

• 实验研究 •

莨菪类药对家兔红细胞膜钠泵
及钙泵活性的影响

宁波市微循环与莨菪类药研究所 洪方耀 蓝庆荣 周文华

提 要 本实验研究了莨菪类药(含东莨菪碱和阿托品)对家兔红细胞膜钠、钾三磷酸腺苷酶(Na-K-ATPase)及钙镁三磷酸腺苷酶(Ca-Mg-ATPase)活性的影响。结果表明:静脉注射莨菪类药 2ml/kg 时, Na-K-ATPase 活性与实验前比较有明显增强($P < 0.05$); Ca-Mg-ATPase 活性有下降趋势。提示莨菪类药物能改变生物膜活性,其多相药理作用很可能是通过调整生物膜的活性来发挥疗效的。

关键词: 莨菪类药、钠、钾三磷酸腺苷酶、钙镁三磷酸腺苷酶,红细胞膜。

莨菪类药的临床应用已涉及多系统近百种病症。尤其对再生障碍性贫血,重症肝炎及冠心病疗效好,已通过鉴定^[1,2]。实验证明:它具有多种非M受体阻滞的作用,有改善微循环,调节神经体液和保护生物膜以及提高膜上一些离子转运泵活性等作用^[3-4]。许多药物须通过膜发挥作用,细胞膜有调节离子转运的功能,而且是通过膜Na-K-ATPase而完成的。本实验观察莨菪类药对家兔红细胞膜Na-KATPase及Ca-MgATPase活性影响,对探讨莨菪类药多相药理作用和临床用于治疗多种疾病的机理均具理论和实际意义。

实验材料及方法

1. 药物与仪器:莨菪类药(调微Ⅱ号,含东莨菪碱和阿托品,组成比3:1类似自然组成)。FI-20高速低温离心机,RA-2转头(上海医用分析仪器厂)。

2. 动物:选用健康日本大耳兔(由宁波市卫生防疫站动物室培育)体重2.0—2.5kg,

性别不拘,随机分成二组:莨菪类药治疗组(简称莨菪类药组),7只,以2ml/kg/day静脉注射调微Ⅱ号,连续三天。生理盐水对照组(简称NS组),5只,同法注射等量生理盐水。于实验前和末次注射后1小时,分别取心脏血标本,制备红细胞膜并测定ATPase活性。

3. ATPase测定方法:

(1) 红细胞膜的制备^[6]:

取肝素抗凝的心脏血5ml,以2000rpm 10分钟离心,弃去血浆和上层白细胞。用3倍量155mM NaCl洗三次。洗后压积红细胞按1:30~40比例加入10mM Tris-HCl缓冲液(pH 7.6)充分混匀,于低温高速离心机上反复离心4次(12,000rpm,20分钟,2℃),至膜液呈灰白色为止。置于-25℃保存过夜后测酶活性。

(2) Na-K-ATPase活性的测定^[6]:

加膜蛋白悬液于反应液中,总量为1ml,终浓度(mM)为:K⁺:5, Na⁺:58, Mg⁺⁺:1, EDTA:0.1, Tris:92, ATP:2, pH 7.4。一

管含哇巴因(1mM)，另一管无哇巴因。分别于 37℃ 振荡恒温水浴中保温 1 小时，以冷 10% 三氯醋酸终止反应后，2,000rpm 10 分钟离心，取上清液。分别以 Taussky 和 Shorr 法^[7]及 Towry 法^[8]测定释放的无机磷(Pi)和膜蛋白含量，计算 Na-K-ATPase 活性。每份标本分二份同时测定。

(3) Ca-Mg-ATPase 活性的测定：

加膜蛋白悬液于反应液中，总量为 1ml，终浓度为 (mM)：Mg⁺⁺⁺:3.1, Na⁺:68.5, K⁺:28, Tris:1.5, 组氨酸:69, ATP:2.1, pH 7.4。一管含 CaCl₂(0.15mM)，另一管无 CaCl₂ 含 EGTA (1.8mM)。分别于 37℃ 振荡恒温水浴中保温 1 小时，同方法 (2) 操作，计算 Ca-MgATPase 活性，每份标本分为二份同时测定。

实验结果

1. 茛菪类药对家兔红细胞膜 Na⁺-K-ATPase 活性影响：结果见表 1。

表 1 茛菪类药对家兔红细胞膜 Na-K-ATPase 活性的影响

组 别	Na-K-ATPase 活性(μmolpi/mgprotiea/h)		
	实验前(̄x±SD)	实验后(̄x±SD)	P
茛菪类药组 (N=7)	0.231±0.028	0.280±0.025	<0.05
NS组 (N=5)	0.228±0.020	0.250±0.039	>0.1

表 1 结果说明：茛菪类药对家兔红细胞膜 Na-K-ATPase 活性与实验前比较有明显增加，前后差别有显著性(P<0.05)。而 NS 组前后差别无显著性(P>0.1)。

2. 茛菪类药对家兔红细胞膜 Ca-Mg-ATPase 活性影响：结果见表 2。

表 2 说明：茛菪类药对家兔红细胞膜 Ca-Mg-ATPase 活性与实验前比较有下降趋势，而 NS 组无差别(P>0.5)。

表 2 茛菪类药对家兔红细胞膜 Ca-Mg-ATPase 活性的影响

组 别	Ca-Mg-ATPase 活性(μmiepi/mgprotien/h)		
	实验前(̄x±SD)	实验后(̄x±SD)	P
茛菪类药组 (N=7)	0.518±0.062	0.471±0.062	>0.05
NS组 (N=5)	0.540±0.034	0.537±0.02	>0.5

讨 论

1. 细胞依赖离子泵以维持 Na⁺、K⁺、Ca⁺⁺ 等的跨膜梯度，后者对细胞一系列代谢活动和生理功能如膜电位构成、糖元和蛋白质合成、神经递质释放、肌肉收缩舒，激素分泌等均有重要意义。实验证明茛菪类药能改变正常家兔红细胞膜 Na-K-ATPase 及 Ca-Mg-ATPase 活性，使“钠泵”活性明显增强，即可使 Na-K-ATPase 发生兴奋作用，使酶活性增加达 120%。当 Na-K-ATPase 被兴奋时，Na⁺-K⁺ 主动转运增多，细胞内 Na⁺ 减少。而细胞内较少的钠离子又通过钠钙交换促使 Ca⁺⁺ 的外流。后者有可能对 Ca⁺-Mg-ATPase 活性产生抑制作用，致使 Ca-Mg-ATPase 略有下降。所以茛菪类药具有多相药理作用及临床用于多种疾病，很可能是通过调节生物膜活性来发挥疗效作用的。

2. 本实验为测膜活性，先后制备 30 份红细胞膜液，其浓度平均为 4.79±0.30mg/ml，变异系数为 6.3%。对 12 只家兔正常膜酶活性统计于表 3：

表 3 正常家兔红细胞膜 ATPase 活性(μ molpi/mgprtier/h)

	Na- K-ATPase (̄x±SD)	Ca-Mg-ATPase (̄x±SD)
雄性 n=6	0.238±0.055*	0.528±0.061*
雌性 n=6	0.222±0.030*	0.544±0.056**
总计 n=12	0.230±0.024**	0.527±0.05**

• P>0.5 **变异系数 10.5%；9.7%

表中显示 Na-K-ATPase 及 Ca-Mg-ATPase 的动物个体差异分别为 10.5% 及 9.7%，雄雌之间酶活力差异无显著性 ($P > 0.5$) 说明本实验动物质量满意，方法稳定可靠，重现性良好。

参 考 文 献

- [1] 吕淑芳等, 中华内科杂志 1986; 25:10
- [2] 杨国栋等, 科研成果评议书 1983

- [3] 杨国栋等, 莨菪类药研究进展 (待发表)
- [4] 王苏民等, 中国药理学报 1986; 7:114
- [5] Reinila M & Mac Donald E. Ana Biochem 1982; 124:19
- [6] Cole CH & Waddell KW J Clin Endocrinol Metab 1976; 42:1056
- [7] Tanssky HH & Shorr E J Biol Chem 1953; 202:675
- [8] Towry OH et al J Biol Chem 1951; 193:265