

颅脑损伤后钙、钙调蛋白的变化及三七总皂甙的治疗作用*

韩金安¹ 胡威夷² 孙增会¹

内容提要 目的:探讨颅脑损伤后神经细胞钙超载及钙-钙调蛋白复合物形成与三七总皂甙的治疗作用。方法:应用放射免疫法、原子吸收分光光度法测定动物血及脑组织中钙(Ca^{2+})、钙调蛋白(CaM)含量,观察三七总皂甙对动物脑损伤后上述指标改变的影响。结果:血中 Ca^{2+} 、CaM 与脑中 Ca^{2+} 、CaM 呈显著正相关,三七总皂甙显著降低血与脑组织中 Ca^{2+} 、CaM 的含量。结论:三七总皂甙能阻滞脑损伤后神经细胞内钙超载,阻断 Ca^{2+} -CaM 复合物形成,对颅脑损伤具有一定的保护作用,血中 CaM 是评价神经细胞内 Ca^{2+} 超载的客观指标。

关键词 三七总皂甙 脑损伤 钙 钙调蛋白

Effect of Panax Notoginseng Saponin on Ca^{2+} , CaM in Craniocerebral Injury Han Jin'an, Hu Weiyi, Sun Zenghui *Department of Neurosurgery, The 477 Hospital of PLA, Xiangfan, Hubei (441003)*

Objective: To explore the change of nerve cell Ca^{2+} -overload, Ca^{2+} -CaM and the effect of Panax Notoginseng saponin (PNS) on it in craniocerebral injury. **Methods:** Blood and brain contents of Ca^{2+} , CaM were examined by radio-immunoassay (RIA) and atomic absorption spectrometry(AAS), and effect of PNS on these parameters was observed in craniocerebral injury rabbits. **Results:** The levels of Ca^{2+} and CaM in blood and those in brain were significantly positively correlated. PNS could reduce Ca^{2+} and CaM contents in blood and in cerebral tissue. **Conclusion:** PNS could block the Ca^{2+} -overload and Ca^{2+} -CaM complex production in nerve cell after cranial cerebral injury, thereby to protect the injured brain in a certain degree. Blood CaM level is an objective index for assessment of Ca^{2+} -overload in nerve cell.

Key words Panax notoginseng saponin, brain injury, Ca^{2+} , CaM

神经细胞内钙超载及钙-钙调蛋白(Ca^{2+} -CaM)复合物形成是颅脑损伤继发性脑损害的重要的病理机制之一⁽¹⁾。三七总皂甙(panax notoginseng saponin, PNS)已应用于防治脑缺血性损害⁽²⁾。对颅脑损伤的防治研究,国内、外尚未见报道。本研究采用硬膜外落体重力致伤动物模型,观察颅脑损伤后血及脑组织中钙(Ca^{2+})、钙调蛋白(CaM)含量的变化及 PNS 对它们的影响,旨在探讨血中 CaM 对神经细胞钙超载的评价作用及 PNS 对颅脑损伤的保护作用和可能机制,为 PNS 临床应用提供理论依据。

材料和方法

1 实验动物及分组 健康成年日本大耳白兔 30 只(四川省医药实验动物管理中心提供),雌雄不拘,体重(2.30 ± 0.40)kg,随机分 3 组:致伤对照组(致伤组)、致伤

治疗组(治疗组)、假伤对照组(对照组),每组各 10 只。

2 药物 三七总皂甙粉剂由昆明植物研究所、昆明制药厂提供,用注射用水配成 5% 的溶液 200ml,经消毒、去热原后,封装成 2ml(100mg)一支的安瓿(由成都总医院制剂室协助完成)。

3 试剂及仪器 CJ10-20A 型电磁撞击致伤装置(成都总医院神经外科研制)、FJ-2105 型自动 γ 免疫计数计(西安二六二厂)、WYX-402 型原子吸收光谱仪(沈阳分析仪器厂)、CaM 测定药盒(中国医学科学院基础药理研究所)。

4 实验方法

4.1 模型制备 采用袁绍纪等⁽³⁾的方法略作改良,动物麻醉后,固定头颅和躯干,于左额顶头皮矢状切开,做 1cm 的颅骨开窗,硬膜保持完整。将撞杆置于硬膜外,用电磁吸引与释放 100g 重的砝码,下落 20cm,撞击撞杆(直径 0.8cm)使之下移 0.4cm,致左额顶叶局限性脑挫裂伤,致伤能量以 $100\text{g} \times 20\text{cm}$ 为参数,致伤深度 0.4cm,受力面积 0.64cm^2 ,假伤对照组除不致伤外,其余步骤完全

* 全军“八五”、“九五”重点攻关课题

1. 解放军第四七七医院(湖北襄樊 441003);2. 成都军区总医院

同致伤组。

4.2 给药方法 治疗组伤后 30min 及 12h 分别给予 PNS 100mg/kg, 配于 5% 葡萄糖注射液 25ml/kg 中, 缓慢静脉滴注; 致伤组和对照组除不加 PNS 外, 以同样的方式给予等量的 5% 葡萄糖注射液, 观察 24h。

5 观察项目和检测方法 (1) Ca^{2+} 检测: 分别于伤前、伤后 1、8、24h 经股静脉取血 2ml, 离心 (2000r/min) 3min, 取血清; 动物伤后 24h 断头处死, 迅速于伤灶边缘取脑 (200 ± 10) mg, 烘烤 (100℃) 24h, 取 10mg 干脑皮质用 3ml 浓硝酸消化 48h, 重蒸水稀释 10 倍, 取稀释液。用 WYX-402 型原子吸收光谱仪, 波长 421.7A, 分别测定血清和脑组织消化液中总 Ca^{2+} 含量。(2) CaM 测定: 分别于伤前、伤后 1、8、24h 取静脉血 2ml, 抗凝、离心 (2500r/min) 3min, 分离血浆, 煮沸 5min, 迅速冷却, -35℃ 保存待测; 脑组织取材, 于动物伤后 24h 断头处死, 迅速取脑, 于伤灶边缘取约 200mg 的脑皮质, 用 tris-HCl 缓冲液冰溶下制成匀浆, 离心 (4500r/min) 50min, 取上清, 再煮沸 5min, 以同样的速度离心 30min, 取上清。采用放射免疫法, 利用磷酸二酯酶 (PDE) 系统测定 CaM 计数, 继而推算出含量, 测定药盒由中国医学科学院基础药理研究所提供, 步骤参照药盒说明书及文献^[4]进行。

6 数据处理选用第三军医大学数学研究室提供的 SPRM 统计程序包, 对数据进行单因素、双因素方差分析及相关系数显著性检验。

结 果

1 伤后不同时相血中 Ca^{2+} 、CaM 含量变化比较见表 1。致伤组伤后血 Ca^{2+} 含量持续性升高, 伤后 8 及 24h 与伤前及治疗组、对照组同时相比较, 有显著性差异 ($P < 0.05$), 治疗组伤后 Ca^{2+} 含量也有所升高, 伤后 24h 与伤前及对照组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。致伤组伤后 8h、24h 血中 CaM 含量已显著升高, 与伤前及治疗组、对照组同时相比较有显著性差异 ($P < 0.01$), 治疗组伤后各时相与伤前及对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2 伤后 24h 脑组织 Ca^{2+} 、CaM 含量变化比较见表 2。致伤组脑组织总 Ca^{2+} 、CaM 均显著升高, 与

治疗组和对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$)。

3 伤后 24h 血 Ca^{2+} 、CaM 与脑组织 Ca^{2+} 、CaM 含量的相关分析 血 Ca^{2+} 、CaM 与脑 Ca^{2+} 、CaM 的交互均呈显著正相关, 以血 CaM 与脑 CaM 的相关系数最大。

表 2 3 组动物伤后 24h 脑组织 Ca^{2+} 、CaM 含量变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	CaM ($\mu\text{mol/kg}$ 湿脑)	Ca^{2+} (mmol/kg 干脑)
致伤	10	18.56 ± 2.66	22.49 ± 5.34
治疗	10	10.57 ± 1.80 *	14.93 ± 3.18 *
对照	10	9.54 ± 1.76 *	12.55 ± 2.76 *

注: 与致伤组比较, * $P < 0.01$

讨 论

研究表明^[5-7], 颅脑损伤时出现神经细胞钙通道开放, 胞浆内游离钙浓度异常增高, 产生严重的 Ca^{2+} 超载现象, 直接影响细胞内多种代谢酶的活性, 引起细胞代谢和生化异常, 导致细胞结构和功能损伤。CaM 是 Ca^{2+} 的重要调节蛋白, 生理条件下, CaM 只有与 Ca^{2+} 结合形成 Ca^{2+} -CaM 复合物才能发挥生理效应。颅脑损伤、蛛网膜下腔出血后, 脑组织中 Ca^{2+} 与 CaM 同步升高, Ca^{2+} -CaM 复合物大量形成, 与脑水肿和脑继发性损害同步, 应用钙通道阻滞剂显著减少神经细胞内钙浓度, 降低 CaM 活性, 减轻脑水肿^[8]。

本研究采用原子吸收分光光度法, PDE 法分别测定了血及脑组织中 Ca^{2+} 、CaM 的含量, 较全面的反映了脑损伤后 Ca^{2+} 与 CaM 的动态变化。结果表明血中 Ca^{2+} 、CaM 与脑组织 Ca^{2+} 、CaM 呈同步升高, 血中 CaM 含量与脑中 CaM 含量呈显著正相关, 检测血中活性型 CaM 可直接反映外伤后脑细胞 Ca^{2+} 超载状况, 对判断脑继发性损害有一定的帮助, 为临床研究和评价药物治疗提供了特异、敏感、可行的客观指标。

PNS 是从中药三七的干燥根茎中提取的有效成分, 来源丰富, 价格便宜, 毒副作用小^[9]。近年来研究表明^[10-12], 它对缺血、缺氧性脑损伤具有较好的脑保护作用, 能明显减少实验动物脑组织中钙含量, 减轻脑水肿, 具有钙通道阻滞作用。本研究首次把 PNS 应用于颅脑损伤的实验研究, 发现 PNS 能明显降低颅脑损伤后早期血及脑组织中 Ca^{2+} 、CaM 的含量, 提示 PNS 对颅脑损伤神经细胞内钙超载具有一定的阻断作用,

表 1 3 组动物各时相血清 Ca^{2+} 、血浆 CaM 含量变化比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Ca^{2+}				CaM			
		伤前	伤后 1h	8h	24h	伤前	伤后 1h	8h	24h
致伤	10	3.16 ± 0.25	3.28 ± 0.57	3.96 ± 0.72 * [△]	5.19 ± 0.93 ** ^{△△▲▲}	6.89 ± 1.23	6.88 ± 1.32	14.23 ± 2.35 ** ^{△△▲▲}	17.56 ± 2.79 ** ^{△△▲▲}
治疗	10	3.12 ± 0.30	3.23 ± 0.48	3.38 ± 0.51	3.47 ± 0.49 * [△]	7.55 ± 1.57	7.67 ± 1.45	8.16 ± 1.76	9.20 ± 1.92
对照	10	3.12 ± 0.20	3.14 ± 0.60	3.17 ± 0.43	3.06 ± 0.26	6.48 ± 1.10	7.31 ± 1.28	7.49 ± 1.25	7.54 ± 1.35

注: 与同组伤前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与对照组同时相比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$; 与治疗组同时相比较, [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$

阻断 Ca^{2+} -CaM 复合物形成,降低活性型 CaM 含量,对颅脑损伤具有一定的脑保护作用。

参 考 文 献

1. 费舟,易声禹,章翔,等.重型颅脑损伤后钙调素与自由基水平变化及尼莫地平及脑活素的作用.中华创伤杂志 1994;10(4):275—280.
2. 韩金安,胡威夷.三七总皂甙对缺血性脑损伤保护作用的研究进展.中国中西医结合杂志 1996;16(8):506—507.
3. 袁绍纪,朱诚,陈柏林,等.大鼠急性创伤性脑水肿模型的建立.上海医学 1989;12(9):276—278.
4. 刘景生,刘桦,金荫昌.钙调蛋白的制备和活性测定.中国医学科学院学报 1985;7(6):454—457.
5. Degra T, Osho P, Hanson S, et al. Motor performance histologic damage and calcium influx in rats treatment with NBWX after focal ischemia. J Cerebro Blood Flow Metab 1994;14(2):262—268.
6. Okiyama K, Smith DH, Thomas MJ, et al. Evaluation of a novel calcium channel blocker, (S)-emopamil, on regional brain injury. J Neurosurg 1992;77(4):607—611.
7. 费舟,易声禹.颅脑损伤与钙及钙调素.国外医学神经病学神经外科学分册 1993;20(1):2—4.
8. 易声禹,费舟,徐如祥.尼莫地平救治重型颅脑损伤的理论基础与临床研究.中华神经外科杂志 1994;10(1):28—30.
9. 韩金安,胡威夷.三七总皂甙对缺血性中枢神经损伤氧自由基病理作用的影响.中国药理学通报 1996;12(6):487—489.
10. Jiang KY, Qian ZN. Effects of panax notoginseng saponins on posthypoxic cell damage of neurons in vitro. Acta Pharmacologica Sinica 1995;16(5):399—402.
11. Guan YY, Kwan CY, He H, et al. Effect of panax notoginseng saponins on receptor-operated Ca^{2+} channels in vascular smooth muscle. Acta Pharmacologica Sinica 1991;15(5):392—398.
12. 陈其奎,李立. PNS 对急性缺氧性脑损伤及血液中有氧生化指标影响的探讨.中国病理生理杂志 1990;6(6):472—475.

(收稿:1998-01-24 修回:1998-09-02)

金水宝配合抗痨药物治疗肺结核的临床观察

尚好珍 苏夏鹏 刘清珍

为探讨金水宝在肺结核病中的治疗价值,我院结核科自 1997 年 5 月以来,在临床上应用金水宝(人工虫草菌丝粉)配合抗痨药物治疗肺结核 40 例,取得较好的效果。现总结如下。

临床资料 所有病例均为 1997 年 5~10 月住入我院的肺结核患者,其中Ⅲ型肺结核 40 例,符合以下诊断标准:(1)有咳嗽,咯血,盗汗,发热病史;(2)痰涂片抗酸染色阳性;(3)胸部 X 线检查肺部有 2~5 个肺野斑片状阴影,密度不均,伴有空洞形成。V 型肺结核 40 例,符合以下诊断标准:(1)有发热,盗汗,胸痛,胸闷病史;(2)胸部 X 线检查及 B 超证实有胸水存在;(3)胸水多聚酶链反应结核菌 DNA 阳性。上述 80 例患者随机分为两组,治疗组 40 例(Ⅲ型与 V 型各 20 例),男性 32 例,女性 8 例;年龄 27~69 岁,平均 39.7 岁;病程 3~80 天,平均 30.6 天。对照组 40 例(Ⅲ型与 V 型各 20 例),男性 34 例,女性 6 例;年龄 26~78 岁,平均 41.4 岁;病程 5~69 天,平均 28.5 天;经统计学处理,两组患者资料无显著性差异。

治疗方法 两组患者均应用 2SHRZ/7HR 方案抗痨,即 S(链霉素)每天 0.75g 肌肉注射, H(异烟肼)每日 0.3g 顿服, R(利福平)每天 0.45g 空腹服, Z(吡嗪酰胺)每日 1.5g 分 3 次餐后服。前 2 个月应用 SHRZ, 后 7 个月应用 HR。V 型肺结核每日加用强的松 30mg, 2 周后逐渐减量, 每周减 5mg, 减完为止。每周抽胸水 2 次。每次应少于 1000ml。治疗组加用金水宝(江西金水宝制药有限公司生产, 每粒含虫草菌丝粉 0.33g), 每次

4 粒, 每日 3 次, 连服 3 个月。

结 果

1 疗效判定标准 (1)Ⅲ型肺结核:发热、咯血 2 周内消失,咳嗽、盗汗明显减轻;1 个月内连续查痰菌 3 次,均为阴性;胸片示:肺部病灶吸收 >50% 为显效。(2)V 型肺结核:2 周内发热、胸闷消失;盗汗、胸痛明显减轻;1 个月内 X 线胸片和 B 超证实胸水消失或仅有肋膈角稍钝者为显效。

2 结果 症状明显减轻治疗组为 36 例,对照组为 28 例;1 个月痰菌转阴连续 3 次者治疗组为 11 例,而对照组为 4 例;肺部病灶吸收 >50% 者治疗组为 6 例,对照组为 4 例,两组显效例数比较有显著性差异($P < 0.05$)。V 型肺结核显效者治疗组 18 例,对照组 15 例,两者比较,无显著性差异($P > 0.05$)。

讨 论 肺结核是一种慢性呼吸道传染病,抵抗力下降致结核菌乘虚而入而发病。金水宝配合西药化疗在症状控制及痰菌转阴方面较常规化疗效果好。其作用机理为肺结核病患者多属肺肾阴虚,正规抗痨西药固然不可缺少,但不能迅速调整机体内在平衡,因而症状控制较慢,且有少数发展为难治性肺结核。古今多数医家均主张肺肾同治。金水宝主要功效滋肺补肾,止咳嗽,能平补肾阳、阴精,益肺气。现代药理实验证实:金水宝具有抗炎、镇咳、祛痰及免疫调节功能。是肺结核治疗中的一种很好的辅助药。服用金水宝部分患者有恶心感,饭后服症状减轻。

(收稿:1998-02-04 修回:1998-07-28)