射到大脑皮质、纹状体、间脑、边缘系统和小脑等脑区。中缝核群的 5-HT 能神经元投射到间脑和大脑皮质, 主要形成慢波睡眠 (SWS), 中缝核尾部的神经元则与脑桥背内侧被盖相联系, 负责触发快波睡眠 (FWS)^[2]。中缝核内的神经元包括 5-HT 能神经元和非 5-HT 能神经元, 除神经元外, 中缝核内还含有大量神经胶质细胞, 它们能被外界刺激因素影响从而改变其组织形态, 改变与神经元的信息交流和相互作用^[3]。

PCPA 是色氨酸羟化酶不可逆抑制剂, 可以有效阻止 5-HT 的合成, 显著降低脑内的 5-HT 浓度。为了进一步了解中缝核 NG2 细胞与 5-HT 的功能关系, 本研究向中缝核内微量注射 PCPA 及 5-HT, 分别造成 5-HT 含量下降和 5-HT 含量升高, 观察 GABA 和 Glu 含量变化情况; 同时注射 NG2 细胞抗体, 观察 NG2 细胞兴奋性下降后 5-HT 含量下降或上升

表1 各组大鼠给药前后中缝核 GABA 含量的变化 (μg , $\bar{x} \pm s$)

组别	前 20 min	前 40 min	后 20 min	后 40 min	后 60 min	后 80 min	后 100 min	后 120 min
正常	1.93 ± 0.42	1.62 ± 0.31	1.56 ± 0.35	1.53 ± 0.25	1.53 ± 0.22	1.96 ± 0.32	2.13 ± 0.20	1.85 ± 0.21
对照	2.14 ± 0.31	2.13 ± 0.43	1.92 ± 0.31	1.94 ± 0.22	2.05 ± 0.42	2.41 ± 0.51	2.05 ± 0.51	1.97 ± 0.50
PCPA	1.91 ± 0.45	1.85 ± 0.52	2.01 ± 0.35	2.13 ± 0.34	1.94 ± 0.40	1.53 ± 0.20*	1.36 ± 0.30**	1.51 ± 0.40*
NG2-Ab	1.64 ± 0.44	1.97 ± 0.31	1.53 ± 0.21	1.64 ± 0.23	1.73 ± 0.34	1.83 ± 0.22*	1.47 ± 0.42**	1.84 ± 0.32
5-HT	1.92 ± 0.22	1.97 ± 0.35	1.62 ± 0.23	2.63 ± 0.20**	1.89 ± 0.32	1.94 ± 0.33	2.51 ± 0.23**	2.34 ± 0.22*
PCPA + NG2-Ab	1.98 ± 0.43	2.13 ± 0.23	1.86 ± 0.24	1.93 ± 0.31	2.01 ± 0.44	1.61 ± 0.41	1.52 ± 0.50	1.46 ± 0.41
5-HT + NG2-Ab	1.83 ± 0.26	1.72 ± 0.34	1.81 ± 0.18	1.97 ± 0.42	2.08 ± 0.40	1.83 ± 0.32	1.97 ± 0.43	2.26 ± 0.32

与给药前比较: * $P < 0.05$; 与对照组比较: * $P < 0.05$

表2 各组大鼠给药前后中缝核 Glu 含量的变化 (μg , $\bar{x} \pm s$)

组别	前 20 min	前 40 min	后 20 min	后 40 min	后 60 min	后 80 min	后 100 min	后 120 min
正常	0.61 ± 0.21	0.59 ± 0.23	0.68 ± 0.13	0.60 ± 0.23	0.61 ± 0.12	0.69 ± 0.23	0.60 ± 0.14	0.66 ± 0.20
对照	0.60 ± 0.23	0.63 ± 0.21	0.67 ± 0.12	0.70 ± 0.21	0.59 ± 0.21	0.60 ± 0.15	0.58 ± 0.32	0.59 ± 0.31
PCPA	0.61 ± 0.22	0.63 ± 0.20	0.65 ± 0.14	0.67 ± 0.15	0.66 ± 0.15	0.61 ± 0.13	0.70 ± 0.33*	0.74 ± 0.26**
NG2-Ab	0.60 ± 0.15	0.59 ± 0.24	0.56 ± 0.10	0.58 ± 0.10*	0.60 ± 0.22	0.52 ± 0.20	0.61 ± 0.31	0.53 ± 0.23
5-HT	0.58 ± 0.12	0.60 ± 0.26	0.45 ± 0.20*	0.33 ± 0.24***	0.51 ± 0.20	0.57 ± 0.21	0.57 ± 0.16	0.55 ± 0.22
PCPA + NG2-Ab	0.57 ± 0.20	0.63 ± 0.22	0.54 ± 0.15	0.38 ± 0.11	0.36 ± 0.11	0.48 ± 0.13	0.40 ± 0.24	0.48 ± 0.14
5-HT + NG2-Ab	0.59 ± 0.14	0.66 ± 0.21	0.54 ± 0.14	0.49 ± 0.13	0.44 ± 0.13	0.49 ± 0.12	0.35 ± 0.13	0.48 ± 0.06

与给药前比较: * $P < 0.05$; 与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

导致的 GABA 和 Glu 含量变化情况。研究显示单独给予 PCPA 造成 5-HT 含量下降后,能引起中缝核 GABA 含量下降、Glu 含量上升;而同时给予 PCPA 和 NG2 细胞的抗体,中缝核 GABA 含量无明显变化,而 Glu 含量则下降,表明 NG2 细胞兴奋性被抑制后 PCPA 引起的 GABA 含量和 Glu 含量变化发生了改变,提示 NG2 细胞参与了 5-HT 含量下降导致的 GABA 和 Glu 含量的变化过程。中缝核单独微量注射 5-HT 导致 5-HT 含量上升后,GABA 含量上升,Glu 含量下降;同时给予 5-HT 和 NG2-Ab 后,中缝核 GABA 含量无明显变化,Glu 含量下降;提示 NG2 细胞参与了 5-HT 上升引起的 GABA 含量变化。

研究^[4]显示 NG2 细胞与缺血、低氧、外伤、炎症及毒性物质作用等诸多神经系统疾病有关,NG2 细胞是对中枢神经系统有害刺激迅速作出反应的细胞类型之一,其反应往往比神经元发生早,甚至早于其它神经胶质细胞,这些研究说明 NG2 细胞在神经病理学中发挥积极作用;NG2 细胞可能与神经元构成一个独特的神经元—胶质联系网络,参与中枢神经系统多种生理和病理过程,极有可能成为中枢神经系统某些疾病治疗的靶点^[5]。本研究表明 NG2 细胞可以调节中缝核 GABA 和 Glu 含量,同时参与 5-HT 含量变化引起的 GABA 和 Glu 含量变化的调控。GABA 和 Glu 是脑内重要的抑制性递质和兴奋性递质,在皮质兴奋和抑制调节机制中起着重要作用,但 NG2 通过何种途径调控 GABA 和 Glu 的含量,还需进一步研究。正常的睡眠觉醒功能依赖于皮层兴奋和抑制的动态平衡,中枢 5-HT 可能通过改变 Glu 能和 GABA 能神经元的兴奋性,调节神经递质释放量,调控大脑皮质兴奋和抑制过程,NG2 细胞在其中发挥了重要的作用。该研究为睡眠调节药物的研发提供了实验依据。

参考文献

- [1] 刘远,叶云,李明超,等. NG2 胶质细胞在中枢神经系统病变中作用的研究进展 [J]. 神经解剖学杂志,2019,35(2): 225-8.

- [2] Valny M, Honsa P, Kriska J, et al. Multipotency and therapeutic potential of NG2 cells [J]. Biochem Pharmacol, 2017, 141: 42-55.
- [3] 梁薇. 针刺对 PCPA 失眠模型大鼠行为学及下丘脑 5-HT、Glu、GABA 递质含量影响研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2019.
- [4] 张岩. 基于微透析取样技术的氧化苦参碱大鼠体内药代动力学研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2015.
- [5] Pinto M C, de Paiva M J, Oliveira-Lima O C, et al. Neurochemical study of amino acids in rodent brain structures using an improved gas chromatography-mass spectrometry method [J]. J Chem Neuroanat, 2014, 55: 24-37.
- [6] 唐映红, 王一奇, 周惠芬, 等. 微透析法研究麻黄汤对大鼠脑海马区氨基酸类神经递质释放的影响 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(3): 426-32.
- [7] 李豪, 何林, 高原雪, 等. 微透析法测定脑缺血损伤后黄芩苷、栀子苷及兴奋性氨基酸含量变化 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 107-12.
- [8] 白洁, 王旭, 刘泽平, 等. 柱前衍生—高效液相色谱法同时测定血清中氨基酸类及单胺类神经递质 [J]. 色谱, 2020, 38(8): 923-8.
- [9] 郭丽蓉, 徐松, 李娜. 乌头碱皮肤微透析体外回收率的测定及其影响因素研究 [J]. 中国当代医药, 2020, 27(19): 12-6.
- [10] Butt A M, Kiff J, Hubbard P, et al. Synantocytes: new functions for novel NG2 expressing glia [J]. J Neurocytol, 2002, 31(6-7): 551-65.
- [11] Hill R A, Nishiyama A. NG2 cells (polydendrocytes): listeners to the neural network with diverse properties [J]. Glia, 2014, 62(8): 1195-210.
- [12] 洪艳, 施伍, 梁悦, 等. 剥夺小鼠睡眠后促觉醒中枢 TMN 内小胶质细胞在睡眠—觉醒中的变化 [J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(5): 657-64.
- [13] Fu W, Maître E L, Fabre V, et al. Chemical neuroanatomy of the dorsal raphe nucleus and adjacent structures of the mouse brain [J]. J Comp Neurol, 2010, 518(17): 3464-94.
- [14] Rhodes K E, Ravich G, Fawcett J W. The injury response of oligodendrocyte precursor cells is induced by platelets, macrophages and in inflammation associated cytokines [J]. Neuroscience, 2006, 140(1): 87-100.
- [15] Boda E, Buffo A. Beyond cell replacement: unresolved roles of NG2-expressing progenitors [J]. Front Neurosci, 2014, 8: 122.

The effect of NG2 cells function changes of inhibitory transmitter content in the raphe nucleus of rats studied by microdialysis

Yang Xin, Quan Rui, Wang Hui, et al

(School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025)

Abstract Objective Microinjection of NG2 cell antibodies (NG2-Ab), the effect of NG2 cells on the change of

网络出版时间: 2021-05-14 15:17 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210513.1449.012.html>

高原低氧环境下心脏功能改变及其与自噬蛋白活化的关系

孙海霞, 李 方, 苏玉鑫, 曹 宁

摘要 目的 评估长期暴露于高原低氧环境(HAH)对大鼠心脏功能的影响,并探讨其作用机制是否与单磷酸腺苷激活的蛋白激酶(AMPK)途径介导的心肌纤维化进程中自噬活性有关。方法 50只雄性SD大鼠被安置在4500m海拔高度,分别在饲养第0、1、2、4、8周随机选取10只大鼠进行体质量、血压、超声心动图、心脏组织学和自噬蛋白检查。另取30只大鼠随机分为对照组和雷帕霉素组。雷帕霉素组每天定时通过腹腔注射雷帕霉素1mg/kg。对照组腹腔注射相同体积的0.9%氯化钠溶液。分别在试验前和第8周试验结束时进行上述检查。结果 体质量、血压、超声心动图检查结果显示,HAH环境暴露导致大鼠的收缩压、体质量、右室舒张末内径(RVEDd)、左室射血分数(LVEF)增加,肺动脉加速时间(PAAT)则降低,雷帕霉素的运用逆转了这些变化。组织学分析显示,HAH环境暴露导致大鼠出现心肌

变性、坏死和纤维化,伴有单核细胞浸润,并且心脏心肌纤维化增加,雷帕霉素的运用减轻了这些变化。Western blot分析显示,HAH环境暴露导致大鼠心脏组织自噬基因(Beclin-1)、微管相关蛋白轻链3(LC3)-II/I和AMPK蛋白在第4周增加,并达到峰值水平,但在第8周后受损。雷帕霉素的运用提高了自噬相关标记物Beclin-1、LC3-II/I和AMPK蛋白表达。结论 长期暴露于HAH环境可破坏大鼠心脏功能,其作用机制与AMPK途径介导的心肌纤维化进程中自噬活性有关。

关键词 高原低氧;心脏功能;自噬;大鼠;雷帕霉素

中图分类号 R 339.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)06-0898-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.06.012

2021-03-13 接收

基金项目: 青海省卫生健康委员会指导性计划项目(编号:2019-wjzdx-46)

作者单位: 青海省人民医院心血管超声室,西宁 810007

作者简介: 孙海霞,女,硕士,主任医师;

曹 宁,男,硕士,主治医师,责任作者,E-mail: shen-jilong53@126.com

高原低氧环境(high altitude hypoxia, HAH)对长期生活在该地区的人类的健康构成了潜在威胁^[1]。由于空气中氧分压较低,易诱发多种心血管疾病,如高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病^[2]。尽管这些心血管疾病的病因可能涉及内质网应激、氧化应激和全身炎症,但确切的机制尚不清楚。自噬是一个重要的自我更新过程,其中细胞内容物被

γ -aminobutyric acid (GABA) and glutamate (Glu) transmitter content in the raphe nucleus of rats were studied by microdialysis to investigate the interaction between 5-hydroxytryptamine (5-HT) and NG2 in the raphe nucleus. **Methods** Seventy rats were randomly divided into normal group, control group, NG2-AB group, PCPA group, 5-HT group, PCPA + NG2-Ab group and 5-HT + NG2-Ab group. Normal group did not receive any treatment. The other groups were microinjected with saline (control group), NG2-Ab, PCPA, 5-HT, PCPA + NG2-Ab and 5-HT + NG2-Ab, into the middle suture nucleus. The corresponded drugs were microinjected into the raphe nucleus. Microdialysis was used to collect extracellular fluid of the raphe nucleus 20, 40, 60, 80, 100 and 120 min after injection, respectively. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to analyze the content changes of GABA and Glu in the microdialysate in corresponding time. **Results** Compared with the control group, NG2-Ab group decreased the content of GABA and Glu ($P < 0.05$), and the difference was statistically significant; PCPA group decreased content of GABA and increased Glu ($P < 0.05$). 5-HT group content increased of GABA ($P < 0.05$) and decreased Glu ($P < 0.01$). Compared with the PCPA group, there was no statistical difference in GABA content after PCPA + NG2-Ab injection, while Glu content decreased ($P < 0.05$). Compared with the 5-HT group, there was no statistical difference in GABA content after 5-HT + NG2-Ab injection in the raphe nucleus, while Glu content decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The content changes of GABA and Glu in raphe nucleus is affected by the inhibition of excitability of NG2 cells. The regulation effect of NG2 on Glu content is related to the synthesis of 5-HT, but its regulation effect on GABA content may not be directly related to the synthesis of 5-HT. **Key words** NG2 cells; γ -aminobutyric acid; glutamate; 5-hydroxytryptamine