动物科学

DOI:10.11721/cqnuj20180406

镉诱导斑马鱼肝脏的组织学损伤和氧化应激*

谢冬梅，龚仕玲，李英文，陈启亮
(重庆师范大学 生命科学学院 重庆市高校动物生物学重点实验室，重庆 401331)

摘要:【目的】评估镉暴露对斑马鱼(*Danio rerio*)肝脏的组织学结构和抗氧化状态的影响。【方法】将成年斑马鱼分为对照组、低剂量暴露组和高剂量暴露组，分别暴露于 Cd^{2+} 质量浓度为 0，5 和 25 $\mu g \cdot L^{-1}$ 的水体中 30 d 后，取肝脏进行组织学分析，并检测肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽-S 转移酶(GST)的活性，谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)的含量，以及抗氧化酶基因 *sod1*，*cat1* 和 *gstr* 的表达水平。【结果】镉暴露导致雌、雄斑马鱼肝细胞空泡化和细胞核固缩。低剂量暴露组雄鱼肝脏中仅 MDA 含量与对照组雄鱼肝脏中 MDA 含量相比有统计学意义上的升高($p<0.05$)；而高剂量暴露组雄鱼肝脏中 SOD，CAT 和 GPX 的活性，GSH 和 MDA 含量，以及 *cat1* 基因的表达水平均高于对照组雄鱼肝脏中的相应指标，比较结果均具有统计学意义($p<0.05$)。低剂量暴露组雌鱼肝脏中的 SOD 和 CAT 的活性、MDA 含量以及 *sod1* 和 *cat1* 基因表达水平均高于对照组雌鱼肝脏中的相应指标，比较结果具有统计学意义($p<0.05$)；但高剂量暴露组雌鱼肝脏中的 GSH 含量和 *gstr* 基因表达水平与对照组雌鱼肝脏中的相应指标相比有统计学意义上的下降($p<0.05$)。【结论】镉暴露可诱导斑马鱼肝脏的组织学损伤和抗氧化反应，且呈现出性别差异性。

关键词:斑马鱼；镉暴露；肝脏；组织学；抗氧化
中图分类号:Q485　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1672-6693(2018)04-0031-06

镉是一种重金属环境污染物，具有易富集、难降解和高毒性等特点。由于工业的快速发展，越来越多的镉通过多种途径进入水环境中，导致水体镉污染形势日益严峻[1]。中国渔业水质标准中将镉在水体中质量浓度的限制值定为 5 $\mu g \cdot L^{-1}$，而目前淡水环境中镉质量浓度也通常在 0.02～5 $\mu g \cdot L^{-1}$ 之间[2]。但是在中国部分镉污染地区，水体中镉质量浓度已超过 1 $mg \cdot L^{-1}$，局部地区的这一指标甚至高达 26.5 $mg \cdot L^{-1}$[3-5]。大量研究表明，长期暴露于镉污染环境中的鱼类体内会出现镉蓄积，进而对鱼类生长、发育和繁殖产生不利影响[6-9]。

肝脏是鱼类最大的消化腺，也是重要的解毒器官，可清除病原体、有毒物质、代谢废物等[10]。然而，当外源毒物毒性在超过肝脏的解毒能力时，可导致肝脏功能异常。已有研究发现，镉暴露可导致鱼类肝脏镉积累，进而诱发组织学病变、免疫失调和代谢紊乱[11-14]。但这些研究主要关注高剂量镉暴露对雌鱼或雄鱼的急性毒性作用，而关于低剂量镉胁迫对雌鱼和雄鱼肝脏毒性效应的比较研究十分缺乏。

斑马鱼(*Danio rerio*)是一种常见的小型热带鱼，具有胚胎透明、发育速度快和繁殖周期短等优点，已被用作生态毒理学研究的模式生物[15]。本研究对成年斑马鱼进行较低剂量的镉暴露(5 和 25 $\mu g \cdot L^{-1}$)30 d 后，就镉对雌鱼和雄鱼肝脏的组织学结构及抗氧化防御系统的影响进行了对比分析，以期为水体镉污染的风险评估提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

成年斑马鱼(AB 系，120 d 龄)购自国家斑马鱼资源中心，实验前置于室内恒温循环水中驯养 14 d，饲养水温

* **收稿日期**:2017-11-12　**修回日期**:2018-05-10　**网络出版时间**:2018-07-26 16:50
资助项目:重庆市基础与前沿研究计划项目(No. cstc2015jcyjA80012)；重庆师范大学校级基金项目(No. 15XLB012)；重庆师范大学研究生科研创新项目(No. YKC17009)
第一作者简介:谢冬梅，女，研究方向为水生毒理学，E-mail:xiedongmei0211@163.com；**通信作者**:陈启亮，男，副教授，博士，E-mail:xncql@126.com
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20180726.1649.010.html

为(28±1) ℃,光周期为14 h光照∶10 h黑暗。

1.2 镉暴露处理

实验开始时,分别选取规格一致的健康雄性和雌性成年斑马鱼(雌鱼平均体质量为(0.57±0.04) g,雄鱼平均体质量为(0.34±0.03) g)放入18个缸中(其中雌鱼和雄鱼各9缸),每缸放30尾。将上述斑马鱼平均分为3个组即对照组、低剂量暴露组和高剂量暴露组,每个组设置3个平行缸。然后向低剂量暴露组和高剂量暴露组的鱼缸中加入$CdCl_2$溶液使水体中的Cd^{2+}质量浓度分别为5和25 $\mu g \cdot L^{-1}$,对照组的鱼缸中不添加$CdCl_2$溶液。两个镉暴露处理组的镉暴露剂量依据为中国渔业水质标准,即水体中的镉量浓度小于或等于5 $\mu g \cdot L^{-1}$,研究中两个镉暴露剂量则分别等于该质量浓度以及5倍于该质量浓度。每日定时投喂商业饲料3次,总投喂量为鱼体质量的3%。为保证水质良好,每天更换水缸中1/2体积的水,并补充定量的$CdCl_2$溶液使处理组鱼缸中的Cd^{2+}达到设定的暴露质量浓度。整个研究的镉暴露处理时间为30 d。

1.3 指标测定

镉暴露处理结束后,每缸取3尾鱼,用MS-222麻醉后立即取出肝脏置于波恩氏液中固定24 h。取固定材料经不同梯度溶质体积分数的乙醇溶液脱水、石蜡包埋及切片后,HE染色,置于光学显微镜(UB203I,徕卡仪器有限公司)下观察并拍照。

每缸取20尾鱼,用MS-222麻醉后置于冰面上解剖取出肝脏立即放入1.5 mL离心管中,液氮速冻后保存于−80 ℃冰箱中。测定时,向样品中加入预冷的生理盐水,充分匀浆后以3 000 r·min^{-1},4 ℃离心15 min,取上清液立即用于抗氧化防御系统相关指标的分析。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和谷胱甘肽-S转移酶(GST)的活性,以及谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)的含量共6个指标的测定严格按照南京建成生物工程研究所生产的试剂盒中附带的说明书进行,样品的总蛋白质量浓度采用考马斯亮蓝法进行测定。测定时,每个组均设置3个生物学重复,每个生物学重复设置2次技术重复。

用实时荧光定量PCR(qPCR)检测抗氧化酶基因的表达水平。每缸取3尾鱼,用RNAiso Plus (TaKaRa)提取肝脏总RNA,分别用质量分数为1%的琼脂糖凝胶电泳和微量分光光度计(Nanodrop ND-2000)检测RNA的质量和浓度后,采用PrimeScript® RT试剂盒(TaKaRa)将总RNA反转录成cDNA。qPCR使用SYBR Premix Ex Taq™试剂盒(TaKaRa)在CFX96实时定量PCR仪(Bio-Rad)上进行,扩增条件为:95 ℃预变性30 s;95 ℃变性5 s,60 ℃退火30 s,72 ℃延伸30 s,40个循环。基因相对表达水平用2-ΔΔCt方法计算,内参基因为*ef1α*。引物序列见表1。

表1 qPCR引物

Tab.1 Primers used for qPCR

基因	引物序列	Genbank序列号
ef1α	F:5′-GATCACTGGTACTTCTCAGGCTGA-3′ R:5′-GGTGAAAGCCAGGAGGGC-3′	FJ915061
cat1	F:5′-CAAGGTCTGGTCCCATAAA-3′ R:5′-TGACTGGTAGTTGGAGGTAA-3′	BC051626
sod1	F:5′-GTCCGCACTTCAACCCTCA-3′ R:5′-TCCTCATTGCCACCCTTCC-3′	BC055516
gstr	F:5′-CCAACATTCAAGCACGGAG-3′ R: 5′-GCACAAGCCAATCATAAAAGG-3′	NM 001045060

1.4 数据处理

实验数据以“平均值±标准差”表示。采用SPSS 17.0软件对数据进行单因素方差分析和Tukey多重比较;当$p<0.05$时,统计结果具有统计学意义。

2 结果

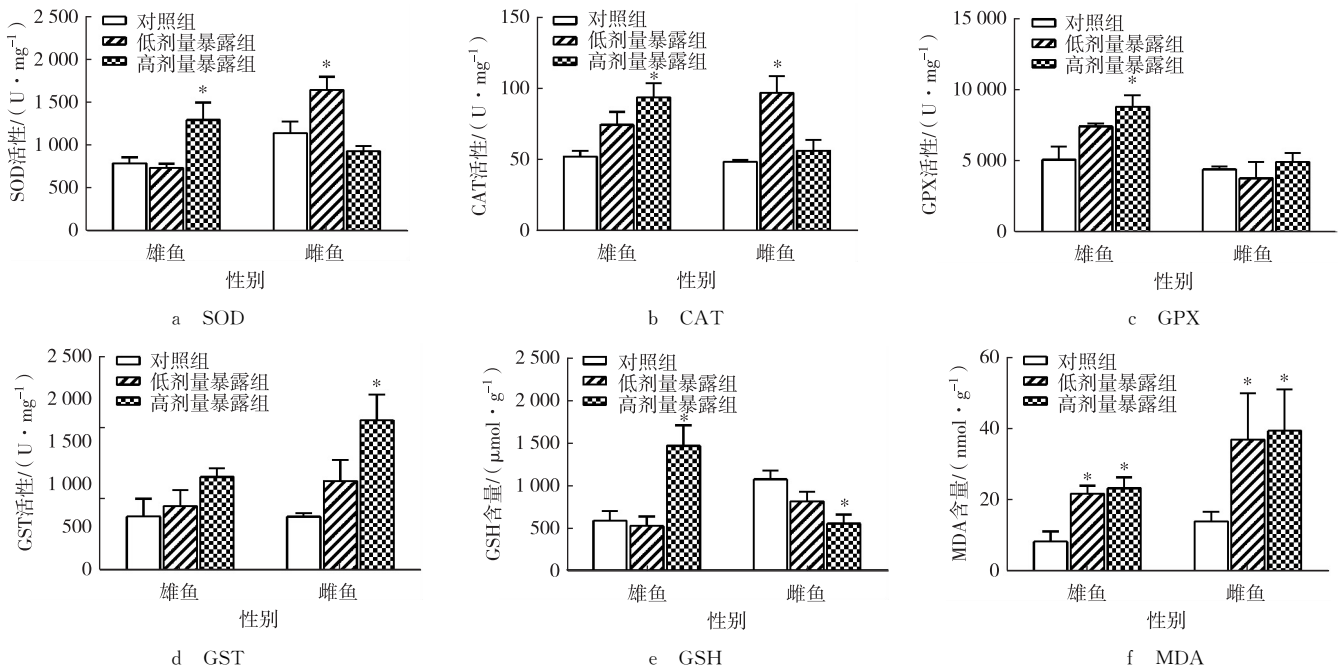
2.1 对斑马鱼肝脏组织学的影响

结果显示:对照组雄鱼和雌鱼的肝细胞结构正常且排列整齐,细胞核呈规则圆形位于细胞中央(封二彩图1a,d);低剂量暴露组的雄鱼肝脏组织结构没有明显变化(封二彩图1b),而高剂量暴露组的雄鱼肝细胞则出现空泡化、细胞核固缩、细胞肿大核偏离等现象(封二彩图1c);低剂量暴露组和高剂量暴露组的雌鱼的肝细胞均出现核固缩和空泡化(封二彩图1e,f),且这种情况在高剂量暴露组中更加明显。

2.2 对斑马鱼肝脏抗氧化酶活性以及GSH,MDA含量的影响

镉暴露对斑马鱼肝脏抗氧化酶活性以及GSH,MDA含量的影响如图2所示。与对照组雄鱼肝脏中MDA

含量相比，低剂量暴露组雄鱼肝脏的 MDA 含量有统计学意义上的升高（$p<0.05$）（图 2f）；高剂量暴露组雄鱼肝脏中 SOD，CAT 和 GPX 的活性以及 GSH，MDA 含量均高于对照组雄鱼肝脏中的相应指标，比较结果均具有统计学意义（$p<0.05$）（图 2a，b，c，e，f）。低剂量暴露组雌鱼肝脏中 SOD，CAT 活性和 MDA 含量均较对照组雌鱼肝脏中的相应指标有统计学意义上的升高（$p<0.05$）（图 2a，b，f）；高剂量暴露组雌鱼肝脏中 GST 活性和 MDA 含量均较对照组雌鱼肝脏中的相应指标有统计学意义上的升高（$p<0.05$）（图 2d，f），而该组雌鱼肝脏中 GSH 含量则相较于对照组雌鱼肝脏中这一指标有所降低，两者差异具有统计学意义（$p<0.05$）（图 2e）。



注：* 表示与对照组相比差异具有统计学意义（$p<0.05$），下同

图 2　镉暴露对斑马鱼肝脏抗氧化指标的影响

Fig. 2　Effects ofcadmium exposure on antioxidant indexes in liver of zebrafish

2.3 对斑马鱼肝脏抗氧化酶基因表达的影响

图 3a 显示：与对照组雄鱼相比，高剂量暴露组雄鱼肝脏中仅 *cat1* 基因表达水平有统计学意义上的升高（$p<0.05$）。图 3b 则显示：低剂量暴露组雌鱼肝脏中 *sod1* 和 *cat1* 基因的表达水平高于对照组雌鱼肝脏中的相应指标，差异均具有统计学意义（$p<0.05$）；低剂量暴露组和高剂量暴露组雌鱼肝脏中 *gstr* 基因表达水平低于对照组雌鱼肝脏中 *gstr* 基因表达水平，且差异均具有统计学意义（$p<0.05$）。

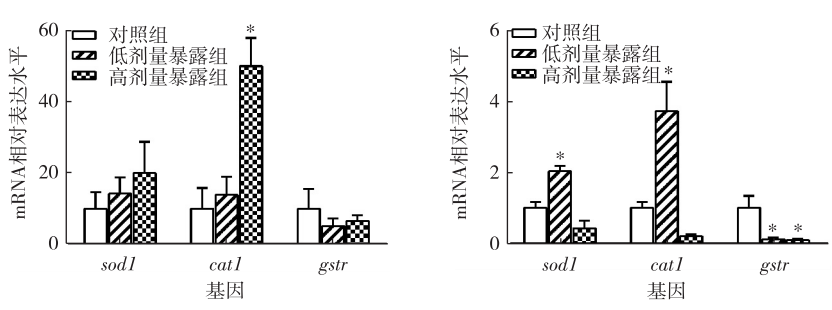


图 3　镉暴露对斑马鱼肝脏抗氧化相关基因表达的影响

Fig. 3　Effects ofcadmium exposure on the expression of genes encoding antioxidant enzymes in liver of zebrafish

3 讨论与结论

研究表明，镉暴露会导致鱼类肝脏中镉积累并损伤肝脏组织学结构。例如，银无须鱵（*Puntius gonionotus*）暴露在 Cd^{2+} 质量浓度为 60 μg·L^{-1} 的水体中 60 d 后，肝细胞出现空泡化、水肿以及细胞核固缩等病理现象[7]；尖吻鲈（*Lates calcarifer*）暴露于含 0.8，10 mg·L^{-1} Cd^{2+} 的水体中 60 d 后，肝细胞中也出现了类似的病理变化[6]；此外，Costa 等人[16]将塞内加尔鳎（*Solea senegalensis*）分别暴露于含 0.5，5 和 10 μg·L^{-1} Cd^{2+} 的水体中 14 和 28 d 后发现，该鱼的肝脏组织出现充血、空泡化、嗜酸性粒细胞增多等现象，并与镉暴露质量浓度高低和暴

露时间呈正相关关系。本研究结果显示,5 $\mu g \cdot L^{-1}$的Cd^{2+}暴露30 d对斑马鱼雄鱼肝脏的组织结构没有明显损伤,但25 $\mu g \cdot L^{-1}$的Cd^{2+}暴露可导致肝细胞出现空泡化、细胞核固缩、细胞肿大核偏离等病理变化,表明在较低剂量的镉胁迫下,雄鱼肝脏尚能维持较正常的解毒功能,而较高剂量的镉胁迫则超过了雄鱼肝脏的解毒能力,进而导致组织结构病变。然而,在经过5和25 $\mu g \cdot L^{-1}$的Cd^{2+}暴露处理后的雌鱼肝脏中均观察到肝细胞空泡化、细胞核固缩等现象,并呈现剂量依赖效应,这反映了雌鱼肝脏对镉胁迫较为敏感。

MDA是一种脂质过氧化产物,它在生物体内含量的高低可指示机体内脂质过氧化水平,能间接反映细胞氧化损伤的程度[10]。在本研究中,与对照组的雌鱼和雄鱼肝脏中MDA含量相比,两个镉暴露处理组的雌鱼和雄鱼肝脏中这一指标均有统计学意义上的升高($p<0.05$),表明镉诱导肝细胞发生了脂质氧化反应。类似地,镉暴露导致组织中MDA含量上升也在对狼鲈(*Dicentrarchus labrax*)[17]、线鳢(*Channa punctata*)[18]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)[19]等鱼类的研究中报道过。脂质过氧化过程中会产生多种活性氧自由基,可引起机体的氧化损伤[20-21]。鱼类具有抗氧化防御系统,能抵御重金属和其他有毒物质引起的氧化应激[10];其中SOD,CAT和GPX是重要的抗氧化酶,可以清除机体内活性氧以维持细胞内过氧化氢和超氧阴离子水平的稳定[22]。SOD催化超氧阴离子发生歧化反应生成过氧化氢和氧分子,CAT则进一步催化过氧化氢分解成水和氧分子[23]。在本研究中,高剂量暴露组雄鱼肝脏中SOD,CAT活性较对照组雄鱼肝脏中这两个酶的活性有统计学意义上的升高($p<0.05$),表明镉暴露可诱导机体产生活性氧自由基,进而激活抗氧化防御系统。然而相较于对照组雌鱼而言,两个镉暴露处理组雌鱼肝脏内SOD和CAT则均表现为低剂量镉暴露诱导酶活性上升而高剂量镉暴露抑制酶活性的变化趋势,这可能是由于低剂量镉可诱导SOD和CAT活性增强以消除超氧阴离子和过氧化氢,而高剂量镉暴露超过了斑马鱼肝脏的防御能力,进而抑制了这两种酶的活性。这一结果与在金头鲷(*Sparus aurata*)[8]和鲤鱼(*Cyprinus carpio*)[24]中的研究结果相似。GSH是一种非酶抗氧化物,可作为GST和GPX的底物或辅因子。这三者相互协调以清除细胞内过氧化氢及其他过氧化物,在维持细胞内氧化还原平衡和细胞正常发育方面起到重要作用[25-26]。本研究结果显示,与对照组雄鱼肝脏中相关指标相比,高剂量暴露组雄鱼肝脏中GSH含量和GPX活性有统计学意义上的升高($p<0.05$);而两者的GST活性并无统计学意义上的差异。这表明GSH和GPX在清除镉诱导的活性氧过程中发挥了主要作用。然而,高剂量暴露组雌鱼肝脏中GSH含量、GST活性与对照组雌鱼肝脏中对应指标相比分别有统计学意义上的下降和升高($p<0.05$)。这可能是因为高剂量的镉暴露引起氧化应激并诱导GST活性增强,因而增加了对GSH的消耗。

为了进一步阐明镉暴露引起抗氧化反应的分子机制,本研究还检测了编码抗氧化酶相关基因的表达水平。结果显示,镉暴露下雌鱼肝脏中*sod1*和*cat1*基因的表达水平分别同SOD和CAT的活性变化一致,说明镉可能通过调节抗氧化酶基因的转录进而影响它们所编码的酶的活性。有趣的是,与对照组雌鱼肝脏中的相关指标相比,镉暴露明显抑制了*gstr*基因的表达,而该基因编码的GST的活性却呈现相反的变化趋势。这可能是由于这类抗氧化酶由多个亚型基因编码所致,或者与转录和翻译之间的时滞效应以及翻译后的修饰有关[27-28]。

综上所述,虽然本研究设置的镉暴露剂量相对较低,但仍可导致斑马鱼肝脏的组织学损伤和氧化应激。尽管斑马鱼体内的抗氧化系统被激活,但仍不足以消除镉诱导的氧化损伤。同时,镉胁迫下雌、雄斑马鱼的肝脏的组织学结构和抗氧化防御也呈现出一定的性别差异性响应。

参考文献:

[1] CHOI C Y, AN K W, NELSON E R, et al. Cadmium affects the expression of metallothionein (MT) and glutathione peroxidase (GPX) mRNA in goldfish, *Carassius auratus*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2007, 145(4): 595-600.

[2] MA W, WANG L, HE Y, et al. Tissue-specific cadmium and metallothionein levels in freshwater crab *Sinopotamon henanense* during acute exposure to waterborne cadmium [J]. Environmental Toxicology, 2008, 23(3): 393-400.

[3] 王秋衡,王淑云,刘美英. 湖南湘江流域污染的安全评价[J]. 中国给水排水,2004,20(8):104-106.
WANG Q H, WANG S Y, LIU M Y. Safety evaluation on-pollution of Xiang river valley in Hunan province[J]. China Water and Wastewater, 2004, 20(8): 104-106.

[4] MENG W, LIU Z T, FAN W. Study on pollutant characters of main estuary of Bohaibay[J]. Research of Environmental Sciences, 2004, 17(6): 66-69.

[5] 董璟琦,张红振,王金南,等. 龙江河突发环境事件河流镉污染化学形态模拟[J]. 中国环境科学,2015,35(10):3046-3052.
DONG J Q, ZHANG H Z, WANG J N, et al. Modeling of cadmium speciation in Longjiang river during an emergent

environmental incident[J]. China Environmental Science, 2015,35(10):3046-3052.

[6] THOPHON S,KRUATRACHUE M,UPATHAM E S,et al. Histopathological alterations of white seabass,*Lates calcarifer*,in acute and subchronic cadmium exposure[J]. Environmental Pollution,2003,121(3):307-320.

[7] WANGSONGSAK A, UTARNPONGSA S,KRUATRACHUE M,et al. Alterations of organ histopathology and metallolhionein mRNA expression in silver barb,*Puntius gonionotus* during subchronic cadmium exposure[J]. Journal of Environmental Sciences,2007,19(11):1341-1348.

[8] SOUID G, SOUAYED N, YAKTITI F, et al. Effect of acute cadmium exposure on metal accumulation and oxidative stress biomarkers of *Sparus aurata*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2013,89(11):1-7.

[9] LIU G D,SHENG Z,WANG Y F,et al. Glutathione peroxidase 1 expression, malondialdehyde levels and histological alterations in the liver of *Acrossocheilus fasciatus* exposed to cadmium chloride[J]. Gene,2016,578(2): 210-218.

[10] ZHANG Q F,LI Y W,LIU Z H,et al. Exposure to mercuric chloride induces developmental damage, oxidative stress and immunotoxicity in zebrafish embryos-larvae [J]. Aquatic Toxicology,2016,181:76-85.

[11] CICIK B,ENGIN K. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L. ,1758)[J]. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences,2005,29(1): 113-117.

[12] van OYK J C,PIETERSE G M,van VUREN J H J. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 66(3): 432-440.

[13] ZHENG J L,YUAN S S,WU C W,et al. Acute exposure to waterborne cadmium induced oxidative stress and immunotoxicity in the brain, ovary and liver of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Aquatic Toxicology,2016,180:36-44.

[14] YUAN S S,LV Z M,ZHU A Y,et al. Negative effect of responses chronic cadmium exposure on growth, histology, ultrastructure, antioxidant and innate immune responses in the liver of zebrafish:preventiverole of blue light emitting diodes[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2017,139:18-26.

[15] 刘昌盛,穆宇,杜久林. 斑马鱼在生命科学研究中的应用[J]. 生命科学,2007,19(4):382-386.
LIU C S,MU Y,DU J L. Application of the zebrafish in the research of life sciences[J]. Life Sciences, 2007, 19(4):382-386.

[16] COSTA P M,CAEIRO S,COSTA M H. Multi-organ histological observations on juvenile *Senegalese soles* exposed to low concentrations of waterborne cadmium[J]. Fish Physiology and Biochemistry,2013,39(2):143-158.

[17] ROMEO M, BENNANI N, GNASSIA-BARELLI M, et al. Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*[J]. Aquatic Toxicology,2000,48(2):185-194.

[18] PANDEY S,PARVEZ S,ANSARI R A,et al. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histologicaland ultrastructural features of gills of a freshwater fish,*Channa punctate* Bloch[J]. Chemico-Biological Interactions,2008,174(3):183-192.

[19] CAO L,HUANG W,LIU J,et al. Accumulation and oxidative stress biomarkers in Japanese flounder larvae and juveniles under chronic cadmium exposure[J]. Comparative Biochemistry and Physiology,2010,151(3):386-392.

[20] LOPEZ E,ARCE C,OSET-GASQUE M J,et al. Cadmium induces reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in cortical neurons in culture[J]. Free Radical Biology and Medicine,2006,40(6):940-951.

[21] CUYPERS A,PLUSQUIN M,REMANS T,et al. Cadmiumstress:an oxidative challenge[J]. Biometals, 2010, 23(5): 927-940.

[22] RUDNEVA I I. Antioxidant system of Black sea animals in early development[J]. Comparative Biochemistry and Physiology,1999,122(2): 265-271.

[23] YU B P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species[J]. Physiological Reviews, 1994, 74(1): 139-163.

[24] JIA X Y,ZHANG H J,LIU X. Low levels of cadmium exposure induce DNA damage and oxidative stress in the liver of Oujiang colored common carp *Cyprinus carpio* var. *color*[J]. Fish Physiology and Biochemistry,2011,37(1): 97-103.

[25] MEISTER A. Glutathione metabolism and its selective modification[J]. Journal of Biological Chemistry, 1988, 263(33):17205-17208.

[26] KNAPEN M F C M,ZUSTERZEEL P L M,PETERS W H M,et al. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction:a review[J]. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology,1999,82(2): 171-184.

[27] HOU J,LI L,XUE T,et al. Damage and recovery of the ovary in female zebrafish ip-injected with MC-LR[J]. Aquatic Toxicology,2014,155:110-118.

[28] ZHENG J L,ZENG L,SHEN B,et al. Antioxidant defenses at transcriptional and enzymatic levels and gene expression of Nrf2-Keap1 signaling molecules in response to

acute zinc exposure in the spleen of the large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2016, 52: 1-8.

Animal Sciences

Cadmium Induces Histological Damage and Oxidative Stress in the Liver of Zebrafish

XIE Dongmei, GONG Shiling, LI Yingwen, CHEN Qiliang

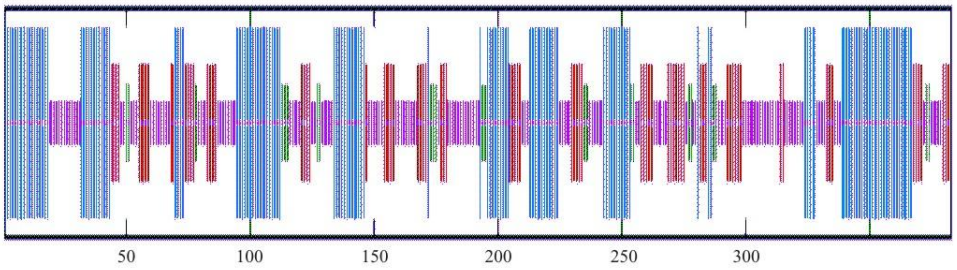
(Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, College of Life Science, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [**Purposes**]To assess the effects of cadmium exposure on the histology and antioxidant status in the liver of zebrafish (*Danio rerio*). [**Methods**]Adult male and female zebrafish were exposed to 0 (control), 5 (low concentration group), and 25 $\mu g \cdot L^{-1}$ (high concentration group) Cd^{2+} for 30 days, and then livers were sampled for histology examination and for analysis of the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and glutathione S-transferase (GST), the content of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) as well as the expression levels of antioxidant enzyme-related genes(*sod1*, *cat1* and *gstr*). [**Findings**]Cd^{2+} exposure resulted in vacuolization and nuclear pyknosis of hepatocytes in both sexes. In males, the activities of SOD, CAT and GPX, the contents of GSH and MDA, and the mRNA level of *cat1* in high concentration group were significantly higher than those in the control group, but in low concentration group, only MDA content was significantly increased. In females, the activities of SOD and CAT, the content of MDA and the expression levels of *sod1* and *cat1* in low concentration group were significantly higher than those in the control group, while GSH content and *gstr* mRNA level in high concentration group were lower than those in the control group. [**Conclusions**]Cd^{2+} exposure can induce histological damage and oxidative stress in zebrafish liver, exhibiting gender-differences responses.

Keywords: zebrafish; cadmium exposure; liver; histology; antioxidant responses

(责任编辑 方 兴)

（接正文27页）



注：蓝色，α-螺旋；红色，延伸链；橙色，无规则卷曲；绿色，β-折叠

图 3　蛋白质二级结构预测图
Fig. 3　Protein secondary structure prediction

（接正文28页）

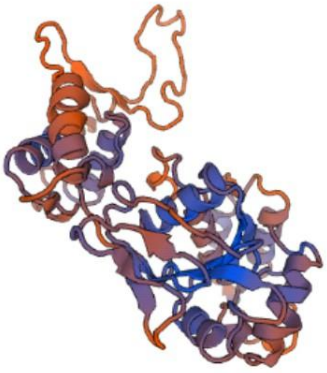
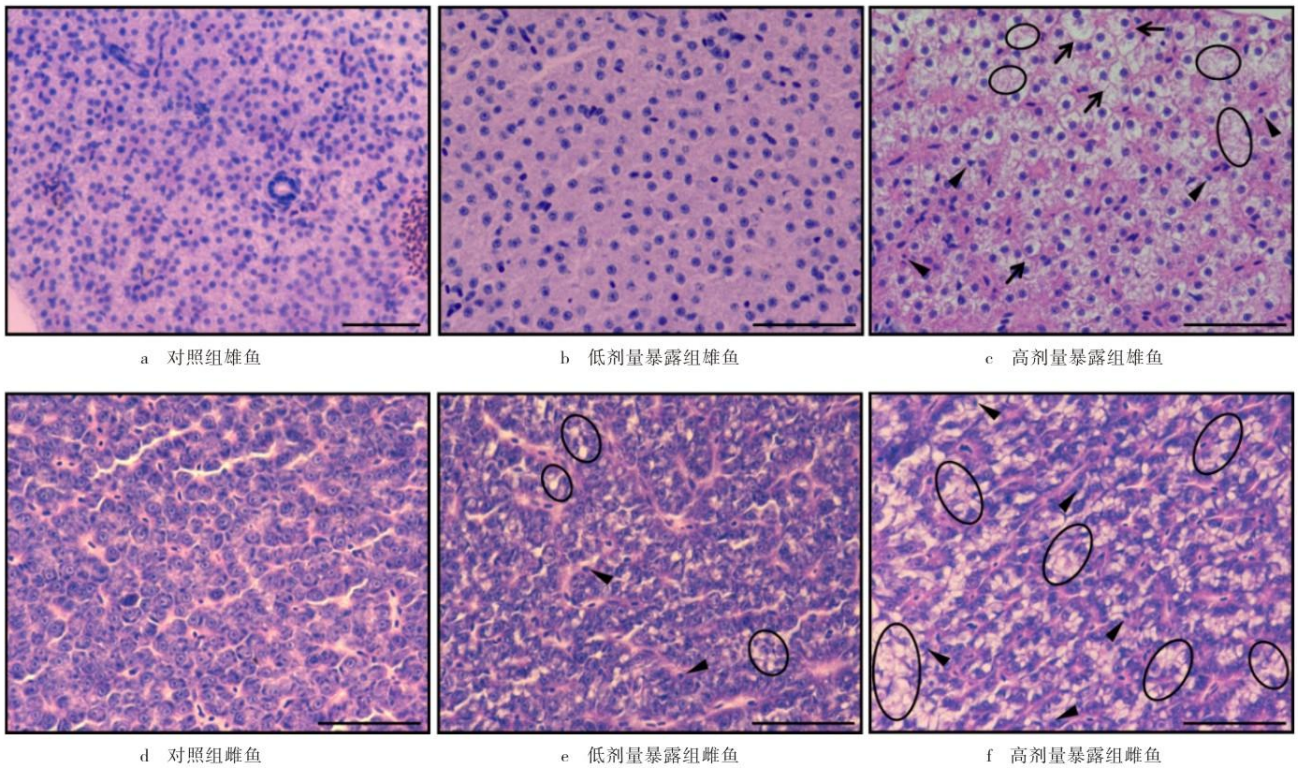


图 4　SPO11蛋白质空间结构预测图
Fig. 4　SPO11 protein space structure prediction

（接正文32页）



a　对照组雄鱼　　b　低剂量暴露组雄鱼　　c　高剂量暴露组雄鱼

d　对照组雌鱼　　e　低剂量暴露组雌鱼　　f　高剂量暴露组雌鱼

注：箭头处为肝细胞肿大核偏离，三角处为核固缩，椭圆处为空泡化，标尺为50 μm

图 1　镉暴露对斑马鱼肝脏组织学的影响
Fig. 1　Effects of cadmium exposure on histology of liver in zebrafish

（接正文37页）

注：红色、绿色和黄色部分分别表示在水库上游、中游和下游的“之”字形调查轨迹；蓝色部分表示整个航段的探测轨迹

图 1　调查轨迹示意图
Fig. 1　Schematic diagram of survey track

（接正文38页）

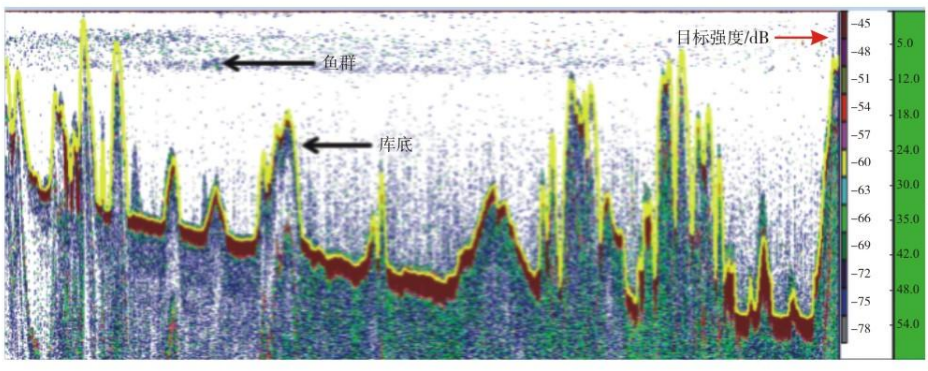


图 2　全航段的水声学探测回波图像
Fig. 2　Underwater acoustic detection echo image of full segment