

赤芍对高脂兔血小板浆游离钙、红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响

郑丽丽¹ 阎西艽² 张永珍² 韩 萍² 叶启霞² 江 戎¹ 申 红³

内容提要 本研究观察了赤芍对高脂兔血小板浆游离钙($[\text{Ca}^{2+}]_i$)、红细胞膜钙-镁-ATP 酶(Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase)活性血清钙及血脂的影响。结果表明:血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 含量赤芍组($276.25 \pm 27.00 \text{ nmol/L}$)显著低于高脂组($390.88 \pm 70.00 \text{ nmol/L}$), $P < 0.01$; 红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础及激活活性($\mu\text{mol} \cdot \text{pi}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)赤芍组(0.79 ± 0.05 , 1.34 ± 0.10)明显高于高脂组(0.65 ± 0.09 , 1.04 ± 0.13), $P < 0.01$ 。说明赤芍可提高高脂血症兔红细胞 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶基础及激活活性。

关键词 赤芍 游离钙 红细胞 血小板 钙-镁-ATP 酶

Effect of *Paeonia lactiflora* on Platelet Cytosolic Free Calcium and Erythrocyte Membrane Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase Activity in Hyperlipid Rabbits ZHENG Li-li, YAN Xi-fu, ZHANG Yong-zhen, et al
The Zhengzhou Hospital of Air Force, Zhengzhou (450007)

The effect of *Paeonia lactiflora* (PL) on platelet cytosolic free calcium and erythrocyte membrane Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase activity in hyperlipid rabbits were observed. Results showed the level of platelet cytosolic free calcium in the PL group ($276.25 \pm 27.00 \text{ nmol/L}$) was significantly lower than that in the cholesterol group ($390.88 \pm 70.00 \text{ nmol/L}$), $P < 0.01$, the basal and calmodulin-stimulated activities of erythrocyte membrane Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase in PL group ($0.79 \pm 0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{pi}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and $1.34 \pm 0.10 \mu\text{mol} \cdot \text{pi}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) were higher than that in the cholesterol group ($0.65 \pm 0.09 \mu\text{mol} \cdot \text{pi}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and $1.04 \pm 0.13 \mu\text{mol} \cdot \text{pi}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Key words *Paeonia lactiflora*, free calcium, erythrocyte, platelet, Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase

我们以往的研究提示,赤芍抗动脉粥样硬化(AS)的作用机理是:抑制血小板聚集,抑制脂质过氧化物(LPO)产生,改善脂蛋白组分比值,调节血栓素-前列环素(TXA_2 - PGI_2)平衡,减少钙(Ca^{2+})沉积于动脉壁。提示 AS 兔血中 TXA_2 - PGI_2 失衡, LPO 增多系由细胞内 Ca^{2+} 超负荷所致。为此,我们观察了赤芍对高脂兔的血小板浆游离钙($[\text{Ca}^{2+}]_i$)、血清钙浓度;红细胞膜钙-镁-ATP 酶(Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase)基础及激活活性的影响,旨在进一步探讨赤芍抗 AS 的作用机标。

材料与方法

1 方法 健康雄性日本大耳白兔 30 只(河南医科大学实验动物中心提供),兔龄 4~5 个月,体重

2~2.5 kg,随机分为正常对照组(对照组)、高脂对照组(高脂组),赤芍治疗组(赤芍组),每组 10 只。对照组喂普通颗粒饲料,上、下午各 50 g。高脂组上午喂 2%胆固醇颗粒饲料 50 g,下午喂普通颗粒饲料 50 g。赤芍组饲料同高脂组,并同时给予赤芍注射液 $1 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,早 8:00 肌肉注射(每毫升相当于原生药 1 g)。

2 观察指标 实验前及实验第 5 周测血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 、血清钙、血脂。实验第 5 周并测红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础及钙调蛋白激活活性。

2.1 血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度测定 上午空腹心室采血 10 ml, ACD 液(mmol/L , 内含柠檬酸: 7, 柠檬酸三钠: 93, 葡萄糖: 140, pH 6.87), 抗凝。立即以 800 rpm 室温下离心 10 min, 得富含血小板胞浆。然后按 Tsien⁽¹⁾及肖利群⁽²⁾的方法,结合本实验室条件加以改进,进行测定(荧光指示剂 Fura-2/Am 由

1. 空军郑州医院神经内科(郑州 450007); 2. 河南医科大学; 3. 河南省卫生干部进修学院

中国科学院药物研究所提供)。

2.2 血清钙浓度 用原子吸收光谱法测定。

2.3 红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础、激活活性测定 按徐友涵及 Bewaji 报道的方法^(3, 4)加以改良测定。膜蛋白定量用 Folin-酚试剂法测定。

2.4 血脂 低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C), 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及其亚组分(HDL₂-C, HDL₃-C)用 SDS 法, 总胆固醇(TC)用酶法测定。

3 统计处理 应用美国 IBM 公司 SAS 软件包(1988), 相同指标间用方差分析及 q 检验。不同指标用直线相关分析。

结 果

1 3 组血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度、血清钙、红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活性比较 见附表。实验前 3 组间无明显差异($P > 0.05$)。实验第 5 周观察到:

附表 3 组实验第 5 周血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 、血清钙及红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活性比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	兔数	血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (nmol/L)	血清钙 (mmol/L)	红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase ($\mu\text{mol} \cdot \text{pi}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	
				基础活性	激活活性
对照	10	265.15 $\pm$ 44.00	2.49 $\pm$ 0.31	0.81 $\pm$ 0.05	1.39 $\pm$ 0.13
高脂	10	390.88 $\pm$ 70.00*	2.48 $\pm$ 0.29	0.65 $\pm$ 0.09*	1.04 $\pm$ 0.13*
赤芍	10	276.25 $\pm$ 27.00	2.48 $\pm$ 0.25	0.79 $\pm$ 0.05	1.34 $\pm$ 0.10

注: 与其他两组比较, * $P < 0.01$

讨 论

本结果示赤芍可提高高脂兔红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础及激活活性。Adeoya 等⁽⁵⁾指出: Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础活性主要受 Ca^{2+} 浓度调节, 高 Ca^{2+} 环境对其有抑制作用。本实验证明: 高脂组红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础及激活活性显著低于赤芍组及对照组, 且高脂组红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础活性与血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度呈显著负相关。提示红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础活性可以反映血小板钙泵功能, 而血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度也间接反映红细胞膜 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度变化。高脂组细胞膜钙泵功能降低的发生机制可能为: (1) 高脂血症时细胞膜脂质的改变影响了膜的流动性及膜蛋白功能, Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活性降低, Ca^{2+} 进入细胞内增多, 而自细胞内泵出障碍, 导致细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高。(2) $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高进一步抑制了 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活性, 加重细胞内 Ca^{2+} 超负荷。赤芍可能通过抑制 Ca^{2+} 内流, 促进细胞膜及细胞内脂质的代谢, 维持膜蛋白的正常功能, 从而减轻对细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活性的抑制, 降低血

(1) 血清钙浓度在 3 组间无明显差异($P > 0.05$)。(2) 高脂组血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度明显升高, 赤芍可显著降低高脂状态下血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度, 两组间差异显著($P < 0.01$)。赤芍组血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度高于对照组, 但无统计学意义($P > 0.05$)。(3) 高脂组红细胞膜 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活性明显低于赤芍组与对照组, 差异显著($P < 0.01$), 而赤芍组与对照组比较无显著性差异($P > 0.05$)。

2 血脂 3 组 LDL-C、TC 含量及 TC/HDL-C、TC/HDL₂-C、LDL-C/HDL-C、LDL-C/HDL₂-C 比值实验第 5 周比较, 高脂组与赤芍组均高于对照组(P 均 < 0.01 , 表略)。

3 直线相关分析 高脂组与对照组血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度与 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 基础活性呈显著负相关($r = -0.9637$, $P < 0.01$; $r = -0.9198$, $P < 0.01$)。

小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度, 抑制血小板聚集及释放, 起到抗 AS 的作用。

参 考 文 献

1. Tsien RY, Pozzan T, Rink TJ. Calcium homeostasis in intact lymphocytes: Cytoplasmic free calcium monitored with a new, intracellular trapped fluorescent indicator. J Cell Biol 1982; 94: 325.
2. 肖利群, 徐也鲁. Quin-2 测定血小板胞浆内游离钙浓度. 上海第二医科大学学报 1989; 9(2): 22.
3. 徐友涵, 宋懿华. 一种简便、灵敏的 ATPase 活性测定方法. 生物化学与生物物理进展 1986; 70(4): 64.
4. Bewaji CO, Olorunsogo OO, Bababunmit BA. Comparison of the membrane-bound $(\text{Ca}^{2+}$ - Mg^{2+})-ATPase erythrocyte ghosts from some mammalian Species. Comp Physiol 1985; 82 B: 117.
5. Adeoya AS, Norman RI, Bing RF. Erythrocyte membrane calcium adenosine 5-triphosphatase activity in the spontaneously hypertension rat. Clin Sci 1989; 77: 395.

(收稿: 1995-08-07 修回: 1995-11-20)