

hypertension(SIH) and explore the role of angiotensin type 2 receptor in the pathogenesis of SIH. Methods 44 rats were randomly divided into control (n=20) and stress groups(n=24). The hypertension model was established by combining noise and foot-shock stresses. After the end of modeling, NE release in the hypothalamus by electrical stimulation in locus coeruleus was studied and NE signal was recorded by carbon fiber electrode. The peak value, the time to peak and half-life period of NE signal in both group rats were analysed. Results The peak value of NE signal in the hypothalamic followed by electrical stimulation in locus coeruleus in SIH rats were more than in controls($P<0.01$). Intraperitoneal injection of PD123,319(AT2 receptor antagonist) potentiated electrical stimulation in locus coeruleus induced NE release in the hypothalamus in SIH rats and elevated blood pressure ($P<0.05$), whereas intracerebroventricular injection of CGP42112 (AT2 receptor agonist) inhibited the NE release and reduced the heart rate ($P<0.05$). Conclusions Combining noise and foot-shock stresses increased the secretion of NE in the hypothalamus followed by electrical stimulation in locus coeruleus in rats. Angiotensin type 2 receptor plays an inhibition effect on NE release in hypothalamus in SIH rats. These findings suggest that angiotensin type 2 receptor can be a pharmacology target for treatment of SIH. Keywords: stress-induced hypertension; rats; locus coeruleus; hypothalamus; AT2 receptor;

P15-21: 心理应激对大鼠主动脉内皮型一氧化氮合酶的影响, 黎静

心理应激对大鼠主动脉内皮型一氧化氮合酶的影响

谢露, 黎静, 杨晓梅, 张星

E-mail: xielu8282@163.com

目的: 心理应激 (Psychological stress, PS) 引起血管内皮细胞损伤, 构成了一个独立的心血管疾病危险因素, 但 PS 致内皮功能障碍的机制仍未明了。我们先前研究证实 PS 引起大鼠内皮依赖性血管舒张功能降低, 本研究观测 PS 状态下血管内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 蛋白表达和其活性调控位点丝氨酸 1177 (Ser1177) 及苏氨酸 495 (Thr495) 磷酸化水平的改变, 明确 PS 对 NO/eNOS 系统的负性影响。方法: 选择健康成年 SD 大鼠, 将大鼠随机分为对照组和模型组 (每组 10 只大鼠, 雌雄各半), 采用随机喂水/空瓶刺激法建立心理应激大鼠模型, 造模结束后采用旷场试验法进行行为学评分; 采用 ELISA 法检测血浆应激激素肾上腺素 (adrenaline, Adr) 和皮质醇 (cortisol, COR) 水平、内皮细胞损伤标志物 vWF 因子水平、内皮源性舒张因子一氧化氮 (nitric oxide, NO); 采用蛋白印迹方法检测大鼠胸主动脉 eNOS 蛋白表达、eNOS Ser1177 及 eNOS Thr495 磷酸化情况。结果: 与对照组比较, 模型组大鼠行为学垂直得分、水平得分及总分均增高 (P 均 <0.05); 血浆 COR、Adr、vWF 水平升高 (P 均 <0.05); NO 水平降低 (P 均 <0.05); 模型组胸主动脉 eNOS 蛋白表达量和 eNOS 正性调控位点 Ser1177 磷酸化水平明显减低 ($P<0.05$), 而 eNOS 负性调控位点 Thr495 磷酸化水平明显升高 ($P<0.05$)。结论: PS 使 NO 血浆水平降低, 与减少 eNOS 蛋白表达相关; PS 还能通过上调负性调控位点磷酸化水平和下调正性调控位点磷酸化水平使 eNOS 活性降低, 提示 PS 可引起 NO/eNOS 系统功能损伤。

Keywords: 心理应激; 内皮型一氧化氮合酶; 一氧化氮; 内皮细胞; 大鼠;

P15-22: CIRP 对低温下大鼠海马神经元的细胞保护作用研究, 李静辉

CIRP 对低温下大鼠海马神经元的细胞保护作用研究

李静辉¹, 孟宇¹, 李云龙¹, 张雪¹, 贺军¹, 杨焕民¹, 李鹏¹, 李士泽^{1,2}

1. 黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 大庆 163319

2. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 大庆 163319

E-mail: lishize1@sina.com

通过流式细胞技术检测细胞凋亡和透射电镜扫描后观察到低温、亚低温处理后神经元凋亡的数量明显下降, 神经元细胞内超微结构相对保持完整。实时定量 PCR 检测信号传导通路的基因表达分布结果显示: 低温 29℃、亚低温 32℃ 及过表达 CIRP 组、CIRP 表达沉默组 12h 处理后与正常 37℃ 对照组基因表达情况有明

显差异。数据处理分析过程当中发现:过表达 CIRP 与亚低温 32℃ 12h 处理后存在着一些共同变化的因子,并且部分因子在进行 RNA 干扰 CIRP 表达并 32℃ 12h 处理之后未发生相应变化。Western blot 检测结果发现:对海马神经元进行低温 29℃、亚低温 32℃ 12h 处理后目的蛋白 CIRP 表达均显著升高, p-ERK1/2 表达水平也随之升高, Caspase-3 等表达有不同程度的降低。RNA 干扰 CIRP 表达并 32℃ 12h 处理后各因子均未见明显变化。

Keywords: CIRP; 亚低温; 海马神经元; 细胞保护;

P15-23: 冷诱导 RNA 结合蛋白 (CIRP) 慢病毒过表达载体的构建及病毒包装与滴度测定, 李静辉

冷诱导 RNA 结合蛋白 (CIRP) 慢病毒过表达载体的构建及病毒包装与滴度测定

李静辉¹, 孟宇¹, 贺军, 李云龙, 张雪, 杨焕民, 李玉恒, 计红, 李士泽

1. 黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 大庆 163319

E-mail: lishize1@sina.com

构建 CIRP 慢病毒过表达慢病毒载体, 并对其进行了病毒包装、鉴定与滴度测定。为进一步研究 CIRP 功能提供基础工具。本研究从 4℃冷处理 8h 的 SD 大鼠睾丸组织中获得 CIRP 的 cDNA 序列测序后, 将其克隆入 LV5 质粒中, 经双酶切及测序鉴定; 利用脂质体将鉴定的阳性重组 LV5-CIRP 表达载体、pGag/Pol、pRev、pVSV-G 三个质粒共转染到 HEK-293T 细胞, 72h 收获上清, 包装产生慢病毒。将所得病毒悬液梯度稀释后感染 293T 细胞, 检测病毒滴度。经琼脂糖凝胶电泳鉴定、PCR 鉴定、酶切及测序结果证明成功构建了 LV5-CIRP 重组质粒, 序列比对与设计序列符合率 100%, 并成功的包装成慢病毒, 病毒滴度为 6.30×10⁸TU/mL。本实验成功构建 CIRP 慢病毒表达载体并完成了慢病毒包装及滴度的测定, 为今后的研究提供了基础工具。

Keywords: 冷诱导 RNA 结合蛋白; 慢病毒; 过表达; 病毒包装;

P15-24: 西洋参茎叶总皂苷对缺血/再灌注大鼠心肌线粒体膜电位及细胞凋亡的影响, 李冬

西洋参茎叶总皂苷对缺血/再灌注大鼠心肌线粒体膜电位及细胞凋亡的影响

李冬¹, 刘蜜², 陶天琪², 宋丹丹², 刘秀华², 史大卓³

1. 北京中医药大学, 北京 100029

2. 中国人民解放军总医院病理生理学研究室, 北京 100853

3. 中国中医科学院西苑医院心血管病中心, 北京 100091

E-mail: dongdong871103@163.com

目的: 研究西洋参茎叶总皂苷 (Panax quinquefolium saponin, PQS) 对大鼠缺血/再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤后心肌细胞凋亡的影响, 并从线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, $\Delta\Psi(m)$) 及线粒体凋亡通路探讨其可能机制。方法: 健康雄性 SD 大鼠 90 只, 随机分为假手术组 (sham)、模型组(I/R)、PQS (200mg·kg⁻¹·d⁻¹, 灌胃 6 周)+模型组(PQS+I/R)、环孢霉素 A 组(CsA)、环孢霉素 A (10mg·kg⁻¹, 再灌前 10 min 腹腔注射)+模型组(CsA+I/R)、PQS+环孢霉素 A+模型组 (PQS+CsA+I/R), 各组 n=15。除 Sham 组和 CsA 组大鼠开胸后穿线不结扎外, 其余各组大鼠常规麻醉后, 结扎 LAD 30min, 再灌注 120min 复制 I/R 模型。比色法测血清乳酸脱氢酶(LDH)含量, TTC 和伊文思蓝双染法测心梗面积, 原位缺口末端标记法(TUNEL)测心肌细胞凋亡, Western blotting 测凋亡相关蛋白表达。用 JC-1 染色后在激光共聚焦显微镜和荧光酶标仪下测 $\Delta\Psi(m)$ 水平。结果: 与 sham 组比较, I/R 组血清 LDH 含量和细胞凋亡率分别高 1.04 倍和 6.04 倍(P<0.05), 心梗面积增加 40.2%(P<0.05); 与 I/R 组相比, PQS+I/R 组、CsA+I/R 组、PQS+CsA+I/R 组血清 LDH 低 38.2%、31.9%、39.3%, 心梗面积缩小 50.3%、38.7%、38.4%, 心肌细胞凋亡率低 40.7%、46.4%、39.1% (均 P<0.05)。Western blotting 结果示, 与 sham 组比较, I/R 组心肌 Bcl-2 蛋白表达量低 64.1%, Bax 高 3.1 倍, 胞浆 Cytochrome c 及 cleaved-caspase-3 蛋白表达高 1.74 倍和 2.6 倍(均 P<0.05); 与 I/R 组比较 PQS+I/R 组、CsA+I/R 组、PQS+CsA+I/R 组心肌 Bcl-2 高 1.9、1.8、2.0 倍, Bax 低 46.3%、44.6%、48.7%(P<0.05), 胞浆 Cytochrome