DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.04.032
第26卷第4期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 4
2004年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2004

文章编号:1000-5404(2004)04-0359-03

综述

缺血缺氧预处理中的细胞信号传递

Cellular signal transduction in ischemic/anoxic preconditioning

祝建勇 综述,柳君泽 审校 (第三军医大学高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室,全军高原医学重点实验室,重庆 400038)

预先反复短暂缺血可以减轻随后持续、严重缺血所造成的心肌损伤,称之为缺血预处理(ischemic preconditioning, IPC)。不仅如此,小白鼠经短暂缺氧后,其致死性缺氧耐受力显著提高。随后人们对预处理机制的深入研究,人们发现预处理的保护效应不仅局限于心、脑,在肝脏、肾脏、肺脏、胃肠以及骨骼肌、视网膜等组织器官的缺血/缺氧预处理(ischemic/anoxic preconditioning, IPC/APC)也起到了明显的保护作用,并观察到其发生机制与腺苷等内源性介质释放增多、自由基产生、ATP敏感的K^+通道开放等多种因素有关[1~4]。然而,细胞外的预处理信号如何传至胞内引起胞浆乃至胞核内的反应尚未完全阐明。大量研究表明,蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)依赖的细胞信号传导在IPC/APC中发挥着重要作用[5,6],现就PKC依赖的IPC/APC细胞信号传导机制加以综述。

1 缺血/缺氧预处理信号的跨膜传递与第二信使生成

IPC/APC可以引起许多内源性物质,如腺苷、儿茶酚胺、缓激肽、血管紧张素Ⅱ、前列腺素等释放增多,它们与相应的受体,如腺苷A_1、A_3受体,α_1-肾上腺素能受体、缓激肽B_2受体、血管紧张素Ⅱ受体、M_2-胆碱能受体、阿片受体等结合并激活之[7,8]。这些受体均属于G蛋白偶联受体,活化的受体由不同的G蛋白转导预处理信号,而腺苷A_1受体和M_2-胆碱能受体可能与同一种百日咳毒素敏感的G蛋白相偶联[7]。

G蛋白转导的预处理信号通过增加磷脂酶C(phospholipase C, PLC)的活性,促使胞膜中4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(PIP_2)分解为三磷酸肌醇(IP_3)和甘油二酯(DAG)。IP3使细胞内钙离子浓度升高,DAG活化蛋白激酶C,由钙离子和PKC诱发一系列预处理效应。

但是腺苷激活A_1受体进而偶联PLC不足以解释PIP_2裂解产物的显著增多,因为PLC降解PIP_2仅能产生少量的DAG,维持时间也很短;而磷脂酶D(phospholipase D, PLD)水解磷脂酰胆碱可以产生大量的DAG,持续时间也较长。在家兔心脏缺血/再灌注(I/R)模型中应用PLC特异性抑制剂U-73122发现,U-73122对未经预处理的心脏有明显的保护作用,但对预处理的心脏却没有累积的保护效果,心肌梗死面积反而有所增加,提示PLC降解PIP2的信号转导通路可能在缺血预处理中受到抑制,同时也提示了生成DAG的其他途径[9]。

PLD是另一种重要的信号转导物质,激活后可促使细胞膜中磷脂酰胆碱水解为胆碱和磷脂酸,后者经磷脂酸酯酶催化生成DAG,进而激活PKC。研究表明,PLD激活剂—油酸钠可显著缩小心梗面积,细胞存活率也明显提高,而磷脂酸酯酶抑制剂—普萘洛尔则能完全消除这种预处理的保护作用[10];在离体灌流的大鼠心肌模型上,I/R可以降低心室心律失常的发生率,同时PLD被激活,而特异的抗PLD抗体阻断了PLD的活化,进而消除了IPC降低室性心律失常发生率的作用,表明PLD在IPC中起到重要作用。进一步研究表明,选择性A_1腺苷类似物(R)-PIA能显著增强PLD的活性,其它与PKC偶联的受体激动剂,如NA、ET-1和卡巴胆碱等也能激活PLD,模拟出IPC的保护作用[11],提示腺苷受体与PLD在IPC的信号转导中相偶联。因此,PLD诱发的代谢通路可能是预处理中信号转导的一个重要旁路途径。

第二信使IP_3通过存在于内质网膜外侧的特异性IP_3受体(IP_3R)起作用,而后者正是与IP_3敏感性钙通道相偶联。IP_3R被激活后,迅速开启钙通道,Ca^{2+}从内质网进入胞浆。另外,IP_3还能直接或间接介导胞外Ca^{2+}内流,但机制较为复杂,尚无统一认识。另一种第二信使DAG可以增加PKC对Ca^{2+}和磷脂酰丝氨酸(PS)的亲和力和敏感性,并刺激PKC的转位和活化,是PKC激活的主要物质[12]。在家兔IPC模型中测定磷脂酸和DAG的含量,发现磷脂酸无明显改变,而DAG则在IPC后再次缺血时显著增多,为IPC中PKC通路激活提供了直接证据[13]。

2 蛋白激酶C与缺血/缺氧预处理中的信号传导

PKC是一类依赖于Ca^{2+}、DAG或PS的蛋白激酶,催化蛋白质中丝/苏氨酸残基磷酸化,是细胞肌醇磷脂信号传递通路中的关键环节。Ytrehus和Webester等分别首次在家兔的IPC/APC模型中证实了PKC的作用。近年研究表明,PKC的激活、转位介导了预处理效应,而其抑制剂则能消除此种保护效果,故而有人提出PKC介导的预处理中蛋白磷酸化可能是预处理细胞保护作用的重要环节,早期的PKC活化即在整个预处理中起点键作用[5]。

2.1 参与缺血/缺氧预处理的PKC亚型及其激活与转位

一般认为,胞浆中的PKC呈无活性形式,$[Ca^{2+}]i$升高可使PKC转移到胞膜上成"待激活态"。预处理中PLC/PLD介导IP_3

作者简介:祝建勇(1978—),男,湖北省孝感市人,博士研究生,医师,主要从事缺血缺氧机制方面的研究。电话:(023)68752339-8205

收稿日期:2003-03-11;修回日期:2003-08-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

和DAG的胞浆浓度升高，前者使胞浆中钙库释放Ca^{2+}和胞外Ca^{2+}内流致[Ca^{2+}]i升高，为蛋白激酶C活化提供了良好的条件；后者与PKC结合可增加PKC与磷脂和Ca^{2+}的亲和力而促使其活化。PKC的激活伴随着相关亚型从胞浆至胞膜或从溶解型向颗粒型的转位。

目前已发现11种PKC亚型，分别为α、β、γ、δ、ε、ζ、η、θ、ι、μ、λ，根据其对Ca^{2+}、DAG和PS3种激动剂的反应，可分为传统型PKC：α、β(β_1/β_2)和γ；新型PKC：δ、ε、ζ和η；不典型PKC：ι、μ、λ和θ。Ping等[14]用免疫印迹技术测定了PKC同工酶在预处理中的转位，发现缺血预处理并没有改变PKCβ、μ、δ在胞浆和胞膜中的比例；在冠脉阻断/再灌注(O/R)后，PKCα、γ、ι、λ、ζ在胞膜中的比例稍有升高，但不具有统计学显著性，而PKCε在胞膜比例呈剂量依赖性增加，即随O/R重复次数的增多ε的转位也随之增多。与PKCε呈剂量依赖性不同的是，PKCη的转位则不依赖O/R的次数。研究还表明，在IPC中，各PKC亚型的含量均保持恒定[15]。因此推测，O/R可选择性地诱导PKCε和η的移位，对24 h后的心肌顿抑具有抵抗作用。Wang等[16]也发现PKCε的活化和转位是心肌"延迟保护窗"效应的启动剂。在将小鼠的PKCε等位基因敲除后，IPC减小心梗面积的保护效应即消失，表明在IPC中PKCε的作用至关重要[17]。

而关于缺氧预处理，Carini等[18]将分离的肝细胞经低氧/复氧(H/R)处理后，发现H/R可以降低肝细胞死亡率达35%，这与PKCε和η的选择性活化密切相关。以1%O_2诱导乳鼠心室肌细胞PKCα、δ、ε和λ四种亚型从溶解型向颗粒型转化的同时，仅前3种亚型有显著胞膜转位。PKCα、ε的转位能被PLC阻断剂D609阻断，Ca^{2+}螯合剂-BAPTA能消除PKCα在胞浆和胞膜中的重分布，但对ε亚型无影响，同时发现PLC和Ca^{2+}均参与了APC时PKC的活化，与乳鼠心室肌细胞对缺氧的耐受性有关[19]。

以上研究表明，虽然PKC有多种亚型，但并非所有都参与了预处理时的信号传导，PKCε在缺血与缺氧预处理中均起着重要作用，而PKCη、α和δ也参与预处理时的信号传导。

2.2 蛋白激酶C的磷酸化反应及底物蛋白

蛋白激酶C的底物相当广泛，预处理提高了PKC的活性，进而通过催化靶蛋白中丝/苏氨酸残基的磷酸化发挥广泛而复杂的生物学效应。

2.2.1 丝裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases，MAPKs)

MAPKs家族是一组分布于细胞浆内具有丝氨酸和酪氨酸双重磷酸化能力的蛋白激酶，p38-MAPK是近来发现的家族成员之一，分子质量为38×10^3，在缺血/缺氧预处理中可被强烈激活，其第182位酪氨酸磷酸化水平比未经IPC的兔心肌高出数倍，这一效应能被腺苷A_1受体阻滞剂8-SPT所阻断。进一步研究表明，特异性p38拮抗剂SB-203580可完全阻断IPC对心肌的保护作用，而激活剂—茴香霉素(anisomycin)则能模拟IPC的心肌保护效应，提示182位酪氨酸磷酸化与IPC相关，它的激活可能是预处理信号传导中的重要一步[20]。p38-MAPK活化可磷酸化下游物质MAPKAPK2(MAPK activated protein kinase 2)，最终刺激热休克蛋白27(heat shock protein 27，HSP27)磷酸化，促使F-肌动蛋白丝聚合，阻止缺血时肌动蛋白丝断裂，起到保护心脏正常收缩功能的作用[21]。

近来研究还表明，IPC可快速激活p44和p42-MAPKs。I/R家兔心肌细胞胞核中MAPKs活性明显增强，同时伴有p44-MAPKP和p42-MAPKs从胞浆向胞核的移位。进一步研究表明，PKC抑制剂—白屈菜赤碱(chelerythrine)可完全阻断IPC中MAPKs的活化；而人为选择性地过度表达PKCε，则可诱导p44和p42-MAPKs的活化，这一诱导活化作用可被MEK抑制剂PD-98059所阻断[14]。因此，可以认为PKCε的激活促进了p44/p42-MAPKs活化，后者在提高心肌缺血耐受力中起重要作用。

2.2.2 其它

ATP敏感的K^+通道(K^+ATP通道)广泛存在于动物心肌细胞中，预处理能通过PKC的活化引起该通道的开启，从而缩短单相动作电位时程，减少缺血后期Ca^{2+}内流，降低Ca^{2+}介导的细胞损伤，因而对心肌细胞有保护作用[4~6]。心脏经I/R 24 h后的第二保护窗效应(second window of protection)，可使再缺血时心梗面积缩小71%，但K^+_{ATP}通道阻断剂—优降糖(glibenclamide)或5-Hydroxydecanoate(5-HD)则具有消除这种保护效应的作用[22]，提示这种效应很可能是由肌膜上K^+_{ATP}通道介导的，同时K^+_{ATP}通道阻滞剂也可以阻断预处理降低心律失常发生率的作用[23]，提示K^+_{ATP}通道介导了该保护作用。故认为心脏经短暂的缺氧灌流可能会敏化心肌细胞膜K^+_{ATP}通道，使后者在随后长期缺血中可迅速开放，因此K^+_{ATP}通道可能是预处理的最终效应器之一。

5′-核苷酸酶催化AMP生成腺苷，起到保护缺血心肌的作用。实验发现PKC活化剂PMA可限制心梗范围，同时胞外5′-核苷酸酶活性明显增强，而PKC抑制剂GF109203X则消除该保护作用，提示PMA诱发的预处理效应与PKC介导5′-核苷酸酶磷酸化以及腺苷水平升高有关[24]。

3 结语

综上所述，缺血/缺氧预处理引起许多种内源性物质释放增多，它们分别与相应的G蛋白偶联受体结合并通过G蛋白转导预处理信号，激活PLC/PLD，后者通过DAG和IP_3介导的[Ca^{2+}]i升高促使PKC活化，进而激活K^+_{ATP}通道、MAPKs家族等，实现胞外预处理信号向胞核的传递。预处理中其它信号传递系统的作用以及与PKC依赖的传导通路的相互影响则将预处理信号传递构成一个复杂的立体网络，而核内信号的传递、转录因子的激活以及被诱导基因的表达则是预处理信号中另一重要环节，尚需更深入研究。

关键词：缺血；缺氧；预处理；蛋白激酶C
中图法分类号：R329.2；R459.9 文献标识码：A

参考文献：

[1] Peralta C, Bartrons R, Serafin A, *et al*. Adenosine monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat[J]. Hepatology, 2001, 34(6): 1164—1173.

[2] Pajdo R, Brzozowski T, Konturek P C, *et al*. Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves[J]. Eur J Phar-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

macol, 2001, 427(3): 263—276.
[3] Chien C T, Hsu S M, Chen C F, *et al*. Hypoxic preconditioning reduces ischemia/reperfusion-induced apoptosis cell death in rat kidney[J]. Transplant Proc, 2000, 32(7): 1653—1654.
[4] Ren Z, Yang Q, Floten H S, *et al*. ATP-sensitive potassium channel openers may mimic the effects of hypoxic preconditioning on the coronary artery [J]. Ann Thorac Surg, 2001, 71(2): 642—647.
[5] Gaudette G R, Krukenkamp I B, Saltman A E, *et al*. Preconditioning with PKC and the ATP-sensitive potassium channels: a codependent relationship [J]. Ann Thorac Surg, 2000, 70(2): 602—608.
[6] Nojiri M, Tanonaka K, Yabe K, *et al*. Involvement of adenosine receptor, potassium channel and protein kinase C in hypoxic preconditioning of isolated cardiomyocytes of adult rat[J]. Jpn J Pharmacol, 1999, 80(1): 15—23.
[7] Liem D A, van den Doel M A, de Zeeuw S, *et al*. Role of adenosine in ischemic preconditioning in rats depends critically on the duration of the stimulus and involves both A(1) and A(3) receptors[J]. Cardiovasc Res, 2001, 51(4): 701—708.
[8] Rubaj A, Gustaw K, Zgodzinski W, *et al*. The role of opioid receptors in hypoxic preconditioning against seizures in brain[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2000, 67(1): 65—70.
[9] Tyagi P, Tayal G. Ischemic preconditioning of myocardium[J]. Acta Pharmacol Sin, 2002, 23(10): 865—870.
[10] Powner D J, Wakelam M J. The regulation of phospholipase D by inositol phospholipids and small GTPases[J]. FEBS Lett, 2002, 531(1): 62—64.
[11] Post H, Heusch G. Ischemic preconditioning: Experimental facts and clinical perspective[J]. Minerva Cardioangiol, 2002, 50(6): 569—605.
[12] Ohnuma Y, Miura T, Miki T, *et al*. Opening of mitochondrial K(ATP) channel occurs downstream of PKC-epsilon activation in the mechanism of preconditioning[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 283(1): H440—447.
[13] Gysembergh A, Zakaroff G A, Loufoua J, *et al*. Brief preconditioning ischemia alters diacylglycerol content and composition in rabbit heart[J]. Basic Res Cardiol, 2000, 95(6): 457—465.
[14] Ping P, Zhang J, Qiu Y, *et al*. Ischemia preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms epsilon and eta in the heart of concious rabbits without subcellar redistribution of total protein kinase C activity[J]. Circ Res, 1997, 81(3): 404—414.
[15] Kurkinen K, Busto R, Goldsteins G, *et al*. Isoform-specific membrane translocation of protein kinase C after ischemic preconditioning[J]. Neurochem Res, 2001, 26(10): 1139—1144.
[16] Wang G Y, Zhou J J, Shan J, *et al*. Protein kinase C-epsilon is a trigger of delayed cardioprotection against myocardial ischemia of kappa-opioid receptor stimulation in rat ventricular myocytes[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2001, 299(2): 603—610.
[17] Saurin A T, Pennington D J, Raat N J, *et al*. Targeted disruption of the protein kinase C epsilon gene abolishes the infarct size reduction that follows ischaemic preconditioning of isolated buffer-perfused mouse hearts [J]. Cardiovasc Res, 2002, 55(3): 672—680.
[18] Carini R, De Cesaris M G, Splendore R, *et al*. Signal pathway involved in the development of hypoxic preconditioning in rat hepatocytes[J]. Hepatology, 2001, 33(1): 131—139.
[19] Goldberg M, Zhang H L, Steinberg S F. Hypoxia alters the subcellular distribution of protein kinase C isoforms in neonatal rat ventricular myocytes[J]. J Clin Invest, 1997, 99(1): 55—61.
[20] Takeishi Y, Huang Q, Wang T, *et al*. Src family kinase and adenosine differentially regulate multiple MAP kinases in ischemic myocardium: modulation of MAP kinases activation by ischemic preconditioning[J]. J Mol Cell Cardiol, 2001, 33(11): 1989—2005.
[21] Nakano A, Baines C P, Kim S O, *et al*. Ischemic preconditioning activates MAPKAPK2 in the isolated rabbit heart: evidence for involvement of p38 MAPK[J]. Circ Res, 2000, 86(2): 144—151.
[22] Bernardo N L, D' Angelo M, Okubo S, *et al*. Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart[J]. Am J Physiol, 1999, 276(4 Pt 2): H1323—1330.
[23] Wu Z K, Iivainen T, Pehkonen E, *et al*. Ischemic preconditioning suppresses ventricular tachyarrhythmias after myocardial revascularization[J]. Circulation, 2002, 106(24): 3091—3096.
[24] Sakaguchi T, Sawa Y, Kitakaze M, *et al*. Ecto-5'-nucleotidase plays a role in the cardioprotective effects of heat shock protein 72 in ischemia-reperfusion injury in rat hearts[J]. Cardiovasc Res, 2000, 47(1): 74—80.

（编辑　刘洪娥）

（上接 343 页）

患者左眼接受第 1 次白内障手术时, 通过人工检查法检测角膜表面曲率, 并预计 IOL 度数为 13.26 D, 考虑到患者白内障术前有—3 D 的近视, 这与 13.26 D 的 IOL 比较相符合, 即植入 13 D 的 IOL。令人惊奇的是术后出现了+5 D 难以忍受的远视, 随后置换了增加 8D 的 IOL, 患者获得了满意的裸眼视力。该患者接受右眼白内障手术时, 检查发现右眼角膜表面曲率比左眼大 1.38 D, 眼轴长比左眼小 0.37 mm, 根据上公式右眼预计 IOL 比左眼小 0.77 D, 数值都比较接近, 结合患者意愿尽可能保留术后轻度近视, 即植入同样为 21 D 的 IOL, 术后短期内暂时存在—2.5 D 的近视。根据以上结果, 患者左眼假设适合于计算公式的角膜表面曲率应该是 30 D 左右, 而右眼 33.3 D 左右。由于公式预计的 IOL 度数偏小错误, 将会给患者带来难以承受的远视状态, 修正代入公式的角膜表面曲率或修正代入测得角膜表面曲率的公式显得尤为重要。在国外有研究表明多种方法修正预计 IOL, 如综合 LASIK 术前屈光状态, 角膜接触镜法测量角膜曲率等[2], 在国内, 对于 LASIK 术后的白内障手术, 我们仍需要大量的数据才能得出用于比较准确预计 IOL 的方法。

关键词: LASIK; 白内障/手术; 人工晶体/计算
中图法分类号: R779.63　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Feiz V, Mannis M J, Garcia-Ferrer F, *et al*. Intraocular lens power calculation after laser *in situ* keratomileusis for myopia and hyperopia: a standardized approach[J]. Cornea, 2001, 20(8): 792—797.
[2] Randleman J B, Loupe D N, Song C D, *et al*. Intraocular lens power calculations after laser *in situ* keratomileusis[J]. Cornea, 2002, 21(8): 751—755.

（编辑　陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net