



胰岛素对人红细胞、兔小肠细胞质膜中 Mg^{2+} -ATPase 作用机理的研究

李咏棠 吴忠良 兰 宏 王光骥 冷 麟

(复旦大学生命科学院生物化学系, 上海)

Mg^{2+} 在胰岛素 (Ins) 作用中占重要地位^[1,2]。糖尿病人高血糖伴低镁血的负相关现象可能与 Mg^{2+} 吸收障碍有关^[2]。本文通过对正常人、糖尿病人血影细胞和兔小肠细胞质膜进行 Ins 效应方面的实验, 对上述现象进行研究。

一、方 法

血影细胞按 Dodge^[3] 法制备但改用 Tris · Cl 10 mmol/L 缓冲液, 血浆 Mg^{2+} 浓度测定采用原子吸收光谱法, 其它方法同前文^[1]。

二、结 果

1. 在人细胞膜和兔小肠细胞膜中存在三种 ATPase: (1) 对乌苯苷敏感的 (Na/K)-ATPase; (2)

表 1 Ins 或 ConA 对人红细胞膜和兔小肠细胞膜 Mg -ATPase 的激活效应

质膜	Ins 1000 μ U/ ml	相对活 力 %	P	ConA 30 μ g/ ml	相对活 力 %	P
血影细胞 (n=15)	—	100	<0.025	—	100	<0.025
	+	105 $\pm$ 2		+	105 $\pm$ 2	
小肠细胞 (n=30)	—	100	<0.05	—	100	<0.025
	+	119 $\pm$ 6		+	113 $\pm$ 3	

表 2 肝素对 Ins 或 ConA 激活红细胞膜 Mg -ATPase 的负效应

血影 细胞样品编号	肝素(20U/ml 全血)预处理			比活力, μ i μ mol/ (min · mg)		相对活力, %	
	Ins ConA	1000 μ U/ml	ConA 30 μ g/ml	1000 μ U/ml	30 μ g /ml	1000 μ U/ml	30 μ g /ml
1	0.248	0.138	—	—23	—	—	—
2	0.239	0.038	—	—18	—	—	—
3	0.237	0.088	0.057	—43	—50	—	—
4	0.423	0.274	0.105	—25	—61	—	—

对叠氮钠不敏感的 Mg -ATPase, 在血影细胞和小肠细胞膜中各占总 ATPase 的 34% 和 76%; (3) 对叠氮钠敏感的 Mg -ATP 二磷酸水解酶 (Mg -ADPase)。

2. Ins 和伴刀豆球蛋白 (ConA) 对正常人红细胞、兔小肠细胞质膜 Mg -ATPase 均有激活效应 (表 1), 对糖尿病人 3 例有激活效应 1 例无。

3. 肝素对 Ins 或 ConA 激活红细胞膜 Mg -ATPase 有负效应 (表 2) 并升高血浆 Mg^{2+} 值 (表 3)。

表 3 抗凝剂对血浆镁值的影响

抗凝剂/ml 全血	处理时间, h	n	Mg^{2+} , mg%	P
肝 素 20U	24	6	5.30 $\pm$ 0.50	<0.0005
	2	4	2.00 $\pm$ 0.08	
柠檬酸钠 5mg	24	1	1.98	—
	2	12	1.98 $\pm$ 0.05	

三、讨 论

本文结果符合前文结论^[2], 即 Ins 通过 Ins-受体复合物的相互作用去激活在质膜中发挥 “ Mg^{2+} 泵” 作用的 Mg -ATPase 的观点。高血糖伴低镁血现象可因小肠质膜 Ins 受体或 Mg -ATPase 的异常变化引起。此外, 鉴于肝素可抑制质膜 Ins 受体与 Ins 结合^[4], 我们有理由相信肝素抗凝血制备的血影细胞 Mg -ATPase 的 Ins · ConA 激活呈负效应与血浆 Mg^{2+} 值升高的现象可能均由于肝素改变了 Ins 受体和 Ins 或 ConA 结合的行为从而抑制了 Mg -ATPase 所致。据此, 在有关受体功能的实验中不宜使用肝素, 在临床实践中也应慎用。对 Ins 受体结合阳性的糖尿病人还应考虑受体后效应方面可能存在问题。

本工作承上海华山医院内分泌科提供糖尿病人血样; 上海市卫生防疫站李国强、姚士华同志协助原子吸收光谱测定, 复旦大学生理及生物物理系张志鸿同志进行有益的讨论, 谨此致谢。

(下转第 102 页)

于老化前,说明蛋白分子纯电荷发生了变化。这提示有机磷化合物使膜 AchE 或其它膜蛋白老化时,可能也会引起膜电荷的变化。Bradburg 和 Haddart^[13] 先后都观察到对硫磷等可明显使甲虫类肌纤维膜电位去极化。本室研究表明,久效磷等可增加红细胞膜表面唾液酸测定量,也提示有机磷化合物可能影响红细胞表面电荷。

有机磷化合物的膜毒性除以上三方面的表现外,它们对膜受体的影响也是近年来人们所重视的一个重要问题。已有研究发现,某些有机磷化合物急性中毒和慢性中毒对膜受体的影响是不同的^[18-20]。乙拌磷(disulfoton)亚急性染毒两周,可明显减少动物脑和腺体组织中的胆碱能M受体和脑组织中N受体的数目,但受体与其特异性配体的亲和力并无改变。同样,对氧磷(paraoxon)和DFP等亚急性染毒也可使大鼠脑组织中M受体和N受体数目明显减少而无受体亲和力的变化。但一次性急性染毒却无上述效应。此外,有机磷化合物还可作用于突触前受体而影响神经递质的释放。这些结果可以解释动物对某些有机磷化合物产生耐受性的现象。

综上所述,有机磷化合物可以从多方面直接和/或间接地影响生物膜的结构、功能和生物物理性质。然而,这方面的研究还只是起步不久,研究还不完善,但值得注意的是,有关有机磷化合物的生物膜毒效应与迟发性神经毒的关系、有机磷化合物生物膜毒效应的构效关系、有机磷化合物对膜受体的直接作用与其毒性的关系、有机化合物的生物膜毒效应在非胆碱能毒

性中的地位以及如何利用生物膜指标来评价高效低毒的有机磷农药和其毒性的防治等等方面的研究在今后的研究中将可能占有重要地位。

参 考 文 献

- [1] Marquis, J. K.: *TIPS*, 1985, 6, 59.
- [2] 童建:《农药》,1988,27,48。
- [3] Antunes-Madeira, M. C. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 1984, 778(1), 49.
- [4] 江藤守総著(杨先石等译):《有机磷农药的有机化学与生物化学》,化学工业出版社,北京,1981,66—196页。
- [5] Davis, D. B. et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1983, 20, 92.
- [6] Binder, N. et al.: *Biochem. Pharmacol.*, 1976, 25, 835.
- [7] Antunes-Madeira, M. C. et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1982, 17, 185.
- [8] Sevaljevic, L. et al.: *Biochem. Pharmacol.*, 1984, 33, 3714.
- [9] Dell, E. et al.: *Biochem. Pharmacol.*, 1986, 35, 1603.
- [10] Matkovis, B. et al.: *General Pharmacol.*, 1980, 11, 353.
- [11] Islam, F. et al.: *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 1983, 53, 121.
- [12] Antunes-Madeira, M. C. et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1981, 15, 79.
- [13] Huddart, H. et al.: *Comp. Biochem. Physiol.*, 1977, 58c, 91.
- [14] Gauna, H. F. et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1982, 18, 271.
- [15] Domench, C. E. et al.: *FEBS Lett.*, 1977, 74, 243.
- [16] Antunes-Madeira, M. C. et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1980, 14, 161.
- [17] Toia, R. F. et al.: *Biochem. Pharmacol.*, 1979, 28, 3307.
- [18] Costa, L. G. et al.: *Chem-Biol. Interact.*, 1984, 48, 261.
- [19] Thomsen, R. H. et al.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1986, 237(3), 689.
- [20] Lim, D. K. et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1987, 90, 465.

[本文于1987年12月28日收到]

(上接第161页)

参 考 文 献

- [1] 李泳棠等:《生物化学与生物物理学报》1988,20,504
- [2] Durlach, J.: *Lésion diabétiques et apport magnésique Le magnésium en pratique clinique*, J.B.

- Baillere, (ed.), E. M. I. Paris, 1985.
- [3] Dodge, J. T. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 1963, 100, 119.
- [4] Kriauciunas K. M. et al.: *Diabetes*, 1987,36,164

[本文于1987年12月28日收到]