

# 三种药物对猪棘头虫 LDH 同工酶的抑制试验\*

廖党金 官国均

(四川省畜牧兽医研究所, 成都 610066)

**摘要** 根据猪棘头虫与宿主(猪)血清的 LDH 同工酶的差异, 用0.1%硝硫氰醚、0.1%丙硫咪唑和0.1%吡喹酮分别对猪棘头虫雄虫、雌虫和猪血清的 LDH 同工酶进行了抑制试验, 结果除硝硫氰醚对蛭形巨吻棘头虫雄虫、雌虫的 LDH 同工酶有抑制作用外, 其余的试验组与对照组均无差异。硝硫氰醚对雄虫 LDH 同工酶的第 2、3、4 带和雌虫 LDH 同工酶的第 2、3 带有不同程度的抑制作用, 特别是雌虫 LDH 同工酶的第 2 带最敏感, 在0.1%的浓度下, 该酶带被完全抑制, 即没显示出来, 硝硫氰醚对雄虫和雌虫 LDH 同工酶的极弱带(它们各自的第 1 带)均无抑制作用; 临床实验也显示出硝硫氰醚对治疗猪棘头虫病有一定疗效, 这些表明硝硫氰醚抑制蛭形巨吻棘头虫的 LDH 同工酶活力可能是该药物对该虫体的作用机理之一。

**关键词** 同工酶, 蛭形巨吻棘头虫, 硝硫氰醚, 吡喹酮, 丙硫咪唑

猪棘头虫(蛭形巨吻棘头虫 *Macracanthorhynchus hirudinaceus*) 病是危害猪较严重的寄生虫病之一, 呈世界性流行, 人们先后对治疗猪棘头虫病进行过研究, 但尚未找到较理想的药物。

同工酶的研究多应用于寄生虫和其它生物的生化、分类、遗传等方面, 但用于探讨治疗动物寄生虫病药物的报告罕见。一般认为驱虫药物可通过抑制病原体某些酶的活性而起作用<sup>[1]</sup>, 如左旋咪唑抑制虫体的琥珀酸酶, 敌百虫抑制虫体的胆碱酯酶等, 人们先后对一些寄生虫与宿主的同工酶进行过比较研究, 认识到寄生虫与宿主之间的同一种酶的功能相同而结构不同(即同工酶)<sup>[2]</sup>, 这可能使同一种驱虫药物的同等剂量对寄生虫的酶有抑制作用而对宿主的同一种酶无抑制作用。随着寄生虫生物化学的深入研究, 将可根据这一原理筛选或合成对寄生虫酶有抑制作用而对宿主酶无抑制作用的有效药物, 同时这种方法也是把药物的作用机理研究由药物对酶总活力抑制的认识深入到对酶各种结构型活力抑制的认识, 这将是一大进步。通过对猪棘头虫与宿主(猪)血清 LDH、EST、G6PH、GPI 和 ALP 的同工酶比较<sup>[3]</sup>, 蛭形巨吻棘头虫的这五种同工酶有其特殊性, 特别是 LDH 同工酶, 因此根据它的特点, 进行了探索。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和样品制备

1.1.1 在屠宰场采集刚从猪体内解剖出的活棘头虫, 分别抽出雄虫、雌虫体液, 同时采集

\* 吡喹酮和硝硫氰醚由本所杨明富同志提供, 特致谢意。

\*\* 收稿日期 1995-08-07。

表 1 二种药物作用后 LDH 同工酶的活力  
 Table 1 The activities of the LDH isoenzymes restrained by two medicines (x)

药 物	材 料	组 别	第 1 带	第 2 带	第 3 带	第 4 带	$\Sigma$	
Medicine	Materials	Group	LDH1 or First	LDH2 or Second	LDH3 or Third	LDH4 or Fourth	LDH5	
吡嗪酮 Prazi-quantel	雄虫 Male	对 照 Non-restrained		28914	3019		31933	
		试 验 Restrained		31603	2991		34594	
	雌虫 Female	对 照 Non-restrained		12290	2312		14602	
		试 验 Restrained		10777	2145		12922	
	猪 Pig	对 照 Non-restrained	5778	3984	535	171	2028	12496
		试 验 Restrained	5900	3954	587	176	2119	12736
丙硫咪唑 Alben-dazole	雌虫 Male	对 照 Non-restrained	142	26930	6346		33418	
		试 验 Restrained	179	24405	5868		30451	
	雄虫 Female	对 照 Non-restrained		11509	167		11676	
		试 验 Restrained		12307	147		12454	
	猪 Pig	对 照 Non-restrained	4170	2625	214	388	7397	
		试 验 Restrained	4613	2153	119	268	7153	

表 2 0.1% 硝磺酰胺抑制后 LDH 同工酶的活力  
 Table 2 The activities of the LDH isoenzymes restrained by 0.1% of Nitroscanate

Materials 材料	Group 组别	第 1 带 LDH1 or First		第 2 带 LDH2 or Second		第 3 带 LDH3 or Third		第 4 带 LDH4 or Fourth		LDH5	Σ
		范 围 X̄ ± S. D. Range	范 围 X̄ ± S. D. Range	范 围 X̄ ± S. D. Range	范 围 X̄ ± S. D. Range	范 围 X̄ ± S. D. Range	范 围 X̄ ± S. D. Range	范 围 X̄ ± S. D. Range	范 围 X̄ ± S. D. Range		
雄虫 Male	对 照 Non-restrained	467 ± 162	355 ~ 706	19382 ± 3832	13749 ~ 22331	11470 ± 1831	9446 ~ 13159	652 ± 179	457 ~ 701		31980
	试 验 Restrained	474 ± 145	329 ~ 649	13714 ± 4117	7702 ~ 17014	7440 ± 930	6132 ~ 8317	479 ± 383	141 ~ 1018		22107
雌虫 Female	对 照 Non-restrained	149 ± 28	127 ~ 190	5757 ± 3502	1938 ~ 10491	2058 ± 2040	220 ~ 4469				7964
	试 验 Restrained	170 ± 10	157 ~ 182	0	0	1101 ± 1500	105 ~ 3477				1271
猪 Pig	对 照 Non-restrained	3099 ± 170	2997 ~ 3354	1724 ± 163	1566 ~ 1987	304 ± 142	111 ~ 352	290 ± 38	234 ~ 305		5417
	试 验 Restrained	3457 ± 383	2968 ~ 3765	1744 ± 268	1477 ~ 2066	306 ± 148	151 ~ 507	259 ± 138	128 ~ 435		5766

猪血液, 用冰瓶带回实验室。在 4℃ 下, 以 12 000r/min, 将虫体体液离心 30min, 分别吸取其上清液, 分装, 低温保存备用。从血液分离血清, 分装, 低温保存备用。

1.1.2 试验药物及配制: 吡喹酮 (Praziquantel), 上海第六制药厂生产, 批号: 870209; 硝硫氰醚 (Nitroscanate) 微粉, 重庆茄子溪兽药厂生产, 批号: 86060; 丙硫咪唑 (Albendazole), 湖北省仙桃市第三制药厂生产, 批号: 9110021。

药物试验液配制: 分别称取吡喹酮、硝硫氰醚和丙硫咪唑各 50mg 于三个烧杯中, 前两种药物各用 99.5% 丙酮 2ml 溶解, 然后用重蒸馏水稀释至 50ml, 即得无色透明溶液和悬浮液, 丙硫咪唑用 99.5% 丙酮 3ml 悬浮, 再用重蒸馏水稀释至 50ml, 这三种药物的空白对照液配制除无药物外, 其余试剂和剂量均与药物试验液相同。

## 1.2 方法

电泳: 采用聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳, 凝胶制备、染色液和操作分别参照廖党金等 (1988)<sup>[1]</sup>、莽克强 (1975) 方法<sup>[2]</sup>。

电泳完毕后迅速剥胶, 分别将宿主、雄虫、雌虫凝胶柱放于药物试验液和空白对照液内, 在 37℃ 下孵育 30min, 取出用重蒸馏水冲洗凝胶柱后, 再进行 LDH 同工酶染色 30min, 然后拍照, 用同工酶分析仪 (美国贝克公司生产) 扫描测定其活力,  $\lambda=520\text{mm}$ 。

## 2 结果与分析

2.1 0.1% 吡喹酮实验和 0.1% 丙硫咪唑试验 这两种药物分别对猪棘头虫雄虫、雌虫和猪血清 LDH 同工酶的活力 (扫描记分) 抑制试验结果见表 1。吡喹酮实验, 雄虫和雌虫样品的对照组和试验组均仅显示出两条酶带, 雄虫、雌虫和宿主的 LDH 总活力及各条同工酶带活力, 对照组与试验组差异较小, 经多次同工酶电泳和反复比较扫描, 这种较小差异是由电泳和扫描误差引起, 非药物引起。丙硫咪唑试验, 这三种样品的对照组和试验组的 LDH 总活力和各条同工酶带活力差异也很小, 非药物引起。

2.2 0.1% 硝硫氰醚试验 硝硫氰醚对猪棘头虫雄虫、雌虫和猪血清 LDH 同工酶抑制试验, 对照组和试验组比较电泳图谱见图 1~3, LDH 总活力及其各条同工酶带活力见表 2。

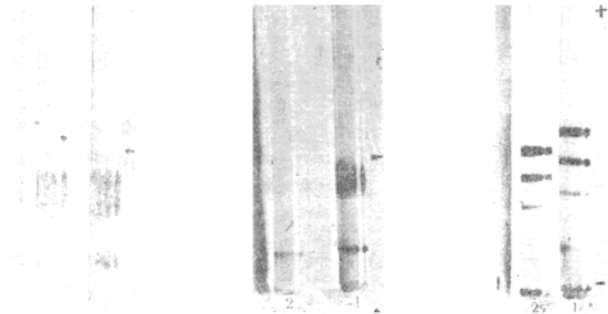


图 1

图 2

图 3

图1 0.1%硝硫氰醚抑制后雄虫 LDH 同工酶的比较电泳图谱(1. 对照;2. 试验)。

Fig. 1 The comparative electroph. erogram. of the male's LDH isoenzyme restrained by 0.1% of Nitroscanate (1. Non-restrained; 2. Restrained)

图2 0.1%硝硫氰醚抑制后雌虫 LDH 同工酶的比较电泳图谱(1. 对照; 2. 试验)。

Fig. 2 The comparative electropherogram. of the female's LDH isoenzyme restrained by 0.1% of Nitroscanate (1. Non-restrained; 2. Restrained)

图3 0.1%硝硫氰醚抑制后宿主 LDH 同工酶的比较电泳图谱(1. 对照;2. 试验)。

Fig. 3 The comparative electropherogram. of the host's LDH isoenzyme restrained by 0.1% of Nitroscanate (1. Non-restrained; 2. Restrained).

雄虫 LDH 同工酶的总活力和第2、3、4条同工酶酶带活力,对照组与试验组各重复20个样品均显示出差异,LDH总活力对照组是试验组的1.4倍;第1带(弱带)活力对照组和试验组差异不显著;第2带活力对照组是试验组的1.4倍;第3带活力对照组是试验组的1.5倍;第4带活力对照组是试验组的1.4倍。雌虫 LDH 同工酶的总活力和第2、3条同工酶酶带的活力,对照组与试验组各重复20个样品均显示出差异,总活力对照组是试验组的6.3倍;第1带活力对照组和试验组无显著差异;第2带活力试验组被完全抑制,即没显示出此带,活力为0,而对照组活力为5757;第3带活力对照组是试验组的1.9倍。宿主血清 LDH 同工酶的总活力及各条酶带的活力,对照组与试验组各20个样品差异不大,非药物引起。

### 3 讨论

0.1%硝硫氰醚对猪蛭形巨吻棘头虫的 LDH 同工酶有抑制作用,并且对雌虫 LDH 同工酶的抑制作用优于对雄虫 LDH 同工酶的抑制作用,但对猪血清 LDH 同工酶无抑制作用。猪血清与雄虫、雌虫体液 LDH 同工酶电泳比较,雄虫的 LDH 同工酶第2、3、4带和雌虫的 LDH 同工酶第2、3带的相对迁移率和酶谱不同于 LDH1-5,本试验0.1%硝硫氰醚对虫体的这几条 LDH 同工酶酶带有不同程度的抑制作用,而对 LDH1-5 无抑制作用,这也验证了蛭形巨吻棘头虫 LDH 同工酶的第2、3、4带和雌虫 LDH 同工酶的第2、3带的结构不同于 LDH1-5 的结构,Dunagan, T. T (1966)<sup>[6]</sup>报告蛭形巨吻棘头虫体壁组织有一条 LDH 同工酶带位于 LDH3 与 LDH4 之间。

LDH 作用机理是乳酸的-OH 与 LDH 上的  $\text{NAD}^+$  形成羧酸盐,羧酸盐与 Arg-171 的侧链形成一个盐桥,最后乳酸变为丙酮酸<sup>[7]</sup>,而硝硫氰醚的化学结构无羧基和羟基,因此该药物可能是非竞争性抑制剂。如果 LDH 受到抑制,乳酸在虫体内蓄积,ATP 合成减少。

临床试验,以每公斤体重  $3 \times 80\text{mg}$  的剂量治疗患猪棘头虫病的病猪,结果每克粪便中虫卵量下降,部分虫体死亡,这也表明药物对蛭形巨吻棘头虫有驱杀作用<sup>[8]</sup>,并且药物抑制试验和临床试验,硝硫氰醚都需大剂量才对虫体的 LDH 同工酶和虫体有明显作用,这表明硝硫氰醚抑制蛭形巨吻棘头虫的 LDH 可能是该药物对该虫体的作用机理之一。

何登贤等(1987)<sup>[9]</sup>、朱雯(1984)<sup>[10]</sup>先后报告用敌百虫、巴沙、氯戊菊酯、乙酰甲胺

磷等杀虫剂分别对致乏库蚊、微小按蚊、大劣按蚊和美洲大蠊酯酶同工酶的一些酶带有抑制作用, 并推测这方法可作筛选和发展有效杀虫剂的途径之一, 本试验探索表明, 这方法是可行的, 并且在研究药物作用机理方面, 本方法比目前测定药物抑制寄生虫酶的总活力更深入了一步。

我们还对0.1%吡喹酮、0.1%丙硫咪唑和0.1%硝硫氰醚抑制蛭形巨吻棘头虫雄虫、雌虫和猪血清的G6PH、EST、GPI和ALP同工酶活性抑制试验初步探索, 结果表明各自对照组与试验组差异不明显。

### 参 考 文 献

- [1] 鲍家科. 从一些药物对酶的作用来考虑其合理应用. 中国医院药学杂志, 1986, 6(4):152~155.
- [2] 廖党金, 赖从龙. 豆状囊尾蚴与细颈囊尾蚴和宿主(兔)的同工酶、蛋白质比较研究. 畜牧兽医学报, 1990, 21(4):359~365.
- [3] 廖党金, 官国均. 蛭形巨吻棘头虫与宿主(猪)的五种同工酶比较研究. 中国兽医寄生虫病, 1994, 2(4):17~19.
- [4] 廖党金, 赖从龙. 分离LDH和酯酶同工酶的聚丙烯酰胺凝胶制备和LDH活性与反应时间关系的探讨. 四川农业大学学报, 1988, 6(4):297~306.
- [5] 莽克强. 聚丙烯酰胺凝胶电泳. 科学出版社, 1975.
- [6] Dunagan T T. Isozyme patterns for lactic and malic dehydrogenases in *M. hirudinaceus* (*Acanthocephala*), *J. Parasit*, 1966, 52(4):727~729.
- [7] 杜锦珠, 茹炳根, 卫新戊译. 酶的结构和作用机理. 北京大学出版社, 1991, 423~426.
- [8] 廖党金, 周登钊等. 硝硫氰醚治疗猪棘头虫病. 中国兽医科技, 23(12):38~39.
- [9] 何登贤, 朱晓龙, 叶炳辉. 致乏库蚊、微小按蚊和大劣按蚊酯酶同工酶酶谱及八种杀虫剂对其抑制作用的实验研究. 广西医学院学报, 1987, 4(3):11~13.
- [10] 朱雯. 乙酰甲胺磷等六种杀虫剂对美洲大蠊酯酶同工酶谱抑制试验初步探讨. 南京医学院学报, 1984, 4(2):77.

## THE THREE MEDICINES INHIBITING THE LDH ISOENZYME OF *M. HIRUDINACEUS*

Liao Dangjin, Guan Guojun

(*Animal and Veterinary Scientific Institute of Sichuan Province,  
Chengdu 610066*)

### Abstract

This paper deals with a test that the LDH isoenzymes of *M. hirudinaceus* body liquid and the host serum were inhibited by 0.1% of Nitroscanate, 0.1% of Albendazole and 0.1% of Praziquantel according to their different patterns. The results showed that the three medicines were ineffectual on the LDH isoenzymes but Nitroscanate had effect on the LDH isoenzyme of the worm. It had different effects on the second, third and fourth LDH isoenzyme bands of the male and the second and third LDH isoenzyme bands of the female, in particular the second LDH isoenzyme band of the female, which did not appear under 0.1% of Nitroscanate. But it did not have effect on the first LDH isoenzyme band of both the male and the female, its activities were the weakest in those LDH isoenzyme bands respectively. It had been proved by the clinical experiment that the medicine had effect on the pig's acanthocephaliasis. Therefore, this is one of the mechanisms of Nitroscanate against *M. hirudinaceus*.

**Key words** Isoenzyme, *M. hirudinaceus*, Nitroscanate, Albendazole, Praziquantel