

A-S1-4

多节段背根神经节慢性压迫大鼠的痛觉敏化及其机制

孟凡成¹, 宋 凯², 杨雨洁², 何阳蕊²; 指导教师: 徐 晖

1. 第四军医大学 2011 级临床医学

2. 第四军医大学 2009 级临床医学

【目的】 机械压迫背根神经节及其附近的神经根可能会引起腰痛和坐骨神经痛,而在患者人群中多节段的腰骶神经根病比单一能级水平更常见,常常表现出多节段神经根受压和椎间孔狭窄。本研究目的是观察多节段背根神经节慢性压迫(mCCD)模型大鼠自发和诱发痛行为,初步探讨其可能的神经机制。

【方法】 将 168 只成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠(200~220 g)随机分成多节段背根神经节慢性压迫($n=89$)组和正常(正常对照, $n=79$)组。本实验自发痛行为由位于大鼠视野盲区的摄像头记录,机械和温度(冷和热)刺激诱发痛行为进行评估。采用免疫组织化学和多导微电极阵列方法观察 mCCD 组大鼠外周背根神经节和中枢神经系统前扣带回皮层的可塑性变化。

【结果】 mCCD 模型大鼠在术后 3 h~42 d 中表现出持续和明显的自发痛行为,如湿狗样行为和自发性缩爪,在术后 1~42 d 中出现明显同侧和对侧机械性触诱发痛和痛觉过敏、冷和热痛觉异常行为,热痛觉过敏。在 mCCD 模型大鼠同侧及对侧背根神经节中神经损伤标志物激活转录因子 3(ATF3)的表达明显增加,ATF3 表达增加出现于所有大小的背根神经节神经元中,同时对侧和同侧前扣带回皮层的长时程增强(LTP)消失。

【结论】 mCCD 大鼠出现自发痛行为和对侧机械、温度性痛觉敏化,双侧背根神经节神经元损伤和前扣带回皮层突触可塑性变化可能参与该模型双侧机械和温度性痛觉敏化以及自发痛行为。

关键词: 痛觉过敏;触诱发痛;激活转录因子 3;神经病理性痛;背根神经节;前扣带回

A-S1-5

NF- κ B 在氯胺酮致发育期大鼠皮质神经毒性中的作用

王 冲,肖 君,谢明峰;指导教师:刘 潜,徐仙赞

赣南医学院 2011 级临床医学

【目的】 文献表明 NF- κ B 活化可上调 Cyclin D1,异常启动细胞周期诱导神经细胞凋亡。课题组前期研究发现氯胺酮能上调未成熟神经细胞 Cyclin D1 的表达,且呈时间剂量依赖性,提示 NF- κ B 在氯胺酮诱导未成熟神经毒性方面起重要作用。本研究通过体内和体外模型观察氯胺酮诱导的未成熟神经细胞凋亡过程中 NF- κ B 活性的变化,探讨 NF- κ B 在其过程中的作用。

【方法】 体内模型: P7SD 幼鼠每 90 分钟经腹腔注射不同剂量的氯胺酮(0、5、10、20 mg/kg)共 5 次,7.5 h 后提取大脑皮质细胞浆蛋白及核蛋白。体外模型: E18 胎鼠皮质神经细胞培养 24 h,加入不同浓度的氯胺酮(0、1、10、100、1 000 μ mol/L),作用不同时间(6、12、24、48 h)提取大脑皮质细胞浆蛋白及核蛋白。MTT 法检测氯胺酮对 E18 胎鼠皮质神经细胞体外存活率的影响;蛋白质印迹法检测 P7 幼鼠皮质及 E18 胎鼠皮质神经细胞中核蛋白 P65、P50 和浆蛋白 I- κ B 的表达水平。

【结果】 MTT 法显示在体外模型中氯胺酮作用 6 h 后实验组神经细胞存活率与对照组无明显差异,作用 12 h 后 100、1 000 μ mol/L 实验组神经细胞存活率低于对照组,作用 24 h 后 10、100 以及 1 000 μ mol/L 实验组神经细胞存活率明显低于对照组,作用 48 h 后实验组神经细胞存活率均明显低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。蛋白质印迹结果显示在体内模型中 10、20 mg/kg 实验组细胞核中 P65 蛋白水平明显高于对照组,20 mg/kg 实验组细胞核中 P50 蛋白水平高于对照组,10、20 mg/kg 细胞浆中 I- κ B 蛋白表达水平明显低于对照组。体外

模型中氯胺酮处理 6、12、24、48 h 的 100、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 实验组以及 48 h 后 10 $\mu\text{mol/L}$ 实验组细胞核中 P65 水平高于对照组, 12、24、48 h 的 100、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 实验组以及 48 h 的 10 $\mu\text{mol/L}$ 实验组细胞核中的 P50 水平高于对照组, 12 h 的 100、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 实验组以及 24、48 h 的 10、100、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 实验组细胞浆中的 I- κ B 表达水平低于对照组, 以上实验组与对照组的差异都具有统计学意义($P < 0.05$)。

【结论】 在一定的剂量作用一定的时间情况下氯胺酮可以诱导未成熟神经细胞凋亡, 其可能的机制之一是氯胺酮激活 NF- κ B, 活化 NF- κ B 迅速转移到细胞核内促进 Cyclin D1 表达, 导致细胞周期异常启动从而导致神经细胞凋亡。

关键词: 氯胺酮; NF- κ B; 未成熟神经细胞

A-S1-6

黄芪和三七的主要有效成分配伍对小鼠脑缺血再灌注后脑组织能量代谢的影响

谭佳佳¹, 丁 煌², 吴东升³, 乔 宁⁴, 张 或⁵; 指导教师: 黄小平, 李 玲

1. 湖南中医药大学 2013 级康复
2. 湖南中医药大学 2013 级药理
3. 湖南中医药大学 2012 级中西医结合
4. 湖南中医药大学 2012 级临床医学
5. 湖南中医药大学 2013 级中西医结合

【目的】 研究黄芪的主要有效成分黄芪甲苷和三七的主要有效成分人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rb1、三七皂苷 R1 配伍对小鼠脑缺血再灌注后脑组织能量代谢的影响。

【方法】 C57BL/6 小鼠随机分组, 连续给药 3 d, 末次给药 1 h 后, 结扎双侧颈总动脉造成脑缺血 20 min, 再灌注 24 h。用高效液相色谱法(HPLC)测定脑组织中 ATP、ADP、AMP 含量, 计算总腺嘌呤核苷酸(TAN)、能荷(EC)值; RT-PCR 法测定葡萄糖转运蛋白(GLUT3) mRNA 表达, 蛋白质印迹法测定脑组织磷酸化的单磷酸腺苷激活的蛋白激酶 $\alpha 1/2$ (p-AMPK $\alpha 1/2$)、GLUT3 蛋白表达。

【结果】 (1) 黄芪甲苷、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rb1、三七皂苷 R1 可显著增加缺血再灌注后脑组织 ATP、ADP、AMP 含量, 提高 TAN 值; 黄芪甲苷+人参皂苷 Rg1、黄芪甲苷+人参皂苷 Rb1、黄芪甲苷+三七皂苷 R1 及四种有效成分配伍均可显著提高脑组织 ATP、ADP、AMP 含量及 TAN、EC 值, 且两种有效成分配伍的效应强于各有效成分单用, 四种有效成分配伍的效应强于各有效成分单用及大部分两有效成分配伍。(2) 黄芪甲苷、三七皂苷 R1、四种有效成分配伍组、黄芪甲苷+人参皂苷 Rg1 及黄芪甲苷+三七皂苷 R1 能显著增加缺血再灌注后脑组织 p-AMPK $\alpha 1/2$ 蛋白表达, 且四种有效成分配伍, 黄芪甲苷与人参皂苷 Rg1、三七皂苷 R1 配伍升高 p-AMPK $\alpha 1/2$ 的效应分别高于各有效成分单用, 四种有效成分配伍组的效应高于黄芪甲苷+人参皂苷 Rb1 组。(3) 脑缺血再灌注后, 各药物均能提高脑组织 GLUT3 基因和蛋白表达, 且黄芪甲苷与人参皂苷 Rg1 和三七皂苷 R1 两药或四种有效成分配伍增强 GLUT3 表达的效应大于各有效成分单用; 四种有效成分配伍上调 GLUT3 mRNA 表达的效应大于黄芪甲苷+人参皂苷 Rb1 配伍, 上调 GLUT3 蛋白表达的效应大于黄芪甲苷+人参皂苷 Rb1 及黄芪甲苷+三七皂苷 R1。

【结论】 黄芪和三七的四种主要有效成分配伍对脑缺血再灌注后脑组织能量代谢的改善具有促进作用, 其机制可能与上调脑组织 AMPK 磷酸化水平, 增强脑组织 GLUT3 蛋白表达, 从而介导葡萄糖进入神经细胞, 增加神经细胞的葡萄糖供应和摄取, 改善缺血后脑组织的能量代谢有关。

关键词: 黄芪; 三七; 主要有效成分配伍; 脑缺血再灌注; 能量代谢