

铝盐对红细胞膜酶活力的影响

Effect of aluminium salt on the enzymes activities on erythrocyte membrane

王俊玲

WANG Jun-ling

(兰州医学院公共卫生学院卫生学、毒理学教研室, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 制备红细胞膜, 体外染铝, 钼酸铵法测定磷并计算酶活力。结果可见, 铝导致红细胞膜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 活力下降, 说明铝可致红细胞膜损伤。

关键词: 铝; 红细胞膜; ATPase

中图分类号: O614. 31 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2004)03-0191-02

铝是公认的慢性蓄积性神经毒物, 它在老年性神经退行性疾病的毒作用已被大量研究所证实^[1~4]。但铝(主要形式为 Al^{3+})是如何发挥其毒性作用的, 目前尚少见报道。有报道证明红细胞膜在一定程度上可视为神经细胞的平衡标志物^[5], 而且由于铝进入体内经血液分布于其他器官, 所以红细胞膜可能是其毒作用的首选靶目标^[6]。本研究通过观察铝盐对人红细胞膜酶的相互作用后活性的变化, 初步探讨铝神经毒作用的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人红细胞由甘肃省人民医院提供体检合格健康人红细胞。

1.2 试剂和仪器

$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (上海金山化工厂), 用三蒸水配制成 Al^{3+} 终浓度为 1、10、20、40 mmol/L 溶液, 其余试剂均为国产分析纯。高速冷冻离心机 (吉林图门产), 721 分光光度计 (四川仪器厂), 水浴锅 (北京西城区器械厂)。

1.3 红细胞膜制备

取肝素抗凝全血, 吸去上清, 按 1:2 比例加入生理盐水, 混匀, 3 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 小心吸除沉淀上层绒毛状物质 (白细胞、血小板), 反复 2 次, 红细胞层按 1:2 比例加入预冷的 10 mmol/L Tris-HCl (pH=7.4), 轻摇 2 min, 并反复冻溶, 然后以 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 沉淀加 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液反复洗涤 2 次, 乳白色沉淀即为红细胞膜。Lowry 法测膜蛋白含量。

1.4 酶活力测定

取人红细胞膜液与不同浓度的 Al^{3+} 溶液, 37℃ 水浴 30 min, 取出置冰浴 5 min 终止反应。用钼铵酸法^[7]测磷 (P) 的含量, 计算 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 活力。

1.5 统计方法

采用 SPSS8.0 软件单因素方差分析和单相关分析。

2 结果

由表 1 可见, 终浓度为 1、10、20、40 mmol/L 的 Al^{3+} 均可不同程度抑制 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 活力。经 *F* 检验, 各浓度组抑制 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 的作用与对照组比较, 差异有显著性 ($P < 0.01$), 且呈剂量-效应关系 (*r* 值分别为 -0.763、-0.932, $P < 0.01$)。

表 1 体外染铝对红细胞膜酶活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

染 Al^{3+} 浓度 (mmol/L)	$\mu\text{mol}/(\text{mg prot} \cdot \text{h})$	
	$\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$	$\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$
0	6.94 ± 0.37	8.94 ± 0.45
1	4.42 ± 0.41 *	8.09 ± 0.25 *
10	3.18 ± 1.42 *	7.52 ± 0.21 *
20	2.58 ± 0.59 *	6.39 ± 0.38 *
40	1.80 ± 0.83 *	5.44 ± 0.44 *

与对照组比较, * $P < 0.01$

3 讨论

实验结果表明, 铝盐可抑制人红细胞膜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 的活力, 并呈剂量-效应关系。

$\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 都是细胞膜的跨膜蛋白。 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的一个亚基位于带 III 蛋白之中, $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 的亚基则属于带 II.2 蛋白^[8]。 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 是细胞膜的标志酶和重要的离子载体, 又是能够将 Na^+ 、 K^+ 离子逆浓度梯度跨膜转运的蛋白质, 起着主动转运的作用; 还能将细胞内的 Na^+ 转运至细胞外, 同时又使细胞外的 K^+ 进入细胞内, 维持细胞的稳态。 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 可通过磷酸化与脱磷酸化的变构过程将 Ca^{2+} 运出细胞外, 使细胞内的 Ca^{2+} 浓度维持稳态。铝可使机体产生自由基, 攻击膜不饱和脂肪酸产生脂质过氧化反应, 引起细胞膜活性失调, 导致膜损伤^[9]。由于钠、钙泵的部分亚基暴露在细胞外层, 所以 Al^{3+} 可能与它们相互结合而发生作用, 与细胞的这种结合可能会破坏细胞膜的结构, 抑制 ATPase 的活力, 导致钠泵和钙泵功能下降, 引起 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 离子转运失调, 打破离子平衡。总之, 有关铝神经毒作用的机制还需要更深入的研究。

参考文献:

- [1] Birchall JD, Chappell JS. Aluminium, chemical physiology and Alzheimer's disease [J]. Lancet, 1988, 29: 1008-1011.
- [2] 尹学钧, 丁成. 铝与 Alzheimer 病 [J]. 国外医学卫生学分册, 1995, 22 (4): 193-197.

(下转第 198 页)

收稿日期: 2003-06-09; 修回日期: 2003-07-14

作者简介: 王俊玲 (1974-), 女, 在职硕士生, 研究方向: 发育

毒理学

表 2 两组不吸烟者的肺通气功能测定结果

组别	例数	实测值/ 预计值 ($\bar{x} \pm s$)				异常率 (%)			
		FVC	FEV _{1.0}	FEV _{1.0} %	PEFR	FVC	FEV _{1.0}	FEV _{1.0} %	PEFR
接触组	58	96.7 ± 10.7 *	94.1 ± 13.0 *	92.9 ± 15.3 *	98.7 ± 15.1	17.2 (10) *	19.0 (11) *	17.2 (10) *	12.1 (7)
对照组	58	103.8 ± 12.6	106.1 ± 14.5	104.1 ± 16.3	98.4 ± 17.7	5.2 (3)	3.4 (2)	6.9 (4)	10.3 (6)

2.3 接触组与对照组中吸烟者的肺通气功能测定结果 著性, 见表 3。

两组肺通气功能 4 项指标及其异常率比较差异均具有显

表 3 两组吸烟者肺通气功能的测定结果

组别	例数	实测值/ 预计值 ($\bar{x} \pm s$)				异常率 (%)			
		FVC	FEV _{1.0}	FEV _{1.0} %	PEFR	FVC	FEV _{1.0}	FEV _{1.0} %	PEFR
接触组	40	93.2 ± 12.4 *	92.4 ± 10.1 *	95.4 ± 11.0 *	92.4 ± 15.8 *	30.0 (12) *	27.5 (11) *	27.5 (11) *	32.5 (13) *
对照组	43	101.1 ± 13.9	98.8 ± 15.6	101.4 ± 10.7	98.4 ± 11.2	7.0 (3)	4.7 (2)	9.3 (4)	11.6 (5)

2.4 喷涂聚氨酯漆工人的接触工龄与肺通气功能损伤的关系 和 PEFR 及其异常率比较, 除 PEFR 外, 其他指标差异均具有显著性 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 4 不同接触工龄工人的肺通气功能测定结果

工龄	例数	实测值/ 预计值 ($\bar{x} \pm s$)				异常率 (%)			
		FVC	FEV _{1.0}	FEV _{1.0} %	PEFR	FVC	FEV _{1.0}	FEV _{1.0} %	PEFR
<8 年	52	101.3 ± 11.2	100.6 ± 10.5	99.4 ± 9.2	98.9 ± 10.2	19.2 (10)	17.3 (9)	19.2 (10)	21.2 (11)
≥8 年	46	96.6 ± 10.8 *	93.1 ± 14.7 *	93.6 ± 8.7 *	98.1 ± 11.5	26.1 (12) *	23.9 (11) *	21.7 (10) *	21.7 (10)

* 与接触 ≥ 8 年组比较, $P < 0.05$

3 讨论

现有喷漆作业工人肺通气功能改变的报道较少, 本调查对象主要接触聚氨酯漆。调查结果显示, 接触组工人的 FVC、FEV_{1.0}、FEV_{1.0}% 和 PEFR 的实测值/ 预计值, 均比对照组降低, 异常率明显增高, 且与对照组相比差异有显著性 ($P < 0.05$)。可见长期接触聚氨酯漆的喷漆作业工人肺通气功能受到一定程度的损伤。

如果剔除吸烟因素影响, FVC、FEV_{1.0}、FEV_{1.0}% 3 项肺通气功能指标, 接触组与对照组的实测值/ 预计值差异有显著性 ($P < 0.05$)。如果考虑吸烟因素, 接触组与对照组之间 4 项肺通气功能指标差异均有显著性 ($P < 0.05$), 可见吸烟是影响肺通气功能的重要因素, 它使作业工人肺通气功能损伤加大, 即吸烟与接触聚氨酯漆两因素对肺通气功能损伤可能产生协同作用。

调查显示, 不同接触工龄工人肺通气功能损害程度不同,

且有随工龄延长而肺功能损伤加重的趋势, 可见接触工龄与肺通气功能损害有密切关系。

综上所述, 要切实加强聚氨酯漆接触工人的健康监护工作, 除常规检查外, 肺通气功能测定应列为该作业人群定期健康检查的常规项目。

参考文献:

- [1] Pan Wen Harn, Chen Jim Yih, Huang Sueh Lin, et al. Reference spirometric values in healthy Chinese never-smokers in two townships of Taiwan [J]. Chinese Journal of Physiology, 1997, 40 (3): 165-174.
- [2] Reed M, Gardner. Standardization of spirometry. A summary of recommendations from the American thoracic society [J]. Annals of Internal Medicine, 1988, 108: 217-220.
- [3] 穆魁津, 刘世琬. 全国肺功能正常值汇编 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1990. 24-30.
- [4] 吴永会, 张忠义, 那常筠, 等. 金属打磨工人呼吸系统损伤的调查研究 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2000, 18 (5): 260-263.

(上接第 191 页)

- [3] Grapper DR, Aaseth J. Aluminium, antacids and Alzheimer's disease [J]. Am J Kidney Dis, 1985, 4 (5): 322-327.
- [4] Renard JL, Felten D, Bequet D. Post-otoneurosurgery aluminium encephalopathy [J]. Lancet, 1994, 344 (8914): 63-64.
- [5] Korpela M. Inhibition of synaptosome membrane-bound integral enzyme by organic solvents [J]. Scand J Work Environ Health, 1989, 15: 64.
- [6] 郭贵文, 梁友信, 马惠荣, 等. 职业性铝接触对红细胞膜 Na⁺-

- K⁺-ATPase 活性的影响 [J]. 工业卫生与职业病, 1998, 1: 6-7.
- [7] Reinila M, MacDonald E, Salem N J, et al. Standardized method for the determination of human erythrocyte membrane adenosine triphosphatase [J]. Analytic Biochem, 1982, 124: 19-22.
- [8] 朱玉真, 谈兰英, 杨英俊, 等. 硫酸镍对人红细胞膜酶活力的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1995, 13 (6): 346-347.
- [9] 张忠贤. 铝与脂质过氧化 [J]. 国外医学卫生学分册, 1999, 26 (4): 219.