

A-S1-10

人参皂苷 Rg1 对 A β 1-40 致 AD 模型大鼠行为学及 caspase-3 表达的影响

方秋月, 顾一敏, 赵云鹤, 白雪; 指导教师: 齐亚灵, 陈立强, 吴佳梅

佳木斯大学 2013 级临床医学

【目的】 观察人参皂苷 Rg1 对 A β -淀粉样蛋白 1-40 致阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)模型大鼠学习记忆能力的影响及对 caspase-3 表达的调控作用, 探究人参皂苷 Rg1 对海马 CA1 区神经元凋亡的防护作用。

【方法】 选取 3 个月龄健康 SD 大鼠 75 只, 随机分为青年组、假手术组、模型组、人参皂苷 Rg1 干预组[模型组+人参皂苷 Rg1 20 mg/(kg·d)剂量组和模型组+人参皂苷 Rg1 40 mg/(kg·d)剂量组], 每组 15 只。D-半乳糖 50 mg/kg 大鼠腹腔注射, 连续注射 6 周后, 依照 Paxions《大鼠脑立体定位图谱》, 在海马区注入凝聚态 A β 1-40 溶液 1 μ L 制作 AD 模型。造模成功后, 人参皂苷 Rg1 干预组分别给予人参皂苷 Rg1 20、40 mg/(kg·d)灌胃, 其它三组以等量生理盐水灌胃(1 次/d), 连续 30 d 后利用 Morris 水迷宫观察人参皂苷 Rg1 对 AD 大鼠学习记忆能力的影响; 断头取海马, 应用 H-E 染色法观察海马 CA1 区病理学改变; 应用 RT-PCR、免疫组化(SABC)和蛋白质印迹法检测 caspase-3 基因及蛋白表达情况。

【结果】 (1)人参皂苷 Rg1 干预组大鼠的学习记忆成绩优于模型组($P < 0.05$); (2)模型组海马 CA1 区神经元排列欠规则, 可见肿胀的细胞, 出现核固缩, 锥体细胞较少, 可见凋亡小体。人参皂苷 Rg1 干预组可见细胞排列基本规则, 明显坏死的锥体细胞较少; (3)与青年组比较, 模型组大鼠海马组织 caspase-3 基因及蛋白表达明显增加($P < 0.05$); 与模型组比较, Rg1 干预组大鼠的 caspase-3 基因及蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。

【结论】 人参皂苷 Rg1 通过抑制 caspase-3 的表达, 从而抑制 A β 1-40 致 AD 模型大鼠神经元凋亡, 进而改善 AD 大鼠学习记忆能力, 达到防治 AD 的目的。

关键词: 人参皂苷 Rg1; 阿尔茨海默病; 半胱氨酸蛋白酶-3; A β -淀粉样蛋白 1-40; 免疫印迹法

A-S1-11

PQQ 对鱼藤酮脑内注射 PD 模型大鼠的保护作用及机制研究

吴美龙¹, 董星月², 季锦燕³; 指导教师: 张琦

1. 南通大学 2011 级临床医学

2. 南通大学 2011 级口腔医学

3. 南通大学 2013 级康复治疗

【目的】 本课题拟通过单侧前脑内侧束注射鱼藤酮(复合物 I 抑制剂)建立大鼠帕金森病(PD)模型, 通过尾静脉注射给药后观察吡咯喹啉醌(PQQ)的保护作用及相关机制, 为将其开发为防治 PD 的药物提供可靠的基础实验依据。

【方法】 建立大鼠鱼藤酮左侧 MFB 注射模型(坐标: 前囟后 2.8 mm, 中线左旁开 2.0 mm, 硬膜下 8.0 mm), 注射 12 μ g, 体积 4 μ L, 速度 0.5 μ L/min, 注射完毕后留针 5 min, 缓慢退针。鱼藤酮注射后第 2 天开始通过尾静脉注射给予不同剂量 PQQ, 在手术后 8 周通过阿扑吗啡(apomorphine)诱导的旋转实验等观察 PQQ 对 PD 模型鼠行为学指标的影响; 通过 TUNEL 和尼氏染色分析大脑皮层和黑质纹状体部位细胞凋亡的情况; 采用 caspase 酶活性分析测定酶活性, 蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白的表达变化; 分离胞质蛋白和线粒体蛋白, 检测 CytC 和 Smac 的亚细胞定位改变以及线粒体呼吸链复合物活性; 通过实时定量 PCR 检测 Ndufs 等基因的表达情况; 通过流式细胞仪分析 ROS 的生成; 提取不同脑区蛋白, 测定 GSH、SOD 和 MDA 的含量; 免疫组化观察 DA、TH 和 VMAT 的

表达及定位;HPLC 检测 DA 含量的变化。通过以上行为学指标、形态学分析、凋亡相关检测、线粒体功能测定、ROS 水平检测以及神经递质合成和转运的研究,分析 PQQ 在 PD 模型大鼠体内的保护作用及相关机制。

【结果】 术后 8 周腹腔内注射 APO 可诱发 PD 模型大鼠以健侧后肢为支点向健侧旋转,PQQ 给药能显著减少旋转次数,并减少中脑黑质多巴胺能神经元的丢失,抑制细胞凋亡的发生。PQQ 能提高线粒体呼吸链复合物的活性和 Ndufs 的表达,增加抗氧化能力,促进 TH 和 VMAT 的表达,抑制 DA 在细胞内的重新分布。

【结论】 PQQ 对鱼藤酮诱导的大鼠 PD 模型具有保护作用,作用可能与其保护线粒体功能、对抗氧化应激和促进 DA 的转运相关。

关键词: PQQ;鱼藤酮

A-S1-12

枸杞叶及枸杞多糖对星形胶质细胞 $\alpha 7nAChR$ 的表达影响

范丑丑¹,吴玉莹²,付松³,李伟³,张博圣³;指导教师:苗珍花,王银

1. 宁夏医科大学 2012 级医学影像学
2. 宁夏医科大学 2013 级医学影像学
3. 宁夏医科大学 2012 级生物技术

【目的】 探讨不同剂量枸杞叶和枸杞多糖对 5、7 个月龄快速老化模型小鼠 SAMP8 脑海马星形胶质细胞及原代培养的 SD 大鼠脑海马星形胶质细胞 $\alpha 7nAChR$ 表达的影响。

【方法】 实验一:选用 5、7 个月龄 SAMP8,以同龄正常老化 SAMR1 为正常对照。SAMP8 随机分为给药组和对照组,给药组分为枸杞叶全汁高、低剂量组和枸杞多糖高、低剂量组。给药组灌胃服用高、低剂量枸杞叶全汁或枸杞多糖,每天 1 次,连续 8 周,对照组灌胃服用等量蒸馏水;免疫荧光双标染色检测 SAMP8 脑海马星形胶质细胞 $\alpha 7nAChR$ 的表达。实验二:用含 10%、20% 枸杞叶及枸杞多糖脑脊液培养海马原代星形胶质细胞,于给药后培养 24、36、48、72 h 后收集细胞,采用 MTS 细胞活性检测,免疫荧光及蛋白质印迹法检测 $\alpha 7nAChR$ 的表达。

【结果】 实验一:免疫荧光双标结果显示:(1)5、7 个月龄 SAMR1 较同月龄 SAMP8 脑海马区星形胶质细胞和 $\alpha 7nAChR$ 阳性细胞表达均减少;(2)5 个月龄 SAMP8 对照组较 7 个月龄 SAMP8 对照组脑海马区星形胶质细胞和 $\alpha 7nAChR$ 阳性细胞表达均减少;(3)5、7 个月龄 SAMP8 各给药组与同月龄 SAMP8 对照组比较,各给药组脑海马区星形胶质细胞和 $\alpha 7nAChR$ 阳性细胞表达均减少;(4)同月龄高、低剂量组间无明显变化。实验二:(1)细胞活性结果显示:与空白脑脊液组比较,含 10%、20% 枸杞叶及枸杞多糖脑脊液培养海马原代星形胶质细胞 36、48、72 h 后,其细胞的活性均增加,但 10% 枸杞多糖脑脊液组有显著性差异;(2)蛋白质印迹结果显示:与空白脑脊液组比较,含 10%、20% 枸杞叶及枸杞多糖脑脊液培养海马原代星形胶质细胞 36、48 h 后, $\alpha 7nAChR$ 表达均增加,但 10% 枸杞多糖脑脊液组有显著性差异。

【结论】 不同剂量枸杞叶和枸杞多糖对 5、7 个月龄快速老化模型小鼠 SAMP8 及原代培养的 SD 大鼠脑海马星形胶质细胞 $\alpha 7nAChR$ 表达均有影响。

关键词: 枸杞叶和枸杞多糖;SAMP8;原代培养;星形胶质细胞; $\alpha 7nAChR$