

高胆固醇血症病人的红细胞膜 ATP 酶活性变化

杨绍杰 陈毓华 张晓先

(南京医学院病理生理学教研室, 南京 210029)

提 要

研究表明高胆固醇血症病人的红细胞膜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}-\text{ATP}$ 酶活性均降低, 并且血浆总胆固醇和低密度脂蛋白-胆固醇浓度与这两种酶活性呈高度负相关, 而血浆高密度脂蛋白-胆固醇浓度与 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性呈正相关。这些变化的研究, 对于进一步探讨动脉粥样硬化的发生机制及其防治可能具有重要意义。

关键词 高胆固醇血症, 红细胞膜, $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶, $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}-\text{ATP}$ 酶

高胆固醇(ch)血症是引起动脉粥样硬化(As)的一个重要因素, 但对其发生机制, 迄今尚未完全清楚。国外的少数研究^[1]已初步揭示, 高 ch 血症伴冠心病病人的红细胞(RBC)膜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性降低, 并认为这对于 As 的形成可能是重要的。近年来, 我们在实验性高 ch 血症大鼠中也观察到这种变化。最近, 我们又在病人身上进一步观察了血浆总 ch(TC)、低密度脂蛋白-ch(LDL-C) 及高密度脂蛋白-ch(HDL-C), 对 RBC 膜 Na^+-K^+- 和 Ca^{2+} , $\text{Mg}^{2+}-\text{ATP}$ 酶活性的影响。在国内外尚未见到类似的研究, 故现将我们的结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 对象

44名男女研究对象, 来自我院保健科与本室。其中, 正常人 16 名, 年龄为 54 ± 5.2 岁; 高 ch 血症病人 28 名, 按血浆 TC 浓度分成二组: I 组 ($\text{TC} < 10\text{mmol/L}$) 19 名, 年龄为 52 ± 9.8 岁; II 组 ($\text{TC} > 10\text{mmol/L}$) 9 名, 年龄为 17 ± 11.2 岁, 均为纯合子家族性高 ch 血症患者。所有对象无肝、肾及糖尿病等疾患。近 1 个月内也未接受任何药物治疗。

1.2 血脂分析

取空腹 8h 以上的静脉血 2—3ml, 肝素抗凝。采集后立即离心, 吸出血浆, 用聚乙二醇分

离出 HDL^[2], 按改良的 Abell 方法^[3]测 TC 和 HDL-C, LDL-C 则以 Friedewald 公式^[4]计算求得。

1.3 红细胞膜 ATP 酶活性测定

将上述吸去血浆后留下的 RBC, 按 Blostein 方法^[5]制备 RBC 膜, 制成混悬液置 -20°C 待测。RBC 膜 Na^+-K^+- 和 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}-\text{ATP}$ 酶活性按徐氏方法^[6]测定, 单位以 $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$ 表示, 即每小时每毫克蛋白含微摩尔 Pi 数。用 Lowry 方法^[7]测定膜蛋白。

1.4 血脂与 RBC 膜 ATP 酶的相关分析

将所测全部对象的 RBC 膜 ATP 酶活性, 分别与血浆 TC、LDL-C 及 HDL-C 浓度作相关分析。

上述结果均在组间作 t 检验, 进行统计学处理。

2 结 果

2.1 血浆脂质

血浆脂质结果如表 1 所示。在正常人与高 ch 血症 I、II 组, 以及后者的两组之间, 血浆 TC 和 LDL-C 浓度均有显著差异 ($P < 0.001$)。但血浆 HDL-C 浓度, 则仅在高 ch 血症 II 组中是显著地低于其他两组 ($P < 0.001$)。

表 1 正常人与高 ch 血症患者血脂浓度

Table 1 Contents of plasma lipids in control group and hypercholesterolemia patients ($\bar{x} \pm SD$)

	TC mmol/L	LDL-C mmol/L	HDL-C mmol/L
正常组 Control group	4.8 $\pm$ 0.82	2.7 $\pm$ 0.83	1.5 $\pm$ 0.29
高 ch 血症 I 组 Hypercholesterolemia group I	7.1 $\pm$ 0.62 ¹⁾	4.9 $\pm$ 0.85 ¹⁾	1.6 $\pm$ 0.33
高 ch 血症 II 组 Hypercholesterolemia group II	15.4 $\pm$ 3.04 ¹⁾²⁾	14.0 $\pm$ 3.07 ¹⁾²⁾	0.9 $\pm$ 0.19 ¹⁾²⁾

1) 高 ch 血症 I 组与正常组比较: $P < 0.001$. 1) Hypercholesterolemia I group compares with control group: $P < 0.001$. 2) 高 ch 血症 II 组与 I 组比较: $P < 0.001$. 2) Hypercholesterolemia group II compares with group I: $P < 0.001$.

2.2 红细胞膜 ATP 酶活性

RBC 膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶的活性,正如表 2 所示,从高到低依次为: 正常组 $>$ 高 ch 血症 I 组 $>$ 高 ch 血症 II 组. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶活性: 高 ch 血症 I 组和 II 组比正常组分别低 18% 和 55%, 而高 ch 血症 II 组又比 I 组低 44% ($P < 0.001$). $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活性的变化则更显著: 高 ch 血症 I 组和 II 组比正常组分别低 43% 和 67%, 而高 ch 血症 II 组又比 I 组低 42% ($P < 0.001$).

表 2 正常人及高 ch 血症病人的 RBC 膜 ATP 酶活性

Table 2 Erythrocyte membrane ATPases activities in control group and hypercholesterolemia patients ($\bar{x} \pm SD$)

	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$	$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$
正常组 Control group	0.625 $\pm$ 0.074	0.951 $\pm$ 0.098
高 ch 血症 I 组 Hypercholesterolemia group I	0.510 $\pm$ 0.083 ¹⁾	0.542 $\pm$ 0.063
高 ch 血症 II 组 Hypercholesterolemia group II	0.284 $\pm$ 0.090 ¹⁾²⁾	0.313 $\pm$ 0.063 ¹⁾²⁾

2.3 红细胞膜 ATP 酶活性与血脂水平的相关性

如表 3 所示, RBC 膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活性,与血浆 TC、LDL-C 水平均呈高度负相关 ($P < 0.001$); $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶活性与 HDL-C 水平呈正相关 ($P < 0.001$),

而 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活性与 HDL-C 水平则无此相关性。

表 3 RBC 膜 ATP 酶活性与血脂水平的相关系数 (r)

Table 3. Relative coefficients (r) between erythrocyte membrane ATPases activities and plasma lipid levels

	TC	LDL-C	HDL-C
$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$	-0.819 ¹⁾	-0.809 ¹⁾	0.523 ¹⁾
$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$	-0.763 ¹⁾	-0.744 ¹⁾	0.251

1) $P < 0.001$.

3 讨 论

高 ch 血症是导致 As 的一个重要因素。在一般人群中, 血浆 ch 水平随年龄递增而有相应的升高, As 的发生也随之增多。但在纯合子型家族性高 ch 血症患者^[8]中, 由于细胞膜表面 LDL 受体的严重缺乏或异常, 故这类患者于出生后血浆 ch (主要是 LDL-C) 即有显著增高, 并发生青年期的冠心病。因此, 本文中高 ch 血症 II 组的血浆 TC 和 LDL-C 浓度比 I 组高, 而年龄却比 I 组年轻得多。

在本世纪 70 年代即已发现, 高浓度的 ch 培养液可抑制 RBC 膜 ATP 酶活性^[9]。至 80 年代, 有人在高 ch 血症实验动物模型^[10]和病人^[11]中, 证实 RBC 膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶活性有显著的抑制。我们过去的动物实验以及本研究, 不仅再一次证明 RBC 膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶活

性受 ch 浓度的影响,而且还进一步发现到: a. 高 ch 血症也明显地抑制 RBC 膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性,并且其活性降低的程度大于 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶(表 2); b. 血浆 TC 和 LDL-C(致 As 因素)浓度与 RBC 膜这两种酶活性呈高度负相关(表 3); c. 血浆 HDL-C(抗 As 因素)浓度与 RBC 膜 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶活性呈正相关(表 3)。

高浓度 ch 和 LDL-C 抑制 RBC 膜 ATP 酶活性是一种可逆性变化,其发生机制目前还不十分清楚,可能与 RBC 膜流动性减低^[11]、ch 与 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶的直接作用^[9]以及 RBC 内 Ca^{2+} 增多^[12]等因素有关。因 HDL 有竞争性抑制 LDL 与 RBC 的 ch 交换^[13],故血浆 HDL 含量降低亦可促进膜酶活性减低,上述这些因素,对 RBC 膜 ATP 酶的抑制可能起一定的作用。根据目前研究认为,高 ch 血症时的 RBC 膜 ATP 酶活性降低,可能主要是由于脂质过氧化的中间产物自由基和最终分解产物丙二醛损害所致^[14]。

高 ch 血症时,因 RBC 膜 ATP 酶活性受抑制,使其 Ca^{2+} 、 Na^{+} 浓度增加,造成形态不规整、胞膜僵硬、变形性降低,这样的 RBC 在血

循环中可直接碰撞、损伤血管内皮(尤其是在血流湍急的中、小动脉分叉处)^[10];而且, Na^{+} - K^{+} -ATP 酶活性变化在 RBC 膜与动脉壁组织(包括平滑肌细胞和内皮细胞)之间有相关性^[9],增殖的动脉平滑肌细胞也显示有 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性降低^[15]。因此, RBC 膜和动脉组织的 ATP 酶活性以及 Na^{+} 、 Ca^{2+} 浓度变化的研究,对于进一步探讨 As 的防治可能有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Torkhovskaia T I *et al.* *Vopr Med Khim*, 1983;29: 69
- 2 席与贵等. 临床检验杂志, 1986;4: 1
- 3 李培瑛, 李健斋. 中华医学检验杂志, 1982;5: 44
- 4 Friedewald W T *et al.* *Clin Chem*, 1972; 18:499
- 5 Blostein R. *J Biol Chem*, 1968; 243: 195
- 6 徐友涵等. 生物化学与生物物理进展, 1986;(4): 64
- 7 Lowry O H *et al.* *J Biol Chem*, 1951; 193:265
- 8 蔡海江等. 中华医学杂志, 1985;65: 344
- 9 Giraud F *et al.* *Nature*, 1976; 264: 646
- 10 Shaller C A *et al.* *Surg Neurol*, 1980; 14: 433
- 11 Salvio G. *Phospholipids and Atherosclerosis*. New York: Rave Press, 1983: 81
- 12 Neyses L *et al.* *Biochem J*, 1985; 227: 105
- 13 Gottlieb M H. *Biochim Biophys Acta*, 1980; 600: 530
- 14 曹锡清. 生物化学与生物物理进展, 1986;(2): 17
- 15 Hadjiisky G *et al.* In: *Poster Sessions, Abstract Book, 8th international symposium on atherosclerosis*, Roma; CIC Edizioni Internazionali, 1988;332

ERYTHROCYTE MEMBRANE ATPases ACTIVITIES IN HYPERCHOLESTEROLEMIA PATIENTS

Yang Shaomin Chen Yuhua, Zhang Xiaoxian

(Department of Pathophysiology, Nanjing Medical College, Nanjing 210029)

ABSTRACT

In order to study effect of plasma lipids on ATPases activities in erythrocyte membrane, contents of plasma TC, LDL-C and HDL-C and activities of Na^{+} - K^{+} - and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase were determined in 28 hypercholesterolemia patients and 16 control. The Na^{+} - K^{+} - and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase activities were reduced in these patients. Negative correlations were shown between two ATPase activities and plasma TC and LDL-C levels, but positive correlation was shown between Na^{+} - K^{+} -ATPase activity and plasma HDL-C level in all groups. These studies may be important for probing into mechanism of atherosclerosis formation and prevention and cure of this disease. This problem is discussed in the paper.

Key words hypercholesterolemia, erythrocyte membrane, Na^{+} - K^{+} -ATPase, Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase