

镉对非洲鲫鱼血、胆、肝、肾 乳酸脱氢酶的影响

高振洋

(中国科学院海洋研究所)

提要 非洲鲫鱼被饲养在镉浓度1ppm、盐度33‰、温度20℃左右的海水中40天。用镉处理的非洲鲫鱼，其血、胆、肝和肾脏的LDH同功酶电泳图谱的着色深度比对照组浅得多，LDH的相对活性亦显著地降低了。血液降低21%，胆汁降低55%，肝脏降低59%，肾脏降低18%。上述结果表明：重金属镉可明显地抑制非洲鲫鱼血、胆、肝和肾的LDH的酶活力。

重金属镉是海洋环境的重要污染物，它可影响生物体的酶体系，很低浓度的镉就可造成线粒体中氧化磷酸化的解体^[4]。乳酸脱氢酶(LDH)是生物氧化的重要酶，它主要催化糖酵解过程中乳酸与丙酮酸的相互转化，并广泛地分布于生物体各组织中^[3,7]。

随着近代生物学的发展，酶学监测海洋环境的研究也日益扩大^[5,6]。为了在亚致死浓度下，评价海洋环境镉污染的状况和探索镉致毒的机理，我们选用了广盐性的非洲鲫鱼(*Tilapia mossambica*)^[8]为实验材料，研究了重金属镉对非洲鲫鱼的血液、胆汁、肝脏和肾脏的LDH同功酶电泳图谱及酶活力的影响，作为化学和生物监测海洋环境的补充。

一、材料和方法

(一) 材料。非洲鲫鱼取自青岛胶南县养殖场。鱼取回后，先置于室外海水养殖池中驯养一个月，然后选出身长12—15cm，体重15—20g的健康个体各20尾，分别置于两个盛有海水15000ml的圆玻璃缸内饲养。海水盐度为33‰，温度在20℃左右。一缸为致毒试验组，保持镉浓度为1.0ppm；另一缸为对照组。每

天换水一次。以淡水蚤为饵料，每天投饵两次。养殖40天后，取样测定分析。

(二) 样品制备。在每次试验中均各取对照组和试验组鱼两尾，先进行尾静脉取血，然后解剖，取其胆囊、肝脏和肾脏，在冰浴上剪碎，按血1:10；胆汁1:1；肝脏1:10；肾脏1:20(W/V)，加入预冷的重蒸馏水，在玻璃匀浆器中充分匀浆后，置冰冻离心机上4000rpm，离心20min，取其上清液，供做电泳和酶活力测定用。

(三) 聚丙烯酰胺不连续圆盘状凝胶电泳。参照张树政等法^[1,2,7,9]。浓缩胶浓度为2.5% (W/V)，Tris-HCl缓冲液(pH6.7)；分离胶浓度为7.0% (W/V)，Tris-HCl缓冲液(pH8.9)。电极用Tris-甘氨酸缓冲液(pH8.3)。LDH同功酶用氯化硝基四氮唑蓝着色，配方为(供12管胶柱用量)：辅酶I(DPN)3ml(10mg/ml)，氯化硝基四氮唑蓝1.5ml(5mg/ml)，吩嗪二甲酯硫酸盐0.4ml(1mg/ml)，0.1mol/L氯化钠3ml，5mmol/L氯化镁3ml，1mol/L乳酸钠3ml，0.5mol/L磷酸缓冲液14ml。在37℃的水浴中保温30min着色。用7.5%的冰醋酸固定。

(四) 酶活力测定。采用2,4-二硝基苯胍

显色法¹⁾。LDH在DPN的递氢作用下,使乳酸脱氢,生成丙酮酸。丙酮酸与2,4-二硝基苯肼作用,生成丙酮酸二硝基苯腙,其在碱性溶液显棕色,显色深度与生成丙酮酸的量成正比,因此,可对照用标准丙酮酸做的标准曲线作比色测定。

操作步骤:加样品0.1ml,缓冲基质液1.0ml(70—80%乳酸钠10ml,0.1mol/L甘氨酸缓冲液125ml,0.1N氢氧化钠75ml),在37°C水浴中保温3min后,加入DPN 0.2ml(5mg/ml),再置于37°C水浴中保温15min,取出后,加入2,4-二硝基苯肼1.0ml(2,4-二硝基苯肼200mg溶于10N盐酸100ml),充分混匀后,立即在国产XG-125型分光光度计上,用440m μ 波长比色测定。

每生成1 μ g分子丙酮酸为1个LDH活力单位。

二、结果与讨论

在我们的实验条件下,经多次电泳,发现胆汁的LDH同工酶图谱为一条谱带,而血液、肝脏和肾脏则为3条谱带,见图1。

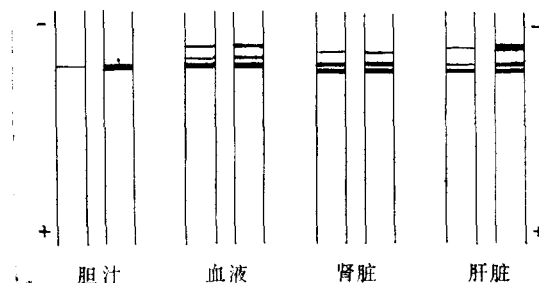


图1 非洲鲫鱼不同部位LDH同工酶聚丙烯酰胺圆凝胶电泳图谱(模拟型)

Fig. 1 The patterns of the disk polyacrylamide gel electrophoresis of LDH isozyme in different position of *Tilapia mossambica*

图1每种成份左边为试验组,右边为对照组胶柱。

由图1可见,尽管试验组和对照组的电泳图谱的谱带数目相等,各谱带的迁移率亦基本

相同,但仍清楚可见试验组的谱带比对照组细,其颜色也明显变淡。试验组有的谱带,象血的第二条带、肾的第三条带、肝的第二条带和胆汁的谱带,颜色变的几乎看不清楚了。这说明镉污染虽然不能改变非洲鲫鱼胆汁、血液、肾脏和肝脏的LDH同工酶的谱带数目和迁移率,但可不同程度地降低其谱带的着色深度。

在相同的着色条件下,同工酶的着色深浅与该酶的活性强弱有关。上述现象可能是由于镉污染降低了LDH的相对活性所致。

酶活力的测定(见表1)。从表1可以看出,试验组非洲鲫鱼的胆汁、血液、肝脏和肾脏的LDH活力,比对照组都有不同程度的降低。胆汁降低了55%;血液降低了21%;肝脏降低了59%;肾脏降低了18%。以肝脏降低的幅度最大。

表1 镉对非洲鲫鱼不同部位LDH酶活力的影响

Tab.1 The effect of Cd on activity of the LDH in different position of *Tilapia mossambica*

成份	活性单位/100ml样品		差值	降低之百分率(%)
	对照组	试验组		
胆汁	195	88	107	55
血液	15120	11950	3170	21
肾脏	41200	33600	7600	18
肝脏	17200	7125	10075	59

从上述结果可以看出,重金属镉可明显地抑制非洲鲫鱼胆汁、血液、肝脏和肾脏的LDH酶活性。这和镉进入机体后主要富集于以上部位的报道相一致^[3,4]。

另从上述电泳图谱和酶活力测定的结果还可以看出,镉是通过抑制LDH酶活力降低电泳图谱着色深度的。因而这两个结果是一致的。

1) 海军北海舰队后勤部卫生处, 1974. 临床生化检验第269—273页。

同时亦不难看出, 通过抑制LDH, 阻断机体的生物氧化过程, 是镉污染的致毒途径之一。而LDH可能是在亚致死浓度下, 监测海洋环境污染的较好酶类。

主要参考文献

- [1] 张树政等, 1973。聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳。化学通报 1: 34—36。
- [2] 莽克强等, 1975。聚丙烯酰胺凝胶电泳。科学出版社。
- [3] 四川医学院生化教研室, 1975。血清乳酸脱氢酶及其同工酶与甲胎蛋白对肝癌诊断的比较研究。肿瘤防治研究 2: 21—27。
- [4] 中国科学院环境化学研究所情报室, 1978。镉的环境污染及防治。环境科学情报资料 5: 39—70。
- [5] 赖德荣, 1982。酶学测定在海洋污染研究中的应用。环境污染与防治 1: 15—21。
- [6] 杨端等, 1981。用鱼血 δ -氨基乙酰丙酸脱水酶指示水体中铅污染的研究。环境科学学报 1(1): 59—66。
- [7] 丁训诚, 1979。工业毒理学实验方法。上海科学技术出版社, 196—200页。
- [8] 徐权汉等, 1981。非洲鲫鱼人工繁殖试验, 海洋与湖沼。12(6): 549—554。
- [9] Albert, A. et al., 1967. Separation and quantitation of Lactic dehydrogenase isoenzymes by disc electrophoresis. *Analytical biochemistry* 20: 246—257.

THE EFFECT OF CADMIUM ON THE ELECTROPHORETIC PATTERNS OF LDH ISOZYME AND THE ACTIVITY OF LDH IN THE BLOOD, BILE LIVER AND KIDNEY OF *TILAPIA MOSSAMBICA*

Gao Zhenpan

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

Abstract

Tilapia mossambica were raised in seawater containing Cd in the concentration of 1.0ppm for forty days. The salinity of the seawater was about 33‰, temperature about 20°C.

With the Cd treatment, the electrophoretic patterns of LDH isozyme of the blood, bile, liver and kidney were stained more lightly on the compared with control group, indicating that the effective concentration of LDH isozyme was lowered.

Because of the effect of Cd, the relative activity of the LDH was reduced distinctly, the blood by 21%, bile by 55%, liver by 59%, and kidney by 18%.

The results indicate that the heavy metal Cadmium can inhibit distinctly the LDH activity of the blood, bile, liver and kidney of *T. mossambica*.