

对氯汞苯甲酸对高脂血症患者的 红细胞溶血作用的研究

刘孝全 刘心明

(宜昌医学专科学校生化教研室)

提 要

巯基试剂对氯汞苯甲酸有强大的溶血作用。高胆固醇血症和高甘油三酯血症患者的红细胞对氯汞苯甲酸的溶血作用的敏感性低于正常血脂者的红细胞,而高甘油三酯血症患者红细胞膜表面可测得的巯基数低于正常人。表明高水平的血浆脂蛋白与红细胞相互作用掩蔽了膜表面巯基从而使红细胞对巯基试剂溶血作用的敏感性降低。

红细胞含有较多的巯基化合物,如红细胞内的还原型谷胱甘肽、血红蛋白、巯基酶及红细胞膜内的巯基蛋白等都是。膜蛋白的巯基对维持红细胞结构及功能的完整性有重要作用。某些膜蛋白的巯基被破坏以后,可导致胞内外离子平衡失常,甚至发生溶血。对氯汞苯甲酸(PCMB)是特异性巯基试剂,它不易进入红细胞内,但可与某些膜蛋白的巯基结合并引起溶血^[1]。我们的实验表明,低浓度的 PCMB 对正常红细胞有强大的溶血作用^[2]。高脂血症患者的红细胞对 PCMB 溶血作用的敏感性是否与血脂正常者相同?我们对此进行了研究。将结果报道于下。

材 料 与 方 法

1. 红细胞的制备 由健康人和高脂血症患者的静脉采血,用 EDTA 钠盐抗凝。分离出血浆供测甘油三酯和胆固醇用。用 20 倍于红细胞体积的生理盐水将红细胞洗涤两次,离心,弃去上清液。最后用生理盐水将红细胞稀释制成混悬液供实验用。

2. PCMB Roth 产品,配成 0.8mmol/L 溶液,临用前配制。配制时加少量碱助溶。

3. 溶血试验 取 1:50 红细胞混悬液 1 毫升,加生理盐水 4 毫升,再加 0.8mmol/L PCMB 0.10 毫升,摇匀,立即放入 37℃ 水浴中保温 1 小时,然后按 Jacob 等方法^[3]测溶血%值。

4. 血浆胆固醇测定 按 Parekh 等方法^[3]进行。

5. 血浆甘油三酯测定 用异丙醇-正庚烷抽提,皂化,乙酰丙酮显色法测定。

6. Ellman 试剂 按 Ellman 方法^[4]配制。5,5'-二硫代二(2-硝基苯甲)酸为 Roth 产品。

7. 红细胞膜表面巯基数的测定 按 Ellman 方法进行^[4]。红细胞混悬液(1:20)加 Ellman 试剂后 3 分钟,迅速离心,在 412nm 处测上清液的光密度。以红细胞混悬液的离心上清液加 Ellman 试剂后作空白管,计算出每毫升红细胞膜表面巯基 μmol 数。

结 果

1. PCMB 对高胆固醇血症患者红细胞的溶血作用 血浆胆固醇水平正常者共 24 人作对照组,血浆胆固醇水平为 165.9 ± 22.0 毫克%;对照组红细胞溶血%值为 $76.9 \pm 4.2\%$ 。高胆固醇血症患者 15 人,血浆胆固醇水平为

238.3±17.1 毫克%；高胆固醇血症患者红细胞溶血%值为 71.9±2.9%。两者溶血%值的差别非常显著 ($P < 0.001$)，高胆固醇血症患者的红细胞溶血%值低于正常人。

表 1 正常人及高胆固醇血症患者红细胞对 PCMB 溶血作用比较

组 别	血浆胆固醇(毫克%±SD)	溶血%±SD
对照组 (n = 24)	165.9±20.0	76.9±4.2
高胆固醇血症组 (n = 15)	238.3±17.1	71.9±2.9
t 检 验	$P < 0.001$	

2. PCMB 对高甘油三酯血症患者红细胞的溶血作用 血浆甘油三酯水平正常者 20 人作对照组，血浆甘油三酯水平为 82.2±24.6 毫克%；对照组溶血%值为 77.3±4.3%。高甘油三酯血症患者共 27 人，血浆甘油三酯水平为 231.4±75.1 毫克%，高甘油三酯血症患者红细胞溶血%值为 73.3±3.2%，两者溶血%值的差别非常显著 ($P < 0.001$)，高甘油三酯血症患者的红细胞溶血%值低于正常人。

3. 正常人及高甘油三酯血症患者红细胞

膜表面巯基数的比较 血浆甘油三酯正常者 20 人作对照组，血浆甘油三酯水平为 81.75±14.6 毫克%；对照组红细胞膜表面巯基数为每毫升红细胞为 0.54±0.14 微摩尔。高甘油三酯血症患者 15 人，血浆甘油三酯水平为 209.8±73.5 毫克%，其红细胞膜表面巯基数为每毫升红细胞 0.25±0.12 微摩尔。两组红细胞膜表面巯基数有非常显著的差别 ($P < 0.001$)，高甘油三酯血症患者红细胞膜表面巯基数低于正常人。

表 2 正常人及高甘油三酯血症患者红细胞对 PCMB 溶血作用比较

组 别	血浆甘油三酯(毫克%±SD)	溶血%±SD
对照组 (n = 20)	82.2±24.6	77.3±4.3
高甘油三酯血症组 (n = 27)	231.4±75.1	73.3±3.2
t 检 验	$P < 0.001$	

表 3 正常人及高甘油三酯血症患者红细胞表面巯基数的比较

组 别	血浆甘油三酯(毫克%±SD)	膜表面巯基数(微摩尔/毫升红细胞)
对照组 (n = 20)	81.75±14.6	0.54±0.14
高甘油三酯血症组 (n = 15)	209.8±73.5	0.25±0.12
t 检 验	$P < 0.001$	

讨 论

成熟红细胞是只有细胞膜而无其他细胞器的一种细胞，但它仍有一定的代谢作用。如红细胞能通过糖酵解获得 ATP 以维持胞内外的离子梯度。ATP 只是提供能量，具体控制离子浓度梯度的是含巯基的膜蛋白，其中包括钠泵。显然红细胞膜蛋白的巯基对红细胞结构及功能的完整性有重要意义。某些膜蛋白的巯基被破坏后，可使红细胞膜对阳离子的通透性增加，离

子梯度失常，胞内 K^+ 丢失而 Na^+ 堆积，水进入细胞致细胞肿胀最后导致溶血^[2]。PCMB 是巯基特异性试剂，它不易进入细胞^[1]。在 PCMB 作用下红细胞发生溶解显然是它作用于膜蛋白巯基的结果。本实验结果表明，高胆固醇血症及高甘油三酯血症患者的红细胞对 PCMB 溶血作用的敏感性要比正常人低。说明高脂血症患者红细胞膜上发生了某种变化而导致对 PCMB 溶血作用的敏感性降低。有的学者证明，某些物质可与红细胞相互反应，并对低渗性溶

血有保护作用^[6]。推测高脂血症患者的有关血浆脂蛋白水平较高,因而与红细胞相互作用的机会要大于血脂正常的人。这一相互作用的结果可使膜蛋白的巯基受到保护,因而高脂血症患者红细胞对 PCMB 溶血作用的敏感性降低。为了证实这种可能性,我们测定了高甘油三酯血症患者红细胞表面巯基数,看与正常人有无差异。结果表明,高甘油三酯血症患者红细胞膜表面巯基数低于正常人,说明高脂血症患者红细胞表面巯基有相当一部分被掩蔽而不能测

出,这很可能是血浆脂蛋白与红细胞相互作用的结果。

参 考 文 献

- [1] Jacob, H. S. et al.: *J. Clin. Invest.*, **41**, 779, 1962.
- [2] 刘孝全、刘心明:《宜昌医学专科学校学报》, **1**, 4, 1985.
- [3] Parekh, A. C. et al.: *Anal. Chem.*, **42** 1423, 1970.
- [4] Ellman, G. L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70, 1959.
- [5] 周凤兰:《生理科学》, **2**, 23, 1982.
- [6] Lovrien, R. et al.: *J. Biol. Chem.*, **250**, 3136, 1975.

[本文于 1987 年 2 月 2 日收到]

(上接第22页)

承蒙中国科学院上海生化所祁国荣研究员惠赠资料并审阅全文,谨此表示衷心感谢。

参 考 文 献

- [1] 祁国荣等:《生物化学杂志》, 1986 年, 第二卷, 第 4 期, 第 4 页.
- [2] Gold, H. A. and Altman, S.: *Cell*, **44**, 243, 1986.
- [3] Altman S. et al.: *TIBS*, **11**, 515, 1986.
- [4] Lawrence, N. P. and Altman, S.: *J. Mol. Biol.*, **191**, 163, 1986.
- [5] Guthrie, C. and Atchison, R.: in *Transfer RNA: Biological Aspects* (Söll, D. et al. eds), Cold Spring Harbor Laboratory, p. 71—82, 1980.
- [6] Guerrier-Takada, C. et al.: *Cell*, **35**, 849, 1983.
- [7] Guerrier-Takada, C. and Altman, S.: *Science*, **223**, 285, 1984.
- [8] Guerrier-Takada, C. et al.: *Cell*, **38**, 219, 1984.
- [9] Altman, S. et al.: in *Gene Regulation* (O'Malley, B. W. eds), New York, p. 207—217, 1982.

- [10] Guerrier-Takada, C. and Altman, S.: *Cell*, **45**, 177, 1986.
- [11] Guerrier-Takada, C. et al.: *Biochemistry*, **25**, 1509, 1986.
- [12] 文重, 乔英:《生物化学与生物物理进展》, 1986 年, 第 2 期, 第 7 页.
- [13] Zaug, A. J. et al.: *Nature*, **324**, 429, 1986.
- [14] Inoue, T. et al.: *J. Mol. Biol.*, **189**, 143, 1986.
- [15] Hutchins, C. J. et al.: *Nucl. Acids Res.*, **14**, 3627, 1986.
- [16] Buzayan, J. M. et al.: *Nature*, **323**, 346, 1986.
- [17] Castaño, J. G. et al.: *Cell*, **46**, 377, 1986.
- [18] Westheimer, F. H.: *Nature*, **319**, 534, 1986.
- [19] Elbein, A. D.: in *Advances in Enzymology*, **40**, 44—50, 1974.
- [20] Berget, S. M. and Robberson, B. L.: *Cell*, **46**, 691, 1986.
- [21] Cech, T. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 4360, 1986.
- [22] Gilbert, W.: *Nature*, **319**, 618, 1986.

[本文于 1986 年 11 月 19 日收到]

预 告

为了广泛征求意见,下期将刊出生物物理学名词共 356 条。