

B-S5-15

灯盏乙素对脑缺血再灌注大鼠神经细胞的保护作用

邵婷婷,左天奇,雒云霄,汪威锋,文昊;指导教师:魏晓丽

新疆医科大学 2012 级临床医学

【立论依据】 脑缺血再灌注后,缺血组织得到大量氧供,产生大量自由基,可触发神经细胞凋亡,同时脑组织中 NO 含量升高,从而诱导以凋亡为特征的迟发性神经毒性反应。此外炎症因子的大量浸润可加重脑缺血再灌注部位的炎症反应。作为缺血中风治疗有效及国家药监局唯一认可的缺血中风二级预防有效的中成药-灯盏生脉胶囊,相关研究稍显不足。本课题希望从灯盏生脉胶囊有效成分灯盏乙素对脑缺血再灌注的保护作用入手,探讨灯盏乙素对脑缺血再灌注大鼠的保护作用及其机制。

【设计思路】 采用线栓法建立脑缺血再灌注大鼠模型,首先观察灯盏乙素作用于脑缺血大鼠神经损伤复杂级联反应的影响,测定其脑组织 NO、MDA 等抗氧化应激指标的不同,其次探讨炎性细胞因子动态变化与脑损伤保护作用的相关性,第三通过治疗不同时期神经元细胞凋亡情况,全面探讨灯盏乙素对脑缺血再灌注大鼠神经细胞的保护作用。

【实验内容】 线栓法建立脑缺血再灌注 SD 大鼠模型,分为模型组、假手术组、灯盏乙素高、中、低剂量组,每组 16 只。术后 24 h 灌胃给药,模型组给予等量盐水作为对照。分别于给药后 1、7、14、28 d 观察各组大鼠神经细胞受损情况,测定其脑指数、脑含水量及 SOD、MDA 抗氧化应激指标、NO 水平、血清中炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 的变化;并采用 TUNEL 法测定各组大鼠神经细胞凋亡情况。

【材料】 IL-1 β 、TNF- α ELISA 检测试剂盒、NO 检测试剂盒、TUNEL 检测试剂盒等。

【可行性】 理论可行:本设计从灯盏乙素对脑缺血再灌注的保护作用为切入点,探讨其可能的机制;技术可行:本实验已有相应的前期工作,实验模型的建立和指标的检测在老师指导下可以顺利完成;条件可行:本研究所所在的新疆医科大学重点实验室具备实验所需的仪器设备。

【创新性】 以整体观念从体内系统研究灯盏乙素对脑缺血大鼠神经细胞的保护作用,全面揭示其对脑缺血再灌注大鼠神经细胞复杂机制。

关键词: 灯盏乙素;脑缺血再灌注;细胞凋亡;IL-1 β ;TNF- α

S-6 解剖学与形态结构,超微结构,组织工程

B-S6-1

新型液体栓塞剂的开发及临床效果初步评价

周峰¹,陈黎明²;指导教师:朱巍

1. 复旦大学 2009 级临床医学
2. 复旦大学化学博士研究生

【立论依据】 经导管的血管栓塞术已经广泛应用于各类脑血管疾病,目前使用的栓塞材料以医用液体胶和金属弹簧圈为主,其昂贵的价格、高难度的操作要求以及存在的术后并发症亟需在临床使用中改善。可注射型水凝胶体系已经得到了较好的发展,在药物缓释、肿瘤治疗等领域都有了一定的应用尝试。其中,高分子水凝胶因其独特的物理化学性质,有更加广阔的调节空间,也因此拥有更加巨大的应用前景。本项目旨在根据临床应用要求,对高分子水凝胶进行进一步的修饰和改造,设计制造新型栓塞材料,并进行初步评价。

【设计思路】 通过查阅化学文献等资料,选择合适原料,根据临床要求进行改造,进行体内外试验,初步筛选出具有开发价值的栓塞材料,进行临床随机对照试验,以进一步评价其临床效果。

【实验内容】 查阅文献,寻找可注射水凝胶体系,参照临床要求对材料进行改造,从而达到更优化的成胶条件;将改造后的水凝胶进行大鼠皮下注射实验,检测大鼠血常规及病理切片,初步评估水凝胶的毒理情况;利用蠕动泵构建不同血流动力条件,进行栓塞试验,评估水凝胶的机械性质;接着构造兔颈动脉瘤以及猪脑血管畸形模型,进行 DSA 手术,评估体内治疗效果;筛选出最优材料后进行临床随机对照试验,构造猪脑动脉畸形模型,随机分入弹簧圈、Onyx 胶新材料治疗组,DSA 手术干预,随访半年后,结合各项检测数据进行评价。

【材料】 兔颈动脉瘤模型、猪脑动脉畸形模型、流变仪、智能蠕动泵、微导管、微导丝球囊、血常规分析仪、病理切片相关仪器、DSA 手术配套设施

【可行性】 目前已合成四种符合临床要求的栓塞材料,并在 DSA 技术下进行体内试验,结果显示栓塞效果好,血管炎性反应小,进一步试验已顺利开展中。

【创新性】 本项目的创新点主要体现在以下几方面:(1)跨学科合作优势;(2)已有材料的改造及其新应用;(3)临床新材料效果评价。与传统治疗方式相比较,结合临床各项指标,对新材料的临床效果作一初步评价,为后续试验提供基础。

关键词: 栓塞术;脑动脉畸形;动脉瘤;水凝胶

B-S6-2

利用新型神经元荧光成像技术 mGRASP 实时观察突触结构的动态变化

任 君¹,白春晟²,刘 旭³;指导教师:叶海虹

1. 首都医科大学 2009 级基础医学五年制
2. 首都医科大学 2011 级基础医学五年制
3. 首都医科大学 2012 级基础医学五年制

【立论依据】 突触虽然是神经系统重要的功能单位,但针对突触的通用研究方法仍具有一定局限性,有待完善改进,为加深对突触发生、病变现象及机制的研究,本实验设计建立创新性研究方法,实现体外动态观察神经元突触结构的变化。

【设计思路】 本实验引入新型培养装置 Microfluidic Chamber 和跨突触结构重组 GFP 荧光蛋白对 mGRASP 实现神经元突触体外动态观察。Microfluidic Chamber 有双侧培养空间,由微通道相通,仅能允许神经元轴突通过,同时根据流体动力学原理其双侧液体不会发生混合。mGRASP 全称为 mammalian GFP reconstitution across synaptic partners,包括 Pre 和 Post 两个蛋白,分别携带 GFP 蛋白的一部分,当二者距离约为 20 nm 左右时,能重组 GFP 发出绿色荧光,反之则无荧光信号。Pre 和 Post 通过 neurexin 和 neuroligin 固定表达在突触前膜和突触后膜上,利用突触间隙约为 20 nm 且小于正常细胞间距的原理,用绿色荧光特异性标记突触,体外动态观察突触结构。

【实验内容】 本实验在新型培养装置 Microfluidic Chamber 进行孕 17 天小鼠胎鼠皮层神经元原代培养,体外培养 6~7 d,在两侧分别加入携带 mGRASP Pre 和 Post 基因的慢病毒感染神经元,基于 Microfluidic Chamber 良好的液相分隔性,能做到两侧分别表达 Pre 和 Post 蛋白,而不会出现二者同一细胞中共表达的情况。培养 4 周左右,表达 Pre 的神经元轴突穿过微通道与另一侧表达 Post 的神经元接触,形成突触后即可在突触间隙发出绿色荧光。可在培养基中加入神经营养因子或药物,体外动态观察生理、病理刺激对突触结构的影响。

【材料】 实验动物为孕 17 d ICR 小鼠;Microfluidic Chamber 购自 Xona Microfluidics 公司,货号为 RD450;mGRASP 基因由 Dr. Jinhyun Kim 惠赠。

【可行性】 在 Microfluidic Chamber 中进行神经元原代培养为已掌握技术;mGRASP 蛋白已在细胞中表达,能检测到绿色荧光,证明实验可行。