DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.01.006
第22卷第1期 第三军医大学学报 Vol.22, No.1
2000年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)01-0012-03

蛋白激酶C抑制剂对脑缺血大鼠突触体游离钙的影响

陈康宁[1], 董为伟[2] ([1]第三军医大学附属西南医院神经内科, 重庆 400038; [2]重庆医科大学神经病学研究所, 重庆 400041)

提 要 目的:探讨蛋白激酶C(Protein kinase C, PKC)参与神经损伤的机制。方法:采用大鼠全脑缺血模型,观察脑缺血/再灌流后突触体游离钙的变化及PKC的抑制剂灯盏花对突触体游离钙的影响。结果:脑缺血/再灌流可以导致突触体游离钙增加的抑制剂灯盏花可以阻止脑缺血/再灌流导致突触体游离钙增加。结论:PKC参与神经元缺血性损伤可能与其促进钙内流有关。

关键词 钙超载;蛋白激酶C;脑缺血/再灌流
中图法分类号 R743.31;R977.3 文献标识码 A

Effects of protein kinase C inhibitor on intraneuronal free calcium content in rats with cerebral ischemia

CHEN Kang-ning, DONG Wei-wei (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract Objective: To investigate the role of protein kinase C (PKC) in ischemic neuronal injury. Methods: After the model of ischemia/reperfusion was established in male Wistar rats, the changes of activity of PKC and intraneuronal free calcium content were observed. Meanwhile, the effects of Dengzhanhua, the PKC inhibitor, on the two parameters were also observed. Results: Cerebral ischemia/reperfusion resulted in the increase of intraneuronal free calcium content and activation of PKC. Dengzhanhua could prevent this change. Conclusion: PKC plays an important role in ischemic neuronal injury through inducing calcium overload.

Key words calcium overload; protein kinase C; cerebral ischemia/reperfusion

1977年, Takai发现了蛋白激酶C(Protein kinase C, PKC)。其后的研究发现该酶在细胞信号传导中起重要的作用。近年来的研究表明PKC激活参与了神经元的缺血损伤。但是, PKC激活参与神经元缺血损伤的机制尚不清楚。为此, 本研究以大鼠全脑缺血/再灌流模型, 观察脑缺血/再灌流神经元游离钙的变化及PKC抑制剂对上述变化的影响, 旨在探讨PKC激活参与神经元损伤的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

健康Wistar大鼠36只, 随机分成缺血前、缺血20 min、缺血20 min再灌流1、6 h及1、4 d组, 每组动物6只。实验动物由我校实验动物中心提供。

主要试剂:Fura-2/AM从中国医学科学院购得。其他试剂均为国产分析纯。PKC抑制剂灯盏花注射液由云南生物制药厂提供。

1.2 方法

1.2.1 Wistar大鼠全脑缺血模型制作 采用改良的Pulsinelli法[1]。断头取脑,用于钙测定。

1.2.2 突触体内游离钙的测定 参照我们既往的方法[2]可测得突触体内的游离钙(nmol/L)。

1.2.3 PKC活性测定 参照我们既往的方法[3]。

1.2.4 药物干预 用灯盏花按每次4 mg/kg, 腹腔内注射。缺血前15 min及缺血后20 min各给药1次。

1.3 统计学处理

采用Oxstat-Ⅱ进行统计学处理。

2 结果

2.1 大鼠脑缺血/再灌流后突触体游离钙含量的变化

结果见表1。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39670269)
作者简介:陈康宁(1964.8), 男, 四川省雅安市人, 博士, 副主任医师, 副教授, 主要从事脑血管病、神经症方面的研究, 发表论文16篇。电话:(023)68754000-73079
收稿日期:1999-03-20; 修回日期:1999-10-21

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

表 1　灯盏花对缺血大鼠神经元游离钙的影响(C_B/nmol·L^{-1}, $n=6$, $x\pm s$)

Tab 1　Effect of Dengzhanghua on free calcium content in cerebral ischemia rats(C_B/nmol·L^{-1}, $n=6$, $\bar{x}\pm s$)

	Preischemic	Ischemia 20 min	Ischemia 20 min with reperfusion			
			1 h	6 h	1 d	4 d
Untreated	130.90 ± 8.07	232.32 ± 8.32☆	427.34 ± 37.36☆	1005.46 ± 89.12☆	907.58 ± 89.12☆	762.60 ± 36.74☆
Treated	98.47 ± 9.04	182.72 ± 7.61☆★	254 24 ± 12.54☆★	451.17 ± 12.87☆★	430.25 ± 13.12☆★	370.43 ± 9.38☆★

☆: $P<0.001$ *vs* preischemic; ★: $P<0.001$ *vs* untreated

2.2　大鼠脑缺血/再灌流后 PKC 活性的变化,见表 2

表 2　灯盏花对缺血大鼠神经元蛋白激酶 C 活性的影响(λ_B/pmol·min^{-1}·mg^{-1}, $n=6$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Effect of Dengzhanghua on protein kinase C activity in cerebral ischemia rats(λ_B/pmol·min^{-1}·mg^{-1}, $n=6$, $x\pm s$)

	Preischemic	Ischemia 20 min	Ischemia 20 min with reperfusion			
			1 h	6 h	1 d	4 d
PKCm	2.83 ± 0.61	7.68 ± 0.61☆★	7.81 ± 1.47☆★	12.39 ± 0.77☆★	12.39 ± 1.39☆★	12.66 ± 1.48☆
Treated	2.82 ± 0.58	3.64 ± 1.09	4.21 ± 0.65	5.51 ± 0.47	6.80 ± 0.39	6.03 ± 0.71
PKCc	6.61 ± 0.30	4.45 ± 0 40☆★	2.61 ± 0.30☆★	1.67 ± 0.60☆★	0.94 ± 0.18☆★	0.82 ± 0.35☆★
Treated	6.56 ± 0.42	5.55 ± 0.55	4.77 ± 0.78	3.73 ± 0 41	3.29 ± 0.32	4.17 ± 0.20

PKCm: PKC activity of membrane; PKCc: Cytosolic PKC activity; ☆: $P<0.001$ *vs* preischemic; ★: $P<0.001$ *vs* treated

3　讨论

3.1　大鼠脑缺血/再灌流神经元游离钙的变化及钙参与神经元损伤的机制

我们的研究发现随脑缺血/再灌流诱导了神经元的钙超载。正常神经元内的游离钙浓度很低，只有细胞外浓度的十万分之一。如此高的电化学梯度是依赖于细胞对钙的主动排出和细胞对钙的相对无通透性来完成的。细胞内的钙平衡对细胞生理功能的正常发挥是非常重要的。细胞通过对钙的主动泵出、细胞内的钙储、某些蛋白的结合等机制来维持细胞内的钙平衡。而脑缺血/再灌流时细胞能量代谢受阻，钙排除受阻；细胞膜对钙的屏障功能遭破坏(大量自由基生成)；兴奋性氨基酸大量释放；PKC 的激活等因素促进了钙内流。PKC 通过多种途径参与了钙内流，如直接修饰钙通道[4]、促进自由基的生成、消耗 ATP[5] 及降低 G 蛋白依赖的钙通道抑制作用[6]等。

钙超载参与神经元损伤的机制目前尚不清楚，我们推测可能与钙超载破坏了线粒体的结构和功能；激活多种蛋白(激)酶；钙超载诱导神经元凋亡；钙超载可以激活 PKC，PKC 可以通过多种途径来引起神经元的凋亡。

3.2　钙超载与 PKC 激活的关系

我们既往的研究发现脑缺血/再灌流可以激活 PKC[3]。PKC 的激活参与了钙超载[2]。PKC 的激活参与了钙超载的可能机制[7]：①PKC 磷酸化底物，消耗了 ATP；②PKC 磷酸化 NMDA 受体，使其开启更容易，而且 Mg^{2+} 对其的阻滞作用明显降低，从而导致钙内流；③PKC 的激活可以降低 G 蛋白依赖的钙通道抑制作用，从而钙通过这些通道大量内流；④PKC 的激活抑制了神经元对兴奋性氨基酸的摄取，加重了神经元外的兴奋性氨基酸的堆积；⑤PKC 的激活磷酸化电压依赖的钙通道，直接促进钙内流；⑥PKC 的激活可以通过钙依赖和非依赖的机制引起血管收缩，加重缺血缺氧。

灯盏花注射液的有效成分是灯盏花素，它是从菊科短亭飞蓬[Erigeron breviscapus(Vand) Hand-Nazz] 灯盏花中提取的。徐光等[8]的研究表明，灯盏花素是在黄芩素的 4′位接上一个羟基，其对 PKC 有很强的抑制作用。

我们的研究发现灯盏花通过抑制 PKC，从而防止了脑缺血诱导的钙超载。钙超载可以一系列病理生理变化，引起神经元的缺血损伤。所以我们推测灯盏花可以防止钙超载导致的神经元损伤。

参考文献

[1] Pulsinelli W A, Brierley J B. A new model of bilateral in the unanesthesized rat hemispheric ischemia[J]. Stroke, 1979, 102(3): 26－271.

[2] 陈康宁, 董为伟, 张　帆. 蛋白激酶 C 激动剂 PMA 对培养神经元胞内游离钙的影响[J]. 第三军医大学学报, 1997, 19(5): 408－410.

[3] 陈康宁, 董为伟. 大鼠全脑缺血/再灌流脑组织蛋白激酶 C 活性变化[J]. 第三军医大学学报, 1998, 20(5): 398－400.

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

[4] Hall K E, Browning M D, Dudek, *et al*. Enhancement of high threshold calcium currents in rat primary afferent neuron by constitutively active protein kinase C[J]. J Neurosci, 1995, 15(5): 6069－6076.

[5] 王福庄, 刘振伟, 王要航, 等. 降钙素基因相关肽对缺氧时海马细胞内游离钙的影响[J]. 中国应用生理杂志, 1994, 10(4): 325－327.

[6] Swartz K J. Modulation of Ca^{2+} channels by kinase C in rat central and peripheral neurons: Distriuption of G protein-mediated inhition[J]. Neuron, 1993, 11(2): 305－320.

[7] 陈康宁, 董为伟. PKC 与脑缺血损伤[J]. 国外医学: 内科学分册, 1996, 23(4): 164－167.

[8] 徐　光, 张礼萍, 沈慧芳, 等. 野黄芩甙元及其类似物对蛋白激酶 C 的抑制作用[J]. 上海医科大学学报, 1993, 20(6): 187－190.

（编辑　汪勤俭）

经验与短篇

文章编号: 1000-5404(2000)01-0014-01

严重胸外伤急救的护理体会

Nursing care of emergency patients with severe chest trauma

唐令凤　（第三军医大学附属西南医院胸外科, 重庆 400038）

随着城市现代化建设的发展, 交通伤、工伤等事故的发生有增多趋势, 重症胸外伤病员在收治中占有一定的比例。我科自 1992 年 2 月至 1998 年 12 月共收治胸部外伤 251 例, 其中 62 例按 ISS 评分≥12 分, 救治结果满意, 现就救治中的护理体会报告如下。

1　临床资料

62 例中男 45 例, 女 17 例, 年龄 6～72 岁, 其中 54 岁以上 21 例。致伤原因: 车祸伤 28 例, 刀刺伤 18 例, 坠落伤 9 例, 挤压伤 3 例, 枪伤 4 例。严重胸部损伤伤情见表 1、2。

表 1　严重胸部损伤伤情分类

分类	例次
多发性肋骨骨折	36
浮动胸	21
开放性气胸	28
张力性气胸	12
休克	35
心脏损伤	9
胸腹联合伤	5

表 2　合并伤伤情分类

分类	例次
颅脑损伤	13
肝脾破裂	5
胸腰椎骨折	3
四肢骨折	15

作者简介: 唐令凤(1965.11), 女, 四川省开江县人, 技师. 电话: (023)68754000－73055

收稿日期: 1999-01-20; 修回日期: 1999-10-15

2　讨论

严重胸部伤的伤员具有病情重、变化快、入院时诊断常不十分明确的特点, 若未得到及时有效的救治, 其病死率甚高。加强救治中的护理环节, 提高护士对伤情观察的敏锐性和预见性, 主动、及时、有效的进行医护配合是提高抢救成功率的关键之一[1]。通过本组病例的救治及护理, 我们有以下几点体会。

2.1　急救设施的准备

所有急救的物品、器械及药品的常规设置, 应经常检查, 并应保持随时能启用的状态。获急诊室通知并初步了解伤情时即对所需物品做好启动准备。

2.2　急救措施

据有关统计表明: 56.1%的重度胸部伤伤员死于入院后最初 3 h[1], 说明争分夺秒的抢救至关重要, 护士不应只等待医嘱的下达而执行, 而应积极主动参与观察伤情变化及采取下列抢救措施。

2.2.1　保持呼吸道通畅　胸外伤病人往往因呼吸道痰液、血液, 甚至呕吐物阻塞呼吸道, 严重影响肺通气功能, 应立即从鼻腔或口腔插入导管予以吸出, 进行氧疗。如呼吸困难未能缓解, 应及时配合医生进行气管插管或气管切开。本组中 16 例 SaO_2 ＜90%, PaO_2 ＜8 kPa, $PaCO_2$ ＞6.66 kPa 的患者紧急行气管插管, 4 例行气管切开, 12 例行机械通气。

2.2.2　抗休克　本组病例休克者占 57%, 因创伤、失血, 患者血压迅速下降, 严重影响重要脏器血流灌注。立即建立周围或中心静脉通道, 交叉配血, 及时补充有效循环血量, 使伤员呼吸、循环功能尽快恢复, 生命体征平稳, 这是减少伤员病死率的有效措施。经积极抗休克后, 血压仍不能维持且收缩压低、静脉压高, 结合受伤部位在心脏投影部位附近, 要考虑到急性心包填塞。本组 9 例心脏损伤患者均有心包填塞, 经手术治疗痊愈。

（下转 17 页）

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