

文章编号:1005-8737(2000)04-0019-03

## 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏 谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响

冯涛<sup>1</sup>, 郑微云<sup>1</sup>, 洪万树<sup>2</sup>, 陈荣<sup>1</sup>

(1. 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学海洋系, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 研究大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)暴露于0.05、0.20和0.50 mg/L不同质量浓度苯并(a)芘(BaP)溶液中1周, 其肝脏谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性的变化。结果显示, 0.5 mg/L BaP组中, 随暴露时间的延长, 大弹涂鱼肝脏GPx活性被显著抑制( $P \leq 0.05$ ); 暴露3 d, 随BaP浓度的增加, GPx活性显著降低( $P \leq 0.05$ ), 表明高剂量的BaP可对其肝脏产生毒性作用。将大弹涂鱼暴露于0.50 mg/L BaP 3 d, 再转入清洁海水中4 d, 其肝脏GPx活性可恢复至对照组水平, 表明其肝脏仍具有较强的生理调节机能。GPx活性的变化间接反映了环境中氧化污染物的存在, 有可能作为大弹涂鱼受BaP胁迫的生化指标。

**关键词:** 苯并(a)芘; 大弹涂鱼; 谷胱甘肽过氧化物酶; 酶活性

**中图分类号:** X171.5; S941.8

**文献标识码:** A

谷胱甘肽过氧化物酶(GPx, 又称含硒过氧化物酶)的主要生物学作用是清除脂类氢过氧化物, 并在过氧化氢酶(CAT)含量很少或 $H_2O_2$ 产量很低的组织中, 替代CAT清除 $H_2O_2$ ; 此外, 该酶尚可广泛地清除有机氢过氧化物。故GPx有防止畸变、预防衰老及参与前列腺素合成等重要病理或生理作用, 在生物体的抗氧化防御系统中占有特别重要的地位<sup>[1]</sup>。研究表明, 抗氧化防御系统的成分可由于氧化污染的胁迫而发生改变, 尝试以这些抗氧化防御系统成分的变化作为氧化胁迫的生化指标的研究正在成为毒理学研究的新热点<sup>[2-4]</sup>, 而国内这一领域的研究较少。本文通过对BaP胁迫下大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)肝脏GPx活性变化的研究, 以进一步了解BaP致毒机理, 探讨以GPx活性变化作为氧化污染生化指标的可能性, 并为抗氧化防御系统的毒理学研究提供基础资料。

收稿日期: 2000-04-17

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(C9810003); 国家自然科学基金资助项目(49876029)

作者简介: 冯涛(1969-), 女, 河南濮阳人, 厦门大学环境科学研究中心博士研究生, 从事海洋生态毒理学研究。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 大弹涂鱼 捕自福建省宁德海域, 平均体长( $12.8 \pm 1.0$ ) cm, 平均体重( $15.05 \pm 3.5$ ) g。

1.1.2 仪器 721-100型分光光度计, BeckmanJ2-MC型冷冻离心机。

1.1.3 试剂 苯并(a)芘为Sigma公司产品; 其余试剂为国产市售产品。

#### 1.2 试液配制

苯并(a)芘先用少量丙酮溶解, 再配制成一定浓度的储备液, 避光4℃保存。实验前将储备液用清洁海水稀释为0.05、0.20、0.50 mg/L 3个不同质量浓度组, 分别置于直径50 cm, 高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。

#### 1.3 暴露实验

1.3.1 实验设计 实验鱼于室内饲养, 先在清洁海水中暂养3 d, 然后分别放入3个浓度组的试液中, 每组设2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, 水温稳定在( $20 \pm 2$ )℃。

**1.3.2 取样与前处理** 0.5 mg/L BaP 组于曝污 6 h、12 h、24 h、36 h、3 d 和 7 d 后取样; 0.05 和 0.20 mg/L BaP 组分别于曝污后 3 d 取样; 对照组于 6 h、3 d 和 7 d 后取样。0.50 mg/L BaP 组 36 h 内的样品均以对照组 6 h 的样品作为对照, 其余时间的样品则分别以同期的对照组样品作为对照。每次每组取鱼 6 尾, 活体解剖, 取出肝脏, 迅速冷冻于液氮中。测定时, 从液氮中取出肝脏, 称重后置于冰浴中, 加 10 倍体积 (W/V) 预冷的缓冲液, 冰浴匀浆, 4℃ 冷冻离心, 15 000 r/min, 20 min。取上清液用于 GPx 活性测定。

#### 1.4 测定方法

**1.4.1 酶活性** 参照夏奕明的方法<sup>[5]</sup>, 略做改动。酶活力单位表示为氧化 GSH 的量 (nmol/mg·min)。

**1.4.2 蛋白质** 上清液中蛋白含量用 Lowry 法测定<sup>[6]</sup>, 以牛血清白蛋白作为标准蛋白。

#### 1.5 数据处理

实验数据用统计学方法进行处理。所给的结果均为平均数 ± 标准误差; 用单因素方差分析法分析苯并(a)芘曝污引起的差异; 组间数据的两两比较采用单尾 *t* 检验法。

## 2 结果

### 2.1 暴露时间对 GPx 活性的影响

用单尾 *t* 检验法对照组与 0.50 mg/L BaP 组的 GPx 活性两两比较的结果表明, 在 3 d 和 7 d 暴露组 GPx 活性均显著低于对照组 ( $P \leq 0.05$ ), 分别为对照组的 55% 和 57.5%, 表明 0.50 mg/L 的 BaP 暴露对大弹涂鱼肝脏的 GPx 活性显著抑制。

对 0.50 mg/L 质量浓度组不同时间的 GPx 含量单因素方差分析结果表明差异显著 ( $P \leq 0.05$ ); 用单尾 *t* 检验法对相邻时间点的 GPx 活性两两比较, 仅有 36 h 和 3 d 两个时间点之间差异显著 ( $P \leq 0.05$ ), 后者为前者的 67.8%。表明在该 BaP 浓度下, 随着曝污时间的延长, 大弹涂鱼肝脏 GPx 活性在暴露 3 d 时开始被显著抑制(表 1)。

### 2.2 BaP 浓度对 GPx 活性的影响

将大弹涂鱼暴露于 0, 0.05, 0.20 和 0.50 mg/L BaP 质量浓度组 3 d, 用单因素方差分析法对各组统计分析结果表现为显著差异 ( $P \leq 0.05$ ); 大弹涂鱼肝脏 GPx 活性随着 BaP 质量浓度的升高而显著降低(图 1)。分别用单尾 *t* 检验法对各 BaP 质量浓度组的 GPx 值与对照组数据两两比较的结果表明, 只

有 0.50 mg/L BaP 质量浓度组显著低于对照组 ( $P \leq 0.05$ ), 为对照组的 55%。

表 1 BaP 暴露时间对大弹涂鱼肝脏 GPx 活性的影响

Table 1 Effects of exposure time to BaP on GPx activities in the liver of *B. pectinirostris*

时间 Time	组别 Group	
	对照组 Control	0.50 mg/L BaP
6 h	56.06 ± 4.61	47.03 ± 9.31
12 h	—	60.53 ± 8.37
24 h	—	41.11 ± 7.17
36 h	—	40.28 ± 8.83
3 d	49.65 ± 3.83	27.29 ± 7.68 <sup>a,b</sup>
7 d	52.76 ± 12.30	30.32 ± 3.61 <sup>a</sup> (47.62 ± 7.03 <sup>b</sup> )

注: a 指对 BaP 暴露组与相应对照组的数据进行单尾 *t* 检验的结果表现为差异显著 ( $P \leq 0.05$ )。Refers to significant difference by one-tail *t* test between data of BaP exposure and control ( $P \leq 0.05$ ).

b 指对相邻时间点的两组数据进行单尾 *t* - 检验的结果表现为差异显著 ( $P \leq 0.05$ )。Refers to significant difference by one-tail *t* - test between data of two adjacent time ( $P \leq 0.05$ ).

括号值表示在 0.50 mg/L BaP 浓度组中暴露 3 d 再转入清洁海水中 4 d 后的 GPx 活性。Datum in brackets refers to GPx activity after 3 d exposure in this group and 4 d recovery in clear seawater.

—指未被检测。Untested.

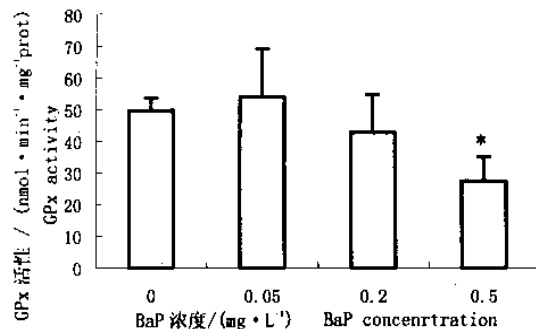


图 1 不同浓度 BaP 暴露 3 d 对大弹涂鱼 GPx 活性的影响

Fig. 1 Effects of 3 d exposure to different BaP concentrations on GPx activities in the liver of *B. pectinirostris*

### 2.3 暴露清洁海水后 GPx 活性的变化

将大弹涂鱼在 0.50 mg/L BaP 浓度组中暴露 3 d 再转入清洁海水中 4 d, 其 GPx 活性显著高于暴露 3 d 和暴露 7 d 时的值(分别为二者的 1.74 倍和 1.57 倍,  $P \leq 0.05$ ), 恢复至与对照组水平接近(表 1)。

## 3 讨论

包括 GPx 在内的抗氧化酶的一个重要特征是

其活性可由于污染的胁迫而发生改变。Rodriguez - Ariza<sup>[7]</sup>报道,从污染水域捕获的鲮鱼比未受污染水域的鲮鱼肝脏 SOD、CAT 和 GPx 活性均显著升高。Mather - Mihaich 和 Di Giulio<sup>[8]</sup>则发现鲈暴露于造纸厂废水中 CAT 活性升高,而 SOD 和 GPx 活性未发生显著变化。这些关于低浓度污染物长期暴露下鱼类抗氧化酶的变化表明,在污染胁迫下,生物体可通过调节抗氧化酶水平增强其清除活性氧的能力,以减轻污染物的伤害。本实验中,大弹涂鱼暴露于亚致死浓度的 BaP 3 d,其肝脏 GPx 活性随 BaP 浓度的升高被显著抑制,表明 BaP 代谢过程中机体内活性氧大量产生,并已对机体产生毒性作用;但将大弹涂鱼在 0.5 mg/L BaP 浓度组中暴露 3 d 再转入清洁海水中 4 d,其 GPx 活性恢复至与对照组水平接近,表明这种高浓度(0.5 mg/L)短期(3 d)的 BaP 暴露所产生的毒性作用在一定程度上仍可得到恢复。本实验中未检测出 GPx 活性的诱导,可能与较短的暴露时间有关,低浓度下更长时间的 BaP 暴露对 GPx 活性可能产生的影响,值得进一步探讨。

致谢:感谢福清市福洋水产开发公司过桥山垦区大弹涂鱼养殖场的大力协助。

#### 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. Biomarkers, biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress[M]. Boca Raton Florida: Lewis Publishers, 1992. 235-335.
- [2] Burgeot T, Bocquene G, Porte C, et al. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea[J]. Mar Ecol Prog Ser, 1996, 131:125-141.
- [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 contamination in field studies[J]. Ecotox Environ Safe, 1997, 38:122-131.
- [4] Livingstone D R, Archibald S, Chipman K L, et al. Antioxidant enzymes in liver of dab *Limanda limanda* from the North Sea [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1992, 91:97-104.
- [5] 夏亦明,朱莲珍.血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法 I. DTNB 直接比色法[J].卫生研究,1987,16(4):29-33.
- [6] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin - phenol reagent[J]. J Biol Chem, 1951, 193: 265-275.
- [7] Rodriguez - Ariza A, Peinado J, Pueyo C, et al. Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1993, 50:2 568-2 573.
- [8] Mather - Mihaich, Di Giulio R T. Oxidant, mixed function oxidase and peroxisomal responses in channel catfish exposed to a bleached kraft mill effluent [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1991, 20:391-397.

[1] Stegeman J J, Brouwer M, Di Giulio R T, et al. Molecular re-

## Effects of benzo(a)pyrene exposure on glutathione peroxidase activity in the liver of *Boleophthalmus pectinirostris*

FENG Tao<sup>1</sup>, ZHENG Wei-yun<sup>1</sup>, HONG Wan-shu<sup>2</sup>, CHEN Rong<sup>1</sup>

(1. Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Oceanography Department, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** *Boleophthalmus pectinirostris* were exposed to BaP-containing seawater at concentrations of 0.05, 0.20 and 0.50 mg/L for 1 week. The analysis results showed that the glutathione peroxidase (GPx) activities in the liver of *B. pectinirostris* decreased significantly with prolonged BaP exposure time at concentration of 0.50 mg/L ( $P \leq 0.05$ ). During 3 days exposure, the GPx activities decreased significantly with the increasing of BaP concentration ( $P \leq 0.05$ ). It is supposed that exposure to higher concentration of BaP may produce toxic effect on the liver. The GPx activity recovered the same level as control after 3 days BaP exposure at concentration of 0.50 mg/L and 4 days recovery in clear seawater. It turns out that the physiological modulatory mechanism does work in the liver of *B. pectinirostris*. It can be concluded that the changes of GPx activity can reflect the existence of redox reactive contaminants in the environment so that GPx activity can be a bio-chemical indicator of BaP exposure for *B. pectinirostris*.

**Key words:** benzo(a)pyrene; *Boleophthalmus pectinirostris*; glutathione peroxidase; enzymatic activity