



## 妊娠高血压综合征红细胞膜ATP酶活性的变化

妊娠高血压综合征(以下简称妊高征)的主要症状是血压升高,早在20世纪80年代就已证实血管平滑肌质膜钠钙离子转运障碍是导致外周血管平滑肌张力增加的主要原因。ATP酶(ATPase)是镶嵌于脂质双分子层的活性蛋白质。本文从膜脂质代谢的角度探讨妊高征患者ATP酶活性变化。

### 1 对象与方法

#### 1.1 研究对象

研究对象为1998年10月~1999年3月间在白求恩医科大学第二临床医院产科、长春市妇产医院产科、长春市解放军461医院妇产科住院孕产妇。妊高征的诊断和分类标准按文献[1],共25例,且均为重度妊高征,年龄为(26.1±3.4)岁,孕周(37.4±3.9)周,无高血压、慢性肾炎及其他心肾疾病病史。采血前未服用影响钙、镁代谢的药物。妊高征组均以剖宫产手术结束分娩。同时随机抽取正常孕晚期孕妇27例作为正常对照组,年龄为(27.8±3.3)岁,孕周为(39.8±1.3)周。对照组均为单胎孕足月初产妇,无妊娠合并症及并发症,均以择期剖宫产手术结束分娩,其剖宫产指征主要是头盆不称和社会因素。

#### 1.2 实验方法

1.2.1 标本的采集与处理 妊高征组和对照组均于用药前静脉采血,并于采血时由专人用标准台式水银柱血压计在休息30 min后测量坐位右侧肱动脉血压,连续测量3次取平均值,收缩压和舒张压分别以柯氏第I和第V音为准。妊高征组于产后72 h再次采静脉血、测量血压作为妊高征患者产后组。采集的静脉血1 ml置肝素抗凝瓶中,3 000 r/min离心20 min后,弃血浆和上层白细胞,将红细胞用10倍体积的Tris-HCl(pH 7.6)缓冲液于4 °C下反复洗3遍。每次洗涤后均以2 700 r/min离心5 min,弃上清。吸洗过的红细胞0.1 ml加入0.9 ml 20 mmol/L Tris-HCl缓冲液和1%皂素0.01 ml,摇匀后室温下静置15 min,使其充分溶血,并置于-30 °C冰箱中,待集中测定。

1.2.2 仪器与试剂 7170A全自动生化分析仪(日本产);MEPOMC CA470电子血球计数仪(瑞士产);ATP购自美国Sigma公司;乌苯苷及皂素购自德国Amersham公司;L组氨酸购自上海生物制品研究所;胆固醇和甘油三酯试剂盒均购自上海长征医学科学有限公司。

#### 1.2.3 ATP酶活性测定方法

1.2.3.1 ATP酶反应液成分(mmol/L) 反应液A: MgCl<sub>2</sub> 3.6, NaCl 80, KCl 33, L组氨酸 80, EDTA 0.5, 乌苯苷0.9, ATP 2.5(反应前加入);反应液B: 用CaCl<sub>2</sub> 0.05取代EDTA,余与反应液A相同;反应液C: 反应液A中除去乌苯苷。

1.2.3.2 ATP酶测定步骤 0.1 ml红细胞的溶血液中分别加入0.9 ml反应液A、B、C,混匀后置37 °C恒温水浴中反应2 h,然后以冷的20%三氯乙酸0.2 ml终止反应。离心后吸上清液,用7170A全自动生化分析仪测定释放的Pi量,利用MEPOMC CA470电子血球计数仪测定血红蛋白量。酶活性单位以 $\mu\text{mol Pi/g Hb} \cdot 2\text{h}$ 表示。B管与A管之差值为Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性,C管与A管的差值为Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP酶活性。具体测定方法参照沈茂星

[2] 的同步测定法并稍作变动。

1.2.4 胆固醇测定方法 采用胆固醇氧化酶法。

1.2.5 甘油三酯测定方法 采用甘油磷酸氧化酶法。

因红细胞溶血液在进行处理时曾稀释10倍，所以以上结果均扩大10倍。

1.3 统计学处理

显著性差异采用两个样本均数的t检验，采用直线相关分析检测相关性。

## 2 结果

### 2.1 红细胞膜ATP酶活性(表1)

妊高征患者产前组红细胞膜的 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶活性与对照组比较明显降低( $P < 0.001$ )；分娩后妊高征孕妇红细胞膜上述酶活性得到部分恢复，接近于对照组水平。妊高征患者分娩前后比较，上述酶活性差异显著( $P < 0.001$ )。而红细胞膜上 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶活性在对照组和妊高征患者产前、产后均未见明显改变( $P > 0.05$ )。

表1 妊高征患者红细胞膜 ATP 酶活性

( $\mu\text{mol Pi/gHb}\cdot 2\text{ h}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 Activity of ATPase on the erythrocyte membrane in patients with pregnancy-induced hypertension

( $\mu\text{mol Pi/gHb}\cdot 2\text{ h}$ ,  $\text{Mean} \pm \text{SD}$ )

Group	n	$\text{Ca}^{2+}$ -ATPase	$\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase	$\text{Mg}^{2+}$ -ATPase
Control	27	$39.44 \pm 6.65$	$3.740 \pm 0.532$	$34.15 \pm 8.14$
PIH				
Antenatal	25	$29.68 \pm 5.61^*$	$2.942 \pm 0.320^*$	$31.10 \pm 8.32$
Postnatal	25	$38.71 \pm 6.37^\Delta$	$3.806 \pm 0.929^\Delta$	$28.44 \pm 5.99$

PIH: Pregnancy-induced hypertension; \* $P < 0.001$  vs control group.

$^\Delta P < 0.001$  vs antenatal PIH group

### 2.2 红细胞膜胆固醇及甘油三酯的含量(表2)

妊高征患者产前红细胞膜胆固醇的含量显著高于对照组( $P < 0.05$ )；产后胆固醇的含量明显降低，与产前相比差异显著( $P < 0.05$ )。妊高征患者产前红细胞膜甘油三酯的含量较对照组略高，但二者无显著性差异( $P > 0.05$ )，虽妊高征患者产后膜甘油三酯的含量有所改变，但无显著意义( $P > 0.05$ )。

表 2 妊高征患者红细胞膜胆固醇及甘油三酯的含量  
(mmol/L,  $\bar{x}\pm s$ )

Tab.2 Content of cholesterol and triglyceride on the erythrocytary membrane in patients with PIH  
(mmol/L, *Mean* $\pm$ *SD*)

Group	n	Cholesterol	Triglyceride
Control	27	6.72 $\pm$ 1.89	1.94 $\pm$ 0.40
PIH			
Antenatal	25	8.04 $\pm$ 1.54*	2.14 $\pm$ 0.34
Postnatal	25	6.58 $\pm$ 1.22 <sup>△</sup>	1.98 $\pm$ 0.35

\* $P<0.05$  vs control group; <sup>△</sup> $P<0.05$  vs antenatal PIH group

### 2.3 相关性分析

本研究对25例妊高征患者的红细胞膜胆固醇含量与ATP酶进行了相关性分析,结果表明红细胞膜胆固醇含量与膜上Ca<sup>2+</sup>-ATP酶的相关系数为-0.4467,直线回归方程为 $y=20.470-0.4189x$ ,二者呈明显的负相关( $P<0.05$ )。红细胞膜胆固醇含量与膜上Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶的相关系数为-0.4063,直线回归方程为 $y=1.373-0.1929x$ ,二者亦具有显著的相关性( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 ATP酶活性变化的机制

本研究表明妊高征患者细胞膜胆固醇含量增高,使磷脂双分子层上的胆固醇与磷脂物质的量之比升高,从而引起膜的组成发生变化。膜的胆固醇含量升高,降低了磷脂烃链间的相互协同作用。妊高征患者细胞膜胆固醇与磷脂的物质的量之比升高,使膜磷脂浓度相对下降,膜表面的负电荷密度相对下降,静电排斥作用减弱,不利于膜的伸展,导致钠泵活性降低。国外资料[4]证实了Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶的脂质环面有不同的排列;也有资料[5]显示人体内存在的钠泵抑制因子会竞争Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶上的乌苯昔结合部位,引起结合部位的改变或活性分子数目的降低,导致Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性降低。可见,细胞膜脂质成分改变,降低了膜的流动性,引起Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶催化亚单位的改变,最终导致ATP酶活性的降低。

### 3.2 ATP酶活性降低在妊高征病理生理机制中的意义

本研究结果显示妊高征患者膜胆固醇含量增加,磷脂含量相对下降,即膜的流动性降低,脆性增加,细胞的变形能力减弱,增加了微循环的阻力,因而需要提高灌注压以克服外周阻力的增加,结果使血压升高。这一点与Isao等[6]提出的Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性下降与血压水平的严重程度直接相关的结论相符。肾小球毛细血管内的红细胞由于变形能力降低,增加了循环阻力,使肾小球的滤过压增高,长时间作用可导致肾小球毛细血管的通透性增加,使原本不能滤过的蛋白质得以滤出,形成蛋白尿。临床上妊高征患者低脂饮食的目的在于降低胆固醇含量,增加膜的流动性,改善微循环,降低外周阻力。

Goto等[5]证实胎盘Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性降低可致细胞变形能力减弱,从而增加外周阻力而使灌注压力升高,导致胎盘血管痉挛,血流减少。胎盘的Na<sup>+</sup>转运与氨基酸转运相协同,Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性降低必然造成氨基酸转运障碍,使得胎儿营养供应不足,所以,妊高征患者胎儿宫内发育迟缓的发生率较高。

(责任编辑:宋建武)

参考文献:

[1] 乐杰. 妇产科学[M]. 第4版,北京:人民卫生出版社,1996.113-6.

[2] 沈茂星,沈惟堂,林慈,等. 红细胞(Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>)-ATP酶和(Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)-ATP酶活性同步测定法

[J]. 上海医学检验杂志, 1990, 5(4):211-4.

Skou JC, Esmann M. The Na, K-ATPase[J]. J Bioenerg Biomembr, 1992, 24(3):249-61.

[4] Rabini RA, Zolese G, Staffolani R, et al. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase of human placenta during gestational hypertension: a biochemical-biophysical study[J]. Clin Sci Colch, 1996, 91(6):719-23.

[5] Goto A, Yamada K. Ouabain-like factor[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 1998, 7(2):189-96.

[6] Fuchi I, Higashino H, Noda K, et al. Placental Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> activated ATPase activity in SHRSP in connection with pregnancy-induced hypertension and intra-uterine growth retardation[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl, 1995, 1: S283-5.

#### 参考文献:

[1] 乐 杰. 妇产科学[M]. 第4版, 北京:人民卫生出版社, 1996. 113-6.

[2] 沈茂星, 沈惟堂, 林 慈, 等. 红细胞(Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>)-ATP酶和 (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>)-ATP酶活性同步测定法[J]. 上海医学检验杂志, 1990, 5(4):211-4.

Skou JC, Esmann M. The Na, K-ATPase[J]. J Bioenerg Biomembr, 1992, 24(3):249-61.

[4] Rabini RA, Zolese G, Staffolani R, et al. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase of human placenta during gestational hypertension: a biochemical-biophysical study[J]. Clin Sci Colch, 1996, 91(6):719-23.

[5] Goto A, Yamada K. Ouabain-like factor[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 1998, 7(2):189-96.

[6] Fuchi I, Higashino H, Noda K, et al. Placental Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> activated ATPase activity in SHRSP in connection with pregnancy-induced hypertension and intra-uterine growth retardation[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl, 1995, 1: S283-5.