

不同海拔地区牦牛组织线粒体 LDH 活性测定

王勇 李莉 (青海大学农牧学院, 青海西宁 810016)

摘要 [目的] 进一步探讨高原动物对高原低氧的适应机制。[方法] 测定青海省玛多县(海拔4 300 m左右)和刚察县(海拔3 300 m左右)牦牛心肌、骨骼肌线粒体中的乳酸脱氢酶(LDH)活性。[结果] 玛多县和刚察县牦牛心肌、骨骼肌线粒体的乳酸脱氢酶(LDH)活性分别为(2 472.40 ± 276.58)、(2 448.71 ± 494.69)、(3 855.07 ± 316.44)、(3 882.62 ± 602.87) U/gPro; 玛多牦牛的心肌、骨骼肌线粒体中的LDH活性显著低于刚察牦牛($P < 0.01$)。[结论] 在高原低氧环境下, 牦牛随海拔高度升高对无氧代谢的依赖性降低。

关键词 牦牛; 线粒体; 乳酸脱氢酶

中图分类号 S823 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)33-14536-02

Determination of the Activity of Lactate Dehydrogenase in Tissues Mitochondrion in Different Altitude District Yak

WANG Yong et al (Agriculture and Animal Husbandry College of Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract [Objective] The research aimed to study the adaptive mechanism of plateau animals to high altitude hypoxia. [Method] The activities of myocardial and skeletal muscle LDH in Yak mitochondrion of Maduo (altitude 4 300 m), Gangcha (altitude 3 300 m) county were determined. [Result] The result showed that the LDH activities of myocardial and skeletal muscle in Yak mitochondrion in Maduo and Gangcha county were (2 472.40 ± 276.58), (2 448.71 ± 494.69), (3 855.07 ± 316.44), (3 882.62 ± 602.87) U/gPro, respectively. The LDH activities of myocardial and skeletal muscle in Yak mitochondrion in Maduo county were lower significantly than that of Gangcha county Yak ($P < 0.01$). [Conclusion] On the plateau, Yak's dependence on anaerobic metabolism decreased with the increase of altitude.

Key words Yak; Mitochondrion; Lactate dehydrogenase

乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)存在于机体各组织器官中, 主要分布于细胞的胞质液中, 是机体能量代谢中参与糖酵解的一种主要酶, LDH在体内可逆地催化丙酮酸和还原性辅酶I($NADH_2$)转变为乳酸和氧化性辅酶I(NAD^+), 参与机体的能量代谢, 因此LDH质与量的改变直接影响到机体的能量代谢。据很多学者对人和动物不同组织中LDH活性的研究表明, LDH活性可以受海拔高度的影响, 在高原低氧环境中LDH增加^[1-10]。而线粒体是细胞进行生物氧化和能量转换的主要场所, 机体细胞内大约有90%的氧被线粒体消耗。为了从细胞分子水平进一步探讨高原动物对高原低氧环境的适应机制, 笔者对不同海拔地区的牦牛心肌、骨骼肌线粒体中LDH的活性进行了测定。

1 材料与方 法

1.1 试验动物 试验动物为来自青海省玛多县(海拔4 300 m左右, 年平均气温-4.1℃)的成年牦牛16头, 刚察县(海拔3 300 m左右, 年平均气温-0.6℃)的成年牦牛16头。皆临床健康, 屠宰后立即采取心肌和骨骼肌组织, 冷冻保存, 供LDH活性测定。

1.2 仪器与试剂 UV-1601紫外线分光光度计(SHIMADZU公司), 电子天平(瑞士产AB204-E), 普通离心机(北京医用离心机厂, LD4-2), 低温离心机(上海安亭科学仪器厂), 超声波清洗仪, 恒温水浴锅(KS648)。LDH活性测定试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号:20051028)。

1.3 组织匀浆的制备及线粒体的提取 取被检组织解冻, 用蒸馏水洗去血污, 用滤纸吸干, 精确称取心肌、骨骼肌各1.0 g, 剪碎, 加入9.0 ml的冷生理盐水研磨, 制备成浓度10%的组织匀浆, 取匀浆3 000 r/min离心10 min, 弃沉淀, 取上清液10 000 r/min低温离心15 min, 沉淀物为组织线粒体, 供其中LDH活性的测定(线粒体的提取由南京建成生物工程研究所提供, 中性红-詹纳斯绿B染色鉴定线粒体)。

1.4 测定方法 LDH活性的测定采用丙酮酸与2,4-二硝基苯肼显色法。

1.5 数据处理 测定结果列出 $\bar{x} \pm s$ 和全距范围, 组间显著性差异用t检验检查。

2 结果与分析

不同海拔地区被检牦牛心肌、骨骼肌线粒体LDH活性的测定结果见表1。表1表明, 玛多牦牛、刚察牦牛心肌、骨骼肌线粒体中的LDH活性间均无显著差异, 这与沈明华^[2]研究报道的海拔4 500 m玛多牦牛心肌、骨骼肌LDH活性差异不显著相一致, 表明心肌、骨骼肌在低氧环境下均参与机体细胞的糖酵解过程。

由表1还可以看出, 玛多牦牛心肌、骨骼肌线粒体中LDH活性显著低于刚察牦牛($P < 0.05$), 这与魏登邦等^[3]报道的高原鼯鼠心肌、骨骼肌中LDH活性显著低于小白鼠相一致, 表明高山动物体内有氧代谢是增强的, 对无氧糖酵解的依赖性降低。

表1 不同海拔地区牦牛心肌、骨骼肌线粒体LDH活性的测定

Table 1 The determination of mitochondria LDH activity in cardiac muscle and skeletal muscle of yak in different altitude regions U/gPro

组别 Group	心肌 Cardiac muscle			骨骼肌 Skeletal muscle		
	n 头	$\bar{x} \pm s$	全距 Range	n 头	$\bar{x} \pm s$	全距 Range
玛多牦牛 Maduo yak	16	2 472.40 ± 276.58 a	2 103 ~ 2 948	14	2 448.71 ± 494.69 b	1 277 ~ 3 316
刚察牦牛 Gangcha yak	14	3 855.07 ± 316.44 a	3 262 ~ 4 094	16	3 882.62 ± 602.87 b	2 362 ~ 4 780

注: 不同小写字母表示在0.05水平有差异。

Nte: Different small letters mean significant difference at 0.05 level.

作者简介 王勇(1967-), 男, 重庆人, 副教授, 从事临床兽医学研究。

收稿日期 2008-09-17

3 结论与讨论

乳酸脱氢酶是与组织细胞能量代谢过程密切相关的酶,

其活性大小与组织细胞内氧分压的高低密切相关。当细胞内氧分压较低时,LDH 活性升高,通过加速糖酵解过程为组织细胞提供能量,当组织细胞内氧分压较高时,其活性降低,此时组织细胞主要通过有氧呼吸来获得能量^[3]。高海拔地区的低气压与低氧分压是一个主要的生态因子,在低氧环境中,动物为保证机体的正常机能或维持其生存,从机体各个方面调整其生理机能来抵御不利于机体的缺氧状况,以保持机能正常功能。进入低氧环境,动物常通过肺通气增加,血液中的血红蛋白含量增加和亲和力改变,组织毛细血管增加,肌红蛋白含量提高,线粒体结构及含量改变等来提高氧的传递和利用^[4]。

高山动物在代谢方面对低氧的适应表现在下述3个方面:三羧酸循环中有关酶活性加强;对无氧酵解的依赖性降低;脂肪代谢旺盛。高山羊驼左心室肌的LDH 活性比平原牛明显降低^[5]。有研究表明三羧酸循环中的柠檬酸合成酶、羟酰辅酶A 脱氢酶活力在高山鹿(海拔6 000 m)、美洲驼和羊驼等心肌中比平原牛高,表明高山动物有氧代谢是增强的。近年来国内外研究表明,低氧适应的哺乳动物脑、骨骼肌中琥珀酸含量增加,这些物质被血液运送到具有更多氧合作用的肺脏,在肺中被氧化成延胡索乙酸,再加入第二次三羧酸循环中,表明低氧下某些代谢物可作为厌氧时的燃料^[6]。陈华伟等对从海拔2 200 m 2 d 内急进400 m 的移居健康人和世居4 700 m 的健康人分析研究发现:移居者的血清LDH 活性显著升高,但世居者的活性又比对照组(2 200 m)高,血清LDH 的5种同工酶的亚基含量也有不同变化,移居者血清LDH 同工酶百分含量升高是由于高原低氧环境中机体的无氧代谢增强,而世居者的活性低于急进移居者,反映

世居人机体对低氧的适应能力^[7]。这与Friedmann 等研究的结果相一致,他们发现高原世居人群肌肉细胞参与糖酵解酶基因的表达明显与低氧适应有关^[8]。据周兆年等研究,高原世居动物对低氧适应并不太依赖于器官功能的变化,更重要的是通过对细胞代谢的调整和许多抗低氧因子诱导从分子水平上来适应高原低氧环境^[9]。研究还发现,当平原大鼠、豚鼠暴露到高海拔,心脏和肝脏脂肪酸氧化能力受损,三磷酸甘油堆积。而我国青藏高原动物、高原鼠兔和美洲高山驼科动物表现出的脂肪代谢旺盛,后者是平原牛的7~10倍^[6],美洲驼和羊驼等心肌中均比平原牛高^[10],显示出高山动物对低氧的显著适应特征。

参考文献

- [1] 李齐发, 谢庄, 强巴央宗, 等. 嘉黎牦牛和荷斯坦牛4项红细胞酶活性的测定[J]. 动物学杂志, 2003, 38(3): 83-85.
 - [2] 沈明华. 玛多牦牛红细胞血清及组织中乳酸脱氢酶活性的测定[J]. 中国兽医杂志, 2005(7): 16.
 - [3] 魏登邦, 马建宾. 高原鼯鼠和小白鼠心肌及骨骼肌肌红蛋白含量与乳酸脱氢酶活性的比较研究[J]. 青海大学学报, 2001, 19(2): 20-21.
 - [4] 李玉兰. 低氧对动物的骨骼肌LDH 活性影响[J]. 青海师范大学学报, 2001(3): 80-82.
 - [5] 魏登邦, 马建宾. 哺乳动物对高海拔低氧适应的分子机制研究进展[J]. 青海大学学报, 2001, 19(1): 15-17.
 - [6] 柴旦, 周兆年. 急性低氧对体外培养乳鼠心肌细胞肌红蛋白的影响[J]. 生理学报, 1997, 49(5): 497-503.
 - [7] 陈华伟, 郭玉兰, 苏敏, 等. 高原人血清乳酸脱氢酶同工酶的研究[J]. 中华航空医学杂志, 1992(3): 72-74.
 - [8] FRIEDMANN B, KINSCHERF R, BORISCH, et al. Effects of low resistance high repetition strength training in hypoxia on structure and gene expression[J]. *Fluger Arch*, 2003, 446: 742-751.
 - [9] 周兆年, 王利华, 袁锋. 长期居住海平面后藏族经受急性减压低氧时的心泵和呼吸功能[J]. 科学通报, 1992(3): 269-271.
 - [10] 李庆芬. 人与动物呼吸系统对高海拔低氧的适应[J]. 生物学通报, 1991(10): 19-21.
- (上接第14533页)
- 体效应,而种群趋于随机分布,则主要是种内和种间竞争引起密度下降的结果。在实际调查中发现,紫金山地区很多地段麻栎种群和白栎种群中幼苗数量非常稀少,且分布格局多为随机分布,从群落演替的角度看,这与目前看到的大量的中、老龄期的栎木个体现象不相吻合。通过实地对林场职工的访问,紫金山地区森林建国后没有受到人为破坏,都为天然次生林。因此,在未受到火灾、采伐等干扰的情况下,笔者认为幼苗数量少的原因可能是:首先,栎木种群出苗率很低,导致新生幼苗数量少;其次,幼苗在林内郁闭度较高的乔木群落下,受光照等环境因子以及种间竞争的影响,死亡率较高。紫金山地区枫香种群幼苗数量极其丰富,且分布格局多为聚集分布,原因可能在于:首先,枫香种群繁殖能力较强,导致新生幼苗数量较多;其次,枫香幼苗在林下种间竞争中占有一定的优势,生命力较强。从群落演替的角度看,在南京紫金山森林群落长期的演替过程中,栎木等生命力较弱的种群可能会被生命力更强的枫香种群等所取代。
- #### 参考文献
- [1] DIER KA, PORTER WF. Relating spatial patterns of sugar maple reproductive success and relative deer density in northern New York's State [J]. *Forest Ecology and Management*, 2003, 181(2): 253-266.
 - [2] JAMES BARBOUR R, RYAN SINGLETON, DOUGLAS A MAGUIRE. Evaluating forest product potential as part of planning ecological restoration treatments on forested landscapes [J]. *Landscape and Urban Planning*, 2007, 80: 237-248.
 - [3] 张文辉, 许晓波, 周建云. 濒危植物秦岭冷杉生殖生态学特征[J]. 生态学报, 2006, 26(8): 2417-2424.
 - [4] 朱万泽, 蔡小虎, 何飞, 等. 四川盆地西缘湿性常绿阔叶林不同恢复阶段物种多样性响应[J]. 生物多样性, 2006, 14(1): 1-12.
 - [5] 安树青, 李升峰, 王峥嵘, 等. 南京灵谷寺森林动态变化的研究[J]. 植物学报, 1997, 39(7): 661-665.
 - [6] 安树青, 陈兴龙, 李国旗, 等. 南京灵谷寺森林种多度结构变化的研究[J]. 南京大学学报: 自然科学版, 1999, 35(2): 156-161.
 - [7] 王磊, 倪键忠, 刘茂松, 等. 紫金山风景林保护区景观格局变化研究[J]. 生态学杂志, 2004, 23(4): 31-36.
 - [8] 徐海兵, 陶承友, 万志洲, 等. 南京紫金山风景区人工促进马尾松天然更新的研究[J]. 江苏林业科技, 2001, 28(5): 27-29.
 - [9] 徐驰, 刘茂松, 张明娟, 等. 南京灵谷寺森林50年来动态变化的研究[J]. 植物生态学报, 2004, 28(5): 601-608.
 - [10] 陈奋飞, 刘茂松, 任瑞丽, 等. 南京紫金山森林群落分层结构特征的小波分析[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2008, 32(2): 17-22.
 - [11] 刘足跟, 朱教君, 袁小兰, 等. 辽东山区次生林主要树种种群结构和格局[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(1): 12-18.
 - [12] 刘云, 侯世全, 李明辉, 等. 两种不同干扰方式下的天山云杉更新格局[J]. 南京林业大学学报, 2005, 27(1): 47-50.
 - [13] 张金屯. 植物种群空间分布的点格局分析[J]. 植物生态学报, 1998, 22(4): 344-349.
 - [14] 张程, 张明娟, 徐驰, 等. 宁夏沙湖几种主要荒漠化植物城丛性分析[J]. 植物生态学报, 2007, 31(1): 32-39.
 - [15] 杨慧, 娄安如, 高益军, 等. 北京东灵山地区白桦种群生活史特征与空间分布格局[J]. 植物生态学报, 2007, 31(2): 272-282.
 - [16] 毕晓丽, 洪伟, 吴承祯, 等. 武夷山米槠种群生命表分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2001, 9(3): 243-247.