

镉对长江华溪蟹酶活性及脂质过氧化的影响

李涌泉 王 兰 刘 娜 王 茜 何永吉 孟 帆

(山西大学生命科学与技术学院, 太原 030006)

摘要: 本实验于 2005 年 3—7 月, 采用急性毒性实验方法, 研究了镉 (Cd) 对长江华溪蟹 (*Sinopotamon yangtsekiense*) 酶活性及脂质过氧化产物的影响。Cd 处理设 5 个浓度组, 分别为 7.25mg/L、14.5mg/L、29mg/L、58mg/L 和 116mg/L, 实验同时设对照组。分别在 24h、48h、72h 和 96h 取肝胰腺和鳃进行超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性的测定和脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 含量的测定。结果显示, 在实验剂量范围内, 随着镉浓度的增加和处理时间的延长, SOD 和 GSH-Px 的活性均呈现先增高后降低的趋势, 并存在组织差异性; 而组织中 MDA 的含量随镉浓度的增加和处理时间的延长而升高。当处理时间为 48h、Cd 浓度为 14.5mg/L 时, 肝胰腺和鳃中 SOD 活性均达最大值, 较对照组差异极显著; 当处理时间为 48h、Cd 浓度为 7.25mg/L 时, 肝胰腺中 GSH-Px 活性达最大值, 较对照组差异极显著; 当处理时间为 24h、Cd 浓度为 14.5mg/L 时, 鳃中 GSH-Px 活性达最大值, 较对照组差异极显著。伴随处理时间和 Cd 浓度的增加, SOD 和 GSH-Px 的活性开始逐渐下降。肝胰腺和鳃中 GSH-Px/SOD 的比值在对照组中处于平衡状态, 但是在处理组中失去了平衡, 有降低的趋势。结论: SOD 与 GSH-Px 的活性和 MDA 含量的变化可以灵敏地反映 Cd 的胁迫程度及毒性大小。

关键词: 长江华溪蟹; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; 丙二醛; 镉

中图分类号: Q175 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2008)02-0373-07

当今世界, 环境污染问题日益严重, 其中水体污染的危害最广泛, 尤其是重金属的污染^[1]。因此, 探索能反映污染物对生物早期影响的参数, 是水生态毒理学研究迫切需要解决的问题^[2]。

镉是一个可通过食物链进行转移的、普遍存在于自然界的毒性污染物。水体中镉污染物主要来源于各种镉化合物的生产和应用领域。例如, 电镀工业、颜料工业、塑料稳定剂、电池、电子器件和合金。由于镉制品的应用及处理不当, 使大量含镉的物质被排出, 污染了大气、水体和土壤等生态环境。急性和亚慢性接触镉会导致人类和动物的多系统损害, 在生理生化方面产生毒性影响, 导致 DNA 结构的变化及细胞膜结构与功能的改变^[3,4]。许多研究表明, 镉的毒性与氧化损伤密切相关, 镉通过改变机体抗氧化系统平衡而诱发组织损伤^[5-8]。在鱼类和哺乳动物的研究中表明, 镉可以改变超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 等抗氧化酶的活性, 降低细胞对自由基及其产物的清除能

力^[9,10]。溪蟹及其他甲壳动物对污染物的敏感性很高, 是水环境污染监测的理想指示生物^[11,12]。镉对虾蟹类的毒性研究主要集中在重金属积累、细胞形态学改变等方面^[13-18], 另外也有对组织酶和器官专一性同工酶活性的研究^[13,19,20], 而对抗氧化系统酶活性的研究却很少^[21]。因此, 本文以长江华溪蟹 (*Sinopotamon yangtsekiense*) 为材料, 以抗氧化系统作为研究内容, 研究了不同浓度镉在一定处理时间内对肝胰腺和鳃 SOD 及 GSH-Px 活性和 MDA 含量的影响, 旨在探明镉对溪蟹的氧化损伤和脂质过氧化作用的程度和特点, 及伴随这些影响而导致的组织器官功能性障碍。

1 材料与方法

1.1 实验材料 长江华溪蟹于 2005 年 3 月购自太原市花鸟鱼虫集贸市场。置水族缸 (130cm × 50cm × 60cm) 中暂养, 两周后进行急性毒性实验。

1.2 实验方法 实验前先对长江华溪蟹肝胰腺和

收稿日期: 2006-03-24; 修订日期: 2007-10-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30570194); 山西省自然科学基金项目 (20041082) 资助

作者简介: 李涌泉 (1981—), 男, 汉族, 山西大同人; 硕士研究生; 从事水生动物生殖与发育的细胞分子生物学研究。E-mail: crab2@sxu.edu.cn

通讯作者: 王兰, E-mail: lanwang@sxu.edu.cn

鳃的本底镉含量进行了测定(采用火焰原子吸收分光光度法,表 1)。

表 1 长江华溪蟹肝胰腺和鳃中镉的含量

Tab. 1 Cd content in hepatopancreas and gill of *S. yangtsekiense* (mg/kg)

	肝胰腺 Hepatopancreas	鳃 Gill
Cd 含量 Cd content (mg/kg)	0.8312 ±0.5208	2.3391 ±1.0261

Note: Values are means ±SD (n = 4)

通过 Cd 对长江华溪蟹的急性毒性试验,首先由概率单位法求得 96h 的 LC_{50} 为 232mg/L,然后根据 LC_{50} 的 1/2、1/4、1/8、1/16 和 1/32 设置 5 个处理组和 1 个对照组。Cd 处理浓度分别为 7.25mg/L、14.5mg/L、29mg/L、58mg/L 和 116mg/L;Cd 处理时间依次为 24h、48h、72h 和 96h。处理之前,选择平均体重为 (20.2 ±2.5) g 的个体,置玻璃缸 (20cm ×20cm ×20cm) 中,每缸 6 只,各加 700mL 不同浓度的 Cd 处理液,每个浓度组设 2 个重复组。玻璃缸面积的 50% 用塑料板遮光处理,以避免直射光对长江华溪蟹的刺激,处理期间不喂食。水为曝气 48h 的自来水,水温 16—20℃,pH 6.8,溶氧量 6 mg/L 以上。

1.3 SOD、GSH Px 活性和 MDA 含量的测定

1.3.1 样品的制备 活体解剖溪蟹,取肝胰腺和鳃,称量后按 1:3(m:v) 加入预冷生理盐水,匀浆后冰冻离心 10min (5000r/min),取上清液 -20℃ 冷冻以备测定 SOD 和 GSH Px 的活性。同时取肝胰腺和鳃 0.1g,加入 5% TCA 3mL,匀浆后冰冻离心 10min (10000r/min),取上清液 -20℃ 冷冻以备测定 MDA 的含量。

1.3.2 SOD、GSH Px 活性和 MDA 含量的测定 SOD 活性测定采用黄嘌呤氧化法的改进方法 - 羟胺法;GSH Px 活性测定采用硫代硝基苯甲酸比色法;MDA 含量测定采用 TBA 法。

1.3.3 蛋白质含量的测定 蛋白质含量的测定参 照考马斯亮蓝法 (Bradford 法) [22]。

1.4 实验试剂 氯化镉 (CdCl₂)、三氯乙酸 (TCA) 和 硫代巴比妥酸 (TBA) 试剂均为分析纯。SOD 和 GSH Px 试剂盒购于南京建成生物公司。

1.5 数据处理 实验结果所得数据采用 SPSS11.0 软件包的 t-Test 进行处理分析,所得结果均为平均值 ±标准差 (mean ±SD),p < 0.05 为有显著差异, p < 0.01 为有极显著差异。

2 结 果

2.1 镉对长江华溪蟹肝胰腺和鳃 SOD 活性的影响 从图 1 中可以看出,随着镉浓度的增加和处理

时间的延长,肝胰腺中 SOD 活性有不同程度的变化。当处理时间为 24h 和 48h,Cd 处理的 5 个浓度组,肝胰腺中 SOD 的活性均高于对照组。总体而言,在处理组中,随着处理时间的延长和 Cd 浓度的升高,SOD 活性呈现先升高后降低的趋势。当处理时间为 48h、Cd 浓度为 14.5mg/L 时,SOD 活性达最大值,较对照组差异极显著。

图 2 中显示,伴随着镉浓度的增加和处理时间的延长,鳃中 SOD 活性同样有不同程度的变化。当处理时间为 24h、48h、72h 时,随着 Cd 浓度的增加,SOD 活性呈现先升高后降低的趋势。当处理时间为 48h、Cd 浓度为 14.5mg/L 时,SOD 活性达最大值,较对照组差异极显著。当处理时间为 96h,随着 Cd 浓度的升高,SOD 活性呈现逐渐降低的趋势。

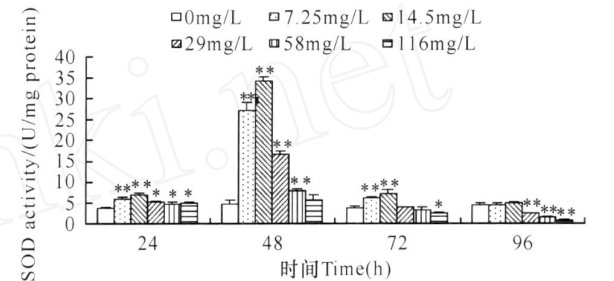


图 1 镉对长江华溪蟹肝胰腺 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effects of Cd on SOD activity in hepatopancreas of *S. yangtsekiense*

Values are means ±SD (n = 3), * p < 0.05; * * p < 0.01; the same as Fig. 2—8

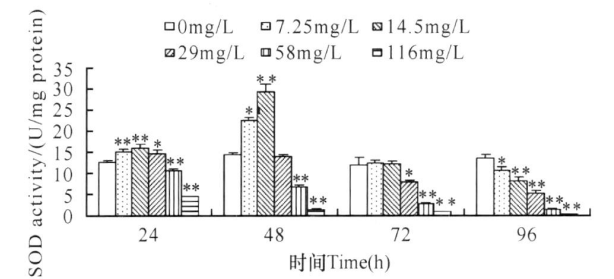


图 2 镉对长江华溪蟹鳃 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of Cd on SOD activity in gill of *S. yangtsekiense*

2.2 镉对长江华溪蟹肝胰腺和鳃 GSH Px 活性的影响

观察图 3 发现,随着镉浓度的增加和处理时间的延长,肝胰腺中 GSH Px 活性有不同程度的变化。当处理时间为 24h 和 48h、Cd 浓度为 7.25mg/L、14.5mg/L 和 29 mg/L 时,肝胰腺中 GSH Px 的活性均高于对照组。当处理时间为 24h、48h、72h 时,随着

Cd 浓度的增加, GSH-Px 活性呈现先升高后降低的趋势。当处理时间为 48h、Cd 浓度为 7.25mg/L 时, GSH-Px 活性达最大值, 较对照组差异极显著。当处理时间为 96h, 随着 Cd 浓度的升高, GSH-Px 活性呈现逐渐降低的趋势。

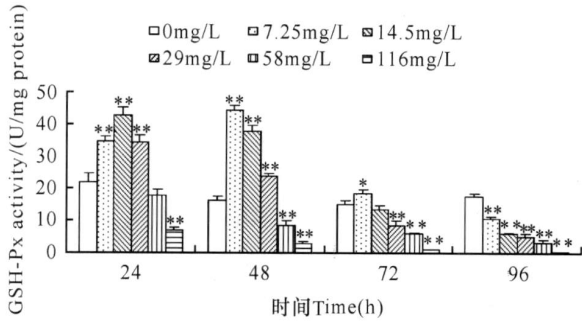


图3 镉对长江华溪蟹肝胰腺 GSH-Px 活性的影响

Fig. 3 Effects of Cd on GSH-Px activity in hepatopancreas of *S. yangtsekiense*

结合图 4 可以看出, 随着镉浓度的增加和处理时间的延长, 鳃中 GSH-Px 活性有不同程度的变化。当处理时间为 48h、72h 和 96h、Cd 浓度为 7.25mg/L 时, 鳃中 GSH-Px 的活性均高于对照组。随着处理时间的延长和 Cd 浓度的升高, GSH-Px 活性均呈现先升高后降低的趋势。当处理时间为 24h、Cd 浓度为 14.5mg/L 时, GSH-Px 活性达最大值, 较对照组差异极显著。

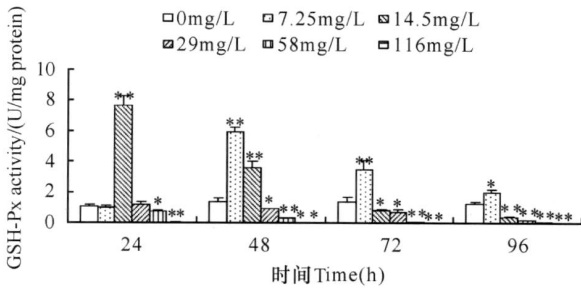


图4 镉对长江华溪蟹鳃 GSH-Px 活性的影响

Fig. 4 Effects of Cd on GSH-Px activity in gill of *S. yangtsekiense*

2.3 镉处理长江华溪蟹肝胰腺和鳃中 GSH-Px/SOD 比值的变化

从图 5—6 中看出, 随着 Cd 浓度的增加和处理时间的延长, 肝胰腺和鳃中 GSH-Px/SOD 的比值均呈现一定程度的变化。在对照组中, 肝胰腺和鳃 GSH-Px 和 SOD 的比值基本处于平衡状态; 但在处理组中, 这种平衡状态被打破, 在各处理时间段中, 当

Cd 浓度为 116mg/L 时, 肝胰腺和鳃 GSH-Px/SOD 的比值均为最小值, 较对照组差异极显著。

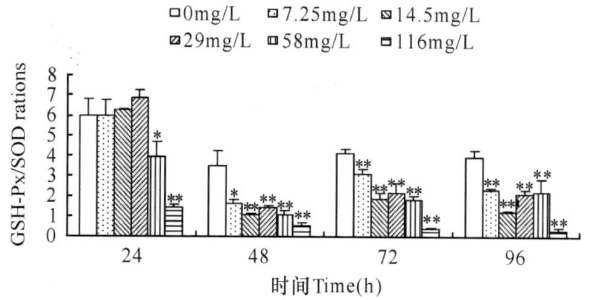


图5 镉对长江华溪蟹肝胰腺中 GSH-Px/SOD 比值的影响

Fig. 5 Effects of Cd on GSH-Px/SOD ratios in hepatopancreas of *S. yangtsekiense*

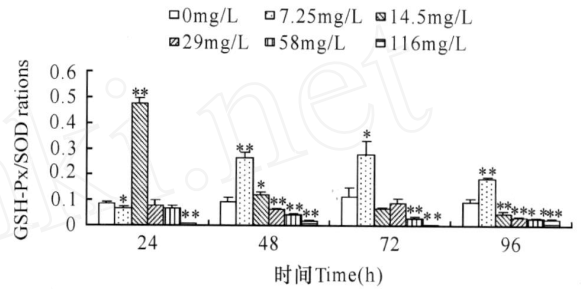


图6 镉对长江华溪蟹鳃中 GSH-Px/SOD 比值的影响

Fig. 6 Effects of Cd on GSH-Px/SOD ratios in gill of *S. yangtsekiense*

2.4 镉处理长江华溪蟹肝胰腺和鳃中 MDA 含量的变化

从图 7—8 中观察到, 在对照组中, 肝胰腺和鳃中 MDA 含量均为最小值, 基本处于稳定状态。在处理组中, 随着 Cd 浓度的增加和处理时间的延长, 肝胰腺和鳃中 MDA 含量均呈现逐渐升高的趋势。在各处理时间段中, 当 Cd 为 116mg/L 时, 肝胰腺和鳃中 MDA 含量均达最大值, 较对照组差异极显著。

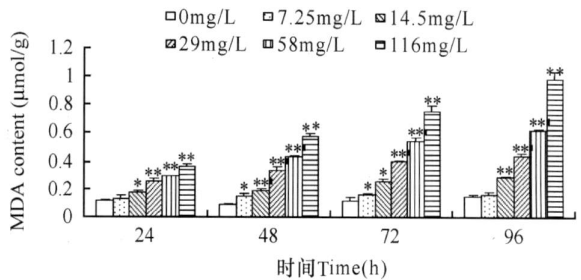


图7 镉对长江华溪蟹肝胰腺中 MDA 含量的影响

Fig. 7 Effects of Cd on MDA content in hepatopancreas of *S. yangtsekiense*

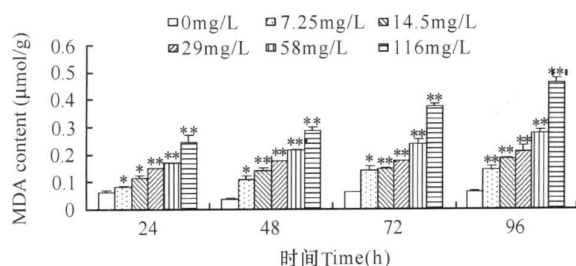


图8 镉对长江华溪蟹鳃中MDA含量的影响

Fig. 8 Effects of Cd on MDA content in gill of *S. yangtsekiense*

3 讨论

3.1 镉对长江华溪蟹 SOD 和 GSH Px 活性的影响

SOD 和 GSH Px 是广泛存在于生物体内的抗氧化功能酶,在生物体防御氧化损伤的过程中起关键作用。在正常情况下,这两种酶可以联合清除活性氧自由基,保护动物免受自由基伤害^[23]。

SOD 是生物体内防御氧化损伤的一种非常重要的金属酶,对生物体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,其功能是将 O_2^- 歧化为过氧化氢 (H_2O_2),是生物体防御内、外环境中超氧离子对生物体侵害的重要酶,能够很灵敏地反映外界对生物体的损伤^[24]。SOD 清除 O_2^- 的能力与 SOD 的含量和活性有关。有研究表明,当生物体受到轻度逆境胁迫时, SOD 活性往往升高;而当受到重度逆境胁迫时, SOD 活性通常降低,使生物体内积累过量的活性氧,从而导致生物体受到伤害^[25]。也有人认为这是生物体应激反应中的“应激适应”和“应激损伤”^[26]。本实验研究结果显示,当处理时间为 24h 和 48h 时,低浓度镉 (7.25mg/L、14.5mg/L) 胁迫使长江华溪蟹肝胰腺和鳃中的 SOD 活性显著升高,这与 Beaumont et al.^[27]的研究结果类似。有研究认为^[28],毒物在低浓度下出现的这种现象,是其在无毒情况下的刺激反应,称为“毒物兴奋效应”。到目前为止,许多研究证明,“毒物兴奋效应”在生物界具有普遍性。但是,在各处理时间组 (24h、48h、72h、96h) 和高浓度镉 (58mg/L、116mg/L) 胁迫下,肝胰腺和鳃中 SOD 活性显著下降,尤其是鳃,说明高浓度镉对抗氧化酶系统产生明显的毒性,抑制了 SOD 的活性。SOD 酶是一种金属酶,细胞内有 Mn-SOD、Cu/Zn-SOD,前者位于线粒体内,后者位于细胞质中。镉对 SOD 活性的影响,可能与其活动中心的金属元素发生了交换有关。例如,镉可以取代 Cu/Zn-SOD 中的 Zn 而形成 Cu/Cd-SOD,或取代 Mn-SOD 中的 Mn 而形成 Cd-SOD,使

SOD 酶失去活性^[29];也有人认为,镉对 SOD 的抑制作用,主要是通过对 Cu/Zn-SOD 活性的抑制而实现的,Cd 竞争性地与 SOD 结合,占据了 SOD 的 Cu-Zn 位点^[30],从而抑制 SOD 活性。另外,镉对 SOD 活性的影响还表现在对 SOD 转录水平的影响上^[31],镉通过干扰 SOD 表达过程中的转录量,从而使 SOD 的表达量减少,在总体上也表现为 SOD 活性的降低。

GSH Px 是一种含硒的酶,可以分解 H_2O_2 和过氧化物,在 GSH Px 的作用下,还原型谷胱甘肽可以使脂质过氧化物破坏,而它本身转化为氧化型谷胱甘肽,在谷胱甘肽还原酶和 NADPH 的作用下,氧化型谷胱甘肽又转化为还原型谷胱甘肽,如此反复即可清除细胞内脂质和有机过氧化反应的产物,从而阻断脂质过氧化连锁反应,达到保护细胞膜结构和功能完整的作用^[32]。在本实验中,当处理时间为 24h、48h 和 72h 时,低浓度镉 (7.25mg/L、14.5mg/L) 使长江华溪蟹肝胰腺和鳃中的 GSH Px 活性显著升高,这也是“毒物兴奋效应”和生物体应激适应的一种表现,但在高浓度镉 (58mg/L、116mg/L) 胁迫下,肝胰腺和鳃中的 GSH Px 活性显著下降,说明高浓度镉可以明显抑制肝胰腺和鳃中 GSH Px 的活性。GSH Px 是 Se 依赖性酶,活性中心是 Se 代半胱氨酸,主要作用是清除脂类氢过氧化物和 H_2O_2 ,在 GSH Px 的抗氧化作用中起至关重要的角色。有研究表明,镉进入生物体后可以和 GSH Px 分子中的硒形成 Cd-Se 复合物,从而破坏 GSH Px 活性中心 Se 代半胱氨酸的结构,产生两方面的生物学效应,一方面由于 GSH Px 活性中心结合 Cd,使生物体内镉浓度降低,从而达到解除重金属镉毒性的目的;另一方面使 GSH Px 分子活性中心的 Se 代半胱氨酸结构被破坏而使 GSH Px 失去生物活性,同时镉还可以与 GSH Px 及其前体结合,破坏 GSH Px 的生物活性,导致细胞内自由基积累而使酶分子、DNA 分子以及生物膜脂质过氧化,产生一系列的连锁反应,最终造成细胞损伤^[33]。

在器官的生理作用上,肝胰腺是长江华溪蟹的消化器官和解毒器官,是金属硫蛋白 (Metallothionein, 简称 MT) 的主要合成器官,镉是肝脏 MT 的诱导剂。在镉中毒机制中,Cd-MT 起着关键性的作用。在正常情况下,MT 可以调节机体内自由金属离子的浓度,减少重金属离子特别是镉这种非生物必需元素的毒害作用。但是,当肝脏中镉蓄积超过存在阈值时,MT 就不足以降低镉浓度,最终引起肝脏脂质过氧化及自由基的大量产生,抑制抗氧化酶的活力,

造成肝细胞受损。也有研究表明,镉中毒后可以引起肝小管严重萎缩,肝细胞解体,肝功能萎缩^[20]。鳃作为溪蟹的呼吸器官,是溪蟹吸收水体中镉的主要通道,极易接触水环境中的镉。有研究表明,镉中毒后可以引起鳃丝增粗,鳃丝血管扩大^[20],鳃组织耗氧量降低,同时线粒体受到严重破坏,从而降低了线粒体合成 ATP 的能力,最终导致鳃呼吸功能和其他生理功能的减弱^[17]。这也充分说明了长江华溪蟹在高浓度镉(29mg/L、58mg/L、116mg/L)处理下导致 SOD 和 GSH-Px 活性明显下降可能与肝胰腺和鳃正常生理功能的减弱有关。

研究发现,GSH-Px 与 SOD、GR 与 GSH-Px、CAT 与 SOD 等的比值可以灵敏地反映动物体的抗氧化平衡状态^[34,35]。Amstad 指出,GSH-Px/SOD 指标的轻微变化会影响到细胞抵制氧化诱导的基因组和细胞损害^[34]。本实验结果显示,肝胰腺和鳃中 GSH-Px/SOD 的比值在对照组中处于平衡状态,变化不明显,而在处理组中失去了平衡,有降低的趋势,且较对照组有显著性变化,说明溪蟹经镉处理后体内抗氧化系统失去了平衡。

另外,在本实验中,当处理时间为 48h、镉浓度为 14.5mg/L 时,肝胰腺和鳃中 SOD 活性均达最大值,分别为(34.123 ± 0.993)U/mg protein 和(29.340 ± 1.802)U/mg protein,较对照组差异极显著;当处理时间为 48h、镉浓度为 7.25mg/L 时,肝胰腺中 GSH-Px 活性达最大值(44.312 ± 1.480)U/mg protein,较对照组差异极显著;当处理时间为 24h、镉浓度为 14.5mg/L 时,鳃中 GSH-Px 活性达最大值(7.684 ± 0.578)U/mg protein,较对照组差异极显著。以上结果充分说明,如果以 SOD 和 GSH-Px 作为生化指标,利用长江华溪蟹作为指示生物可以在很短时间(48h)感知外界环境中镉浓度的变化,从而为重金属污染的监测提供理论基础及科学依据。

3.2 镉对长江华溪蟹脂质过氧化的影响

有学者认为,重金属对动物的毒性效应,主要体现在自由基介导的氧化损伤方面^[2,36],这种氧化损伤主要是通过脂质过氧化反应实现的。脂质过氧化(Lipid peroxidation,LP)是指活性氧、自由基攻击生物膜系统中多聚不饱和脂肪酸(PUFA)而引起的一系列氧化过程,此过程可产生一系列脂质过氧化物。MDA 是自由基引发的脂质过氧化作用的最终分解产物,是一种高活性的脂质过氧化产物,其浓度的变化既可用作脂质过氧化程度的衡量指标,也可间接反映机体内活性氧的累积。脂质过氧化与抗氧化防

御系统的变化相结合,既可反映具有氧化还原活性污染物的暴露,也可反映生物受到氧化胁迫的程度。

镉是一种重金属污染物,通过多种途径在体内诱发产生大量的自由基代谢物和活性氧,从而激发脂质过氧化,最终导致器官组织的损伤;镉还可以作用于抗氧化酶系统,降低细胞对氧自由基的清除能力。而自由基及其产物可以通过一系列链式反应促进脂质过氧化反应,增加脂质代谢产物的排泄,增加细胞内氧化状态的调节,促使 DNA 的断裂损伤,同时使生物大分子之间交联,酶蛋白失活,加剧细胞膜和内膜系统的损伤,以及改变基因表达,从而影响到生物体的正常生理生化功能^[37]。

本实验结果显示,随着镉浓度的增加和处理时间的延长,长江华溪蟹肝胰腺和鳃中 MDA 的含量一直处于增加的趋势,并且较对照组有显著性变化,说明在镉的胁迫下,溪蟹体内的氧化损伤在不断地加深。虽然在低浓度镉(7.25mg/L、14.5mg/L)和短时间处理下,肝胰腺和鳃中 SOD 和 GSH-Px 活性有所增加,但不足以弥补镉对机体造成的氧化损伤,所以肝胰腺和鳃中 MDA 的含量仍在升高。随着肝胰腺和鳃中 SOD 和 GSH-Px 活性的下降,肝胰腺和鳃中 MDA 的含量有更大程度的增加。因此,SOD 和 GSH-Px 活性与 MDA 的含量呈现一种负相关性,表明机体中 MDA 含量的增加可能与 SOD 和 GSH-Px 活性的下降有关。另外,组织内 MDA 含量的增加较对照组有显著性变化,进一步说明长江华溪蟹肝胰腺和鳃中 MDA 的含量可以作为一个生化指标间接地反映生物体内氧化损伤的程度。

参考文献:

- [1] Wu Y R, Zeng J Y. The degree and background of heavy metal pollution in estuary and coast [J]. *Marine Environmental Science*, 1983, 2: 60—67 [吴瑜瑞,曾继业.河口、港湾和近岸海域重金属的污染程度与背景值.海洋环境科学,1983,2:60—67]
- [2] Xu L H, Zhang Y Y, Chen Y Y. The researchable development of molecular ecotoxicology and its meaning in water environment protection [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1995, 19(2): 171—185 [徐立红,张雨元,陈宜瑜.分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义.水生生物学报,1995,19(2):171—185]
- [3] Coogan T P, Bare R M, Waalkes M P. Cadmium-induced DNA strand damage in cultured liver cells: reduction in cadmium genotoxicity following zinc pretreatment [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1992, 113: 227—233
- [4] Shukla G S, Hussain T, Chandra S V. Possible role of regional superoxide dismutase activity and lipid peroxide levels in cadmium neurotoxicity: in vivo and in vitro studies in growing rats [J]. *Life Sci*,

- 1987, **41**:2215—2221
- [5] Bagchi D, Bagchi M, Hassoun E A. Cadmium induced excretion of urinary lipid peroxidation in Sprague-Dawley rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 1996, **52**:143—154
- [6] Shibasaki T, Xu Q Y, Ohno I, et al. Effects of triethylenper-tamine-hexaacetic acid on the renal damage in cadmium treated Syrian hamsters [J]. *Biol Trace Elem Res*, 1995, **50**:157—165
- [7] Kamakar R, Banik S, Bandyopadhyay S. Cadmium induced alteration of hepatic lipid peroxidation, glutathione S-transferase activity and reduced glutathione level and their possible correlation with chromosomal aberration in mice, a time course study [J]. *Mutat Res*, 1998, **397**(2):183—190
- [8] Manca D, Ricard A C, Trattier B. Studies on lipid peroxidation in rat tissue following administration of low and moderate doses of cadmium [J]. *Toxicol*, 1991, **67**(3):303—323
- [9] Zikic R V, Stajin A S, Saicic Z S, et al. The activities of superoxide dismutase, catalase and ascorbic acid content in the liver of goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch) exposed to cadmium [J]. *Physiol Res*, 1996, **45**(6):479—481
- [10] Almeida J A, Diniz Y S, Marques S F G, et al. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination [J]. *Environment International*, 2002, **27**(8):673—679
- [11] Schuwerack P M, Lewis J W, Jones P. The potential use of the South African river crab, *Potamonautes warreni*, as a bioindicator species for heavy metal contamination [J]. *Ecotoxicology*, 2001, **10**(3):159—166
- [12] Michele J S, Hein H D, Johan H J. The freshwater river crab, *Potamonautes warreni*, as a bioaccumulative indicator of iron and manganese pollution in two aquatic systems [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1998, **41**(2):203—214
- [13] Wang L, Yang X Q, Wang Q, et al. The accumulation of Cd and the effect on EST in five tissues and organs of *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2001, **47**(专刊):96—100 [王兰, 杨秀清, 王茜, 等. 镉在河蟹五种组织器官的积累及对酯酶同工酶的影响. 动物学报, 2001, **47**(专刊):96—100]
- [14] Wang L, Sun H F, Li C Y. Effects of cadmium on spermatogenesis in freshwater crab (*Sinopotamon yangtsekiense*) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2002, **48**(5):677—684 [王兰, 孙海峰, 李春源. 镉对长江华溪蟹精子发生的影响. 动物学报, 2002, **48**(5):677—684]
- [15] Wang L, Sun H F. Effects of cadmium on ultrastructure of myocardial cell of freshwater crab (*Sinopotamon yangtsekiense*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, **26**(1):8—13 [王兰, 孙海峰. 镉对长江华溪蟹心肌细胞超微结构的影响. 水生生物学报, 2002, **26**(1):8—13]
- [16] Wang L, Wang D X, Wang Q, et al. Effects of cadmium on ultrastructure of hepatopancreas cells of freshwater crab (*Sinopotamon yangtsekiense*) [J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2003, **34**(5):272—276 [王兰, 王定星, 王茜, 等. 镉对长江华溪蟹肝胰腺细胞超微结构的影响. 解剖学报, 2003, **34**(5):272—276]
- [17] Lu J R, Lai W. Effects of cadmium on tissue and ultrastructure of gill of *Eriocheir sinensis* [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 1991, **22**(6):565—570 [卢敬让, 赖伟. 镉对中华绒螯蟹鳃组织亚显微结构的影响. 海洋与湖沼, 1991, **22**(6):565—570]
- [18] Agpes S. Impact of cadmium on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penacus japonicus* (Crustacea:Decapoda) [J]. *Aquat Living Resour*, 1999, **12**(1):57—70
- [19] Pan L Q, Wang K X. Studies on digestive enzyme activities and amind acid in the larvae of *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1997, **4**(2):13—20 [潘鲁青, 王克行. 中华绒螯蟹幼体消化酶活力与氨基酸组成的研究. 中国水产科学, 1997, **4**(2):13—20]
- [20] Zhao W X, Wei H, Jia J, et al. Effects of cadmium on transaminase activities and structures of tissues in freshwater giantprawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1995, **19**(1):21—27 [赵维信, 魏华, 贾江, 等. 镉对罗氏沼虾组织转氨酶活性及组织结构的影响. 水产学报, 1995, **19**(1):21—27]
- [21] Liu X L, Zhou Z L, Chen L Q. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities of the juvenile *Eriocheir sinensis* [J]. *Marine Sciences*, 2003, **27**(8):59—63 [刘晓玲, 周忠良, 陈立侨. 镉对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 抗氧化酶活性的影响. 海洋科学, 2003, **27**(8):59—63]
- [22] Zhang L X, Zhang T F, Li L Y, et al. Biochemical experimental method and technique [M]. Beijing: Higher Education Press. 1981, 164—169 [张龙翔, 张庭芳, 李令媛, 等. 生化实验方法和技术. 北京: 高教出版社. 1981, 164—169]
- [23] Pastor A, Medina J, Delramo J. Determination of lead in treated crayfish *Procambarus clarkia*: accumulation in different tissues [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1988, **41**:412—418
- [24] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase, an enzyme function for erythrocuprein [J]. *J Biol Chem*, 1969, **224**:6049—6055
- [25] Tang X X, Zhang P Y. Effects of anthracene on activity of superoxide dismutase in *Sebastes fuscus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, **24**(3):217—220 [唐学玺, 张培玉. 蒽对黑鲷超氧化物歧化酶活性的影响. 水产学报, 2000, **24**(3):217—220]
- [26] Li Y P, Gong H. The research progress of the system of antioxidant responses in insect [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 1998, **10**(5):240—244 [李毅平, 龚和. 昆虫体内抗氧化系统研究进展. 生命科学, 1998, **10**(5):240—244]
- [27] Beaumont A R, Newman P B. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae [J]. *Mar Pollut Bull*, 1986, **17**(10):457—461
- [28] Stebbing A R D. Hormesis the stimulation of growth by low levels of inhibitions [J]. *Sci Tot Envir*, 1982, **22**(1):213—234
- [29] Casalino E, Calzavetti G, Sblano C, et al. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium [J]. *Toxicology*, 2002, **179**(1):37—50
- [30] Bauer R, Demetr I, Hasemann V. Structural properties of the zinc site in Cu, Zn-superoxide dismutase, Perturbed angular correlation of gamma-ray spectroscopy on the Cu, Cd-superoxide dismutase derivative [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1980, **94**:1296—1302
- [31] Xiang C Q, Mei B, Wu Z R, et al. Effect of low dose Cd on SOD gene expression and the activities of SOD in kidney [J]. *Chin J Ind Hyg Occup Dis*, 2001, **19**(2):91—94 [项翠琴, 梅兵, 吴自荣, 等. 低剂量镉对肾脏 SOD 基因表达及其活力的影响. 中华劳动卫生职业病杂志, 2001, **19**(2):91—94]

- [32] Gong W, Yang B S. The research progress of enzyme with selenium in animal [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 1998, **24** (2): 42—45 [龚伟, 杨保收. 动物含硒酶的研究进展. 中国兽医杂志, 1998, **24** (2): 42—45]
- [33] Hultberg B, Andersson A, Isaksson A. Alterations of thiol metabolism in human cell lines induced by low amounts of copper, mercury or cadmium ions [J]. *Toxicology*, 1998, **126**: 530—535
- [34] Amstad P, Moret R, Cerutti P. Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu, Zn-superoxide dismutase overproducers to oxidant stress [J]. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 1606—1609
- [35] Avanzo J L, Mendonca J R, Pugine C X, et al. Effect of vitamin E and selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoralis muscle [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2001, **129** (2): 163—173
- [36] Rainbow P S. The accumulation of heavy metal in marine organism and its meaning [J]. *Marine Environmental Science*, 1992, **11** (1): 44—51 [Rainbow P S. 海洋生物对重金属的积累及意义. 海洋环境科学, 1992, **11** (1): 44—51]
- [37] Stohs S J, Bagchi D, Hassoun E, et al. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions [J]. *Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2000, **18** (2): 201—213

EFFECTS OF CADMIUM ON ENZYME ACTIVITY AND LIPID PEROXIDATION IN FRESHWATER CRAB SINOPOTAMON YANGTSEKIENSE

LI Yong-Quan, WANG Lan, LIU Na, WANG Qian, HE Yong-Ji and MENG Fan

(College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Abstract: With variant concentrations of cadmium (Cd) (7.25 mg/L, 14.5 mg/L, 29 mg/L, 58 mg/L and 116 mg/L) and treating times (24 h, 48 h, 72 h and 96 h) disposed on freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*, the activities of Superoxide dismutase (SOD) and Glutathione Peroxidase (GSH-Px) were investigated by acute toxicity. In the range of exposure dosages, the activities of SOD and GSH-Px in these two tissues were found going up and then down with the increasing concentration of Cd and treating time. However, the content of Malondialdehyde (MDA) was continually improved. When explored at 14.5 mg/L of Cd for 48 h, the SOD activity of the two tissues amount to the highest, being (34.123 ± 0.993) U/mg protein and (29.340 ± 1.802) U/mg protein, respectively in hepatopancreas and gill, and values were both significant. However, the GSH-Px activities in hepatopancreas, when treated by 7.25 mg/L of Cd for 48 h, attained to the maximum, and it was in gill by 14.5 mg/L for 24 h. Moreover, the activities of SOD and GSH-Px potentially decreased with the up of Cd concentration and treating time, and then dropped to the lowest at 116 mg/L of Cd. Ratio of GSH-Px/SOD is useful tool as index of antioxidant level. It was revealed that the ratio of GSH-Px/SOD in tissues and treated Cd concentration plus time was converse. Briefly, the experimental results suggested that the variations on the enzyme activity and the MDA content may sensitively indicate the toxicity of Cd as well as the inhibition effects of enzymes to it. Besides, the possible mechanism was also analyzed and discussed.

Key words: *Sinopotamon yangtsekiense*; Hepatopancreas; Gill; Superoxide dismutase (SOD); Glutathione Peroxidase (GSH-Px); Malondialdehyde (MDA); Cadmium