

长寿老人红细胞膜 ATP 酶及唾液酸的研究

董伟 李新建 陶国枢* 张玲*

(中国人民解放军总医院酶学实验室,北京)

近年来,国外学者对老年医学进行了多方面的研究^[1,2],国内曾有人对老年前期及老年期人群的血液指标进行研究^[3],但老年期体细胞内分子水平的变化报道尚少见.为了了解老年人群的生理生化状况,寻找衰老的早期鉴别指标,我们检测并分析了老年前期及长寿老人红细胞膜 ATP 酶的活力及唾液酸的含量变化.

一、材料和方法

1. 检查对象: 105人,男女各半,分为三组.青年组,健康的工、农、兵共42人,年龄18—35岁,平均年龄 27.26 ± 0.94 岁.老年前期组,本院身体健康的工作人员30人,年龄50—59岁,平均年龄 53.07 ± 0.41 岁.长寿老人组,从北京地区220名90岁以上长寿老人中选择生活能自理,体重在正常范围的健康者39人,年龄90—96岁,平均 91.85 ± 0.29 岁.

2. 测定方法

红细胞膜的制备^[4],取受检者静脉血,离心去血浆,红细胞用生理盐水-Tris等渗溶液洗三次,然后加入预冷的10mM Tris-HCl缓冲液(pH7.4),使红细胞溶血,离心去血红蛋白,红细胞膜再用上述缓冲液洗三次,得到乳白色红细胞膜,分装、放 -50°C 冰箱保存.

ATP酶活性测定^[4,5],反应总体积200微升. Mg^{2+} -ATP酶保温系统含50mM Tris-HCl缓冲液(pH 7.4),5mM MgCl_2 ,0.13mM ATP,0.1mM 哇巴因,0.1mM EGTA,80微升红细胞膜悬液;(Na、K、Mg)-ATP酶保温系统含50mM Tris-HCl缓冲液(pH7.4),5mM MgCl_2 ,150mM NaCl,20mM KCl,0.13mM ATP,0.1

mM EGTA,80微升红细胞膜悬液;(Ca、Mg)-ATP酶保温系统含50mM Tris-HCl缓冲液(pH7.4),0.1mM CaCl_2 ,150mM NaCl,0.13mM ATP,0.1mM 哇巴因,80微升红细胞膜悬液.另外设有无酶活性的对照管.反应以加入ATP开始, 37°C 保温10分钟后用三氯醋酸终止反应.用Muszbek法测磷^[6],改良的lowry法^[7]测膜蛋白.酶活性单位以毫微克分子磷/毫克蛋白·小时表示.

唾液酸的测定^[8],将红细胞膜悬液用硫酸水解,使其释放乙酰神经氨酸,经过碘酸氧化,生成物与硫代巴比妥酸反应,在550nm波长测定生色团的光吸收值.结果用微克唾液酸/毫克蛋白表示.

二、结 果

1. 红细胞膜 (Na、K)-ATP 酶活力: (见表1),从表中看出,老年前期和长寿期红细胞膜(Na、K)-ATP酶活力比青年组分别低55.80 nMPi/mg·h,84.59 nMPi/mg·h,经统计学处理P值分别小于0.01及0.001,差别非常显著.与老年前期比较,长寿组酶活力低28.79 nMPi/mg·h, $P < 0.05$,差别显著.

2. 红细胞膜 (Ca、Mg)-ATP 酶活力: 结果见表2,从表中看出,长寿组酶活力比青年组低174.66 nMPi/mg·h,两组相比 $P < 0.01$,差别非常显著.老年前期酶活力虽然也比青年期低,但无统计学差别.长寿组与老年前期组相比较,前者酶活力比后者低107.38 nMPi/mg·

* 中国人民解放军总医院临床三部.

表1 红细胞膜 (Na、K)-ATP 酶活力 (nM Pi/mg·h)

分 组	年龄(岁)	例数 (n)	酶活性 ($\bar{x} \pm SE$)		
			Mg-ATP 酶	(Na、K、Mg)-ATP 酶	(Na、K)-ATP 酶
青年组	19—35	27	281.07±9.68	516.81±21.40	235.74±16.31
老年前期组	50—59	29	261.24±11.36	441.48±16.30	179.94±10.77**
长寿组	90—96	37	238.15±8.48**	389.30±13.53	151.15±8.37***

注: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

表2 红细胞膜 (Ca、Mg)-ATP 酶活力 (nM Pi/mg·h)

分 组	年龄(岁)	例数 (n)	酶活力 ($\bar{x} \pm SE$)	
			Mg-ATP 酶	(Ca、Mg)-ATP 酶
青年组	18—35	37	276.65±9.13	1216.95±38.08
老年前期组	50—59	30	258.00±11.44	1149.67±41.50
长寿组	90—96	35	233.97±8.44***	1042.29±34.50***

注: *** $P < 0.01$

表3 红细胞膜唾液酸的含量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

分 组	年龄(岁)	例数 (n)	唾液酸 ($\bar{x} \pm SE$)		t	P
			平均值	范 围		
青年组	19—35	42	34.34±1.12	23—48		
老年前期组	50—59	30	26.16±0.43	21—29	5.946	<0.001
长寿组	90—96	39	25.75±0.37	20—29	7.0382	<0.001

h, $P < 0.05$, 差别显著。

3. 红细胞膜唾液酸的含量: 结果见表 3。

与青年组相比, 老年前期组及长寿组红细胞膜唾液酸含量明显降低, $P < 0.001$, 差别非常显著, 长寿组与老年前期组相比, 膜唾液酸含量无明显差别。

三、讨 论

(Na、K)-ATP 酶广泛存在于人体内, 其基本功能是将细胞内的 Na 离子运送到细胞外, 将细胞外的 K 离子送入细胞内, 维持细胞膜内外的渗透压平衡和跨膜电化学梯度。与此同时, 催化 ATP 水解成 ADP, 并释放能量, 从而保证人体各种生理作用的正常进行及能量代谢的需要。据估计, 细胞产生的热量有 50% 来自 (Na、K)-ATP 酶。我们的研究表明, 人进入老年期之后, 红细胞膜 (Na、K)-ATP 酶活力明显降低, 与 Gambent^[2] 的结果一致。今村喜久子^[9] 报道老年心肌肌球蛋白 ATP 酶活力

也降低。也有文献报道^[10], 产热组织中, (Na、K)-ATP 酶的水平随年龄增长而降低。据此推测, 随着年龄增长, 体细胞内 Na、K 离子的转运及能量生成将出现一定障碍。

(Ca-Mg)-ATP 酶是细胞膜上另一种重要的酶, 它与 (Na、K)-ATP 酶不同, 对乌巴碱不敏感, 是钙泵的一部分, 参与体内多种生理活动, 如肌肉的收缩、神经动作电位的传导, 细胞的分泌过程以及细胞的繁殖等。它的基本功能是将细胞膜内的 Ca^{2+} 主动转运至细胞外。关于老年人红细胞膜 (Ca、Mg)-ATP 酶活力文献报道尚少。我们的初步观察表明, 长寿老人该酶的活力明显低于青年组。推测老年人红细胞膜 Ca^{2+} 的转运将发生异常, 影响到细胞的一系列生理功能。

唾液酸是细胞膜上碳水化合物末端的残基, 是膜上负电荷的来源, 细胞表面的许多生物学现象, 如细胞的分化、恶性细胞的迁移, 细胞的识别、粘着和接触抑制等都与膜上的唾液酸

自由基 O_2^- 水平与人的血癌

—— O_2^- 相对含量的间接测定

翁其亮 万田郎

(西安医学院化学教研室)

苏祖佑 曹容珍

(西安医学院第一附属医院)

Emanuel^[1] 和 Lohmann^[2,3] 等人曾对白血病鼠等的氧自由基用直接法 ESR 所进行的研究做过报道。本文系用间接法——分光光度法测定小儿和成人血癌患者血中红细胞的超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, 简称 SOD) 的活性, 以观察 O_2^- 的相对含量, 说明血癌与 O_2^- 含量高低的关系。

一、原理、方法与材料

原理

实验按如下反应系统^[4,5]进行的:

有关, 它也是膜上受体的成份之一。因此, 它好象一把钥匙决定着细胞膜的特征。细胞膜上唾液酸的含量减少将导致细胞一系列的生物学变化, 如细胞凝集性的增加和溶血, 抗原、抗体性质的改变, 细胞老化的加速等, 由此看来, 老年人细胞膜唾液酸含量减少或许是机体免疫功能降低及癌症高发率的原因之一。

人们总是希望青春常在, 渴望能找到判断衰老的指标, 以便及时防衰。我们检测的 30 名老年前期及 39 名长寿老人, 从外表看来, 精神状态很好, 身体健康, 各器官的生理功能基本正常。但从分子水平看, 红细胞膜上 ATP 酶活力已经降低, 膜上唾液酸的含量明显减少, 提示膜的结构出现异常。可见随着年龄的增长, 虽然在器官水平上还没有表现出生理变化, 但在分子水平上已较早有所反映, 可能分子水平的变化是器官水平变化的前兆。由此设想, 红细胞

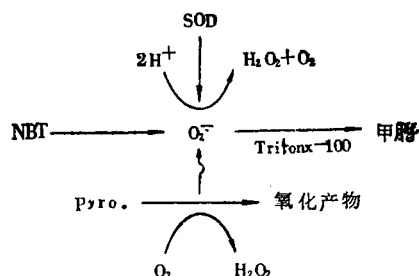


图1 用间接法测定 O_2^- 相对含量原理图

以焦性没食子酸 (Pyro.) 作为产生超氧化物自由基 (O_2^-) 的试剂, 氮蓝四唑 (NBT) 为竞争膜 ATP 酶活力及膜上唾液酸含量的变化有可能做为人的生理老化指标。

参 考 文 献

- [1] Keys, A. et al.: *Metabolism*, 22, 579, 1973.
- [2] Gambert, S. R. et al.: *Journal of Gerontology*, 38 (1) 23, 1983.
- [3] 蔡贵民等: 《中华老年医学杂志》, 4(1), 6, 1985.
- [4] 董伟等: 《生物化学与生物物理进展》, 3, 31, 1983.
- [5] Schmalzing, G. et al.: *J. Membrane Biol.*, 69, 65, 1982.
- [6] MMuszbeck, L. et al.: *Anal. Biochem.*, 77, 286, 1977.
- [7] Markwell, M. A. K. et al.: *Anal. Biochem.*, 87, 206, 1978.
- [8] 董伟等: 《生物化学与生物物理进展》, 2, 66, 1985.
- [9] 今村喜久子等: 《生体の科学》, 33(2), 109, 1982.
- [10] Burich, R. L. et al.: *Journal of Gerontology*, 30, 537, 1975.

[本文于 1985 年 9 月收到]