

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