

模拟高原低氧对大鼠肝细胞内质网 Ca^{2+} 泵的影响*

EFFECTS OF HYPOXIA ON LIVER ENDOPLASMIC RETICULUM Ca^{2+} -PUMP OF RAT

关键词 低氧 Ca^{2+} 泵 高原鼠兔 内质网 肌浆网

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

缺血、缺氧及细胞毒素都能使细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, Ca^{2+} 积累, 导致细胞 Ca^{2+} 代谢紊乱, 引起细胞损伤和死亡。细胞质内 Ca^{2+} 浓度升高通常是由于细胞内非线粒体 Ca^{2+} 储存库内质网释放 Ca^{2+} 所致。本实验中作者观察了不同时间不同程度模拟高原低氧条件下大鼠肝细胞内质网 (endoplasmic reticulum, ER) Ca^{2+} 泵功能的变化, 以了解低氧对 Ca^{2+} 泵的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物 实验用大鼠系平原引入高原后的子代 SD 大鼠, 体重 150 ~ 200 g。

1.2 低氧暴露 实验设 2 300 m 对照组 (西宁地区海拔高度), 5 000 m 和 7 000 m 两个模拟海拔高度组, 分别低氧暴露 24 小时、7 天和 25 天。人工低气压舱内模拟高原低氧。

1.3 Ca^{2+} 泵活性测定 低氧暴露预定时间后, 断头处死, 分别取肝脏 2 ~ 3 g 用于制备内质网。取内质网悬液 200 μl (20 ~ 50 μg protein/ml), 加入预先温育的 3 ml 反应液 [KCl 100 mmol/L, imidazole-histidine buffer (pH 6.8) 30 mmol/L, MgCl_2 5 mmol/L, ATP 5 mmol/L, ammonium oxaldate 5 mmol/L, Sodium azide 5 mmol/L, CaCl_2 20 $\mu\text{mol/L}$, ($^{45}\text{Ca}^{2+}$ 0.2 $\mu\text{Ci/ml}$)], 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 分钟。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 Lowry 法。

2 结果

2.1 24 小时急性低氧对 Ca^{2+} 泵活性的影响

24 小时急性低氧暴露后, 大鼠肝 ER Ca^{2+} 泵活性受到抑制。海拔 7 000 m 组, 大鼠肝 ER Ca^{2+} 泵活性下降 28.60% ($P < 0.001$), 海拔 5 000 m 组, 大鼠肝 ER Ca^{2+} 泵活性无显著变化 (表 1)。

表 1 不同时间、不同高度低氧暴露对大鼠肝内质网 Ca^{2+} 泵活性的影响

Table 1 Effects of Hypoxia of different time and altitude on Ca^{2+} -pump activity of rat liver endoplasmic reticulum

低氧时间 Hypoxia time	不同高度 Ca^{2+} 泵活性		
	Ca^{2+} -pump activity at different altitude (%) ¹⁾		
	2 300 m	5 000 m	7 000 m
	对照 (Control)		
24 小时 (h)	100 \pm 8.12 (7) ²⁾	95.79 \pm 11.10 (7)	71.4 \pm 9.93 (6) ³⁾
7 天 (days)	100 \pm 35.31 (6)	112.31 \pm 12.23 (7)	137.82 \pm 9.96 (6)
25 天 (days)	100 \pm 37.02 (7)	76.28 \pm 10.64 (7)	87.58 \pm 29.00 (6)

1) Ca^{2+} 泵活性以对照为 100% (Ca^{2+} -pump activity take control as 100%)

2) 括号内数字为动物数 (number in parenthese equals animal samples)

3) $P < 0.0001$, 与对照组比 (vs. control)

1995-12-25 收稿, 1997-09-24 修回

第一作者简介 杜继曾, 男, 60 岁, 研究员, 博士研究生导师。研究方向: 动物生理和生态学。

2.2 7 天亚急性低氧对 Ca^{2+} 泵活性的影响

低氧暴露 7 天, 海拔 5 000 m 和 7 000 m 组, 大鼠肝 ER 对 Ca^{2+} 泵活性有升高趋势, 但无显著差异 (表 1)。

2.3 25 天慢性低氧对 Ca^{2+} 泵活性的影响

低氧暴露 25 天, 各实验组大鼠的 ER Ca^{2+} 泵活性与对照相比均无显著变化 (表 1)。

2.4 糖皮质激素在急性低氧中的作用

与对照组比较, 海拔 7 000 m、24 小时急性低氧暴露后, 大鼠肝 ER 的 Ca^{2+} 泵活性显著下降 ($P < 0.001$)。但在腹腔注射 30 mg/kg 氢化可的松后, 再低氧暴露时, 与对照组相比无显著差异 (表 2)。

表 2 24 小时急性低氧条件下可的松 30 mg/kg 对大鼠肝内质网 Ca^{2+} 泵活性的影响

Table 2 Effects of Cortison 30 mg/kg on Ca^{2+} -pump activity of rat liver endoplasmic reticulum altitude and 24 h hypoxia

组别 Group	Ca^{2+} 泵活性 (Ca^{2+} -pump activity) (%) ¹⁾	
	2 300 m 对照 (Control)	7 000 m
未用可的松 Untreated with cortison	100 \pm 37.12 (6) ²⁾	—
可的松处理 Treated with cortison	—	87.58 \pm 25.24 (5) ³⁾

1) Ca^{2+} 泵活性以对照为 100% (Ca^{2+} -pump activity take control as 100%)

2) 括号内数字为动物数 (number in parentheses equals animal samples)

3) $P < 0.05$, 与对照组比 (vs. control)

3 讨 论

本实验结果表明: 低氧对肝内质网膜的 Ca^{2+} 泵功能有严重的影响, 可使 Ca^{2+} 转运能力下降。24 小时急性低氧、海拔 7 000 m 时, 大鼠肝 ER Ca^{2+} 泵活性显著下降, 表明 24 小时低氧严重影响 ER 的 Ca^{2+} 转运功能。缺血性 Ca^{2+} 泵功能受阻的研究发现, Ca^{2+} 泵功能受阻的主要原因是 Ca^{2+} -ATP 酶活性受抑制所致 (Rapudalo *et al.*, 1986)。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+} -ATP 酶活性。7 天亚急性低氧后, 大鼠肝 ER 的 Ca^{2+} 泵活性无显著变化。这符合于杜继曾等 (1982) 建立的一个海拔 5 000 m 低氧暴露近一个月慢性动物模型: 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。7 天为进入慢性适应时相的开始。

慢性低氧 25 天时, 无论在海拔 5 000 m 或 7 000 m 大鼠和高原鼠兔肝 ER、心肌肌浆网 Ca^{2+} 泵功能都趋于恢复。

杜继曾 吴 雁 尤治秉

(DU Ji-Zeng WU Yan YOU Zhi-Bing)

中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001

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