

B-S1-20

原发性高血压大鼠外周小动脉内皮细胞线粒体动力学在 NO 相关的内皮细胞功能障碍中的调节作用

魏园园,张 赞;指导教师:董德利
哈尔滨医科大学四年级基础七年制

【立论依据】 原发性高血压外周小动脉内皮细胞中均存在线粒体动力学的异常与内皮功能障碍。研究表明线粒体功能障碍发生于内皮功能障碍之前,而内皮功能障碍发生于原发性高血压之后。

【设计思路】 首先,研究原发性高血压大鼠外周小动脉内皮细胞中的线粒体动力学的异常改变情况。然后:改变正常外周小动脉内皮细胞线粒体动力学,观察内皮细胞变化情况。其次,将正常大鼠施加相应应激因素,使其向原发性高血压方向发展,在这个过程中定时测量大鼠外周小动脉内皮细胞损伤情况、线粒体动力学情况以及大鼠血压变化,来寻找以上三者发生异常的因果关系。最后,改善原发性高血压大鼠线粒体功能,观察大鼠血压的改善情况。

【实验内容】 首先,分别取正常大鼠与原发性高血压大鼠外周小动脉内皮细胞进行原代培养,检测两组细胞内线粒体的形态与分布;融合相关基因 OPA1L、MFN1、MFN2 的表达情况;分裂相关基因 FIS1、DRP1 的表达情况。然后,使用转染技术降低正常大鼠外周小动脉内皮细胞相应影响线粒体动力学基因的表达,检测 eNOS 的表达情况;BH4 的含量;ROS 与 ONOO 的含量。再通过转染技术使上述表达下降了的基因再次恢复表达,同样测上述指标。其次,给正常大鼠高脂质食物、限制其行动并使其一直处于恐惧中,在其向原发性高血压发展的过程中,定时监测大鼠血压变化;大鼠外周小动脉内皮细胞中线粒体的形态与分布;融合相关基因 OPA1L、MFN1、MFN2 的表达情况;分裂相关基因 FIS1、DRP1 的表达情况;eNOS 的表达情况;BH4 的含量;ROS 与 ONOO 的含量。最后,给予原发性高血压大鼠运动与饥饿处理,观察线粒体动力学与血压的变化。

【材料】 SD 大鼠与原发性高血压大鼠。
【可行性】 所涉及指标及依据背景,均有文献支持。使用的技术均为常规实验技术。

【创新性】 首次研究线粒体动力学在原发性高血压大鼠外周小动脉内皮细胞中的改变,首次提出线粒体动力学异常与原发性高血压之间的因果关系,与线粒体动力学在原发性高血压的发生与发展中的作用。进一步寻找原发性高血压预防与治疗上新的靶点。

关键词: 线粒体动力学;原发性高血压;内皮损伤

B-S1-21

PM2.5 对大鼠肺血管功能的影响研究

张 瑞,任彦妮,王 喆;指导教师:王 麟
哈尔滨医科大学大庆校区 2011 级医学检验

【立论依据】 2013 年,“雾霾”成为年度关键词。雾霾主要组成包括二氧化硫、氮氧化物和可吸入颗粒物(PM2.5),而加重雾霾天气污染的罪魁祸首就是 PM2.5。当 PM2.5 进入气道后,有些被吞噬细胞吞噬和树突状细胞识别后,转运至肺间质,既可能被淋巴系统清除或入血达全身各处,也可在肺间质内沉积形成病灶。在病理技术课堂上通过镜下观察可以发现一种现象:尘细胞会更多的分布在肺血管周围。机体内各种刺激经由细胞内的信号网络转导后引起相关基因表达和细胞因子生成,并因此改变正常时增殖和凋亡之间的平衡状态时就会引发肺血管功能改变,导致肺血管管腔狭窄、肺动脉高压(PAH)等疾病。然而,PM2.5 作为一种刺激因子,是否会对肺血管产生一定的影响未见报道。

【设计思路】 探究在不同浓度的 PM2.5 环境之中,尘细胞在肺血管周围的分布情况,以及对肺血管的影响程度及其所造成的肺血管病理组织改变。

【实验内容】 (1)在体实验组:对照组、PM2.5 低剂量组(2.5 mg/mL)、PM2.5 中剂量组(5 mg/mL)、PM2.5 高剂量组(10 mg/mL),共四组,按 3 mL/kg 大鼠体重分别灌注不同浓度的颗粒物悬浮液。6 周后:①制备小鼠肺冰冻切片,H-E 染色观察尘细胞聚积部位。②显微镜下测量肺小动脉管壁厚度与血管直径之比。③显微镜下测量肺血管壁面积与肺血管总面积之比。④MASSON 染色观察肺动脉壁胶原纤维增殖情况。⑤免疫组织化学检测 α -平滑肌肌动蛋白的表达。(2)离体实验组:分离提取大鼠肺动脉平滑肌细胞分为对照组、低剂量 PM2.5(25 mg/L)、中剂量 PM2.5(50 mg/L)、高剂量 PM2.5(100 mg/L),持续作用时间为 48 h。MTT 法检测细胞增殖;蛋白质印迹法检测 PCNA(增殖细胞核抗原);流式细胞仪检测细胞凋亡情况;蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白表达情况。

【材料】 实验仪器:细胞培养箱、酶标仪、电泳仪、光学显微镜等;试剂:PCNA、DMEM 培养液、胎牛血清、MTT 试剂盒等。

【可行性】 实验所需动物、药品、试剂、耗材均已购得;本课题所涉及方法和技术课题组同学均已掌握并可独立完成;

【创新性】 目前,对于引起肺血管病变机制的研究多种多样。然而,关于沉积于肺血管旁吞噬了 PM2.5 的巨噬细胞(尘细胞)是否会对肺血管产生影响并未见研究。通过此项研究,能够进一步明确:吞噬了 PM2.5 的巨噬细胞(尘细胞)所引起的肺部组织损伤的机制,并且能够为一些以肺血管损伤、病变为基础的疾病提供理论基础。

关键词:PM2.5;尘细胞;肺小动脉

B-S1-22

虎杖苷在小鼠冠状动脉缺血再灌注损伤中的保护作用及其机制研究

丁 娟,沈艳霞,王龙祥;指导教师:董 鸣
深圳大学 2012 级临床医学

【立论依据】 心脏冠状动脉阻塞,再灌注疗法,极易造成大量自由基产生、钙超载和心肌细胞凋亡等损害。减少心肌细胞再灌注后凋亡仍是治疗冠心病的首要任务。研究表明虎杖苷在缺血再灌注损伤中有增加 NO 含量,减少自由基损害、提高心功能的保护作用,但其具体机制不明。RhoA/ROCK 通路的激活是缺血再灌注损伤中参与细胞凋亡的机制之一。新近研究表明,生理状态下,血管紧张素受体 II 2 型(AT2R)可通过激活 RhoA-Pser188 抑制 ROCK 下游通路,达到保护细胞正常生理状态的作用。因此,我们提出,病理状态下,AT2R 对 ROCK 通路的影响是什么?虎杖苷对心肌缺血再灌注(I/R)是否通过该通路起到保护作用?因此,该项目的研究为虎杖苷改善冠脉血流、提高心功能提供实验依据和理论基础。

【设计思路】 实验分为正常对照组,I/R 组,单纯虎杖组和虎杖治疗组。通过观察不同时间节点:术后 1 h、24 h 和 7 d,通过心动超声及各种生化检测,研究缺血再灌注机制,并在此基础之上,研究虎杖对缺血再灌注的保护机制。

【实验内容】 (1)建立小鼠缺血再灌注(I/R)模型。(2)TTC 和 evans blue 染色,并检测凋亡。(3)留取血清检测 cTnT。(4)留取蛋白检测 ROCK 激酶活性、RhoA-Pser188、AT2R。(5)检测血清和组织中 NOS、iNOS 活性及 NO 含量。

【材料】 C57 小鼠 24 只,小动物超声仪,小动物心电图测量仪和各种生化检测仪器。

【可行性】 深圳大学机能平台具备所有小动物心功能检测和生化指标检测仪器。

【创新性】 本项目首次提出虎杖苷通过 AT2R 磷酸化 RhoA-Pser188 位点,从而抑制 ROCK-心肌细胞凋亡通路,深入阐明虎杖苷保护缺血再灌注损伤机制。本项目首次在整体动物模型基础上,研究中药单体虎杖苷对心脏