View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Xiamen University Institutional Repository

第 20 卷 第 1 期 海 洋 环 境 科 学 Vol. 20, No. 1
2 0 0 1 年 2 月 MARINE ENVIRONMENTAL SCIENCE Feb, 2 0 0 1

苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏和卵巢还原型谷胱甘肽含量影响的比较研究

冯 涛, 郑微云, 陈 荣
(国家教委海洋生态环境开放研究实验室/厦门大学 环境科学研究中心, 福建 厦门 361005)

摘 要: 分析了大弹涂肌肉、鳃、肝脏、内脏(不含肝脏)以及卵巢等不同器官的还原型谷胱甘肽含量, 并以还原型谷胱甘肽含量较高的肝脏和卵巢为研究对象, 在实验生态条件下, 将大弹涂鱼暴露于 0, 0.05, 0.2 和 0.5 mg/L 等不同浓度的苯并(a)芘 3 d, 比较这两个器官中还原型谷胱甘肽含量的变化。结果显示, 苯并(a)芘胁迫下, 大弹涂鱼肝脏和卵巢还原型谷胱甘肽含量均显著升高($P \leqslant 0.05$); 表明肝脏和卵巢都是代谢苯并(a)芘的主要器官, 还原型谷胱甘肽含量的显著升高表明机体对苯并(a)芘胁迫的适应性反应。

关键词: 苯并(a)芘; 大弹涂鱼; 还原型谷胱甘肽; 肝脏; 卵巢
中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2001)01-0012-04

Effect of benzo(a) pyrene on contents of reduced-glutathione in the liver and ovary of *Boleophthalmus pectinirostris*

FENG Tao, ZHENG Wei-yun, CHEN Rong
(Research Laboratory of SEDC of Marine Ecological Environment/Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The contents of GSH in different organs of tissues such as musle, gill, liver, viscera(exclude the liver) and ovary in *Boleophthalmus pectinirostris* were measured. The changes of GSH content in the liver and ovary in which the GSH contents were much higher than the others, had been compared in condition of experiment after fishes were exposed to BaP at concentration of 0, 0.05, 0.2 and 0.5 mg/L respectively for 3 d. The results show that the contents of GSH in the liver and ovary of *Boleophthalmus pectinirostris* change significantly ($P \leqslant 0.05$). It turns out that both the liver and the ovary are the key organ in metabolism of BaP. The increased level of GSH may represent an adaptive response to BaP exposure.

Key words: benzo(a) pyrene; *Boleophthalmus pectinirostris*; reduced-glutathione; liver; ovary

还原型谷胱甘肽(GSH)作为生物体内重要的抗氧化剂, 是由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成的三肽。它既可作为谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)的底物, 通过这两种酶起解毒作用, 又可直接与生物体内的氧自由基及亲电化合物结合起解毒作用[1], 因此, 在生物体内的解毒代谢中起着重要的作用。

苯并(a)芘(BaP)是一种具强致癌性的多环芳烃, 广泛存在于受污染的海洋环境中。研究表明, BaP 在动物体内进行生物转化时, 可形成多种中间代谢产物, 其中许多中间代谢产物可进入氧化还原循环, 产生大量活性氧, 进而引发机体氧化应激。

关于氧化胁迫下海洋动物 GSH 含量的变化国外已有研究报道[2~5], 多数研究证实 GSH

收稿日期: 2000-03-27, 修改稿收到日期: 2000-06-12
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(49876029); 福建省自然科学基金资助项目(C9810003)
作者简介: 冯 涛(1969-), 女, 河南省濮阳市人, 博士研究生, 研究方向为生态毒理学。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www

含量可由于污染的胁迫而发生改变, 其变化间接反映了环境中氧化污染的存在, 有可能作为环境污染胁迫的指标; 而国内这一领域的研究较少[6]。这些研究多数以动物体内重要的代谢及解毒器官——肝脏为研究对象, 而对其他器官, 尤其是动物体内对子代健康有重要影响的器官——卵巢的研究较少。

本实验分析了大弹涂鱼肌肉、鳃、肝脏、内脏(不含肝脏, 下同) 以及卵巢等不同器官 GSH 的不同含量, 并试图通过对暴露于不同浓度 BaP 的大弹涂鱼的肝脏及卵巢的 GSH 含量变化的比较研究, 了解 BaP 在体内可能的代谢途径以及以 GSH 作为污染暴露的生物标记的可能性及器官特异性。

1　材料与方法

1.1　仪器与试剂

实验仪器采用 Hitachi 850 型荧光分光光度计, Beckman J2- MC 型冷冻离心机。

BaP 为 Sigma 公司产品; GSH 为上海生物化学试剂公司产品; 其余试剂为国产市售产品。

1.2　实验方法

BaP 先用少量丙酮溶解, 再配制成一定浓度的储备液, 避光于 4 ℃保存。实验前将储备液用清洁海水稀释为 0.05、0.2 和 0.5 mg/L 三个不同的浓度组, 分别置于直径为 50 cm, 高为 50 cm 的陶瓷缸中, 每缸海水体积 40 L。对照组海水中加入与污染组相同体积的丙酮。

实验用鱼大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*) 约 40 尾, 捕自福建省福清海域, 雌雄随机取样, 平均体长为(12.8 ±1.0) cm, 平均体重为(15.05 ±3.4) g, 放在室内饲养。实验鱼先在清洁海水中暂养 3 d, 然后分别放入上述几个浓度的海水中, 每组设两个平行样。实验期间, 用微型充气机连续充气, 每天更换相同污染浓度的海水, 其间投喂藻类; 水温基本稳定在(20 ±2) ℃。

曝污前随机取 6 尾大弹涂鱼, 活体解剖, 分别取肌肉、鳃、肝脏、内脏和卵巢等不同器官, 迅速冷冻于液氮中。然后将大弹涂鱼分别暴露于 0, 0.05, 0.2 和 0.5 mg/L 等不同浓度的 BaP 3 d 后, 分别取出肝脏和卵巢, 每组取鱼 6 尾, 迅速冷冻于液氮中。测定时, 从液氮中取出组织, 称重后置于冰浴中, 加 10 倍体积预冷的缓冲液, 冰浴匀浆, 4 ℃冷冻离心(15 000 r/min, 20min), 取上清液, 用于测定 GSH 含量。

1.3　GSH 含量的测定

参照 Cohn 等[7]的方法, 略做改动。最终的反应体系中含 2.8 mL 的 0.1 mol/L Na_2HPO_4-NaH_2PO_4 缓冲液(pH 8.0, 含 0.005 mol/L EDTA), 100 μL 稀释上清液和 100 μL OPT(2 g/L 甲醇)。混匀后于室温反应 15 min 测定, 激发波长为 350 nm, 发射波长为 420 nm; 通过标准曲线计算其 GSH 含量。

2　结　果

2.1　大弹涂鱼不同器官 GSH 含量比较

如图 1 所示, 单因素方差分析结果表明大弹涂鱼不同器官 GSH 含量差异极显著($P \leqslant 0.01$)。各器官 GSH 含量分别依高低次序排列为卵巢> 内脏> 肝脏> 鳃> 肌肉。其中卵巢最高, 为 234.12×10^{-6}, 内脏和肝脏其次, 分别为 101.16×10^{-6} 和 75.85×10^{-6}, 鳃和肌

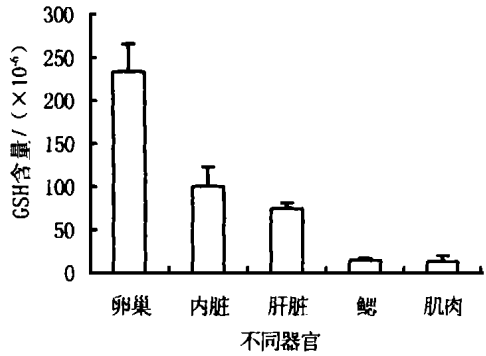

图 1　大弹涂鱼不同器官的 GSH 含量(n= 3~ 6)

Fig. 1　Contents of GSH in various organs of *B. pectinirostris*(n= 3~ 6)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www

肉最少,分别为 15.58×10^{-6}和 14.30×10^{-6}。用单尾 t-检验法对不同器官 GSH 含量进行两两比较结果表明,除鳃与肌肉外,其余各器官 GSH 含量均差异显著($P\leqslant0.05$)。

2.2 BaP 对大弹涂鱼肝脏 GSH 含量的影响

将大弹涂鱼暴露于 0.05, 0.2 和 0.5 mg/L 三种不同浓度 BaP 3 d,单因素方差分析结果表明其肝脏 GSH 含量与对照组相比差异显著($P\leqslant0.05$),GSH 含量随 BaP 浓度的升高而显著增加(如图 2 所示)。用单尾 t-检验法分别对各污染组之间以及污染组与对照组之间的数据进行两两比较的结果表明,三个污染组中只有 0.5 mg/L 浓度组与对照组相比表现出显著差异($P\leqslant0.05$),随着浓度的增加,相邻两个浓度组则只有 0.5 mg/L 与 0.2mg/L 之间差异显著($P\leqslant0.05$)。

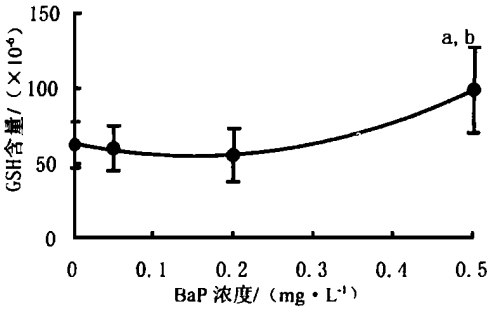

图 2 BaP 对大弹涂鱼肝脏 GSH 的影响($n=6$)
(a. 表示污染组与对照组相比差异显著;
b. 表示相邻两个浓度组相比差异显著)
Fig.2 Effect of BaP on content of GSH in the liver of *B. pectinirostris*($n=6$)
(a. reffer to the significant difference between exposure group and control; b. reffer to the significant difference between neighbouring exposure groups)

用回归方法分析 GSH 含量与 BaP 暴露浓度之间的剂量一效应关系(见图 2),发现呈二次曲线相关。其回归方程为 $y=360.45x^2-108.91x+63.418$,相关系数 $r^2=0.9977$。从相关系数可以看出,在本实验的浓度范围内,大弹涂鱼肝脏 GSH 含量与 BaP 暴露浓度密切相关。

2.3 BaP 对大弹涂鱼卵巢 GSH 含量的影响

将大弹涂鱼暴露于 0.05, 0.2 和 0.5 mg/L 三种不同浓度 BaP 3 d,单因素方差分析的结果表明,其卵巢的 GSH 含量与对照组相比差异显著($P\leqslant0.05$),GSH 含量随 BaP 浓度的升高而显著增加(如图 3 所示)。用单尾 t-检验法分别对各污染组之间以及污染组与对照组之间的数据进行两两比较的结果表明,三个污染组中只有 0.5 mg/L 浓度组与对照组相比表现出显著极差异($P\leqslant0.01$),随着浓度的增加,相邻两个浓度组则只有 0.5 mg/L 与 0.2 mg/L 之间差异极显著($P\leqslant0.01$)。

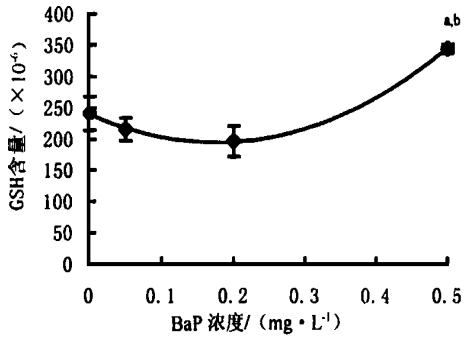

图 3 BaP 对大弹涂鱼肝脏 GSH 的影响($n=3\sim4$)
(a. 表示污染组与对照组相比差异显著;
b 表示相邻两个浓度组相比差异显著)
Fig.3 Effect of BaP on content of GSH in the liver of *B. pectinirostris*($n=3\sim4$)
(a. reffer to the significant difference between exposure group and control; b. reffer to the significant difference between neighbouring exposure groups)

用回归方法分析 GSH 含量与 BaP 暴露浓度之间的剂量一效应关系(图 3),发现二者呈二次曲线相关;其回归方程为 $y=1\,427.4x^2-503.5x+239.49$,相关系数 $r^2=0.9995$。从相关系数可以看出,在本实验的浓度范围内,大弹涂鱼肝脏 GSH 含量与 BaP 暴露浓度密切相关。

3 讨论与结论

参与污染物代谢的生物大分子在器官分布上的特异性往往决定着污染物毒性作用靶

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www

器官的特异性, 因此对 GSH 在体内不同器官组织分布的基础研究有着重要的意义。大弹涂鱼体内 GSH 主要集中在内脏器官及卵巢, 肝脏作为动物体内重要的代谢及解毒器官, 其较高的 GSH 含量反应了 GSH 在机体代谢污染物中的重要作用。已知包括 BaP 在内的许多污染物具有遗传毒性, 而动物雌性性腺——卵巢不同于体内其他器官, 其机能正常与否不仅影响到受污个体的状态, 而且对子代的健康具有直接的影响, 其高的 GSH 含量(为肝脏的 3.1 倍), 可能反映了动物体在长期进化过程中形成的对子代的抗氧化保护机制。因此, 本实验同时以肝脏和卵巢两个器官作为研究对象, 以期通过对 BaP 暴露下这两个器官中 GSH 含量变化的比较研究, 了解 BaP 在体内可能作用的靶器官。

在 BaP 胁迫下, 肝脏 GSH 含量被显著诱导, 表明肝脏作为体内重要的代谢及解毒器官, 其中的 GSH 活跃地参与了 BaP 的代谢活动, 肝脏 GSH 含量的升高可以认为是机体对 BaP 胁迫的适应性反应。本文的研究结果与许多前人的研究结果相一致[2, 6, 8]。在 BaP 胁迫下, 大弹涂鱼卵巢 GSH 含量同样被显著诱导, 显示在亚急性实验条件下, 卵巢同样是 BaP 作用的主要器官。卵巢 GSH 含量的变化会对子代的健康产生什么样的影响, 值得进一步探讨。

大弹涂鱼不同器官 GSH 含量差异极显著 ($P \leqslant 0.01$), 其中卵巢、内脏和肝脏的 GSH 含量远高于鳃和肌肉。在本实验条件下, BaP 对大弹涂鱼肝脏和卵巢 GSH 含量均有显著影响 ($P \leqslant 0.05$), 表明肝脏和卵巢都是代谢 BaP 的主要器官。GSH 含量的显著升高表明机体对 BaP 胁迫的适应性反应, GSH 含量有可能作为 BaP 污染暴露的生物标志之一。

参考文献:

[1] STEGEMAN J J, BROUWER M, DI GIULIO R T, *et al*. Molecular responses to environmental contamination: Enzyme and protein synthesis as indicators of chemical exposure and effects[A]. HUGGETT R J, KIMERLE R A, MEHRLE P M Jr, *et al*. Biomarkers, Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress[C]. Chelsea: Lewis Publishers, 1992. 235-335.

[2] STEIN J E, COLLIER T K, REICHERT W L, *et al*. Bioindicators of contaminant exposure and sublethal effects: Studies with benthic fish in Puget Sound, Washington[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1992, 11: 701-714.

[3] COSSU C, DOYOTTE A, JACQUIN M C, *et al*. Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamintion in field studies[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1997, 38: 122-131.

[4] THOMAS P, WOFFORD H W. Effects of cadmium and Aroclor 1254 on lipid peroxidation, glutathione peroxidase activity, and selected antioxidants in Altantic croaker tissues[J]. Aquat Toxicol, 1993, 27: 159-178.

[5] MATHER-MIHAICH E, DI GIULIO R T. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde, glutathione and methemoglobin concentrations in channel catfish exposed to DEF and *n*-butyl mercaptan[J]. Comp Biochem Physiol, 1993, 85C(2): 427-432.

[6] CHEN G, XU Y, XU L, *et al*. Influence of dioxin and metal-contaminated sediment on phase Ⅰ and Ⅱ biotransformation enzymes in silver crucian carp[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1998, 40: 234-238.

[7] COHN V H, LYLE J. A fluorometric assay for glutathione[J]. Analytical Biochemistry, 1966, 14: 434-440.

[8] GALLAGHER E P, CANADA A T, Di GIULIO R T. The protective role of glutathione in chlorothalonil-induced toxicity to channel catfish[J]. Aquat Toxicol, 1992, 23: 155-168.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www