

花粉对肾皮质细胞Na-K-ATP酶活性的影响

南通医学院生化教研室 黄树模 严俊 杨华 刘飞

欧阳春* 傅庭治*

提 要 本实验测定健康大鼠肾皮质Na-K-ATP酶活性,花粉组和对照组的酶活性分别为 3.90 ± 0.59 和 5.50 ± 0.46 ($P_1 \mu\text{m}/\text{mg}$ 蛋白质), t 检验 $P < 0.05$ 。实验结果表明花粉有调节肾皮质Na-K-ATP酶活性作用。该作用是否与花粉有利尿作用有关,文章作了讨论。

Na-K-ATP酶(EC3.6.1.3)是生命活动过程重要的酶,它定位于质膜(Plasma membrane)上,担负 Na^+ 和 K^+ 的主动运转,以控制膜内外的电解质梯度。钠离子的主动转运是一个耗能反应过程,由ATP水解提供能量^[1,2]。肾小管细胞存在Na-K-ATP酶,与肾小管钠重吸收有关联,它的活性受许多因素所制约。花粉对各组织器官Na-K-ATP酶活性的影响尚未见报道。本实验选择大鼠为研究对象,初步探讨花粉对肾皮质Na-K-ATP酶活性的影响。

实验方法

挑选体重200—250克左右雌性纯种大鼠(S. D.)18只,分为两组。实验组大鼠每日用油菜花粉(破壳)混悬液灌胃,剂量为100 mg/100克体重;对照组则以相同体积0.9%氯化钠溶液代之,40天后,以乙醚浅麻醉,剖开腹腔,取下肾脏,按以下方法制备肾皮质细胞膜并进行ATP酶活性的测定。

一、肾皮质细胞膜悬液的制备

按文献^[3]略加修改,取大鼠肾脏,剥去肾包膜,弃去肾髓质,留皮质一克,剪碎,置于匀浆器中,加适量预冷0.01M Tris-

HCl缓冲液(pH7.4),手动匀浆10—15分钟,6层纱布过滤,1,000 g离心15分钟,沉淀用上述缓冲液洗涤离心,重复3—4次。最后加上述缓冲液约4毫升,即得肾细胞悬液备用。

二、肾细胞膜悬液蛋白质的测定

用双缩脲法测定,得每毫升悬液蛋白质毫克量。

三、肾细胞膜ATP酶活性的测定

按Harold氏法^[4]改良,反应液总体积2毫升,其中除膜蛋白0.4~0.6毫克/毫升外,还含NaCl 0.1M, MgCl_2 0.006M, KCl 0.02M, ATP 0.0017M, Tris 0.0025M, pH7.4。对照管膜悬液ATP酶活性用2.5%三氯醋酸灭活。37℃水浴中保温一小时,离心,取上清液,用孔雀绿微量定磷法^[5]测定无机磷含量。

四、ATP酶活性定义

以每毫克膜蛋白悬液在37℃, pH7.4条件下,每小时释出1微克分子无机磷为一个活性单位。

实验结果

花粉对健康大鼠肾皮质Na-K-ATP酶

活性影响见下表

实 验 分 组	Na-K-ATP酶活性	t 检 验
	$P_i \mu M/1mg$ 蛋白质	
对照组(10)	$5.50 \pm 0.46^*$	$P < 0.05$
实验组(8)	$3.90 \pm 0.59^*$	

从上述实验结果可知花粉使健康大鼠肾细胞 Na-K-ATP 酶活性降低。按 t 检查测定 $P < 0.05$, 两组有显著差别。

讨 论

Na-K-ATP 酶从 ATP 提供能量, 主动转移 Na^+ 、 K^+ 以相反方向跨过细胞质膜的过程, 已在人的红细胞试验中得到证实^[6-8]。但肾脏仅转运 Na^+ 单向的跨过细胞膜而不主动地从另一方向转运 K^+ (最少在大量的情况下), 这一点同红细胞不一样^[9]。Malnic G. 等^[10]提出 K^+ 不主动地转运入肾小管腔。Katz A. I. 等^[9]的实验发现对侧单一肾切除的大鼠或喂饲高蛋白膳食或注射甲泼尼松龙 (Methylprednisolone) 的大鼠其钠重吸收增加, Na-K-ATP 酶活性亦增加; 对双侧肾上腺切除的大鼠, 其钠重吸收降低, Na-K-ATP 酶活性亦降低^[9, 11], 同时 Mg-ATP 酶活性以及脑中 Na-K-ATP 酶活性均未改变, 说明此酶活性的变化仅局限于肾脏。

Pimplikar S. V. 等^[12]研究蛋白质—能量营养不良患者肾 Na-K-ATP 酶活性发现随水和电解质的变化而增高, 说明机体营养状态与酶活性有关。

花粉含有丰富的蛋白质、维生素和微量元素等营养物质。近年来花粉被广泛地应用于医疗保健等方面, 或作为饮料或与其他补品掺和作为补品出售。本实验大鼠服用花粉 40 天, 可谓摄取了充足的营养成分, 不但机体处于健康状态, 并且 Na-K-ATP 酶活力也应当保持在正常水平。本实验分别测定了

大鼠在摄取花粉 40 天后大脑、肌肉、肾皮质 Na-K-ATP 酶活性, 实验结果表明大脑、肌肉的酶活性没有变化 (实验数据未列出), 而肾皮质 Na-K-ATP 酶活性降低 ($P < 0.05$), 说明花粉对肾脏酶活性的影响较为敏感。已知乌本苷抑制 Na^+ 重吸收。某些强利尿剂如汞制剂, ethacrynic acid 和 furosemide 等也是有力的 Na-K-ATP 酶抑制剂^[13-14]。一般报道花粉在保健方面的生理功用是多方面的。它的利尿作用是否可能与花粉影响肾 Na-K-ATP 酶活性从而影响了钠重吸收和水的排出有关。

Cantley L. C. Jr 等^[15]证明微量化合物钒酸盐 (V) 离子可抑制 Na-K-ATP 酶磷酸化而产生抑制作用。花粉含有微量元素, 但未见含有稀有痕量元素的报道, 它们的可能存在不容忽视。花粉尚含有固醇类激素等化合物, 具有激素样作用^[16], 它对酶活性影响也不能排除。这些都有待进一步分析。本实验仅作初步探讨。

参 考 文 献

- [1] 王理开等: 生物化学与生物物理进展 1976; 4: 40.
- [2] Sweadner K. J. et al: N. Engl. J. Med 1980; 302:777.
- [3] 周克元等: 湛江医学院学报 1982; 2: 4.
- [4] 凌克鑫等: 湛江医学院学报 1982; 2: 1.
- [5] 上海医学化验所: 临床生化检验 上册 上海科技出版社 1982, 226页.
- [6] Post, R. L. et al: J. Biol. Chem. 1960; 235:1796.
- [7] Whittam, R.: Biochem. J. 1962; 84:110.
- [8] Whittam, R. et al: Biochem. J. 1965; 97:214.
- [9] Katz, A. I. et al: J. Clin. Invest. 1967; 46:1999.
- [10] Malnic, G. et al: Am. J. Physiol. 1964; 206:674.

(下转第23页)

(上接第7页)

[11] Aperia A. et al: Acta Physiol Scand.
1984, 12(2):133.

[12] Pimplikar S. W. et al: Biochemical
Medicine 1981, 26(1):12.

[13] Duggan, D. E. et al: Arch. Biochem,

Biophys. 1965, 109:388.

[14] Taylor, C. B. Biochem. Pharmacol.
1963, 12:539.

[15] Cantley L. C. Jr. et al: J. Biol. Chem.
1978, 253:7361.

[16] 黄树模等: 南通医学院学报 1986, (3):12.