

# 钉螺氮代谢产物的研究\*

王根法 宋庚明

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所\*\*,上海 200025)

**摘要** 日本血吸虫中间宿主钉螺在 30℃ 时排出尿素和氨量分别为  $9.88 \pm 1.87$  及  $6.24 \pm 2.06 \mu\text{mol/g/24h}$  比在 15℃ 时排出的  $6.51 \pm 1.24$  及  $2.68 \pm 0.31 \mu\text{mol/g/24h}$  的多;饥饿钉螺排出尿素和氨的量比饱食钉螺多。 $7 \times 10^{-3} \text{mol/L}$  溴乙酰胺使钉螺排出尿素和氨的量减少,钉螺在无光条件下尿素排出量增加。钉螺具有合成尿素的鸟氨酸氨甲酰转移酶、精氨酸酶及精氨酸代琥珀酸合成酶与裂解酶。钉螺排出尿素多于排出的氨应属于排尿素的动物。

近年来在有些已送走瘟神的地区又遭到了血吸虫病的侵袭,有螺面积在扩大,严重威胁着一亿多人口的健康,党中央和国务院发出号召全民动员再送瘟神。消灭钉螺是切断血吸虫病的重要环节,因而对钉螺的基础研究有重要意义。动物排出含氮终产物因不同动物而异,有排氨为主的,有排尿素为主的,也有排尿酸的。其排出量在一定程度上反映着蛋白质与核酸代谢的活力,动物在受到不正常因素影响时可改变这些产物的排出量。已知曼氏血吸虫中间宿主水生的光滑双脐螺含氮终产物是氨及尿素,饥饿及感染螺排出氨及尿素量不同,而有关日本血吸虫中间宿主钉螺的氮代谢终产物的资料尚未见报道。本文作者在这方面进行了观察,也测定了合成尿素的鸟氨酸循环中的酶活力。

## 材料与方 法

**材料** 实验钉螺除注明外均为安徽省贵池县郊区的野外钉螺。钉螺保存在 4—7℃ 的环境中,每 2 周给予喂食一次,实验前一天将钉螺置于室温下并根据实验需要给以喂食。

**化学试剂** 瓜氨酸、精氨酸为 Sigma 产

品;鸟氨酸为上海生物化学研究所产品;氨甲酰磷酸锂盐为 Fluka 产品;生物素为日本分装产品;尿素酶为上海医学化验所药盒;其它试剂均为国产分析纯。

**方法** 尿素测定采用二乙酰-脲-硫脲比色法<sup>[2]</sup>;氨的测定采用通气法,先以洗净的钉螺 20 只为一组,置于小三角烧瓶内,加入重蒸馏水 50ml 后用压缩泵不断向水中输入空气,钉螺排出的氨通过玻管收集到含有 2ml, 1NH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的试管中生成 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 取此样液用 Nessler 试剂测定氨量。

鸟氨酸氨甲酰转移酶的测定按照 George H. Burnett 等氏法<sup>[6]</sup>原理进行。精氨酸酶活力的测定是用精氨酸为基质经钉螺水解成尿素后用二乙酰-脲法测定其含量。

精氨酸代琥珀酸合成酶及裂解酶测定按 Rather S. 法<sup>[8]</sup>的基本原理所进行。

## 结 果

### (一) 钉螺含氮产物的排出

\* 本文受 Stifun Volkswagenwerk 部分资助。

\*\* 世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心。

表1 钉螺氨及尿素的排出

组别	氨	显著性	尿素	显著性
15℃ 见光	2.17±0.45*		4.10±1.01	
15℃ 避光	2.68±0.31	P>0.05	6.51±1.24	P<0.05
30℃ 避光	6.24±2.06	P<0.05	9.88±1.87	P<0.01
饥饿螺	6.19±1.59		10.17±1.79	
饱食螺	2.57±0.66	P<0.01	5.74±0.69	P<0.01

\*  $\bar{x} \pm SD \mu\text{mol/g/24h}$ 

表2 溴乙酰胺对钉螺含氮终产物的影响

组别	氨	显著性	尿素	显著性
对照组	4.76±1.53*		12.96±2.86	
7×10 <sup>-5</sup> mol/L 溴乙酰胺组	2.51±0.27	P<0.05	4.14±2.54	P<0.01

\*  $\bar{x} \pm SD \mu\text{mol/g/24h}$ 

1. 钉螺在不同温度下排出氨及尿素的试验将实验钉螺分别放在水面有塑料网、温度分别为15℃及30℃的水中,连续通气6小时,测得30℃水中钉螺排出尿素及氨量比在15℃中钉螺排出的量为多,二组有显著差异( $P < 0.01$ )(见表1)。

2. 光线对钉螺排出氨及尿素的影响观察分别将钉螺放于见光及避光的三角烧瓶中6小时,实验水温15℃,所测得尿素排出量在避光水液中较多,二者有差异( $P < 0.05$ ),而氨排出量在见光和避光组无明显差异(见表1)。

3. 饥饿对钉螺排出氨及尿素的影响在实验前12小时,将一组实验钉螺补足食料,使钉螺可任意摄取食料,另一组已5天不给食料的钉螺为饥饿组,二组钉螺分别放于30℃水中,避光6小时,所测得的氨及尿素排出量饥饿组螺明显多于饱食组的(见表1)。

4. 溴乙酰胺对钉螺排出氨及尿素的影响将钉螺放在7×10<sup>-5</sup>mol/L溴乙酰胺溶液中6小时,测得钉螺排出氨及尿素量都明显少于未用药组钉螺,对抑制排出尿素量更显著(表2)。

## (二) 钉螺鸟氨酸循环酶活力

1. 钉螺鸟氨酸氨甲酰磷酸转移酶活力测定鸟氨酸与氨基甲酰磷酸在鸟氨酸氨甲酰磷酸转移酶及生物素参与下合成瓜氨酸。实验用鸟氨

酸盐 33mmol/L 生物素 3.3mmol/L 及氨甲酰磷酸二锂 10 mmol/L 与相当于 3.3 只钉螺肝脏匀浆在 pH8.0 的 10mmol/L 甘氨酸基甘氨酸缓冲液中反应 1 小时,反应温度为 37℃,过氯酸终止反应后用二乙酰-脲测得钉螺鸟氨酸氨甲酰磷酸转移酶活力为  $0.85 \pm 0.05 \mu\text{mol}$  瓜氨酸/h/mg 蛋白。

2. 精氨酸代琥珀酸合成酶及裂解酶的测定从瓜氨酸合成精氨酸需经过精氨酸代琥珀酸合成酶及裂解酶的作用,实验在终浓度为 10 mmol/L 瓜氨酸,门冬氨酸及 2.5mmol/L ATP 与相当于 1.5 只钉螺肝脏匀浆在 pH7.4 的 50 mmol/L 磷酸缓冲液中,30℃ 反应 2 小时后,加脲酶继续反应 15 分钟,此次反应温度为 37℃,反应结束后用酚一次氯酸钠试剂测得上述二酶的活力为  $5.9 \pm 1.4 \times 10^{-3} \mu\text{mol/h/mg}$  蛋白。

3. 精氨酸酶的测定 精氨酸可在肝脏中精氨酸酶的作用下水解成尿素及鸟氨酸。实验用终浓度为 50mmol/L 精氨酸,2mmol/L MnCl<sub>2</sub> 溶于 pH9.0,25mmol/L 的甘氨酸缓冲液中与相当于 1 只钉螺肝脏匀浆反应,30℃ 水浴内保温 30 分钟经偏磷酸终止反应后,测定产物尿素的含量。精氨酸酶活力为  $0.66 \pm 0.18 \mu\text{mol/h/mg}$  蛋白。

## 讨 论

钉螺排出含氮终产物尿素多于氨, 故应属于排尿素的动物。而曼氏血吸虫中间宿主光滑双脐螺排出氨量多于尿素量<sup>[4]</sup>。钉螺在 30°C 水温时排出氨和尿素量比 15°C 时多, 文献报道钉螺在 30°C 水温时耗氧量多于在 15°C 水温时的<sup>[10]</sup>; 显示钉螺在温度较高时相对地活动增多, 代谢加快。

饥饿钉螺排出氨及尿素量比饱食钉螺明显增多, 而饥饿的光滑双脐螺不论血淋巴液内氨量或排出量增多不明显, 而尿素量却增加数倍, 以致排出氨与尿素的比例分别由 77.6 及 20% 变成 39.8% 及 60.2%<sup>[5]</sup>。这些结果被认为饥饿螺体内分解大量蛋白质、氨基酸代谢加快; 产生氨量增多, 为除去多余的氨加快尿素的合成和排出。

哺乳动物的氨基酸经分解代谢产生的氨是有毒的物质, 主要在肝脏中经鸟氨酸循环转变成尿素随尿排出, 而解除氨的毒性。在软体动物中肺螺及二种鳃螺已被证明有完整的鸟氨酸循环<sup>[7]</sup>。在有些螺中证明此循环的主要功能是解除氨的毒性。光滑双脐螺具有鸟氨酸循环中的酶, 其中以鸟氨酸氨甲酰磷酸转移酶活力  $1.65 \pm 0.65 \mu\text{mol Citrullin/h/mg}$  蛋白为最强, 精氨酸酶活力为  $0.49 \pm 0.01 \mu\text{mol/h/mg}$  蛋白, 精氨酸代琥珀酸合成酶未测出, 其裂解酶为  $7 \times 10^{-3} \mu\text{mol/h/mg}$  蛋白。而钉螺的鸟氨酸氨甲酰磷酸转移酶活力为  $0.85 \mu\text{mol Citrullin/h/mg}$  蛋白; 符合鳃螺此酶活力低的报道<sup>[9]</sup>, 钉螺精氨酸酶活力为  $0.66 \mu\text{mol Urea/h/mg}$  蛋白较双脐螺的稍强。人的鸟氨酸循环中主要酶间有一个相对的比值, 即鸟氨酸氨甲酰磷酸转

移酶为 163, 精氨酸代琥珀酸合成酶及裂解酶分别为 1.0 及 3.3, 精氨酸酶为 149<sup>[3]</sup>。假如将文献中双脐螺及本实验钉螺的鸟氨酸循环酶间的相对比值算成与上述循环酶间比值时, 即双脐螺与钉螺的鸟氨酸氨甲酰磷酸转移酶均为 163 时, 则钉螺的精氨酸代琥珀酸合成酶与分解酶为 1.13, 双脐螺的此酶为 0.7; 又钉螺的精氨酸酶为 125, 双脐螺的此酶为 47。可见钉螺此循环中主要酶间的比值较光滑双脐螺更接近人的。钉螺此循环的功能也可能是合成尿素以解除氨在螺体内的毒性。

## 参 考 文 献

- [1] 王根法等 1989 钉螺的耗氧量及杀螺药物对它的影响 动物学报 35(3): 313—317.
- [2] 朱忠勇 1977 临床医学检验 301 上海科学技术出版社 上海.
- [3] 张昌颖等 1978 生物化学 全国高等医药院校试用教材 211 人民卫生出版社.
- [4] Becker W. and H. Schmale 1975 The nitrogenous products of degradation-ammonia Urea and Uric acid in the hemolymph of the snail *Biomphalaria glabrata*. *Comp. Biochem. Physiol.* 51A: 407—411.
- [5] ————— 1978 The ammonia and Urea excretion of *Biomphalaria glabrata* under different physiological condition starvation, infection with *S. M.* dry keeping. *Comp. Biochem. Physiol.* 59B: 75—79.
- [6] Butnett G. H. and P. P. Cohen 1957 Study of Carbamyl Phosphate-Ornithine Transcarbamylase *J. Biol. Chem.* 229: 337—344.
- [7] Horne F. and V. Boonkoom 1970 The distribution of the ornithine cycle enzymes in Twelve gastropods. *Comp. Biochem. Physiol.* 32: 141—153.
- [8] Ratner S. 1955 Enzymatic synthesis of arginine (condensing and splitting enzymes) In *Methods in Enzymology* (Edited by Colowicks S. P. & Kaplan) Vol 2: 356—367 Academic Press, New York.
- [9] Schmale H. and W. Becker 1977 Studies on the ureas cycle of *Biomphalaria glabrata* during normol feeding activity in starvation and with infection of *S. Mousoni*. *Comp. Biochem. Physiol.* 58B: 321—330.