

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00514

诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 ECOD、APND 和 GST 活性的影响

张喆^{1,2}, 李健¹, 陈萍¹, 王芸^{1,2}, 何玉英¹, 梁俊平^{1,3}

1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071;

2. 中国水产科学研究院 南海水产研究所, 广东 广州 510300;

3. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266071

摘要: 诺氟沙星药饵每天 2 次投喂中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*), 给药剂量分别为 0 mg/kg(对照组)、15 mg/kg(LD 组)、30 mg/kg(MD 组)和 60 mg/kg(HD 组), 连续投喂 7 d 后, 分析诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 7-乙氧基香豆素-O-脱乙基酶(ECOD)、氨基比林-N-脱甲基酶(APND)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活性的影响。结果表明, 不同浓度诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 GST 活性呈现显著抑制作用($P<0.05$), 且 GST 活性随着取样时间推移表现出先下降后上升的趋势。其中 MD 组鳃 GST 活性在 4 h 时达到最低, 是对照组的 8.87%; LD 组血清 GST 活性在 24 h 达到最低值 12.01 U/mL, 仅为对照组的 25.02%。与对照组相比较, 给药组中国明对虾鳃和血清 APND 和 ECOD 活性均受到显著抑制($P<0.05$), 且呈现出一定的时间和剂量效应, 随着浓度升高, APND 和 ECOD 活性逐渐降低; 而随着时间的推移, APND 和 ECOD 活性呈现先下降后上升的趋势。本研究通过探讨诺氟沙星对上述酶类的影响, 为诺氟沙星的合理使用及与其他药物的联用提供理论参考。

关键词: 中国明对虾; 细胞色素 P450; 诺氟沙星; 谷胱甘肽-S-转移酶

中图分类号: S948

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)03-0514-07

药物在生物体内的转化主要是通过药物代谢酶起作用, 细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)和谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferases, GST)是药物转化过程中的两个重要代谢酶系^[1]。CYP450 作为药物代谢I相酶对药物分子进行官能团化反应, GST是药物代谢II相反应中一类重要的药物代谢转移酶, 可催化谷胱甘肽(GSH)与亲电中间代谢物的结合, 清除脂类过氧化物, 从而解除内源性或外源性毒物的毒性, 在解毒系统中起重要作用^[2]。以往的研究表明, 海洋动物体内 CYP450 和GST活性可以受到多种外源物质的影响, 包括重金属离子^[3]、原油^[4]、有机物^[5]等。

中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)是中

国重要的出口水产品, 其在 2010 年养殖产量已达到 4.53 万 t, 为中国水产养殖业带来较大的经济效益。而自 1993 年对虾白斑综合征病毒(white spot syndrome virus, WSSV)流行以来, 中国明对虾养殖产业就一直受到病害频发的困扰^[6]。药物防治作为主要的疾病防治手段之一, 被广泛应用于中国水产养殖业。诺氟沙星(Norfloxacin, NFLX)是喹诺酮类抗菌药物, 具有抗菌作用强、抗菌谱广、生物利用度高等特点, 在中国经济鱼类、对虾病害防治过程中起到了积极作用^[7]。

中国学者围绕水产药物对养殖动物药物代谢酶的影响进行了相关研究, 涉及的药物包括氟苯尼考^[8]、乙醇^[9]、氟甲喹和恩诺沙星^[10]、加替沙

收稿日期: 2011-08-23; 修订日期: 2011-12-08.

基金项目: 国家虾现代产业技术体系项目(CARS-47); 农业部公益性行业专项项目(201103034); 农业科技成果转化资金项目(2010GB23260589)

作者简介: 张喆(1981-), 女, 助理研究员, 博士, 主要从事水产药理学及毒理学研究. Tel: 0532-85826690; E-mail: zhangzhe_1981@yahoo.com.cn

通信作者: 李健, 研究员. Tel: 0532-85830183; E-mail: lijian@ysfri.ac.cn

星和环丙沙星^[11-12]、黄芩苷等^[1], 研究物种包括中国明对虾^[1]、鲫(*Carassius auratus*)^[8]、牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)^[10]、大鼠(*Rattus norvegicus*)^[11]、猪(*Sus scrofa*)^[12]等。而有关喹诺酮类药物对海洋甲壳动物药物代谢酶方面的研究则较少。同一种外源物质对不同物种药物代谢酶的作用并不完全一致^[13], 药物代谢酶的诱导或抑制可改变药物代谢和血药浓度, 并影响药效和毒性, 是导致药物不良反应的重要原因。许多药动学特征, 如药物半衰期、肝脏首过效应、药物相互作用、清除率和生物利用度及药物残留等, 均与细胞色素P450有关^[14]。研究药物与生物体药物代谢酶的相互作用, 对于保证临床合理给药, 避免药物不良反应和实施个体化给药方案, 以及在药物残留研究方面都具有重要价值, 因此研究水产常用药物对中国明对虾药物代谢酶的影响, 对于药物的合理使用、科学联合用药及控制药物残留具有重要意义。

本研究采用药饵给药的方法, 研究了不同浓度诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清药物代谢 I 相酶[7-乙氧基香豆素-O-脱甲基酶(7-ethoxycoumarin O-Deethylase, ECOD)、氨基比林-N-脱甲基酶(aminopyrine-N-demethylase, APND)]和 II 相酶(谷胱甘肽-S-转移酶, GST)活性的影响, 以期探讨上述酶类对诺氟沙星作用的响应及其在中国明对虾诺氟沙星代谢过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用中国明对虾体质量(5.8 ± 0.4) g, 购自山东省青岛市胶州宝荣水产公司, 于实验条件下暂养 10 d, 期间每天换水 1 次, 连续充气, 水温(22.0 ± 1.0)℃, 盐度(25.1 ± 0.7), pH 8.1 ± 0.6 , 每天早晚各投喂对虾配合饲料 1 次, 每次投喂量为对虾体质量的 1%。对虾配合饲料购自青岛长生中科水产饲料有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 药品及试剂 诺氟沙星购自武汉刚正生物科技有限公司, 纯度 99%以上; 氨基比林、1-苯基-2-硫脲(1-phenyl-2-thiourea, PTU, 98%)、7-羟基

-3-异吩恶唑酮(Resorufin, RF)、7-乙氧基-3-异吩恶唑酮(Ethoxyresorufin, ERF)购自 Sigma 公司; 乙二胺四乙酸二钠(Na_2EDTA)购自 Amresco 公司。

1.2.2 实验设计 实验动物选择健康的中国明对虾, 设 1 个对照组和 3 个实验组(高、中、低剂量组), 每组对虾 100 尾。每个实验组对虾分别养在 200 L 白色塑料桶中, 每桶 20 只。

饲料配制及药物添加: 基础饲料中添加 2% 的玉米油, 使用 2% 褐藻酸钠作为黏合剂, 成形后喷 2% CaCl_2 溶液钙化。按照每天每千克虾体质量摄食量 20 g 计算, 诺氟沙星药粉分别按照 60 mg/kg(高剂量组, HD)、30 mg/kg(中剂量组, MD)和 15 mg/kg(低剂量组, LD)的给药剂量添加。

投喂及取样: 实验前 1 d 停止投喂配合饲料, 试验组分别投喂含不同浓度诺氟沙星药粉的饲料, 空白对照组(CK)投喂不含诺氟沙星药粉的基础饲料, 每天早晚各投喂 1 次, 每次投喂量为对虾体质量的 1%, 连续投喂 7 d。分别于最后 1 次投喂药饵后的 1、2、4、6、8、12、24、48 h 随机取对虾 8 尾, 使用一次性注射器于对虾第一腹节处抽取血淋巴, 与抗凝血剂(配方参照文献[15])按照 1:1 比例混合后离心(4°C , 4 500 g, 10 min), 取上清保存于 -70°C 冰箱直至分析, 鳃组织样品取出后置于液氮保存直至分析。

1.2.3 样品处理 S9 制备: 鳃S9(9 000 g supernatant)的制备参照韩华等^[10]的方法进行。用预冷的PBS(pH7.4)缓冲液反复冲洗鳃组织样品, 液氮研磨至粉状, 按 1:5(W/V)的比例加入预冷的匀浆缓冲液(0.1 mol/L pH7.5 PBS, 含 1 mmol/L Na_2EDTA , 1 mmol/L PMSF, 1 mmol/L PTU, 0.1 mmol/L DTT, 15%甘油), 4 $^\circ\text{C}$ 放置 10 min后离心(4°C , 13 500 g, 25 min), 上清液用两层已被PBS缓冲液润湿过的纱布过滤, 将漂浮的脂类物质除去, 即制成S9 部分, 分装于离心管中, 置于 -70°C 冰箱中保存备用。

1.2.4 对虾药物代谢酶活性测定 APND活性测定参照Schenkman等^[16]的方法进行; ECOD活性测定参照文献[17]进行; GST活性及总蛋白含量测定使用试剂盒(南京建成生物研究所)完成, 具体方

法参照试剂盒说明书,通过检测GSH浓度的高低来反应GST活力的大小。

1.2.5 统计与分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析(ANOVA),用 Duncan's 法对均值进行多重比较。所得数据为 3 个平行样数据的平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)。差异显著度为 0.05。

2 结果与分析

2.1 投喂不同剂量诺氟沙星的中国明对虾鳃和血清的 GST 酶活性

由图 1 可知,3 个剂量诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 GST 活性整体呈现抑制作用。LD 组和 MD 组鳃 GST 活性随取样时间呈现先下降后上升的趋势,LD 组和 MD 组鳃 GST 活性分别在 6 h 和 4 h 达到最低,分别是 CK 组的 20.05%和 8.87%;HD 组鳃 GST 活性在 24 h 高于 CK 组($P < 0.05$),12 h 和 48 h 与 CK 组没有显著差异($P > 0.05$),其他各时间点均显著低于 CK 组($P < 0.05$),其中 2 h 时活性最低。LD 组和 MD 组血清 GST 活性分别从 6 h 和 4 h 开始即显著低于 CK 组($P < 0.05$),且分别在 24 h 和 48 h 达到最低值;HD 组血清 GST 活性则在各时间点均显著低于 CK 组($P < 0.05$)。

2.2 投喂不同剂量诺氟沙星的中国明对虾鳃和血清 APND 酶活性

诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 APND 活性

均呈现抑制作用,且存在一定的时间和剂量效应。随着诺氟沙星浓度的升高,鳃和血清 APND 活性受到抑制的作用愈加明显,且 APND 活性均呈现先降低后上升的趋势(表 1)。除 LD 组鳃 APND 活性在 2 h 和 48 h 与 CK 组没有显著差异外($P > 0.05$),其余各剂量组在各取样时间点 APND 活性亦均显著低于 CK 组($P < 0.05$)。其中 12 h MD 组鳃 APND 活性最低,为 3.17 mol/[min·mg(prot)],为 CK 组的 65.09%;HD 组 APND 活性在 4 h 时达到最低,为 3.32 mol/[min·mg(prot)],是 CK 的 63.48%。

在取样的各个时间点,3 个剂量诺氟沙星对中国明对虾血清 APND 活性均呈现显著抑制作用($P < 0.05$)。其中在 8 h 时,LD、MD 和 HD 组 APND 活性均达到最低,分别为 1.66、1.24 和 1.12 mol/(min·mL),为 CK 组的 64.59%、48.25%和 43.58%。3 个浓度组血清 APND 活性随取样时间均呈现先下降后上升的趋势。

2.3 投喂不同剂量诺氟沙星的中国明对虾鳃和血清 ECOD 酶活性

由表 2 可知,各剂量诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 ECOD 活性整体呈现抑制作用。其中 MD 和 HD 组鳃 ECOD 活性在取样的整个过程中均显著低于 CK 组($P < 0.05$);LD 组鳃 ECOD 活性则在 1–24 h 显著低于 CK 组。在取样各时间点,3 个浓度诺氟沙星对中国明对虾血清 ECOD 活性均

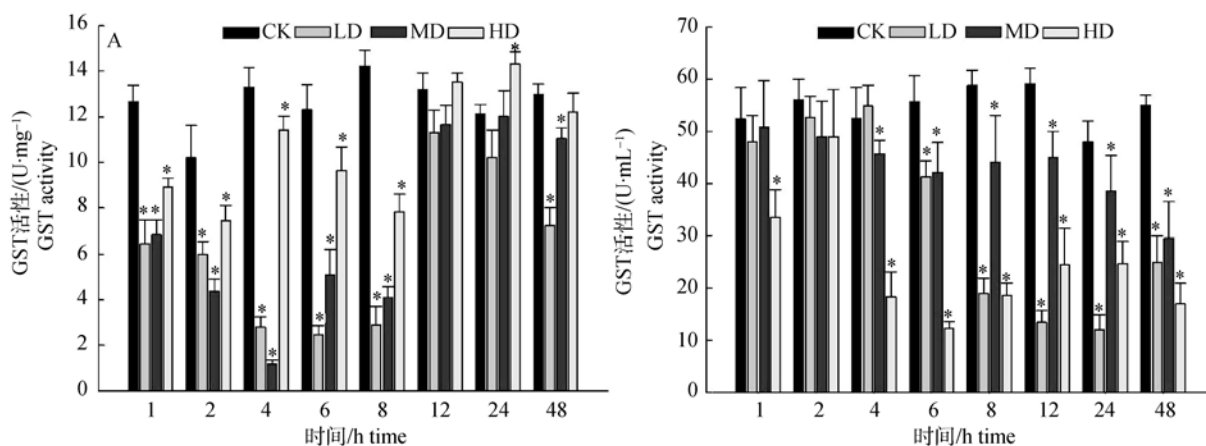


图 1 诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 GST 活性的影响

A. 鳃; B. 血清。*表示与空白对照差异显著($P < 0.05$)。

Fig.1 Effects of NFX on gill and serum GST activity of *Fenneropenaeus chinensis*

A. gill; B. serum. *means significant difference between experimental groups and control group at 0.05 level.

表 1 不同浓度诺氟沙星作用下中国明对虾鳃和血清 APND 酶活性
Tab.1 Effects of NFLX on the gill and serum APND activity of *Fenneropenaeus chinensis*

$n=8; \bar{x} \pm SD; \text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}(\text{prot})^{-1}$

组织 tissue	组别 group	取样时间/h sampling time							
		1	2	4	6	8	12	24	48
鳃 gill	CK	5.35±0.388	5.62±0.240	5.23±0.240	4.87±0.530	5.15±0.691	4.88±0.398	4.76±0.793	4.63±0.202
	LD	4.81±0.390*	5.43±0.540	4.43±0.288*	4.44±0.169*	4.70±0.526*	3.51±0.177*	3.22±0.399*	4.50±0.629
	MD	4.07±0.598*	4.47±0.533*	3.25±0.199*	4.10±0.429*	4.01±0.464*	3.17±0.304*	3.83±0.237*	4.10±0.322*
	HD	4.94±0.432	4.90±0.458*	3.32±0.450*	3.71±0.046*	4.03±0.082*	3.89±0.227*	3.82±0.523*	3.43±0.583*
血清 serum	CK	2.85±0.196	2.76±0.140	2.63±0.280	2.45±0.310	2.57±0.399	2.90±0.264	2.62±0.110	2.41±0.107
	LD	2.18±0.102*	1.89±0.104*	2.12±0.372*	2.32±0.354*	1.66±0.164*	2.55±0.086*	1.99±0.037*	1.88±0.051*
	MD	2.10±0.289*	1.17±0.166*	1.91±0.302*	2.12±0.674*	1.23±0.171*	2.06±0.145*	2.04±0.195*	1.76±0.088*
	HD	1.88±0.176*	1.84±0.154*	1.63±0.180*	1.64±0.402*	1.12±0.078*	1.97±0.115*	1.88±0.014*	1.63±0.098*

注: *表示与空白对照差异显著($P < 0.05$). CK、LD、MD、HD分别表示对照组、低剂量组 (15 mg/kg)、中剂量组(30 mg/kg)和高剂量组 (60 mg/kg).

Note: * means significant difference between experimental groups and control group at 0.05 level. CK, LD, MD, HD represent control, low dosage(15 mg/kg), middle dosage(30 mg/kg), and high dosage(60 mg/kg) groups, respectively.

表 2 不同浓度诺氟沙星作用下中国明对虾鳃和血清 ECOD 酶活性
Tab.2 Effects of NFLX on the gill and serum ECOD activity of *Fenneropenaeus chinensis*

$n=8; \bar{x} \pm SD; \text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}(\text{prot})^{-1}$

组织 tissue	组别 group	取样时间/h sampling time							
		1	2	4	6	8	12	24	48
鳃 gill	CK	0.55±0.013	0.54±0.009	0.55±0.017	0.56±0.017	0.59±0.004	0.54±0.033	0.55±0.008	0.56±0.004
	LD	0.49±0.033*	0.50±0.008*	0.50±0.013 ¹	0.49±0.010 ¹	0.48±0.014 ¹	0.48±0.017*	0.49±0.004 ¹	0.53±0.117
	MD	0.45±0.004*	0.46±0.010*	0.45±0.013 ¹	0.43±0.009 ¹	0.42±0.011 ¹	0.51±0.114*	0.42±0.006 ¹	0.43±0.025 ¹
	HD	0.41±0.022*	0.40±0.025*	0.38±0.018 ¹	0.40±0.012 ¹	0.38±0.033 ¹	0.37±0.027*	0.46±0.023 ¹	0.37±0.022*
血清 serum	CK	0.26±0.004	0.25±0.008	0.25±0.004	0.26±0.014	0.26±0.008	0.25±0.011	0.26±0.005	0.26±0.004
	LD	0.23±0.005*	0.22±0.013*	0.22±0.006 ¹	0.21±0.005 ¹	0.21±0.014 ¹	0.22±0.008*	0.21±0.002 ¹	0.22±0.022*
	MD	0.22±0.003*	0.21±0.007*	0.22±0.010 ¹	0.21±0.002 ¹	0.21±0.011 ¹	0.22±0.001*	0.21±0.001 ¹	0.22±0.011*
	HD	0.19±0.005*	0.18±0.017*	0.18±0.007 ¹	0.18±0.009 ¹	0.17±0.018 ¹	0.18±0.011*	0.18±0.002 ¹	0.18±0.006*

注: *表示与空白对照差异显著($P < 0.05$). CK、LD、MD、HD分别表示对照组、低剂量组 (15 mg/kg)、中剂量组(30 mg/kg)和高剂量组 (60 mg/kg).

Note: * means significant difference between experimental groups and control group at 0.05 level. CK, LD, MD, HD represent control, low dosage(15 mg/kg), middle dosage(30 mg/kg), and high dosage(60 mg/kg) groups, respectively.

呈现显著抑制作用($P<0.05$), 且酶活性均呈现先下降后上升的趋势。

3 讨论

3.1 诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清 GST 活性的影响

许多研究表明, GST 是一种高诱导性酶, 具有广泛的作用底物, 有机、无机化合物均可诱导其活性。GST 活性作为指标常被用于水环境有毒物质的作用诊断, 其对不同污染物暴露的响应规

律有所不同, 其中大多研究集中在鱼类和贝类方面^[18-22]。GST受到抑制后, 一方面可能影响需要经其代谢的外源物质, 另一方面还可能影响机体的解毒功能^[23]。

研究表明, 生物体GST对外源物质的响应与外源物质结构及物种密切相关。有文献报道, 单诺沙星和达氟沙星分别对鲤(*Cyprinus carpio* L.)^[24]和史氏鲟(*Acipenser schrenki* Brandt,1869)^[25]GST活性没有显著影响, 聂湘平等^[26-27]则发现环丙沙星可以分别显著诱导异育银鲫(*Carassius auratus*

gibelio)和剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)GST活性。诺氟沙星作用下中国明对虾肝和鳃GST活性均受到显著抑制,这可能是由于给药时间较长,中国明对虾在诺氟沙星长时间作用下受到了氧化胁迫所致。中国明对虾鳃和血清GST活性在诺氟沙星作用下均受到抑制,但抑制程度不同,可能是由于GST的几种同工酶在鳃和血清中分布不同,以及药物在两种组织中含量不同有关,这一现象在大鼠^[23]中也有发现。有文献表明,甲壳动物同高等动物类似,口服给药时药物先通过胃肠黏膜及毛细血管,然后进入肝门静脉,通过肝后才能进入血液循环,因此血液中药物流达峰时间往往要比肝等组织晚^[28]。本研究发现,与鳃相比,血清GST活性较晚受到抑制,可能与药物达到血淋巴比鳃晚有关。

本实验室研究了诺氟沙星在中国明对虾体内的代谢规律,发现以 50 mg/kg 剂量给药 5 d 后,中国明对虾鳃和血淋巴诺氟沙星含量分别在最后 1 次给药的 2 h 和 4 h 达到最高,其后鳃诺氟沙星浓度逐渐下降,血淋巴则在 24 h 出现双峰现象^[29]。此结果表明中国明对虾鳃GST活性在诺氟沙星作用下呈现一定的时间效应,其中LD和MD组在 4~8 h GST活性抑制率较高,MD和HD组血淋巴GST活性在给药后的 6 h 和 48 h 抑制率较高,与上述研究中诺氟沙星在中国明对虾体内代谢规律基本一致。本研究并未发现诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清GST活性的促进作用,而文献^[29]表明,诺氟沙星给药后的 0.5~2 h,中国明对虾体内诺氟沙星浓度逐渐上升,推测此时有可能对GST活性有促进作用。由于本研究未在该时段设置取样点,从而未能反映该时间段GST活性变化情况,因此不能完全排除中国明对虾GST活性在某一时间段被低浓度诺氟沙星诱导的可能。

3.2 诺氟沙星对中国明对虾肝胰腺 ECOD 和 APND 活性的影响

APND主要反映CYP2 家族中进行脱甲基化反应的同工酶的活性^[30]。关于药物对APND活性的影响也进行了相关研究。Li等^[31]的实验研究结果显示,连续注射 3 d 50 mg/kg 和 80 mg/kg 的利福平后,草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)和黑鲈

(*Micropterus salmoides*)肝微粒体APND活性都呈逐渐升高趋势;且随着浓度的升高呈现先升高后降低的趋势。有研究表明,氟苯尼考对鲫CYP2E1活性有显著的抑制作用^[8],喹诺酮类药物对牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)肝APND活性也有显著的抑制作用^[10]。本研究结果与上述结果一致,在中国明对虾连续给药诺氟沙星后,检测到了鳃和血清APND酶活性的显著下降,说明诺氟沙星对中国明对虾鳃和血清APND活性具有抑制作用,且这种抑制作用存在一定的时间和剂量效应,这可能与给药次数多、时间长,导致药物在中国明对虾体内的残留时间较长有关。

CYP1A常被作为环境毒理学中的生物标志物,其中在无脊椎动物中研究较多的是代表CYP1A亚家族的ECOD活性^[32]。研究表明,CYP1A1的活性可以受到多种物质的抑制,包括细胞因子和氧化胁迫(如H₂O₂)^[33]。由于其结构的特殊性,抗生素也可能是导致生物体内活性氧含量上升的原因之一^[33],而抗生素对生物体的毒性机制则可能是活性氧含量增加与抗氧化防御下降相结合的结果^[34]。本研究发现,不同浓度诺氟沙星对中国明对虾鳃及血清ECOD活性均呈现显著的抑制作用,且该抑制作用随着诺氟沙星浓度的增加愈加明显,呈现一定的剂量效应。此结果与先前报道的恩诺沙星对舌鳎(*Dicentrarchus labrax*) CYP-1A家族酶活性的影响结果一致^[35]。

有文献报道,氟甲喹对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和异育银鲫(*Carassius gibelio*)EROD活性具有诱导作用^[34,36],虽然同为喹诺酮类药物,但上述研究结果与本研究的并不相同,可能与药物结构及靶向动物不同有关。有学者研究了喹诺酮类药物对P450的抑制机制,认为可能与喹诺酮类药物的分子组成及空间构象有关。Fuhr等^[37]认为喹诺酮类药物分子中 8 位上没有取代基,或 7 位哌嗪基 3'和 4'上无甲基等取代基,因而其对P450酶的抑制作用较强。本实验中诺氟沙星的哌嗪环 8 位和 7 位哌嗪基上均没有取代基^[10],因此其对中国明对虾APND和ECOD的抑制作用较强。

本研究提示,诺氟沙星对中国明对虾 GST、

APND 和 ECOD 活性呈现显著抑制作用, 且对 APND 和 ECOD 的抑制作用具有一定的时间和剂量效应。当诺氟沙星与其他药物合并用药时, 应考虑诺氟沙星对上述 3 种酶的抑制作用, 而导致经其代谢的药物在对虾体内的蓄积和毒性增强。

参考文献:

- [1] 李小彦, 李健, 张喆, 等. 黄芩苷对中国明对虾细胞色素 P450 酶系及谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2010, 40(3): 49–53.
- [2] 任加云, 李树峰. 多氯联苯(PCB1254)对栉孔扇贝消化盲囊和腮丝 EROD、GST 酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 342–346.
- [3] Henczová M, Deér A K, Filla A, et al. Effects of Cu^{2+} and Pb^{2+} on different fish species: Liver cytochrome P450-dependent monooxygenase activities and FTIR spectra[J]. Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol, 2008, 148(1): 53–60.
- [4] Georgiades E T, Danis B, Gillan D C, et al. Effect of crude oil contaminated sediment exposure on cytochrome P450 enzymes in the Australian asteroid *Coscinasterias muricata*[J]. Chemosphere, 2006, 65(10): 1869–1877.
- [5] Monari M, Cattani O, Serrazanetti G P. Effect of exposure to benzo[a]pyrene on SODs, CYP1A1/1A2- and CYP2E1 immunopositive proteins in the blood clam *Scapharca inaequivalvis*[J]. Mar Environ Res, 2007, 63(3): 200–218.
- [6] Zhang Q L, Li F H, Wang B, et al. The mitochondrial manganese superoxide dismutase gene in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*: Cloning, distribution and expression[J]. Dev Comp Immunol, 2007, 31(5): 429–440.
- [7] Wang Q, Liu Q, Li J, et al. Tissue distribution and elimination of norfloxacin in Japanese sea perch (*Lateolabrus japonicus*) and black sea bream (*Sparus macrocephalus*) following multi-oral administration[J]. Aquaculture, 2008, 278(1–4): 1–4.
- [8] 陈大健, 王加才, 张萍, 等. 氟苯尼考对鲫鱼 CYP2E1 活性影响的药代动力学评价[J]. 中国兽医科学, 2007, 37(3): 269–273.
- [9] 陈大健, 杨海峰, 覃少华, 等. 乙醇对鲫鱼 CYP2E1 活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(8): 82–86.
- [10] 韩华, 李健, 李吉涛, 等. 喹诺酮类药物对牙鲆肝药物代谢酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2009, 33(11): 48–54.
- [11] 王睿, 朱曼, 张永青, 等. 加替沙星和环丙沙星对大鼠肝微粒体酶系的影响[J]. 药物与临床, 2003, 18(5–6): 19–22.
- [12] 胡屹屹, 杨海峰, 江善祥. 几种临床常用药物对猪肝细胞色素 P450 酶系的影响[J]. 畜牧与兽医, 2007, 39(2): 36–38.
- [13] Koenig S, Fernández P, Solé M. Differences in cytochrome P450 enzyme activities between fish and crustacea: relationship with the bioaccumulation pattern of polychlorobiphenyls (PCBs)[J]. Aquat Toxicol, 2012, 108: 11–17.
- [14] 吴永章, 刘力, 杨志强, 等. 细胞色素 P450 与兽药的研发应用[J]. 中国兽药杂志, 2007, 41(1): 46–48.
- [15] Bachère E, Chagot D, Grizel H. Separation of *Crassostrea gigas* hemocytes by density gradient centrifugation and counterflow centrifugal elutriation[J]. Dev Comp Immunol, 1988, 12(3): 549–559.
- [16] Schenkman J B, Remmer H, Estabrook R W. Spectral studies of drug interaction with hepatic microsomal cytochrome[J]. Mol Pharmacol, 1967, 3(2): 113–123.
- [17] Oberdörster E, Brouwer M, Hoexum-Brouwer T, et al. Long-term pyrene exposure of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, affects molting and reproduction of exposed males and offspring of exposed females[J]. Environ Health Perspect, 2000, 108(7): 641–646.
- [18] Carletti E, Sulpizio M, Bucciarelli T, et al. Glutathione S-transferases from *Anguilla anguilla* liver: Identification, cloning and functional characterization[J]. Aquat Toxicol, 2008, 90(1): 48–57.
- [19] Chang S, Donham R T, Luna A D, et al. Characterization of cytosolic glutathione S-transferases in striped bass (*Morone saxatilis*)[J]. Ecotoxicol Environ Safty, 2008, 69(1): 58–63.
- [20] Gallagher E P, LaVire H M, Bammler T K, et al. Hepatic expression profiling in smolting and adult coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)[J]. Environ Res, 2008, 106(3): 365–378.
- [21] Ballesteros M L, Wunderlin D A, Bistoni M A. Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan[J]. Ecotoxicol Environ Safty, 2009, 72(1): 199–205.
- [22] Salaberria I, Hansen B H, Asensio V, et al. Effects of atrazine on hepatic metabolism and endocrine homeostasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 234(1): 98–106.
- [23] 姚欣, 钱元恕. 氟喹诺酮类药物对大鼠肝外组织 GST、GR 及 GSH-Px 活性的影响[J]. 中国抗生素杂志, 2005, 30(7): 423–425.
- [24] 张旭东. 单诺沙星对鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)抗氧化和非特异性免疫功能的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008: 43.
- [25] 卢彤岩, 徐连伟, 刘红柏, 等. 达氟沙星对史氏鲟红细胞抗氧化功能及微核形成的影响[J]. 水产学报, 2006, 30(5): 591–596.
- [26] 聂湘平, 陈菊芳, 王翔, 等. 环丙沙星在异育银鲫(*Allogy-*

- nogenetic crucian)体内的积累分布及其毒性效应[J]. 生态学报, 2008, 28(1): 246–252.
- [27] 聂湘平, 王翔, 李凯彬. 抗生素药物环丙沙星对剑尾鱼的毒性效应[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2007, 46(5): 70–73.
- [28] 刘志彬, 金有豫. 医用药理学基础[M]. 北京: 世界图书出版公司, 1998: 4–18.
- [29] 孙铭, 李健, 张喆, 等. 诺氟沙星 2 种不同给药方式在中国明对虾体内的残留及消除规律[J]. 中国海洋大学学报, 2011, 41(5): 43–48.
- [30] 冷欣夫. 细胞色素 P450 酶系的结构、功能与应用前景[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 84–95.
- [31] Li D, Yang Y L, Zhang S J, et al. Effects of mammalian CYP3A inducers on CYP3A-related enzyme activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*): Possible implications for the establishment of a fish CYP3A induction model[J]. Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol, 2008, 147(1): 17–29.
- [32] Zapata-Perez O, Del-Rio M, Dominguez J, et al. Preliminary studies of biochemical changes (ethoxycoumarin O-deethylase activities and vitellogenin induction) in two species shrimp (*Farfantepenaeus duorarum* and *Litopenaeus setiferus*) from the Gulf of Mexico[J]. Ecotoxicol Environ Safty, 2005, 61(1): 98–104.
- [33] Barker C W, Fagan J B, Pasco D S. Down-regulation of P450 1A1 and P450 1A2 mRNA expression in isolated hepatocytes by oxidative stress[J]. J Biol Chem, 1994, 269(6): 3985–3990.
- [34] 胡晓, 房文红, 汪开毓, 等. 氟甲喹对异育银鲫细胞色素 CYP450 主要药酶的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 392–399.
- [35] Vaccaro E, Gorgi M, Longo V, et al. Inhibition of cytochrome P450 enzyme by enrofloxacin in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. Aquat Toxicol, 2003, 62(1): 27–33.
- [36] Mouto K A, Burke M D, Houlihan D F. Hepatic P450 monooxygenase response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) administered aquaculture antibiotics[J]. Fish Physiol Biochem, 1998, 18(1): 97–106.
- [37] Fuhr U, Strobl G, Manaut F, et al. Quinolone antibacterial agents: relationship between structure and in vitro inhibition of the human cytochrome P450 isoform CYP1A2[J]. Mol Pharmacol, 1993, 43(2): 191–199.

Effects of norfloxacin on gill and serum ECOD, APND, and GST activity in *Fenneropenaeus chinensis*

ZHANG Zhe^{1,2}, LI Jian¹, CHEN Ping¹, WANF Yun^{1,2}, HE Yuying¹, LIANG Junping^{1,3}

1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071, China;
2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou, 510300, China;
3. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao, 266003, China

Abstract: Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*, were fed 0 mg/kg (control, CK), 15 mg/kg (low dose, LD), 30 mg/kg (mid dose, MD) and 60 mg/kg (high dose, HD) norfloxacin (NFLX) for 7 d. We then measured the change in gill and serum ethoxycoumarin-O-deethylase (ECOD), aminopyrine N-demethylase (APND), and glutathione-S-transferases (GST) activity at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, or 48 h after the last oral administration. The shrimp[(5.8±0.4 g)] were held in 200 L plastic tanks (n=20 shrimp/tank) at salinity of 25.1±0.7, (22.0±1.0)°C and pH 8.1±0.6. At each time point we randomly selected eight shrimp from each replicate. The shrimp were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -70°C until analysis. Gill and serum GST activity was inhibited by NFLX. GST activity was 12.01 U/mL after 4 h in the gill of the MD group and was only 8.87% the level in the CK group. Serum GST activity was 3.99-fold higher in the CK group than in the LD group after 24 h (P<0.05). APND and ECOD decreased initially then increased and activity was significantly lower in all treatment groups at all times relative to the controls. Higher concentrations of NFLX were associated with increased inhibition of APND and ECOD.

Key words: *Fenneropenaeus chinensis*; cytochrome P450; norfloxacin; GST

Corresponding author: LI Jian. Tel: +86-532-85830183; E-mail: lijian@ysfri.ac.cn