

研究简报

鱼体中谷胱甘肽对微囊藻毒素的解毒作用的初步研究*

张甬元 徐立红 周炳升 徐 盈

(中国科学院水生生物研究所,淡水生态与生物技术国家重点实验室,武汉 430072)

原田健一

(日本名城大学药学部,名古屋 468)

PREILIMINARY STUDIES ON THE ROLE OF GSH IN DETOXIFICATION OF MICROCYSTIN-LR IN FISH

Zhang Yongyuan, Xu Lihong, Zhou Bingsheng and Xu Ying

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences The State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Wuhan 430072)

Ken-ichi Harada

(Meijo University, Faculty of Pharmacy, Nagoya 468)

关键词 谷胱甘肽,微囊藻毒素,解毒作用

Key words glutathione, microcystins, detoxification

谷胱甘肽(glutathione, 简写 GSH)是广泛存在于动物细胞及绝大部分植物和细菌中的三肽,与生物体内抗离子辐射、维持蛋白的巯基状态等密切相关;在毒理学研究中更注重它的另一生物功能:解毒作用。它是生物解毒系统第二阶段反应中主要的结合物质之一,尤其与非生物物质的结合,对许多毒物的毒性影响具有保护作用。GSH 在外源性化合物代谢中起着重要的解毒作用已为许多研究者公认。

微囊藻毒素(简称 MCYST)是蓝藻中的某些属产生的次生代谢产物,在发生水华的水体中该类毒素大量产生,由于水华发生十分普遍,而且近年来发现该毒素是一种极强的肝肿瘤促进剂,对它的研究更受到越来越多的重视。关于它在体内解毒的情况,目前尚未见到报道。Kondo 等人的研究证明在化学反应中毒素可与 GSH 结合形成一种新的物质,而这种新物质毒性大大降低,推测 GSH 可能参与了体内毒素解毒作用^[1]。本实验室的研究已表明微囊藻毒素 LR 对草鱼肝细胞超微结构有明显的影响,即已从细胞水平上证明了 LR 对鱼的毒性作用^[2],根据这一结果,本研究用预先给予受试鱼 GSH 的方法对鱼进行预保护,然后经腹腔注入毒素,与仅注入毒素或 GSH 的鱼比较,然后从超微结构观察判断 GSH 是否对毒素的毒性影响具有保护作用。

* 国家自然科学基金资助,课题号:39370151。

1994年4月8日收到。

1 材料与方法

实验草鱼[Ctenopharyngodon idellus, (Curier et Valenciennes)]由中国科学院水生生物研究所养殖场提供。鱼体重25—30g，体长9—10cm，暂养期间喂食人工饵料，水温18—22℃，一周后用于实验。将鱼分为四组，A、B、C组分别注射蒸馏水、剂量为8mg/kg的GSH、剂量为900μg/kg的MCYST-LR，D组先对鱼注射剂量与B组相同的GSH，两小时后注入与C组剂量相同的毒素MCYST-LR。以上四组分别在毒素被注入6h、24h、48h和72h后取样，经固定、包埋、切片、染色等处理，在光镜、电镜下观察。

2 结果与讨论

实验期间，注射蒸馏水和注射GSH的对照组无鱼死亡，鱼肝脏外观正常，超微结构无改变。注射毒素LR的鱼肝脏超微结构变化与本实验室的报道一致^[9]，注射LR和LR+GSH组的鱼肝脏超微结构见图版I:1—6，将这两组鱼的肝脏结构变化进行比较，从表1结果可看出，在注入毒素前2h注射了GSH的鱼，与仅注入LR的相比，其肝脏结构没有明显改变，基本与对照组相同，毒素没有对其超微结构产生影响，因此可以肯定预先补充GSH可使鱼抵抗微囊藻毒素的毒性作用。这一结果从另一方面也表明了毒素的危害：由于消耗机体内的GSH而可能会破坏生物体的解毒机制。

表1 注射LR组与注射GSH+LR组观察结果比较

Tab.1 Comparison of viewing results of liver in fish inject with LR and GSH+LR

时间 Time		注射LR(C组) Inject LR (C group)	注射GSH+LR(D组) Inject GSH+LR (D group)
肉眼观察 Visual view	6h	肝颜色加深，形状完整	无明显改变
	24h	肝充血加剧，肝易碎	无显著充血
	72h	肝呈深紫色，难分辨出肝小叶	肝形状完整
光镜观察 Light microscope view	6h	肝细胞解离，细胞间出现间隙肝细胞索破坏	形态结构与H ₂ O对照组相似
	24h	肝充血，细胞大量坏死	肝脏内无显著充血，肝细胞亦无分离
	72h	肝细胞大量坏死，血细胞堆积成团	肝脏结构趋于正常
电镜观察 Electronic microscope view	6h	肝细胞解离，形成许多细胞间隙并可见微丝与光镜观察类似	肝脏超微结构与GSH对照组相似
	24h		肝细胞无分离，无充血
	72h	肝细胞崩解、死亡，细胞间有许多血细胞分布	肝细胞无分离及充血，肝细胞超微结构保存较好

正常情况下，GSH在一定细胞或组织中含量是相对稳定的，如果消耗速度异常增加，则胞内GSH含量会降低，而引起消耗的原因之一就是由于存在着可与GSH结合的底物，某些外来污染物或其代谢物便是属于这种底物，许多有毒物质通过与GSH结合而解毒。有人提出细胞抗化学物毒性的能力取决于它维持GSH贮存量的能力。验证GSH是否参与了解毒过程一般可从两方面来进行，即加入GSH消耗剂(GSH合成抑制剂)观察物质的毒性是否增加，或对生物补充GSH，观察有毒物质的毒性是否降低。Gallagher在研究中用给斑点叉尾鮰预注射GSH合成抑制剂BSO和DEM的方法证明2,4,5,6-四氯异苯二甲腈的毒性增加了三倍^[1]，而GSH预保护研究指出，对小鼠在两小时前注射GSH，可完全保护小鼠免受微囊藻毒素YM的毒性影响^[4]，毒素致毒的鼠肝细胞中GSH随时间、剂量而消耗^[5]，这证明GSH的确与毒素的解毒作用有关。多项研究表明，机体调节有毒物质毒性的关键要素是机体代谢毒物的能力，有人已提出GSH应成为毒理实验中常规的检测参数^[6]，这不仅表明GSH可以反应机体的中毒状况，而且也反映了GSH在解毒过程中的重要作用。因此，进一步研究GSH在微囊藻毒素致毒过程中的解毒作用，对于全面了解该毒素的可能危害是有着十分重要的意义的。

参 考 文 献

- [1] Kondo F et al. Formation, characterization and toxicity of the glutathione and cysteine conjugates of toxic heptapeptide microcystins. *Chem. Res. Toxicol.* 1992, 5(5): 591—596.
- [2] Zhou B et al. The effect of microcystin-LR on the liver ultrastructure of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. 1993, Annual Report of FEBL 1992, 97—105.
- [3] Gallagher E P et al. The protective role of glutathione in chlorothalonil induced toxicity to channel catfish. *Aquatic Toxicology*, 1992, 23: 155—168.
- [4] Hermansky S et al. Evaluation of potential chemoprotectants against microcystin-LR hepatotoxicity in mice. *J Appl Toxicol.* 1991, 11: 65—74.
- [5] Maria T C et al. Injury to hepatocytes induced by a peptide toxin from the cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Toxicology*, 1987, 25: 1235—1239.
- [6] 江泉观. 基础毒理学. 北京: 化学工业出版社, 1991, p107.

图 版 说 明

1. B组, 注射GSH的草鱼肝脏光镜图像, $\times 400$; 2. C组, 注射微囊藻毒素-LR72小时, 示肝脏内有大量红细胞(长箭头), 肝细胞崩解(短箭头), $\times 400$; 3. D组, 注射微囊藻毒素-LR72小时, 肝脏内无充血, 肝细胞亦无分离, $\times 400$; 4. C组, 注射微囊藻毒素-LR6小时电镜图像, 肝细胞相互分离并形成了非细胞空间, 在细胞间隙可观察到微丝(MF), $\times 7000$; 5. C组, 注射微囊藻毒素-LR72小时, 可见肝脏内严重充血, 所有肝细胞崩解死亡, $\times 7000$, 肝细胞(箭头), 红细胞(E); 6. D组, 注射微囊藻毒素-LR72小时, 肝细胞, 可见保护较好的肝细胞超微结构, $\times 7000$.

1. Group B, light micrograph of the liver of grass carp injected with GSH, $\times 400$; 2. Group C, 72h after microcystin-LR injection, showing a large accumulation of blood cells (long arrow) and the collapse of hepatocytes (short arrow), $\times 400$; 3. Group D, 72h after microcystin-LR injection, no blood cell congestion was observed and no separation of the hepatocytes, $\times 400$; 4. Group C, electron micrograph of 6h after microcystin-LR injection, hepatocytes separated and non-cell spaces formed with microfilaments (MF) in the spaces, $\times 7000$; 5. Group C, 72h after microcystin-LR injection, a severe congestion in fish liver and all the hepatocytes (arrow) collapsed. red blood cell (E), $\times 7000$; 6. Group D, 72h after microcystin-LR injection, the ultrastructure of the hepatocytes were protected very well, $\times 7000$.