

A-S1-13

Ghrelin 拮抗鱼藤酮诱导的多巴胺能细胞凋亡的机制研究

于剑涵;指导教师:姜 宏

青岛大学 2011 级临床医学五年制

【目的】 帕金森病(PD)是常见的神经退行性疾病之一,遗传和环境因素均可导致 PD 的发生,但 90% 的 PD 为散发性。由于病因不明,临床上的治疗多为对症治疗,且药物治疗的副作用大,因此,寻找新的预防和治疗 PD 的生物活性物质具有重要的临床意义。Ghrelin 是 1999 年发现的由 28 个氨基酸残基组成的脑肠肽,对其研究集中在摄食和能量代谢的调控上,近年来发现 Ghrelin 对下丘脑神经元具有保护作用,为了探讨 Ghrelin 对多巴胺(DA)能神经元的作用,本实验拟在环境毒素鱼藤酮制备的 PD 细胞模型上,观察其对 DA 能细胞损伤的保护作用,并深入探讨其机制。

【方法】 本实验选用的 DA 能细胞是 MES23.5 细胞,具有 DA 能神经元的主要特点。实验分为三组:对照组,鱼藤酮处理组(500 nmol/L 鱼藤酮孵育 24 h),Ghrelin+鱼藤酮处理组(10^{-9} mol/L 的 Ghrelin 预孵育 20 min 后,加入 500 nmol/L 鱼藤酮共同孵育 24 h)。应用 MTT 法检测细胞存活率,流式细胞仪检测线粒体跨膜电位差和 caspase-3 活性,酶活性检测技术测定线粒体呼吸链复合物 I 的活性,蛋白质印迹法检测线粒体细胞色素 C 的释放,Hoechst 染色观察细胞凋亡的形态学变化。

【结果】 鱼藤酮处理 24 h 后,细胞存活率降低 39% ($P < 0.01$)。而 Ghrelin 预孵育 20 min,能显著拮抗鱼藤酮所致的细胞存活率的降低 ($P < 0.01$)。Ghrelin 能够拮抗鱼藤酮导致的线粒体呼吸链复合物 I 活性的降低和跨膜电位差的降低,并进一步抑制鱼藤酮诱发的细胞色素 C 由线粒体的释放。我们还观察了凋亡效应酶 caspase-3 活性的变化,在鱼藤酮处理组,细胞 caspase-3 的活性较对照组显著增加 ($P < 0.01$),而 Ghrelin 预孵育后,细胞 caspase-3 的活性较鱼藤酮组明显降低 ($P < 0.05$)。鱼藤酮孵育后,细胞出现明显的核碎裂与核固缩现象,而 Ghrelin 预处理后上述现象明显减轻。

【结论】 环境毒素鱼藤酮能够通过抑制 DA 能细胞线粒体呼吸链复合物 I 的活性,从而导致其功能的损伤,引起线粒体跨膜电位差的降低和细胞色素 C 的释放,并进一步诱发细胞的凋亡,而 Ghrelin 能够通过作用于线粒体呼吸链复合物 I,从而恢复线粒体功能,抑制细胞凋亡,发挥其保护作用,但其细胞内的信号转导过程尚需进一步探讨。

关键词: 帕金森病;多巴胺能细胞;Ghrelin;鱼藤酮;凋亡

A-S1-14

PI3K/Akt/GSK-3 β / β -catenin 信号通路对局灶性脑缺血再灌注大鼠神经元保护的实验研究

宋 路¹,唐佳文²;指导教师:邢雪松

1. 沈阳医学院 2010 级临床医学

2. 沈阳医学院 2010 级临床医学

【目的】 探讨 PI3K/Akt 信号通路在大鼠脑缺血再灌注损伤中对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响。

【方法】 健康雄性 SD 大鼠 96 只,采用 longa 法建立局灶性脑缺血再灌注模型,随机分为 4 组:假手术组(S 组)、脑缺血再灌注组(I 组)、脑缺血再灌注 + bFGF 后处理组(bFGF 组)、脑缺血再灌注 + bFGF 后处理 + LY294002(LY 组),各组 24 只大鼠。各组依据缺血后再灌注时间点 12、24、48、72 h 再分 4 个亚组。应用 H-E 染色、TUNEL 法检测皮质组织形态变化及细胞凋亡情况。采用免疫组织化学法、原位杂交法、蛋白质印迹法分别检

测在各组皮质不同再灌注时间点 P-Akt、GSK-3 β mRNA、 β -catenin 的表达变化。

【结果】 免疫组织化学法检测 P-Akt 蛋白水平, I 组和 LY 组每一灌注时间点都高于 S 组表达水平, 24 h 达高峰。bFGF 组各亚组皮质 P-Akt 表达均较 I 组和 LY 组各亚组表达增多($P < 0.05$)。应用原位杂交和蛋白质印迹技术分别检测 GSK-3 β mRNA 和 β -catenin 在缺血再灌注皮质的表达。I 组和 LY 组各亚组缺血皮质 GSK-3 β mRNA 和 β -catenin 表达高于 S 组, 分别在 48 h 和 72 h 达高峰。与 I 组和 LY 组比较, bFGF 组各亚组缺血皮质 GSK-3 β mRNA 表达明显降低, 而 β -catenin 蛋白表达却显著增高($P < 0.05$)。说明 bFGF 在缺血再灌注皮质通过激活 Akt, 抑制 GSK-3 β 的活性, 拮抗由 GSK-3 β 、axin 和结肠多发性息肉样蛋白(APC)组成的复合物, 使 β -catenin 不能被磷酸化, 游离的 β -catenin 在细胞浆内蓄积, 继而进入胞核, 促进 Wnt 靶基因转录, 抑制细胞凋亡。从两条通路主要成员激活的时间上, Akt 在皮质缺血再灌注后 24 h 达高峰, 而 β -catenin 是缺血再灌注后持续增高, 一直到 72 h 达高峰。提示 β -catenin 参与了脑缺血再灌注 PI3K/Akt 激活后的信号传导路径, Akt 对 β -catenin 的调控作用同样在缺血性脑损伤中发挥作用, 即 Akt-GSK-3 β - β -catenin。

【结论】 脑缺血再灌注损伤中 PI3K/Akt 信号通路通过 GSK-3 β 可以调控 Wnt 信号通路主要成员 β -catenin, 这为深入研究 β -catenin 在缺血性脑损伤中的作用机制提供重要线索。

关键词: 脑缺血; Akt; GSK-3 β ; β -catenin; bFGF; LY294002; 皮质

A-S1-15

不同依赖时间对药物依赖者空间认知功能的影响

李景业¹, 边经纬¹; 指导教师: 罗艳琳

1. 首都医科大学 2009 级临床医学七年制
2. 首都医科大学 2011 级基础医学五年制

【目的】 探究不同依赖时间对甲基苯丙胺依赖者和海洛因依赖者空间认知功能的影响。

【方法】 甲基苯丙胺依赖者(40 例, M1: 甲基苯丙胺依赖 1 年组 16 例; M2: 2 年组 24 例)、海洛因依赖者(35 例, H1: 海洛因依赖 3 年组 16 例; H2: 6 年组 17 例)及对照组(40 例)参与 2 个空间认知实验。实验 1: 判断 6 个不同角度手/足图片的手指/足趾朝向, 评估被试者空间定向能力。实验 2: 判断 6 个不同旋转角度手/足图片肢体的左右, 评估空间视觉化能力。

【结果】 (1) M1、M2 组, H1、H2 组与对照组相比, 手足图片各个角度正确率无明显差异。(2) M1 组对各个角度足图片的反应明显慢于 M2、对照组。M1 组对 150°、180°和 210°手图片的反应明显慢于对照组, 210°上慢于 M2 组。H2 组对 240°、270°和 300°足图片的反应慢于 H1、对照组, H2 组对各个角度手图片的反应较 H1、对照组慢。(3) M2 组各个角度足图片正确率明显低于对照组。M1、M2 组各角度手图片正确率降低。H1 组在 120°、180°上, H2 组在各个角度上, 足图片的正确率显著低于对照组, 且 0°、240°和 300°上, H1 与 H2 两组之间存在差异。H1 组在 0°、180°、240°和 300°上, H2 组在各个角度上, 手图片的正确率显著低于对照组; 在 60°、180°、300°上, H1 与 H2 两组之间存在差异。(4) M2 组对 0°、60°、120°和 180°足图片的反应, 及对各角度手图片的反应快于 M1、对照组。H2 组对各个角度足图片的反应慢于 H1 组, 仅在 0°上慢于对照组。H2 组对各个角度手图片的反应慢于 H1、对照组。

【结论】 甲基苯丙胺与海洛因依赖不影响依赖者空间方位认知的准确性, 但影响其认知速度。甲基苯丙胺和海洛因依赖损伤依赖者空间视觉化能力的准确性与认知速度, 且长时间依赖者更为突出。

关键词: 慢性药物依赖; 甲基苯丙胺; 海洛因; 空间认知功能; 心理旋转