

第一页为封面页

参赛队员姓名： 袁凌珂

中学： 南开中学

省份： 重庆市

国家/地区： 中国

指导教师姓名： 陈盛斌

论文题目： PM2.5 对心脏结构功能的影响

第二页为论文摘要（包括论文选题背景的简要介绍、在选题上和研究上的亮点等）

论文题目：大气细颗粒污染物 PM2.5 对心脏结构功能的影响

摘要：目的：空气质量影响人体健康，近年有调查数据表明 PM2.5 升高引起人群心血管疾病发病率和死亡率明显增加，所以有必要研究 PM2.5 对心血管系统的影响，分析 PM2.5 影响心功能的机制，为人群疾病防治工作奠定基础。**方法：**在市区采集 PM2.5，选取雄性 Wistar 大鼠 40 只作为实验对象，设置正常对照组和 PM2.5 低浓度组（PM2.5 剂量为 1.0mg/只）、PM2.5 中浓度组（PM2.5 剂量为 3.0mg/只）、PM2.5 高浓度组（PM2.5 剂量为 8.0mg/只），每组 10 只 Wistar 大鼠。采用气管滴注法进行 PM2.5 染毒，观察各组大鼠心肌组织结构变化、血清心肌肌钙蛋白 T（cTnT）水平，同时检测心肌 IL-6、TNF- α 细胞因子的表达水平，分析机体肺灌注 PM2.5 后心血管系统的炎性反应和心脏功能变化，从而了解 PM2.5 对心血管系统的毒性效应及其可能机制。**结果：**大鼠 PM2.5 染毒后，各组实验染毒组大鼠心肌细胞水肿程度加深，心肌纤维波浪状排列，形态异常；染毒组大鼠血清 cTnT 水平明显高于对照组，且与 PM2.5 浓度水平呈正相关，PM2.5 高浓度组心肌肌钙蛋白 T 明显高于中浓度和低浓度 PM2.5 组，中浓度和低浓度 PM2.5 组无统计学差异。实验染毒组心肌组织 IL-6、TNF- α 的表达水平也比正常对照组明显升高，且与 PM2.5 浓度水平相关。**结论：**PM2.5 引起 Wistar 大鼠心脏组织结构损伤，心血管系统出现明显的炎性反应，大鼠心肌功能出现损伤，提示 PM2.5 可能通过炎性反应损伤机体心血管系统，雾霾可能是诱发心血管疾病的重要原因。

选题及研究亮点：我国大气污染比较严重，目前已有较多关于 PM2.5 对呼吸系统损伤的报导，但还缺乏 PM2.5 对心脏功能影响的研究，该项目为国内外首次研究 PM2.5 不同浓度对心肌细胞结构、炎性因子及心脏功能影响，并首次提出 PM2.5 可能是诱发炎性因子增加，从而影响心肌细胞结构及功能的重要原因。

第三页为论文英文摘要（如果是中文论文，此页为英文摘要。否则，留空白。）

Title: Effects of different concentration PM2.5 on heart tissue and function.

Abstract

Objective: To study the effects of PM2.5 on the cardiovascular system, and analysis the mechanism of the effect. **Methods:** The atmospheric PM2.5 was collected by a PM2.5 sampler. 40 wistar rats were randomly divided into four groups: control group, low concentration PM2.5 group (1.0mg/ rat), medium concentration PM2.5 group (3.0 mg/ rat), high concentration PM2.5 group (8.0 mg/ rat). Rat heart tissue were observed by HE staining, the cTnT level of sera and IL-6, TNF- α expression levels of myocardium were analysed. **Results:** The edema and morphologic abnormality of myocardium were found after the rats were exposed to PM2.5. Compared with the control group, the expression of cTnT, IL-6, TNF- α in PM2.5 exposure groups were higher, the IL-6, TNF- α expression levels were positive correlation with PM2.5 concentration. **Conclusion:** Pm2.5 injury the cardiovascular throughout the inflammatory reaction.

[key words]: PM2.5, inflammatory factor, cardiovascular injury biomarker

第四页为创新性申明

本参赛团队声明所提交的论文是在指导老师下进行的研究工作和取得的研究成果。尽本团队所知，除了文中特别加以标注和致谢中所罗列的内容以外，论文中不包含其他人或本团队已经发表或撰写过的研究成果。若有不实之处，本人愿意承担一切相关责任。

参赛团队签名：

日期：

论文题目：大气细颗粒污染物 PM2.5 对心脏结构功能的影响

论文正文：

背景：我国大气污染比较严重，目前国内外已有较多关于 PM2.5 对呼吸系统损伤的研究报道^[1]，近三年国内外数据显示，PM2.5 与心脏病死亡率有明显关系^[2]，但 PM2.5 是否引发心脏病，引发的机理如何还不清楚。大气中的颗粒物分为两类：PM10(空气动力学直径小于 10 μm 的颗粒)、PM2.5 (空气动力学直径小于 2.5 μm 的颗粒)。PM2.5 也称细颗粒物，是构成霾的主要成分，对人体的伤害最大，是导致雾霾天气的“罪魁祸首”^[3]。PM2.5 颗粒物表面吸附有大量的有毒有害物质且能较长时间停留在空气中，通过呼吸停留在肺泡，并可通过肺换气到达其他器官^[4]。PM2.5 对肺的伤害比较明显、直接，可以直接进入支气管,影响机体肺部的气体交换,造成呼吸系统损伤 ,如咳嗽、肺功能降低、慢性支气管炎、呼吸困难等，PM2.5 对呼吸系统的损伤机理目前已有较多研究^[5]。近年来数据表明 PM2.5 引起人群心血管疾病发病率和死亡率明显增加，如引发缺血性心脏病、充血性心衰、心律失常等，但 PM2.5 引发心血管疾病的机理不清，所以有必要研究 PM2.5 对心脏组织结构和功能的影响。

1 材料与方法

1.1 一般材料 40 只健康雄性 Wistar 大鼠购买于 XX 医科大学实验动物中心，体重(200.25 \pm 14.12) g。将 40 只大鼠随机分成 4 组(n = 10)：(1) 正常对照组；(2) PM2.5 低浓度组(PM2.5 悬液为 1.0mg/0.25ml)；(3) PM2.5 中浓度组(PM2.5 悬液为 3.0mg/0.25ml)；(4) PM2.5 高浓度组(PM2.5 悬液为 8.0mg/0.25ml)，于室温(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 40% ~ 60%，空白对照饲养 7 d，期间给予充足的水和饲料。

1.2 试剂与设备 TNF α 、IL-6 ELISA 试剂盒购买于达科为生物科技有限公司，心肌肌钙蛋白 T 检测试剂盒(cTnT) 来源于罗氏诊断公司。Mini Vol PM2.5 便携式 PM2.5 采样器，47 mm 玻璃纤维滤膜来自于美国 Air Metrics 公司。肌钙蛋白 T 采用 Cobas e601 电化学发光免疫分析仪检测。

1.3 方法

1.3.1 PM_{2.5} 采集和处理 利用PM_{2.5} 采样仪采集2016 年1 月~ 2 月大气PM_{2.5}, 离地5m 以100 L/min 流量连续采集于玻璃纤维滤膜上, 剪成1cm² 大小的小块, 置于去离子水中超声震荡20min, 重复3 次, 功率500W 洗脱颗粒物。6 层纱布过滤, 除去玻璃纤维滤膜。将滤过液于4℃, 12000 r /min, 离心20min, 收集下层沉淀液, 真空冷冻干燥, 于-20℃ 避光保存。PM_{2.5}染毒前, 利用生理盐水(normal saline, NS) 将PM_{2.5} 制成悬液, 超声振荡15 min, 使悬液混匀并高压灭菌。

1.3.2

PM_{2.5} 染毒 适应性饲养后, 4 组大鼠随机接受不同的处理因素。实验染毒组处理流程: 乙醚麻醉大鼠, 通过气管滴注给予实验组无菌PM_{2.5} 悬液(0.25 ml) 染毒, 间隔48 h, 连续染毒3 次; 正常对照组乙醚麻醉大鼠, 给予单纯无菌生理盐水每只每次0.25 ml。

1.3.3 大鼠心脏组织学结构观察 将各组大鼠麻醉后取心脏, 10%福尔马林固定, 常规脱水、透明, 石蜡包埋, 切片, HE染色, 光镜下观察。

1.3.4 心肌组织匀浆、血清制备及指标测定 末次PM_{2.5} 暴露48 h 后, 腹腔注射水合氯醛(5%, 0.6 mL /kg) 处死大鼠, 立即摘取心脏并称重, 按照1: 9 生理盐水利用匀浆器在冰浴中将其制成10%组织匀浆, 4℃ 3 000 r /min 离心20 min, 取上清液分装成2 管, 保存于- 80℃, 分别用于测定组织匀浆中白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 。分离腹主动脉, 从腹主动脉末端采血约5 mL, 血液标本4 ℃, 3 000r/min 离心10 min, 取上清, 置于- 20 ℃ 冰箱中保存, 待测, 按试剂盒说明检测cTnT。具体步骤严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 统计学处理 实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$) 表示。所得数据采用SPSS 20.0 软件包进行析因设计的单变量方差分析; 多个样本均数比较采用单因素方差分析; 两组间比较采用配对样本t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PM_{2.5} 染毒大鼠模型的制备 PM_{2.5} 采样仪采集到足够量的 PM_{2.5}, 气管滴

注大鼠制作 PM2.5 模型，各组大鼠状态良好。

2.2 不同浓度 PM2.5 对 Wistar 大鼠心脏形态结构的影响 正常对照组心肌纤维平行排列，横纹清晰，细胞核椭圆形，位于细胞中央（图 2a）；随着 PM2.5 染毒剂量加深，大鼠心肌细胞逐渐水肿，心肌纤维排列不整齐，高浓度 PM2.5 组心肌纤维呈波浪状排列，细胞间隙增宽（图 2b,2c,2d）

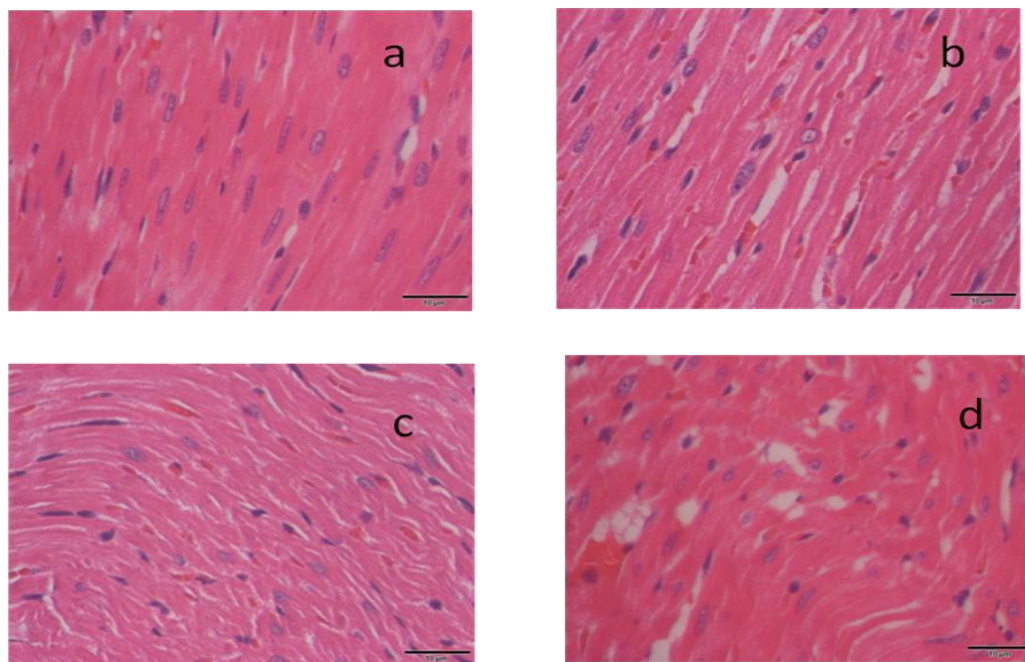


图 1：大鼠心脏组织(HE 染色，×40)

a:正常对照组； b:PM2.5 低浓度组； C:PM2.5 中浓度组； d: PM2.5 高浓度组

2.3 不同浓度 PM2.5 对 Wistar 大鼠血清肌钙蛋白 T (cTnT) 水平的影响 肌钙蛋白 T (cTnT) 是心肌损伤的敏感标志物。大鼠 PM2.5 染毒后,各组实验染毒组大鼠血清肌钙蛋白 T (cTnT) 水平明显高于对照组，且与 PM2.5 浓度水平呈正相关，PM2.5 高浓度组心肌肌钙蛋白 T 明显高于中浓度和低浓度 PM2.5 组，中浓度和低浓度 PM2.5 组无统计学差异。结果详见表 1。

表 1：不同浓度 PM2.5 对 Wistar 大鼠心肌肌钙蛋白 T (cTnT) 水平的影响

分组	N(只)	cTnT (ng/L)
正常对照组	10	0.15±0.08
PM2.5 低浓度组	10	1.21±0.18*
PM2.5 中浓度组	10	1.48±0.26*
PM2.5 高浓度组	10	2.14±0.23*#

*: 与正常对照组比较, $P<0.01$; #:与 PM2.5 低、中浓度组比较, $P<0.01$.

2.4 不同浓度PM2.5对Wistar 大鼠心肌组织中TNF- α 、IL-6 表达的影响

成功利用匀浆器在冰浴中将心肌组织制成10%组织匀浆。实验染毒组心肌组织IL-6、TNF- α 的表达水平比正常对照组明显升高,且与PM2.5浓度水平相关。具体结果见表2。

表2: PM2.5对Wistar 大鼠心肌组织中炎症因子TNF- α 、IL-6 表达的影响

分组	N(只)	TNF- α (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
正常对照组	10	206.71 \pm 19.72	85.16 \pm 12.42
PM2.5 低浓度组	10	254.62 \pm 20.12*	108.68 \pm 20.58*
PM2.5 中浓度组	10	298.09 \pm 31.28* Δ	132.72 \pm 22.14* Δ
PM2.5 高浓度组	10	346.28 \pm 35.17* Δ #	148.21 \pm 25.68* Δ #

*: 与正常对照组比较, $P<0.01$; Δ :与PM2.5低浓度组比较, $P<0.05$; #:与PM2.5低、中浓度组比较, $P<0.01$.

3 讨论

我国雾霾天气日益严重,不仅影响了生态环境,也对人类健康造成了很大的伤害^[6-8]。雾霾的主要成分是PM2.5,其颗粒直径小,包含的物质成份复杂,形状不规则,有强烈富集作用。PM2.5是控制雾霾天气的主要指标。

大气PM2.5主要在交通、制造、能源等行业中的高温燃烧过程中产生,可经呼吸直达肺泡,沉积于肺泡表面,并可透过呼吸屏障进入循环系统,随血流而作用于心血管系统。PM2.5对心血管疾病影响的机制虽不明了,但总结近年来的研究,可能引起心血管内皮细胞损伤,引起炎症细胞浸润,炎症因子增加,致心脏组织慢性炎症,最终损害心脏细胞结构及功能^[9-10],为验证这一假设,我们检测了心肌组织炎症因子TNF- α 、IL-6,并检测了心肌损伤标志物cTnT,观察不同浓度PM2.5对心脏炎症反应和心肌细胞的影响。

TNF- α 、IL-6都是由单核巨噬细胞、自然杀伤细胞等分泌的细胞因子,是介导炎症反应的重要介质^[11]。TNF- α 是炎症中重要的启动因子,并能调节IL-6等其它细胞炎症因子的释放,导致组织损伤。IL-6是急性炎症反应的主要标志

之一，也是一种多细胞来源并具有复杂生物学功能的细胞因子，具有调节免疫应答、参与机体炎症反应和抗感染的作用^{【12】}。研究表明，PM2.5使心肌细胞炎症因子增加，引起炎症发生。从表2 研究结果可以看出，PM2.5低、中、高浓度组与正常对照组比较，在染毒大鼠TNF- α 、IL-6 表达水平的影响方面，差异均有统计学意义($P < 0.05$)，且随着PM2.5浓度的增加，提示雾霾天气时，大鼠心肌组织可产生炎性刺激效应。

心肌细胞损伤后，膜的完整性和通透性改变，使细胞内的大分子物质逸出，这些大分子物质被称为心肌损伤标志物，肌钙蛋白cTnT 便是其中一种标志物，它仅存在于心肌细胞中，心肌坏死时释放入血，是心肌损伤最特异的诊断指标。本研究结果提示PM2.5可引起心肌细胞损伤，使cTnT增加，增高程度与PM2.5浓度呈正相关。

本研究提示，PM2.5可能引起心血管系统炎症因子表达增加，对心肌组织产生炎性刺激，从而导致心脏细胞结构和功能受到损伤，且损伤程度与PM2.5浓度相关。该研究为国内外首次研究PM2.5不同浓度对心肌炎症因子影响及心脏功能影响，并首次提出PM2.5可能诱发炎症因子增加，是心肌细胞损伤、影响心脏功能的重要原因，该研究处于国内领先水平。炎症及免疫损伤被认为是PM2.5影响人体健康的中心机制之一。但当前人们对PM2.5致炎症及免疫损伤的细胞与分子机制的了解还相当有限，如PM2.5对机体免疫细胞及免疫功能的影响仍需进一步深入研究。本次研究利用短期实验从生物学角度说明了PM2.5细颗粒物对心脏的炎性损伤，因此为了保护人群健康，我国需要尽快采取有效措施治理细颗粒物污染^{【13】}。

此页开始为参考文献部分

参考文献:

1. 曹德康, 苏建忠, 黄以哲, 等. PM_{2.5}与人体健康研究现状 [J]. 武警医学, 2012, 23(9): 803 – 805.
2. Rivero DHRF, Sassak Ci, Lorenzi-Filho G, et al. PM_{2.5} induces acute electrocardiographic alterations in healthy rats[J]. Environmental Research .2005,99: 262 – 266.
3. Wiseman CLS, Zereini F. Characterizing metal(loid) solubility in airborne PM₁₀, PM_{2.5} and PM₁ in Frankfurt, Germany using simulated lung fluids. Atmospheric Environment [J]. 2014 ,89 :282-289.
4. Mat éT, Guaita R, Pichiule M, et al. Short-term effect of fine particulate matter (PM_{2.5}) on daily mortality due to diseases of the circulatory system in Madrid (Spain)[J]. Science of the Total Environment .2010,408: 5750 – 5757.
5. 翟文慧, 黄志刚, 冯聪等. 大气细颗粒污染物PM_{2.5} 浓度及对肺上皮细胞炎性因子的影响, 现代生物医学进展, 2015, 15 (6) : 1028-1032。
6. Ma XY , Wang JY, Yu FQ, et al. Can MODIS AOD be employed to derive PM_{2.5} in Beijing-Tianjin-Hebei over China[J]? Atmospheric Research, 2016,181: 250 – 256.
7. Li HM , Wang QG , Yang M, et al. Chemical characterization and source apportionment of PM_{2.5} aerosols in a megacity of Southeast China [J]. Atmospheric Research ,2016 ,181: 288 – 299.
8. Fang D, Wang QG, Li HM, et al. Mortality effects assessment of ambient PM_{2.5} pollution in the 74 leading cities of China [J]. Science of the Total Environment,2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.248>.
9. Ruijin Li a, Xiaojing Koua, Hong Genga, et al. Mitochondrial damage: An important mechanism of ambient PM_{2.5} exposure-induced acute heart injury in rats[J]. Journal of Hazardous Materials [J].2015 ,287 :392 – 401.
10. Bekki K, Ito T, Yoshida Y, et al. PM_{2.5}collected in China causes inflammatory and oxidative stressresponses in macrophages through the multiple pathways[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology 45 (2016) 362–369.
11. 徐东群, 黄宁华, 王秦, 等. 环境细颗粒物亚慢性染毒对大鼠炎症损伤及免疫功能的影响研究. 卫生研究, 2008, 37: 423-428。
12. 杨竞路, 吕吉元, 张明升, 等. 血红素氧合酶-1在空气细颗粒物PM_{2.5}致人脐静脉内皮细胞损伤过程中作用的实验研究. 中华心血管病杂志, 2013, 41: 955-961。
13. 孙志豪, 崔燕平. PM_{2.5}对人体健康影响研究概述. 环境科技, 2013, 26(4) : 75 – 78。

此页开始为简历部分

如果有必要，最后可以列出团队成员和指导老师的简历。

团队成员

姓名：袁凌珂

出生日期：2000.08.12

简历：

2006.9—2012.6 重庆市人和街小学，以“优秀毕业生”毕业

2012.9—2015.6 重庆市南开中学初中部，中考成绩位列重庆市前 50 名

2015.9—至今 重庆市南开中学高中部

近五年获得的主要荣誉：

2016 年重庆市青少年科技创新大赛二等奖；

2016 年科技创新获重庆大学专项奖。

2016 年重庆市中学生高中化学竞赛一等奖；

2014 年重庆市第三届中学生科技论文大赛二等奖；

2014 年重庆市南岸区“四好少年”；

2014 年重庆市南开中学“优秀学生干部奖”；

2013 年重庆市南开中学“优秀少先队员”；

2013 年重庆市南开中学“优秀学生干部奖”；

2011 年“亚洲杯”奥数三等奖；

2011 年“希望杯”奥数三等奖；