

镉对背角无齿蚌主要组织谷胱甘肽含量和相关酶活性的影响

杨惠珍, 刘 娜, 李涌泉, 卫晓溪, 王 兰*

(山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘 要: 为了进一步探明谷胱甘肽系统对镉引起的氧化损伤的防御作用, 根据背角无齿蚌(*Anodonta woodiana woodiana*) 96 h 镉的半致死浓度, 设置 5 个染毒组(4.22、8.43、16.86、33.72、67.45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和 1 个对照组, 处理 24、48、72、96 h 分别测定鳃与肝脏中还原型谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量和谷胱甘肽硫转移酶(GST)、谷胱甘肽还原酶(GR)的活性。实验结果显示, 与对照组相比, 除 48 h、4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组鳃中 GSSG 含量出现显著性升高($P < 0.05$)外, GSH 和 GSSG 含量均表现为显著或极显著性降低($P < 0.05$, $P < 0.01$); 随着时间的延长, GSH/GSSG 比值在低浓度(4.22、8.43 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)处理组先降后升, 在高浓度(33.72、67.45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)处理组则逐渐下降, 且与对照组相比差异显著($P < 0.05$)。与对照组相比, 在 24 h 鳃中 GST 活性呈梯度型降低($P < 0.01$); 在 48、72、96 h GST 活性整体呈升高趋势, 且在低浓度组升高、高浓度组降低, 呈现显著性或极显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。鳃中 GR 活性在 48 h、8.43 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 72 h、67.45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 96 h、4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组出现显著性升高。随着浓度的升高和时间的延长, 肝脏中 GSH 含量和 GSH/GSSG 比值呈显著或极显著性降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。肝脏中 GST 活性整体呈升高趋势且有极显著性差异($P < 0.01$); 在 24 h、4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组 GST 活性达到最高。同一时间, 随着镉浓度的升高, 肝脏中 GST 活性逐渐降低。肝脏中 GR 活性整体呈升高趋势且有显著性或极显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$), 在 72 h、4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组浓度达到最高。研究表明, 肝脏中 GSH 含量的变化对镉引起的损伤反应灵敏且发挥了重要作用, GST 解毒酶对镉的毒性反应灵敏, 且肝脏较鳃的反应迅速。GSH 含量、GST 活性和肝脏分别可以作为环境监测的生化指标和靶器官。

关键词: 背角无齿蚌; 鳃; 肝脏; 谷胱甘肽; 含量; 酶活性; 镉

中图分类号: X503.225 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2015)01-0015-07 doi:10.11654/jaes.2015.01.003

Effects of Cadmium on Glutathione Contents and Activities of Glutathione Related Enzymes in Gill and Hepatopancreas of *Anodonta woodiana woodiana*

YANG Hui-zhen, LIU Na, LI Yong-quan, WEI Xiao-xi, WANG Lan*

(Shanxi University School of Life Science, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Glutathione system is an important defense system against oxidative damages. In this study, an experiment was designed to examine the dynamics of glutathione contents and activities of glutathione related enzymes in *Anodonta woodiana woodiana* under six Cd treatments (0, 4.22, 8.43, 16.86, 33.72 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and 67.45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of Cd) for 24 h, 48 h, 72 h and 96 h, according to 134.9 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of LC_{50} for Cd within 96 h. The reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) concentrations as well as glutathione transferase (GST) and glutathione reductase (GR) activities were measured in the gill and hepatopancreas tissues. Compared with the control, Cd treatments significantly decreased both GSH and GSSG concentrations in the gills, with exception of one treatment group (4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 48 h). The ratio of GSH/GSSG was decreased in two treatment groups (4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and 8.43 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 48 h). However, this ratio was increased in some other groups (67.45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 24 h, 48 h and 96 h, 4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 72 h and 8.43 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 96 h). The GST activity in the gills rose by Cd treatments, except the groups treated for 24 h, in which GST showed a gradient decrease. The GR activity increased in three groups (8.43 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 48 h, 67.45 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 72 h and 4.22 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 96 h) in the gills. In the hepatopancreas, GSH content and GSH/GSSG ratio sig-

收稿日期: 2014-08-01

基金项目: 高等学校博士类基金(20111401110010); 山西省普通高校特色重点学科建设项目资助(2011-SXDX-SWX-003)

作者简介: 杨惠珍(1987—), 女, 山西孟县人, 硕士, 主要从事动物水环境毒理学研究。E-mail: 751442077@qq.com

* 通信作者: 王 兰 E-mail: lanwang@sxu.edu.cn

nificantly reduced as the Cd concentration and exposure time increased. The activity of GST in the hepatopancreas was dependent on Cd concentrations and treatment time, with the greatest activity observed in $4.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 24 h. It decreased at higher Cd concentrations and extended time. In the hepatopancreas, the GR activity was increased in the following treatment groups (4.22 and $8.43 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 24 h, $4.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $16.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $67.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in 72 h and all concentrations in 96 h except for $67.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). In conclusion, our results show that Cd exposure can decrease the concentrations of GSH and GSSG but increase the levels of GST and GR in the gill and hepatopancreas, indicating that the antioxidant defense system is activated in response to Cd-induced oxidative damages in *Anodonta woodiana woodiana*. The GSH in hepatopancreas showed a consistent decrease in response to Cd toxicity regardless of concentrations and time of Cd exposure, and GST activity was also sensitive to Cd toxicity. Hepatopancreas had a faster response than gills did. Therefore, the GSH level and GST activity in hepatopancreas can be used as biological indicators for monitoring contamination by metals such as Cd.

Keywords: *Anodonta woodiana woodiana*; gill; hepatopancreas; glutathione; concentration; enzyme activity; cadmium

镉被广泛应用于工业生产中,对生态环境造成了严重污染。由于镉的半衰期长,可以通过食物链进行传递^[1],富集于动物和人体内,诱导生物有机体活性氧、使自由基含量增加、破坏抗氧化系统并造成严重的氧化损伤。这些损伤已经被证实是引起细胞毒性和癌变的重要机制之一^[2]。谷胱甘肽系统是机体抗氧化体系的重要组成部分,主要由还原型谷胱甘肽(Reduced glutathione, GSH)、氧化型谷胱甘肽(Oxidized glutathione, GSSG)、谷胱甘肽硫转移酶(Glutathione transferase, GST)、谷胱甘肽还原酶(Glutathione reductase, GR)构成,这些物质对镉引起的氧化损伤有防御作用。当生物有机体受到活性氧、自由基等过氧化物损伤时, GSH在GPx、GST的催化下,加快对过氧化物的清除,减轻组织细胞的氧化损伤^[3-4]。同时, GSSG又可以在GR的作用下还原为GSH,确保机体GSH与GSSG的动态平衡,维持机体抗氧化防御能力,减少脂类过氧化物、 H_2O_2 等的毒性影响。国内外对贝类的研究主要集中于海洋生物类:许超群等^[5]测定了四溴联苯醚(BDE-47)对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)组织解毒代谢酶活力与DNA损伤的影响;孟晓林等^[6]检测了镉对虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*) GPx活性的影响;Sokolova等^[7]研究了镉对太平洋牡蛎(*Crassostrea virginica* Gmelin)线粒体基因表达的调控;Blasco等^[8]研究了重金属在海洋贝类体内的不同蓄积途径。关于淡水贝类的研究则甚少。

背角无齿蚌(*Anodonta woodiana woodiana*)是淡水中分布较广的物种,直接受到淡水水体及底泥中污染物的影响,能够反映水域或底泥中重金属的污染状况,是一种理想的环境监测指示生物。据文献报道幼龄淡水贝类对无机化合物最敏感^[9],本课题组在前期研究中也发现,镉对背角无齿蚌鳃等组织的SOD、GPx和CAT活性产生了显著影响并引起脂质过氧化^[10]。

本文在此基础上就镉对背角无齿蚌鳃和肝脏GSH、GSSG的含量和GST、GR活性的影响进行研究,旨在了解并掌握淡水水体中重金属镉对水生动物的污染状况,进一步探讨镉对谷胱甘肽及相关酶活性的毒性效应及相关机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 背角无齿蚌

背角无齿蚌(以下简称“河蚌”),于2013年4月购自太原市五龙口水产批发市场,置水族箱并加入曝气48 h后的自来水(pH6.8,溶氧 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上),室温 15°C ,室内暂养两周以上用于实验。

1.1.2 实验试剂

氯化镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)、氯化钠(NaCl)均为分析纯;GSH、GSSG、GST、GR及蛋白含量的检测试剂盒均购自南京建成生物公司,试剂盒名称及批号分别为:还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒(微板法),A006-2;总谷胱甘肽(T-GSH)/氧化型谷胱甘肽(GSSG)测定试剂盒(微板法),A061-1;谷胱甘肽-S转移酶(GSH-ST)试剂盒(比色法),A004;谷胱甘肽还原酶(GR)测定试剂盒(紫外比色法),A062。总蛋白(TP)测定试剂盒(带标准:考马斯亮蓝法),A045-2。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计

根据镉(Cd^{2+})对河蚌96 h LC_{50} ($134.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的急性毒性实验,设计了5个 Cd^{2+} 浓度(4.22 、 8.43 、 16.86 、 33.72 、 $67.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)处理组和1个空白对照组,每个浓度设3个平行组。将108只大小相近、体重相当的活体河蚌(平均质量 49.5 g ,平均体长 7.46 cm ,平均体高 3.2 cm)分别置于18个水族箱中($50 \text{ cm} \times 30 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$),每箱6只,对照组加4 L曝气48 h

的自来水,处理组加 4 L 不同浓度镉溶液, pH6.8, 溶氧 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上, 室温 $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。实验期间不喂食, 不换水, 分别处理 24、48、72、96 h。

1.2.2 样品制备

在染毒 24、48、72、96 h 后, 用双蒸水洗净蚌体表面残留的镉溶液, 迅速剖取鳃、肝脏组织, 分别称取约 0.1 g 组织分装于 2 mL EP 管中, 称重, 记录, 并置于液氮中速冻, 之后置于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱备用。

1.2.3 谷胱甘肽含量及相关酶活力测定

GSH、GSSG 含量和 GST、GR 活力的测定均依据试剂盒的说明操作; GSH/GSSG 比值为本实验测定的 GSH、GSSG 含量之比。

1.2.4 蛋白含量测定

蛋白含量的测定采用 Bradford 方法, 用考马斯亮蓝蛋白检测试剂盒测定, 标准蛋白以试剂盒提供的蛋白为参照。

1.3 数据处理

实验结果利用 SPSS(中文 17.0)软件分析处理, 检验实验数据的正态分布性, 并用平均值 $\pm$ 标准误 (Mean $\pm$ S.E.) 表示; 处理组和对照组显著性检验采用单因素方差分析法 (One-Way ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 镉对背角无齿蚌鳃 GSH、GSSG 含量和 GSH/GSSG 比值的影响

由图 1 可知, 与对照组相比, 同一时间不同浓度, 或同一浓度不同时间, 背角无齿蚌鳃中 GSH 含量表现为显著性或极显著性降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); GSSG 含量除 48 h、 $4.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组出现显著性升高 ($P<0.05$) 外, 其他处理组均表现为显著性或极显著性降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。在 24、72、96 h, GSH 含量在低浓度组逐渐降低, 高浓度组逐渐升高; GSSG 含量在 24、48 h 逐渐降低, 72 h 逐渐升高, 在 96 h 低浓度处理组 GSSG 含量逐渐降低, 高浓度处理组 GSSG 含量逐渐升高。随着时间的延长, GSH/GSSG 比值在低浓度 (4.22 、 $8.43 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理组先降后升, 在高浓度 (33.72 、 $67.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理组则逐渐下降, 且与对照组相比差异显著 ($P<0.05$)。在镉浓度 $67.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的不同时间段, GSH/GSSG 比值逐渐降低, 除 96 h 之外均表现为显著或极显著性差异 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

2.2 镉对背角无齿蚌肝脏 GSH、GSSG 含量和 GSH/GSSG 比值的影响

如图 2 所示, 与对照组相比, 同一时间不同浓度,

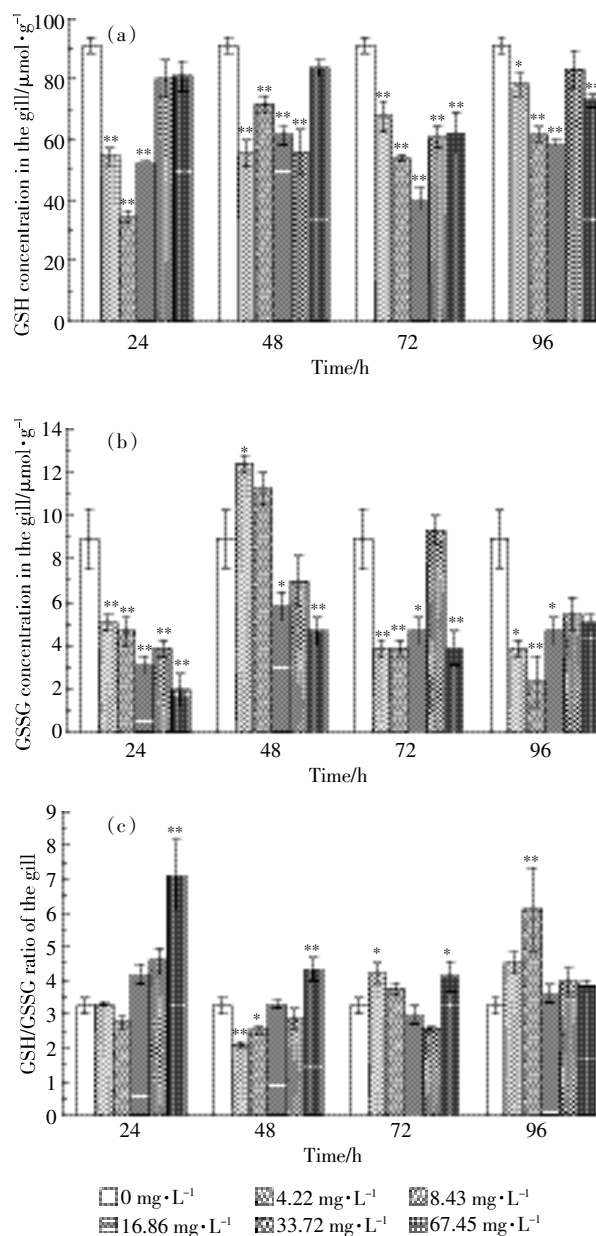


图 1 镉对背角无齿蚌鳃 GSH、GSSG 含量和 GSH/GSSG 比值的影响

Figure 1 Effects of Cd^{2+} on GSH and GSSG contents and GSH/GSSG ratios in gill of *Anodonta woodiana woodiana* ($*P<0.05$, $**P<0.01$, Mean $\pm$ S.E., $n=3$)

或同一浓度不同时间, 背角无齿蚌肝脏中 GSH 含量呈现极显著性降低 ($P<0.01$)。在 24、48 h, 随镉浓度升高, GSH 含量逐渐降低, 但 72 h 和 96 h, GSH 含量在低浓度组升高, 高浓度组降低。同一浓度, 随着时间的延长, GSH 含量在浓度 $4.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组逐渐降低; $8.43 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组含量逐渐升高; 16.86 、 33.72 、 $67.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组含量先升后降。而 GSSG 含量无显著性变化。与对照相比, 随镉浓度的升高和处理时间的延

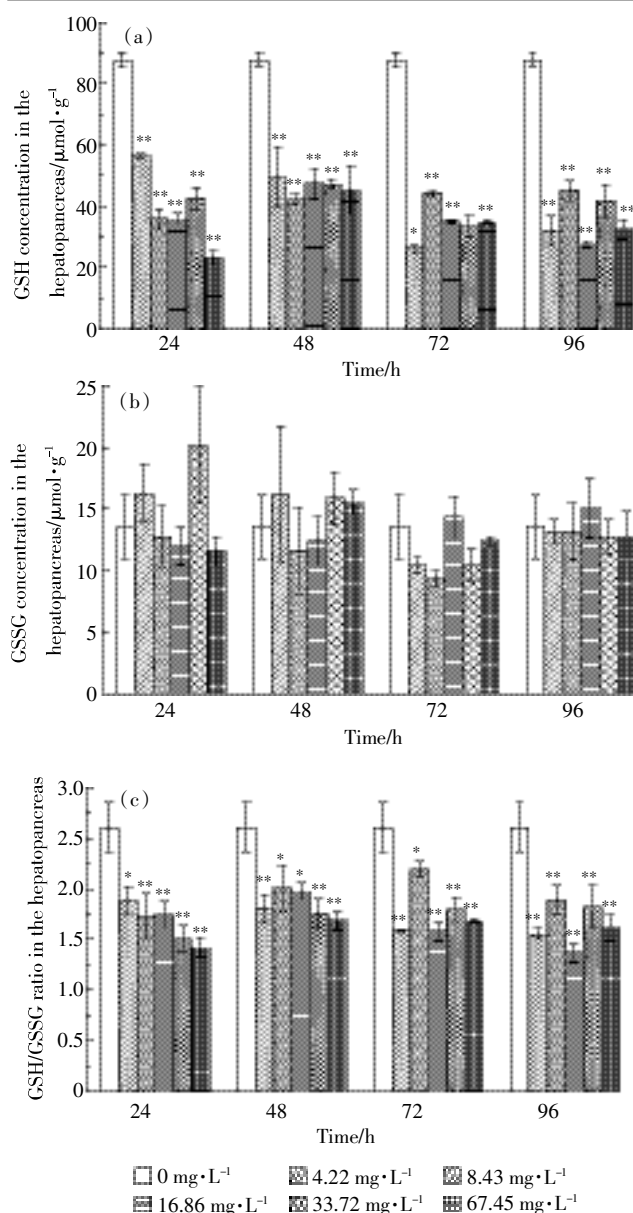


图2 镉对背角无齿蚌肝脏 GSH、GSSG 含量和 GSH/GSSG 比值的影响

Figure 2 Effects of Cd^{2+} on GSH and GSSG contents and GSH/GSSG ratios in hepatopancreas of *Anodonta woodiana woodiana* (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, Mean $\pm$ S.E., $n=3$)

长, GSH/GSSG 比值呈显著或极显著性降低($P<0.05$, $P<0.01$)。随着镉浓度升高,在 24 h GSH/GSSG 比值逐渐降低,48、72、96 h 其比值在低浓度升高,高浓度降低。随着处理组时间的延长,4.22 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组比值逐渐降低;8.43、16.86、67.45 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组比值短时间内升高,长时间处理则逐渐降低;33.72 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组比值逐渐升高。

2.3 镉对背角无齿蚌鳃 GST、GR 活性的影响

观察图 3(a)发现,与对照组相比,在 24 h,背角

无齿蚌鳃中 GST 活性呈梯度型降低,呈极显著性差异($P<0.01$)。随着时间的延长,GST 活性与对照组相比呈升高趋势;在 48、72、96 h,GST 活性在低浓度组升高,高浓度组降低,呈现显著性或极显著性差异($P<0.05$, $P<0.01$),其中 72 h 更加突出,均为极显著性差异($P<0.01$)。

由图 3(b)可知,在 48、96 h,随镉浓度升高,GR 活性在低浓度组升高,高浓度组降低,在 72 h,GR 活性逐渐升高,且在 67.45 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 达到最高。与对照相比,在 48 h、8.43 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组,72 h、67.45 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组及 96 h、4.22 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组,GR 活性呈极显著性升高($P<0.01$)。

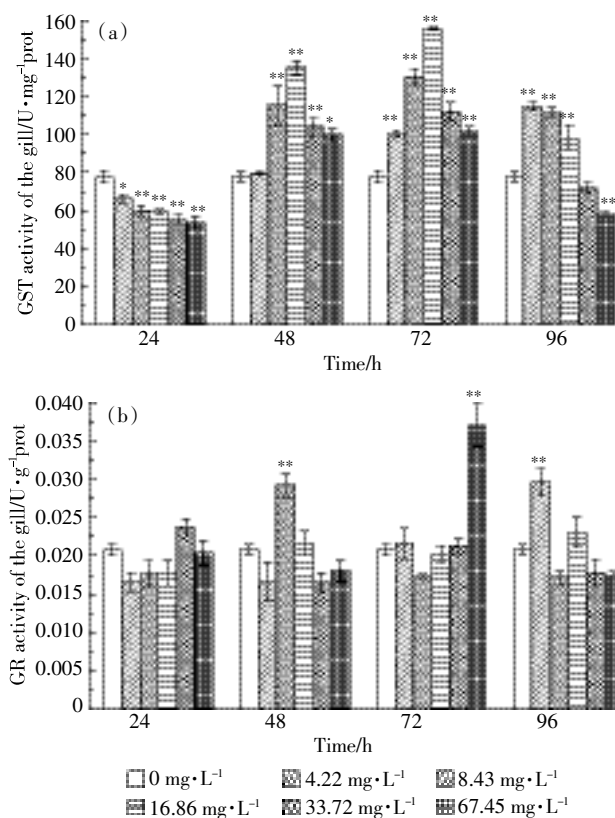


图3 镉对背角无齿蚌鳃 GST 和 GR 活性的影响

Figure 3 Effects of Cd^{2+} on GST and GR activities in gill of *Anodonta woodiana woodiana* (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, Mean $\pm$ S.E., $n=3$)

2.4 镉对背角无齿蚌肝脏 GST、GR 活性的影响

观察图 4(a)发现,与对照组相比,同一时间不同浓度,或同一浓度不同时间,背角无齿蚌肝脏中 GST 活性整体呈升高趋势且有极显著性差异($P<0.01$);在 24 h、4.22 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组,GST 活性达到最高。在同一时间,随着镉浓度的升高,GST 活性呈逐渐降低趋势。

如图 4(b)所示,与对照组相比,除 48 h 外,背角无齿蚌肝脏中 GR 活性整体呈升高趋势且有显著或极显著性差异($P<0.05$, $P<0.01$);在 72 h、4.22 mg·L⁻¹ 处理组 GR 活性达到最高,呈极显著性差异($P<0.01$)。同一时间,随镉浓度升高,GR 活性在低浓度组升高,高浓度组降低,且在 96 h 升高或降低趋势更加明显。

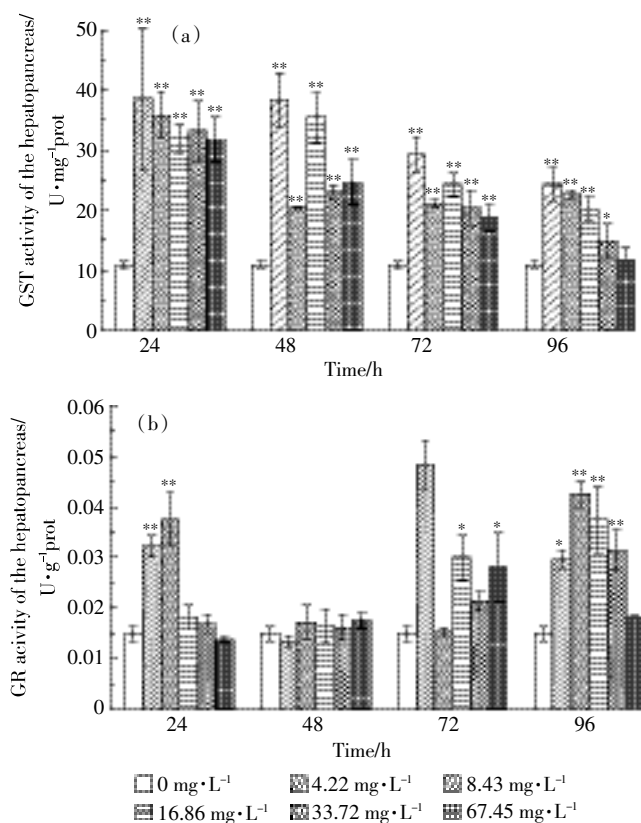


图 4 镉对背角无齿蚌肝脏 GST 和 GR 活性的影响

Figure 4 Effects of Cd²⁺ on GST and GR activities in hepatopancreas of *Anodonta woodiana woodiana* (* $P<0.05$, ** $P<0.01$, Mean $\pm$ S.E., $n=3$)

3 讨论

3.1 镉对背角无齿蚌鳃和肝脏 GSH 和 GSSG 含量及 GSH/GSSG 比值的影响

本实验结果表明,背角无齿蚌鳃和肝脏中 GSH 含量与对照相比均出现了显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)性降低,且在 24 h、4.22 mg·L⁻¹ 处理组即出现降低现象,说明鳃和肝脏中 GSH 对镉的胁迫反应较敏感。GSH 作为一种天然活性肽,利用自身的-SH 结构与组成特性,与进入组织的镉离子螯合,避免了鳃与肝脏中重要酶蛋白变性、失活,从而有利于重要酶活

性的发挥^[11];GSH 还是生物有机体重要的还原剂,在 GPx、GST 催化作用下,还原由于镉胁迫产生的 H₂O₂、羟自由基、脂质过氧化物等,使其转变为酸类等疏水性物质和水,从而达到解毒功效^[12],而 GSH 被氧化为 GSSG^[13]。

然而,随着镉浓度的升高与暴露时间的延长,鳃中 GSSG 含量极显著($P<0.01$)降低。这可能是因为:鳃中的 GSSG 可在 GR 的作用下与还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)反应,依赖机体提供的能量,还原为 GSH^[14];GSH 与镉离子螯合^[11],致使氧化还原反应生成的 GSSG 含量减少。而肝脏中 GSSG 含量无显著性变化($P>0.05$),可能因为肝脏中 GSH 与 GSSG 的氧化还原反应达到了动态平衡。这进一步说明肝脏作为机体的解毒器官,对镉(Cd²⁺)引起的氧化损伤有一定的抵御作用。

大量研究证实,GSH/GSSG 比值可以灵敏评价组织抗氧化平衡状态^[15-16]。正常人体血液中 GSH/GSSG 比值维持在 100/1^[13],Jain 等^[11]和孙光闻等^[17]研究证明,在 GSH 中加入一定比例的 GSSG 可以增强 GSH 清除自由基的能力,不同比率的 GSH/GSSG 对自由基的清除率不同;Jain 等^[11]在血液中输入 GSH,可以增加 GSH/GSSG 的比率,从而增加机体免疫反应。本研究发现,随着镉浓度的增加和处理时间的延长,背角无齿蚌鳃中 GSH/GSSG 整体基本呈升高趋势($P<0.05$),说明机体为了应对镉引起的氧化损伤,不断提高 GSH/GSSG 比率,清除机体内自由基等氧化物质,避免生物有机体受到更大损伤^[16],尤其在 66.75 mg·L⁻¹ 浓度组,鳃组织抵御能力更为明显。而肝脏中 GSH/GSSG 比值出现显著($P<0.05$)或极显著性($P<0.01$)降低,说明肝脏受到了严重的损伤,对外来毒物的免疫能力下降。这可能因为肝脏作为解毒组织,承担着较大的解毒代谢压力。

3.2 镉对背角无齿蚌鳃和肝脏 GST 和 GR 活性的影响

GST 是机体重要的抗氧化酶之一,有多种同工酶,广泛分布于组织细胞与血液中,与机体多种疾病相关^[18]。本研究结果显示,在 24 h,处理组 GST 活性与对照组相比均被显著或极显著地抑制($P<0.05$, $P<0.01$)。这可能因为鳃作为呼吸器官没有解毒功能,对镉造成的胁迫反应迟钝^[19],致使 GST 活性随镉浓度升高呈梯度下滑的现象。随着处理时间的延长,在 48、72、96 h,鳃中 GST 活性在低浓度处理组被显著诱导($P<0.05$),高浓度处理组诱导反应逐渐降低($P<0.05$),并恢复到对照组水平。低浓度处理组被显著诱导可能是因为河

蚌受到镉的毒性攻击而产生氧化应激反应, GST 活性升高, 加快催化 GSH 巯基与亲电子基团结合, 增加其疏水性, 使外源毒物易于被机体分解排泄^[6]。这一结果与许超群等^[5]检测的四溴联苯对菲律宾蛤仔组织解毒代谢酶活力的影响结果一致。高浓度处理组诱导反应逐渐降低说明鳃中脂质过氧化物(MDA)含量随镉浓度增加逐渐升高^[10], 受到的氧化胁迫逐渐增强, 组织受损严重, GST 清除脂类过氧化物能力逐渐降低^[4]。与对照组相比, 肝脏中 GST 活性均被显著诱导, 且在 24 h、4.22 mg·L⁻¹ 时即作出升高的反应, 说明肝脏对镉引起的胁迫反应较为敏感^[19], 可能与肝脏承担机体的解毒功能有关。但是, 随镉浓度的升高, 肝脏中 GST 活性逐渐降低, 可能因为肝脏对进入体内的镉经膜包被, 使镉与细胞其他组分相隔, 达到清除重金属颗粒的作用^[20], 迫使组织细胞脂质过氧化损伤严重, GST 活性逐渐降低。类似研究证明, 铜可以诱导牡蛎(*Ostrea gigas thunberg*)和淡水贻贝(*Lampsilis siliquoides*) GST 活性升高^[9, 18]。Li 等^[21]发现, 垃圾渗透液可以诱导蜗牛(*Bellamya purificata*)鳃与消化腺 GST 活性升高。

GR 是一种黄素蛋白氧化还原酶, 以 GSSG 为底物, NADPH 供氢, 合成 GSH, 促使机体 GSH 与 GSSG 含量达到动态平衡, 维持机体氧化还原平衡状态^[22]。本实验结果显示, 背角无齿蚌肝脏中 GR 活性被显著诱导($P < 0.05$)。处理 96 h, 镉浓度与 GR 活性间呈现明显的剂量-效应关系。这与肝脏中 GSSG 含量变化相对应, GR 活性升高, 促使大量 GSSG 源源不断还原成 GSH, 维持机体 GSH 与 GSSG 的动态平衡, 抵御外来镉对机体造成损伤。

4 结论

(1) 肝脏中 GSH 含量的变化对镉引起的损伤反应灵敏且发挥了重要作用, 可以作为环境监测的生物学指标。

(2) GST 解毒酶对镉的毒性反应灵敏, 且肝脏较鳃的反应迅速。GST 活性和肝脏组织分别可以作为环境监测的酶学指标和靶器官。

参考文献:

- [1] Corticeiro S C, Lima A I G, Figueira E M A P. The importance of glutathione in oxidative status of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* under Cd exposure[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, 40(1): 132-137.
- [2] Kayama F, Yoshida T, Elwell M R, et al. Cadmium-induced renal damage and proinflammatory cytokines: Possible role of IL-6 in tubular epithelial cell regeneration[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1995, 134(1): 26-34.
- [3] 贾贞, 王丹, 游松. 谷胱甘肽的研究进展[J]. 沈阳药科大学报, 2009, 23(5): 238-242.
JIA Zhen, WANG Dan, YOU Song. Progress on glutathione and its preparation[J]. *Journal of Shenyang Medical Science*, 2009, 23(5): 238-242.
- [4] 马森. 谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽转硫酶研究进展[J]. 动物医学进展, 2008, 29(10): 53-56.
MA Sen. Progress on GSH-Px and GST[J]. *Progress of Veterinary Medicine*, 2008, 29(10): 53-56.
- [5] 许超群, 潘鲁青, 王琳. 四溴联苯醚(BDE-47)对菲律宾蛤仔组织解毒代谢酶活力与 DNA 损伤的影响[J]. 海洋环境科学, 2011, 30(5): 653-658.
XU Chao-qun, PAN Lu-qing, WANG Lin. Effects of tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) on metabolic enzymes and DNA damages in tissues of *Ruditapes philippinarum* [J]. *Marine Environmental Science*, 2011, 30(5): 653-658.
- [6] 孟晓林, 刘梅, 王宝杰, 等. 镉在虾夷扇贝的沉积及对 GPx、GST 的影响[J]. 山西农业大学学报, 2012, 32(6): 548-552.
MENG Xiao-lin, LIU Mei, WANG Bao-jie, et al. Cadmium specific accumulation and its effect on the activity of GPx, GST in *Mizuhopecten yessoensis* [J]. *Journal of Shanxi Agricultural University*, 2012, 32(6): 548-552.
- [7] Sokolova I M, Sokolov E P, Ponnappa K M. Cadmium exposure affects mitochondrial bioenergetics and gene expression of key mitochondrial proteins in the eastern oyster *Crassostrea virginica* Gmelin (Bivalvia: Ostreidae) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, 73(3): 242-255.
- [8] Blasco J, Puppo J. Effect of heavy metals (Cu, Cd and Pb) on aspartate and alanine aminotransferase in *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1999, 122(2): 253-263.
- [9] Jorge M B, Loro V L, Bianchini A, et al. Mortality, bioaccumulation and physiological responses in juvenile freshwater mussels (*Lampsilis siliquoides*) chronically exposed to copper [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 126: 137-147.
- [10] 邢慧芳, 李涌泉, 王兰. 镉对类背角无齿蚌外套膜、鳃抗氧化酶活性及脂质过氧化的影响[J]. 环境科学学报, 2013, 33(3): 856-860.
XING Hui-fang, LI Yong-quan, WANG Lan. Effects of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the mantle and gill of the freshwater bivalve *Anodonta woodiana woodiana* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(3): 856-860.
- [11] Jain S K, Micinski D. Vitamin D upregulates glutamate cysteine ligase and glutathione reductase, and GSH formation, and decreases ROS and MCP-1 and IL-8 secretion in high-glucose exposed U937 monocytes [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 437(1): 7-11.
- [12] 郭远明. 海洋贝类对水体中重金属的富集能力研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008: 1-44.
GUO Yuan-ming. The study about bio-concentration ability of seashell to heavy metal abstract[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008:

- 1-44.
- [13] 沈亚领, 李 爽, 迟莉丽. 谷胱甘肽的应用与生产[J]. 工业微生物, 2000, 30(2):42-45.
- SHEN Ya-ling, LI Shuan, CHI Li-li. The application and production of glutathione[J]. *Industrial Microbiology*, 2000, 30(2):42-45.
- [14] Orr W C, Radyuk S N, Prabhudesai L, et al. Overexpression of glutamate-cysteinylase extends life span in *Drosophila melanogaster* [J]. *Biological Chemistry*, 2005, 280(45):37331-37338.
- [15] Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function[J]. *Physiological Reviews*, 2002, 82(1):47-95
- [16] Jones D P. Redox potential of GSH/GSSG couple; Assay and biological significance[J]. *Methods in Enzymology*, 2002, 348(2):93-112.
- [17] 孙光闻, 朱祝军, 方学智. 镉对白菜活性氧代谢及 H₂O₂ 清除系统的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12):2012-2015.
- SUN Guang-wen, ZHU Zhu-jun, FANG Xue-zhi. Effects of different cadmium levels on active oxygen metabolism and H₂O₂-scavenging system in *Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(12):2012-2015.
- [18] da Silva A Z, Zanette J, Fernan do Ferreira J, et al. 2005. Effects of salinity on biomarker responses in *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca, Bivalvia) exposed to diesel oil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 62(3):376-382.
- [19] 江天久, 曾 森, 牛 涛. 重金属镉胁迫对近江牡蛎超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 热带海洋学报, 2006, 25(6):63-67.
- JIANG Tian-jiu, ZENG Miao, NIU Tao. Effects of heavy metal Cd²⁺ on superoxide dismutase(SOD) activity of *Crassostrea rivularis*[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2006, 25(6):63-67.
- [20] 励建荣, 李学鹏, 王 丽, 等. 贝类对重金属的吸收转运与累积规律研究进展[J]. 水产科学, 2007, 26(1):51-55.
- LI Jian-rong, LI Xue-peng, WAGN Li, et al. Advances in uptake, transportation and bioaccumulation of heavy metal ions in bivalves[J]. *Fisheries Science*, 2007, 26(1):51-55.
- [21] Li X L, Li L, Luan T G, et al. Effects of landfill leachate effluent and bisphenol A on glutathione and glutathione-related enzymes in the gill and digestive glands of the freshwater snail *Bellamya purificata* [J]. *Chemosphere*, 2008, 70(10):1903-1909.
- [22] Zhu S Y, Zhao X E, Zhang W, et al. Fluorescence detection of glutathione reductase activity based on deoxyribonucleic acid-templated silver nanoclusters[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2013, 786:111-115.