

低氧对高原鼠兔肝细胞内质网 和心肌肌浆网 Ca^{2+} 泵的影响*

吴雁 杜继曾 尤治秉

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

摘 要

模拟高原低氧条件研究高原鼠兔肝细胞内质网 (Endoplasmic reticulum, ER) 和心肌肌浆网 (Sarcoplasmic reticulum, SR) 钙泵功能变化。实验设对照组 (海拔2 300 m) 和两个低氧实验组 (模拟海拔5 000 m 和7 000 m)。24 h 急性低氧时, 海拔5 000 m 组高原鼠兔 ER 的 Ca^{2+} 泵活性无变化, 海拔7 000 m 组高原鼠兔 ER Ca^{2+} 泵活性下降29.02%。7 d 亚急性低氧时高原鼠兔 SR 的 Ca^{2+} 泵活性无显著变化。高原鼠兔 ER 的 Ca^{2+} 泵活性在海拔5 000 m 组和7 000 m 组分别升高32.50% 和33.33%。25 d 慢性低氧时高原鼠兔 ER, SR 的 Ca^{2+} 泵活性均无显著变化。表明: 急性低氧对 Ca^{2+} 泵功能有抑制作用, 低氧7 d 后抑制缓解, 至25 d 低氧时趋于恢复。

关键词 低氧; Ca^{2+} 泵; 高原鼠兔; 内质网; 肌浆网

正常的细胞质 Ca^{2+} 浓度是维持细胞正常生理活动的必要条件。细胞质内 Ca^{2+} 浓度升高, 可引起细胞损伤和死亡 (Nicotera 等, 1992)。细胞内 Ca^{2+} 浓度升高通常是由于细胞内非线粒体 Ca^{2+} 储存库内质网、肌浆网释放 Ca^{2+} 所致。低氧可使大鼠肝细胞膜受到严重损伤, 溶酶体膜对转氨酶及酸性磷酸酶的渗透性增加 (Du Jizeng 等, 1984; 李庆芬等, 1986, 1987), 并且在形态上也发生很大变化 (Shingu 等, 1982; John 等, 1983; 李庆芬等, 1987)。低氧对细胞的损伤可能与低氧影响细胞内 Ca^{2+} 的分布有关。本实验观察了不同时间、不同程度模拟高原低氧条件下高原鼠兔 ER, SR Ca^{2+} 泵功能的变化, 以了解低氧对高原鼠兔 Ca^{2+} 泵的影响, 进而了解低氧对心脏和肝脏细胞作用的异同。

材料和方法

高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*) 捕自中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站地区, 并在西宁 (海拔2 300 m) 驯养两周后用于实验。

在人工低气压舱内模拟高原低氧。实验设2 300 m 对照组 (西宁地区海拔高度), 5 000 m 和7 000 m 2个模拟海拔高度组, 分别低氧暴露24 h、7 d 和25 d。动物在舱内可自由进食与饮水。低氧暴露至预定时间后, 断头处死, 分别取肝脏或心脏2~ 3 g, 制备内质网或肌浆网。取内质网或肌浆网制备液200 μl (20~ 50 μg protein/ ml), 加入预先温育的3 ml 反应液 (KCl 100 mmol, imidazole-histidine buffer (pH 6.8) 30 mmol, MgCl_2 5 mmol, ATP 5 mmol, ammonium oxaldate 5 mmol, Sodium azide 5 mmol, CaCl_2 20 μmol , (45

* 本文于1997年11月11日收到, 1998年6月2日收到修改稿

Ca²⁺ 0.2 μci/m l), 37 °C 孵育60 min。取混合后的反应液500 μl用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 滤膜晾干后, 液闪计数器计数。蛋白测定采用Low ry 法。

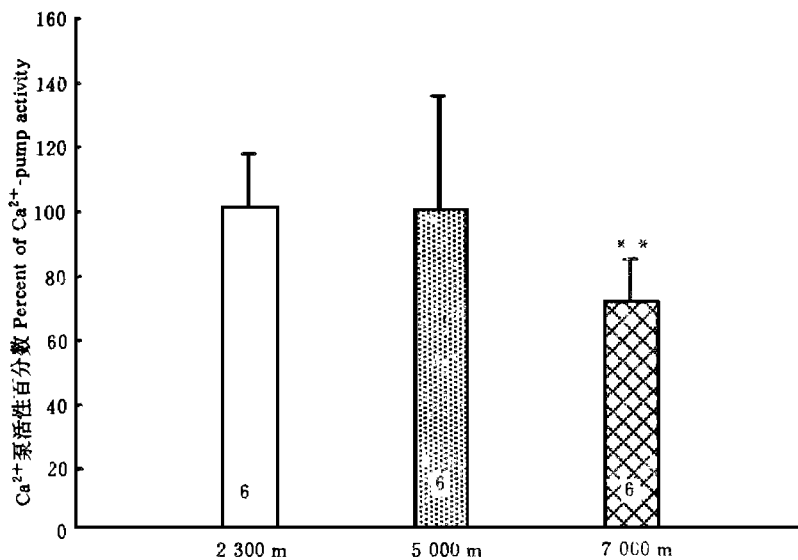


图1 24 h 低氧对高原鼠兔肝内质网Ca²⁺ 泵活性的作用

Fig 1 Effects of 24 hours hypoxia on Ca²⁺ -pump activity of hepatic ER of *Ochotona curzoniae*

注: 图中柱内数字代表动物数; ** P < 0.01 (与对照相比)

Note: Numbers in columns mean animal samples; ** P < 0.01 vs control

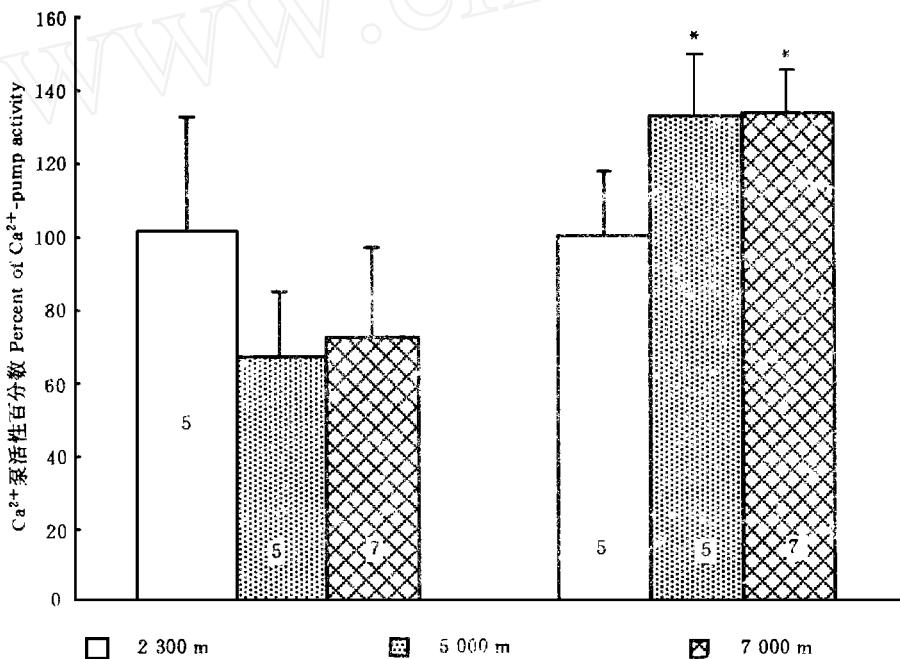


图2 7 d 低氧对高原鼠兔肝内质网和心肌网Ca²⁺ 泵活性的作用

Fig 2 Effects of 7 days hypoxia on Ca²⁺ -pump activity of hepatic ER and cardiac SR of *Ochotona curzoniae*

注: 图中柱内数字代表动物数; * P < 0.05 (与对照相比)

Note: Numbers in columns mean animal samples; * P < 0.05 (vs control)

结 果

1 24 h 急性低氧对 Ca^{2+} 泵活性的影响

24 h 急性低氧暴露后, 高原鼠兔肝内质网 Ca^{2+} 泵活性受到抑制。与对照组相比, 海拔 7 000 m 组, 高原鼠兔内质网 Ca^{2+} 泵活性下降 29.02% ($P < 0.01$); 海拔 5 000 m 组, 高原鼠兔肝内质网 Ca^{2+} 泵活性无显著变化 (图1)。

2 7 d 亚急性低氧对 Ca^{2+} 泵活性的影响

低氧暴露 7 d, 海拔 5 000 m 和 7 000 m 组, 高原鼠兔肝的内质网 Ca^{2+} 泵活性与对照组相比分别升高 32.59% ($P < 0.05$) 和 33.33% ($P < 0.01$), 心肌肌浆网的 Ca^{2+} 泵活性 5 000 m 和 7 000 m 组均无显著变化 (图2)。

3 25 d 慢性低氧对 Ca^{2+} 泵活性的影响

低氧暴露 25 d, 5 000 m 和 7 000 m 组高原鼠兔的内质网、肌浆网 Ca^{2+} 泵活性与对照组相比均无显著变化 (图3)。

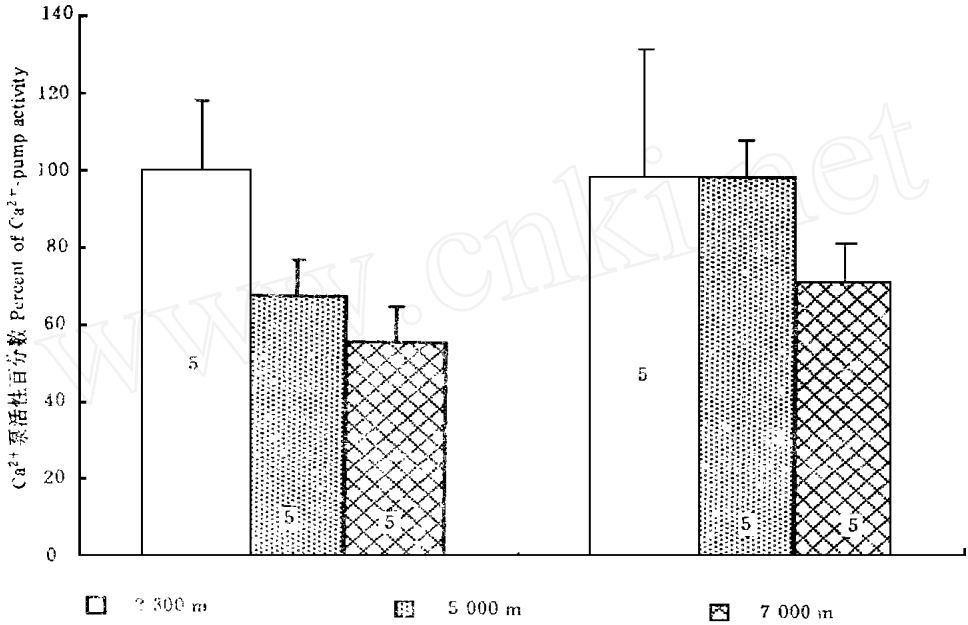


图3 25 d 低氧对高原鼠兔肝内质网、心肌网 Ca^{2+} 泵功能的影响

Fig 3 Effects of 25 days hypoxia on Ca^{2+} -pump activity of hepatic ER and cardiac SR of *Ochotona curzoniae*

注 Note: 图中柱内数字代表动物数 Numbers in columns mean animal samples

讨 论

Ca^{2+} 代谢紊乱是细胞死亡的共同途径。 Ca^{2+} 在细胞代谢中扮演着重要的角色, 它不仅作为第二信使参与细胞代谢, 与肌细胞收缩功能密切相关, 而且对膜透性的改变有重要的作用。Judah (1964) 提出细胞死亡首先是质膜受到破坏, 其次是大量 Ca^{2+} 流入细胞质, 而胞内 Ca^{2+} 浓度升高又是膜损伤的一个重要因素。膜磷脂的降解必须由 Ca^{2+} 激活磷脂酶, 而膜磷脂的降解又增加膜对 Ca^{2+} 通透性。细胞内 Ca^{2+} 储库是细胞质 Ca^{2+} 增加的一个重要来源。

本实验结果表明: 低氧对膜的 Ca^{2+} 泵功能有严重的影响, 可使 Ca^{2+} 转运能力下降。24 h 急性低氧, 海拔7 000 m 时, 高原鼠兔肝内质网 Ca^{2+} 泵活性显著下降。表明24 h 低氧严重影响 Ca^{2+} 转运功能, 即影响细胞质内 Ca^{2+} 浓度。以前的研究表明, 急性低氧条件下细胞膜结构受到损伤, 使膜透性增加, 溶酶体内酶渗出量增加; 缺血性 Ca^{2+} 泵功能受阻的研究发现 (Rapudalo et al, 1986), Ca^{2+} 泵功能受阻的主要原因是 Ca^{2+} -ATPase 活性受抑制所致。提示低氧造成 Ca^{2+} 转运能力下降可能是由于低氧影响膜的流动性, 膜受到损伤, 进而抑制膜 Ca^{2+} -ATPase 活性; 热暴露研究表明 (杨晓昊等, 1996), 细胞钙稳态改变可能与细胞钙调素的代谢有关。7 d 亚急性低氧后, 高原鼠兔肝内质网 Ca^{2+} 泵活性在海拔5 000 m 和7 000 m 都有显著升高。基于杜继曾等 (1982) 建立的一个海拔5 000 m 低氧暴露近一个月慢性模型, 低氧反应的急性调整时相发生于低氧暴露的前四天, 尔后进入慢性适应时相。所以低氧暴露7 d Ca^{2+} 泵功能不仅有所恢复, 并且略有升高, 这可能是功能恢复后的一种调整, 是为了将急性低氧期积累的 Ca^{2+} 运走, 使细胞质内的 Ca^{2+} 浓度恢复正常。可见高原鼠兔对低氧的适应能力较强, 且肝细胞的恢复再生能力也较强。慢性低氧25 d 时, 无论在海拔5 000 m 或7 000 m 高原鼠兔肝内质网、心肌肌浆网 Ca^{2+} 泵功能都趋于恢复。从实验结果还可看出在低氧过程中肝脏较心脏受低氧影响大。这可能是动物在不利条件下其自身保护机制首先保证重要脏器的功能, 心脏较肝脏更重要, 故低氧过程中肝脏较心脏受低氧影响大。

综上所述, 急性低氧抑制膜 Ca^{2+} 泵活性可能是由于低氧使膜结构受到损伤, 也可能是通过使细胞内 pH 改变而使 Ca^{2+} -ATPase 活性发生变化。7 d 亚急性低氧后, Ca^{2+} 泵功能开始恢复。25 d 慢性低氧后 Ca^{2+} 泵功能完全恢复。低氧对肝的影响比心脏严重。低氧后高原鼠兔的恢复能力强。这可能是由高原鼠兔长期繁育在高原低氧环境, 具有特异的低氧适应的机制所决定的。

参 考 文 献

- 李庆芬, 尤治秉, 陈晓光, 杜继曾 1986 慢性高原低氧对高原鼠兔和大鼠肝脏的作用 兽类学报, 6 (4): 261~ 266
- 李庆芬, 陈晓光, 尤治秉, 杜继曾 1987 急性高原性低氧对三种小哺乳动物肝脏作用的比较 兽类学报, 7 (1): 51~ 57.
- 杜继曾, 李庆芬 1982 模拟高原低氧对高原鼠兔和大鼠器官与血液若干指标的影响 兽类学报, 2 (1): 35~ 41.
- 杨晓昊, 李文选, 程素琦, 陈西京 1996 热暴露大鼠心肌细胞钙稳态及其调节机制的研究 生理学报, 48: 464~ 468
- Du Jizeng, Li Qingfen, Chen Xiaoguang 1984 Effect of simulated altitude on liver of *Ochotona curzoniae* and rats *Acta Zool Fennica*, 171: 201~ 203
- John J L, Carole J S, Sungchul J, Ronald G T. 1983 Cell surface changes and enzyme release during hypoxia and reoxygenation in the isolated, perfused rat liver *J Cell Bio*, 97: 778~ 786
- Judah J D, Ahmed K, Mclean A E M. 1964 In Cellular Injury. (Ciba Foundation Symposium) (Eds, A. V. S de Reuck and J. Knight). Litte, Brown & CO., Boston P187.
- Nicotera P, Orrenius S 1992 Ca^{2+} and Cell death *Ann NY Acad Sci*, 648: 17~ 28
- Rapudalo S T, Norman B F, Feher J J. 1986 Effects of ischemia on the isolation and function of canine cardiac sarcoplasmic reticulum. *J Mol Cell Cardiol*, 18: 837~ 851.
- Shingu K, Edmond I E, Johnson B H. 1982 Hypoxia can produce hepatic damage without death in rats *Anesth Analg*, 61: 820~ 823

THE EFFECTS OF STIMULATED HYPOXIA ON LIVER ENDOPLASMIC RETICULUM AND HEART SARCOPLASMIC RETICULUM Ca^{2+} -PUMP OF OCHOTONA CURZONIAE

WU Yan DU Jizeng YOU Zhibing

(Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001)

Abstract

The effects of stimulated hypoxia on Ca^{2+} -pump activity of the liver endoplasmic reticulum (ER) and heart sarcoplasmic reticulum (SR) of *Ochotona curzoniae* (pika) were studied. In this experiment *Ochotona curzoniae* were exposed to simulated altitudes of 5 000 m and 7 000 m in hypobaric pressure chamber for 24 hours, 7 days and 25 days. The effects of different altitude and different duration of hypoxia on Ca^{2+} -pump activity are not same. After exposed to 7 000 m hypoxia for 24 hours, Ca^{2+} -pump activity of pika ER was inhibited 29.02% ($P < 0.01$). After 7 days of hypoxia Ca^{2+} -pump activity of ER and SR increase 32.59% ($P < 0.05$) and 33.33% ($P < 0.01$) at altitude of 5 000 m and 7 000 m. During chronic hypoxia of 25 days, the Ca^{2+} -pump activity of were unchanged.

Key words Hypoxia; Ca^{2+} -pump; *Ochotona curzoniae*; Sarcoplasmic reticulum; Endoplasmic reticulum