

全氟辛烷磺酸盐(PFOS) 胁迫对翡翠贻贝 抗氧化酶的影响

王贺威^{1,2}, 马胜伟¹, 张喆¹, 陈海刚¹, 黄志斐^{1,2}, 巩秀玉^{1,3}, 蔡文贵¹, 贾晓平^{1,*}

1. 中国水产科学研究院南海水产研究所 广东省渔业生态环境重点实验室 农业部南海渔业资源环境重点野外科学观测实验站, 广州 510300
2. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 210306
3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 210306

摘要: 为了解全氟辛烷磺酸盐(PFOS)对海洋贝类抗氧化防御系统的毒性效应及致毒机理,在实验室条件下研究了 PFOS 对翡翠贻贝的 96 h 急性毒性,同时探讨 PFOS 胁迫和净水恢复过程中翡翠贻贝外套膜和内脏团组织中抗氧化指标(SOD 活性、GSH 和 MDA 含量)的变化。结果显示,PFOS 对翡翠贻贝的 96 h 半致死浓度(LC₅₀)为 68.3 mg·L⁻¹,安全浓度为 6.83 mg·L⁻¹。在 PFOS 胁迫阶段,1 mg·L⁻¹浓度组外套膜 SOD 活性显著性升高(p < 0.05),内脏团 SOD 酶活性显著降低(p < 0.05);而 PFOS 浓度高于 1 mg·L⁻¹时,外套膜 SOD 活性显著性降低(p < 0.05),内脏团 SOD 活性显著升高(p < 0.05)。PFOS 胁迫对翡翠贻贝外套膜和内脏团中 GSH 含量均有显著的诱导作用(p < 0.05),PFOS 胁迫 15 d 后各浓度组 GSH 含量均受到显著的抑制(p < 0.05)。翡翠贻贝外套膜 MDA 含量受 PFOS 胁迫后显著升高(p < 0.05),内脏团 MDA 含量的变化呈先降低、后升高的规律。净水释放阶段,翡翠贻贝两组织中 SOD 活性在释放 7 d 后均恢复至对照组水平,GSH 含量和 MDA 含量呈显著升高的趋势(p < 0.05)。研究结果表明,PFOS 暴露能够引起翡翠贻贝外套膜和内脏团氧化胁迫,但这种损伤的效果不明显,释放短时间后即可自我恢复。

关键词: 翡翠贻贝; 全氟辛烷磺酸钾; 超氧化物歧化酶 (SOD); 谷胱甘肽 (GSH); 丙二醛(MDA)

文章编号: 1673-5897(2012) 5-508-09 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Effects of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Exposure on Antioxidant Enzymes of *Perna viridis*

Wang Hewei^{1,2}, Ma Shengwei¹, Zhang Zhe¹, Chen Haigang¹, Huang Zhifei^{1,2}, Gong Xiuyu^{1,3}, Cai Wengui¹, Jia Xiaoping^{1,*}

1. Key Lab of Fishery Ecology and Environment, Guangdong Province, Key Field Observational and Experimental Station for Fisheries Resources and Environment of South China Sea, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China
2. College of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China
3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Received 30 November 2011 **accepted** 2 March 2012

Abstract: To understand the toxic effect and mechanism of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on antioxidant

收稿日期: 2011-11-30 录用日期: 2012-03-02

基金项目: 广东省科技计划项目(2009B030600001); 广东省渔业生态环境重点实验室重点开放课题(GDKL2010-001); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2009YD01、2010YD04、2010TSI2); 广东省科技计划项目(2011A060902006)

作者简介: 王贺威(1984-), 男, 硕士研究生, 从事渔业生态环境保护研究, Email: wanghewei2008@sina.com;

* 通讯作者(Corresponding author), 贾晓平, E-mail: jxp60@tom.com

defense system of marine shellfish, the laboratory experiment was conducted with 96 h acute toxicity test and the semi-static toxicity test. The results showed that 96 h- LC_{50} values of PFOS on *Perna viridis* was 68.3 mg L^{-1} , and the safe concentration of PFOS on *Perna viridis* was $6.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. After the PFOS exposure of *Perna viridis*, superoxide dismutase (SOD) activities increased in mantle and decreased in visceral significantly at the concentration of $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p < 0.05$), which decreased in mantle and increased in visceral with the increasing concentration of PFOS ($p < 0.05$). Glutathione (GSH) content in mantle and visceral of *Perna viridis* was significantly induced compared with the control ($p < 0.05$), with the increasing exposure time, which was inhibited in each group after 15 d exposure of PFOS ($p < 0.05$). Malondialdehyde (MDA) content in mantle increased significantly during the period of exposure of PFOS; while MDA content in visceral decreased firstly and then increased during the stress stage of PFOS. During the phase of recovery with clear seawater, SOD activities recovered to the same level with control group, however, there was a rising tendency for all the content of GSH and MDA in 2 tissues of *Perna viridis* after 7 - days recovery ($p < 0.05$). The results showed that PFOS exposure could cause oxidative stress on mantle and visceral of *Perna viridis*, however, the stress compressed by PFOS could be recovered quickly after a short period release of PFOS.

Keywords: *Perna viridis*; perfluorooctane sulfonate potassium; superoxide dismutase (SOD); glutathione (GSH); malondialdehyde (MDA)

全氟辛烷磺酸盐(perfluorooctane sulfonate, PFOS)作为20世纪最重要的化工产品之一,被广泛应用于纺织品、皮革、家具、灭火剂和洗涤剂的商品生产中。PFOS化学性质稳定,在环境中难以降解,目前在全球范围均有检出^[1]。我国水体中的调查结果表明,北京湖水中PFOS的含量为 $1.0 \sim 1.9 \text{ pg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[2],香港近岸海域和珠江口水域PFOS的含量分别为 $0.09 \sim 3.1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.02 \sim 12 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[3]。有关研究指出,生物体中PFOS的含量与生物的栖息环境和食物结构有密切联系,并具显著的生物富集特征^[4]。中国、日本沿岸牡蛎和贻贝样品中的PFOS含量达 $113.6 \sim 586.0 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$ 湿重^[5],北京排污口附近鱼类血清中PFOS含量为 $5.74 \sim 64.2 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[6],青海地区鱼体肌肉含量范围为 $0.21 \sim 5.20 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重^[7]。由于大量PFOS进入生态环境,也必将通过食物链进入人体,因此近年来,PFOS日益受到人们关注。2005年,PFOS被联合国环境署列入“关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约”持久性有机污染物候选名单,2006年12月,欧洲议会发布限制销售和使用PFOS的法令^[8]。PFOS污染被认为是继多氯联苯、有机氯农药和二恶英等环境污染问题之后,又一环境科学和预防医学领域的热点^[9]。

PFOS对实验动物及人类可能造成的一般毒性、肝脏毒性、胚胎发育与生殖毒性、遗传毒性与致癌性等^[10],具体表现为动物繁殖与生育能力的降低、基因表达的改变、酶活性的干扰、细胞膜结构的

破坏、死亡率增加以及容易感染疾病致死等不良生物学效应等^[11]。生物体内存在一个防止自由基破坏的膜保护系统—抗氧化系统,超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)等就是这个系统中的重要保护酶,其作为灵敏的生物标志物指标在生态毒理学研究中得到了较为广泛的应用。相关研究也指出,PFOS可以引起生物体内SOD和CAT等抗氧化酶活性显著明显变化,产生及一系列抗氧化反应,从而导致氧化损伤^[12-14]。

翡翠贻贝(*Perna viridis*)属软体动物门,瓣鳃纲,由于固着的生活习性和滤食的特点,对多种污染物有较高的蓄积能力,易于识别和采集,因此它是近岸海洋环境污染定点监测的良好指示生物^[15-16]。本实验采用半静态毒性实验方法研究了PFOS对翡翠贻贝的96 h急性毒性,同时分析探讨PFOS胁迫和净水释放过程中翡翠贻贝外套膜和内脏团组织中SOD活力、GSH含量和MDA含量的变化,为PFOS在海洋中污染监测和环境毒理学研究提供理论依据。

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器:紫外可见分光光度(UV-2550,日本岛津公司),台式离心机(HC-2518,安徽中科中佳科学仪器有限公司),电热恒温水浴锅(HWS-26,上海圣科仪器设备有限公司)。

试剂:全氟辛烷磺酸钾($\text{C}_8\text{F}_{17}\text{KO}_3\text{S}$),纯度为AR级(Sigma公司,美国)。SOD试剂盒、GSH试剂盒、

MDA 试剂盒与蛋白质试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。其他试剂均购自广州化学试剂公司,纯度为 AR 级。

1.2 实验材料

翡翠贻贝取自深圳南澳贝类养殖海域,实验室驯养一周,选取色泽健康,大小均一个体(6.5 ± 0.3) cm 进行实验。实验在农业部南海渔业资源环境重点野外科学观测实验站进行,实验容器为 200 L 圆型玻璃钢材质育苗桶。实验海水取自实验站附近,经沉淀池沉淀和砂滤后待用。实验期间,海水 pH 值为 7.6 ~ 8.0,盐度为 30 ~ 34,温度为 18 ~ 22℃。实验过程中昼夜曝氧。

1.3 实验方法

1.3.1 96 h- LC_{50} 急性毒性实验

驯养结束后停止喂食 1 d,然后立即进行以下实验:根据预实验结果设置 40.0、48.0、57.7、69.3、83.3 和 100 $mg \cdot L^{-1}$ (DMSO 助溶,体积比小于 <0.01%) 6 个浓度组,以 DMSO 和空白组作为对照,各组放入 10 只贝,每 6 h 观察实验翡翠贻贝的存活状态并记录其活动表现,并及时捞出死亡个体。急性毒性实验期间停止喂食,每隔 24 h 换曝露液一次,并昼夜曝氧。

1.3.2 慢性毒性实验

根据 96 h- LC_{50} 急性毒性实验结果,设置 1、2、4 和 8 $mg \cdot L^{-1}$ 4 个浓度组进行慢性毒性实验,同时设空白对照组。PFOS 胁迫 15 d 后,各浓度组翡翠贻贝转入清洁海水中,进行 7 d 的净水恢复实验。实验过程中饲喂螺旋藻粉,每隔 24 h 更换 1/3 体积同浓度的溶液并昼夜曝氧。

分别于 PFOS 胁迫后 1、3、7 和 15 d 及净水恢复的 3、7 d 取样。每浓度组分别取 5 只贝,用预冷的生理盐水洗净并置于冰盘上快速解剖,内脏团和外套膜置于 -80℃ 冰箱内保存待用。制备酶液时,组织样用液氮研磨成粉末,按 1:9 的比例加入[组织质量(g):缓冲液体积(mL)]预冷的 Tris - HCl 缓冲液 ($0.01 mol \cdot L^{-1}$ Tris, $0.25 mol \cdot L^{-1}$ 蔗糖, $0.1 mmol \cdot L^{-1}$ EDTA, pH7.5) 匀浆, 4 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 5 min 后,立即取上清液进行相关指标的测定。

1.3.3 指标测定方法

SOD 活性、GSH 含量、MDA 含量和蛋白含量指标均按试剂盒说明操作。SOD 活性单位定义为在 37℃ 条件下,1 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活性

单位($U \cdot mg^{-1} prot$)。GSH 含量定义为 1 g 组织蛋白内 GSH 的含量($mg \cdot g^{-1} prot$),MDA 含量定义为 1 mg 组织蛋白 MDA 的含量($nmol \cdot mg^{-1} prot$),总蛋白含量单位为 $mg \cdot mL^{-1}$ 。

1.4 数据处理

根据翡翠贻贝死亡率用 Bliss 法求得 96 h- LC_{50} 。SOD、MDA 和 GSH 等指标采用 SPSS13.0 软件进行 one-way ANOVA 方差分析,统计结果用平均值 $\pm$ 标准偏差(Mean $\pm$ SD)表示, $p < 0.05$ 认为具有显著相关性, $p < 0.01$ 认为具有极显著相关性。

2 结果 (Results)

2.1 96 h- LC_{50} 急性毒性实验

PFOS 胁迫开始后,分散的翡翠贻贝个体或爬到桶壁上并附着,或相互成簇状聚集附着于桶底,此时壳口闭合,这一过程在胁迫开始后 12 h 内完成;随 PFOS 胁迫时间延长,100 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度组暴露 48 h 后部分翡翠贻贝个体足丝断裂、与桶壁脱离或集簇分离、单个个体分散于桶底;此时翡翠贻贝壳口微张、触碰则缓慢地闭合、但之后迅速死亡,100 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度组在 48、72 和 96 h 的死亡率分别达到 20%、90% 和 100%。其他各浓度组随着 PFOS 胁迫时间延长,翡翠贻贝个体死亡率也不断增加,并且呈明显的剂量-效应关系。实验过程中,翡翠贻贝死亡个体壳口半开、触碰无反应。根据翡翠贻贝死亡率,用 bliss 法计算得出 PFOS 对翡翠贻贝的 96 h- LC_{50} 为 68.31 $mg \cdot L^{-1}$,95% 置信区间为 58.8 ~ 77.3 $mg \cdot L^{-1}$ 。

2.2 翡翠贻贝体内抗氧化指标对 PFOS 胁迫的响应

2.2.1 翡翠贻贝 SOD 活性对 PFOS 胁迫的响应

翡翠贻贝外套膜 SOD 活性对 PFOS 胁迫的响应如图 1 所示。PFOS 胁迫 3 d 后,翡翠贻贝外套膜 SOD 活力与对照组相比均无显著性差异($p > 0.05$)。但随曝露时间延长,1 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度组 PFOS 对外套膜 SOD 活力表现出显著的诱导作用($p < 0.05$);而浓度高于 1 $mg \cdot L^{-1}$ 时,PFOS 对外套膜 SOD 活力有显著的抑制作用($p < 0.05$)。PFOS 胁迫 7 和 15 d 后,1 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度组的诱导率分别为 33.6% 和 61.0%,8 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度组的抑制率分别为 49.6% 和 50.0%。净水恢复 3 d 后,1、2、4 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度组外套膜 SOD 活力与对照组比较仍有显著性差异($p < 0.05$),而 8 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度组外套膜 SOD 活力恢复至对照组水平;7 d 后各浓度组外套膜 SOD 活力均恢复至对照组水平。

翡翠贻贝内脏团 SOD 活性对 PFOS 胁迫的响应如图 2 所示。从图中发现,低浓度组 PFOS 可显著抑制翡翠贻贝内脏团 SOD 活力,3 d 时 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组的抑制率为 16.4%; PFOS 浓度高于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,内脏团 SOD 活力受到显著的诱导作用,15 d 时 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组的诱导率为 13.4%。净水恢复 3 d 后,内脏团 SOD 活力与对照组比较仍有显著性差异($p < 0.05$),7 d 后各浓度组内脏团 SOD 活力均恢复至对照组水平。

2.2.2 翡翠贻贝 GSH 含量对 PFOS 胁迫的响应

翡翠贻贝外套膜和内脏团 GSH 含量对 PFOS 胁迫的响应如图 3 和图 4 所示。由图中可知,PFOS

胁迫初期翡翠贻贝外套膜和内脏团 GSH 含量均显著升高。其中 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组在 3 d 时的诱导率分别为 99.3% 和 108.1%,随着浓度升高,两组组织中 GSH 含量诱导率变化不明显,PFOS 胁迫 3 d 时 $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的诱导率分别为 74.3% 和 149.7%;随着暴露时间延长,PFOS 的诱导作用有所降低,15 d 时各浓度组 GSH 含量均显著低于对照组($p < 0.01$)。恢复阶段,外套膜 GSH 含量在第 3 天基本恢复至对照组水平,内脏团 GSH 含量受到 PFOS 的抑制作用而显著降低;净水释放 7 d 后两组组织中的 GSH 含量均显著高于对照组($p < 0.01$)。

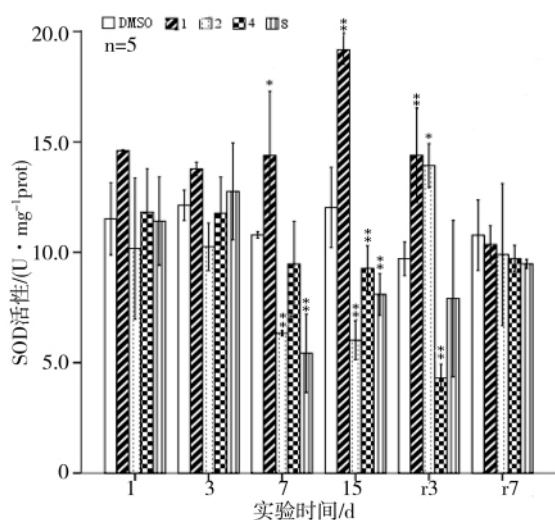


图 1 PFOS 对翡翠贻贝外套膜 SOD 活性的影响

注: r3 和 r7 分别代表净水释放 3 和 7 d,下同

Fig. 1 Effects of PFOS on SOD activities in mantle of *Perna viridis*

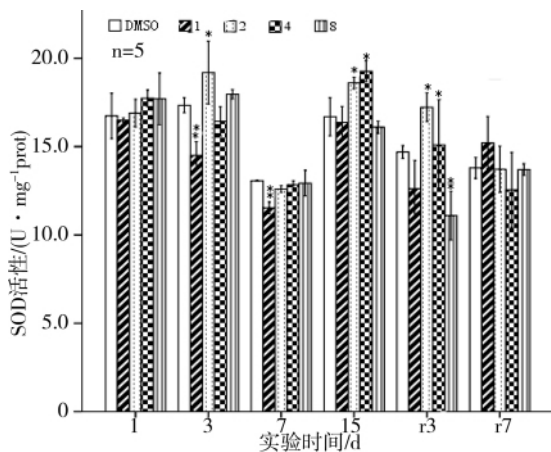


图 2 PFOS 对翡翠贻贝内脏团 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of PFOS on SOD activities in visceral of *Perna viridis*

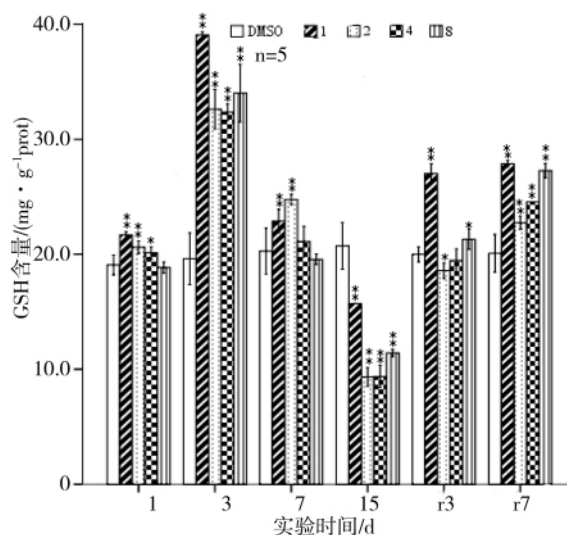


图 3 PFOS 对翡翠贻贝外套膜 GSH 含量的影响

Fig. 3 Effects of PFOS on GSH content in mantle of *Perna viridis*

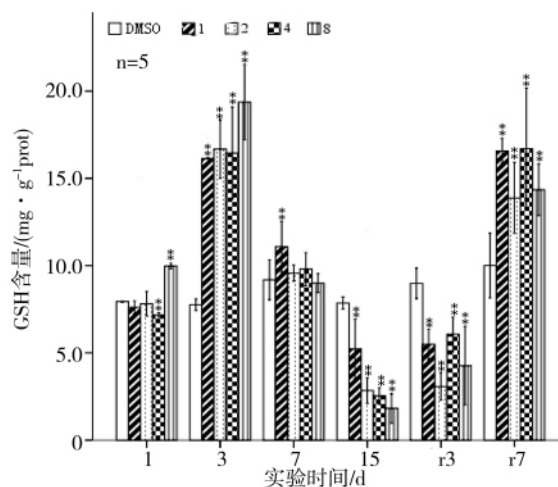


图 4 PFOS 对翡翠贻贝内脏团 GSH 含量的影响

Fig. 4 Effects of PFOS on GSH content in visceral of *Perna viridis*

2.2.3 翡翠贻贝 MDA 含量对 PFOS 的胁迫响应

翡翠贻贝外套膜 MDA 含量对 PFOS 胁迫的响应如图 5 所示。与对照组相比,整个胁迫阶段外套膜 MDA 含量均显著性升高。第 15 天, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组的诱导率最高, 为 137.6%; 恢复阶段, 外套膜 MDA 含量相对于对照组仍显著性升高, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组在恢复 7 d 的诱导率为 228.3%。翡翠贻贝内脏团 MDA 含量对 PFOS 胁迫的响应如图 6 所示。胁迫第 3 天, 内脏团 MDA 含量相对于对照组显著降低, 其中 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组的抑制率为 23.7%, 随胁迫时间延长, MDA 含量呈升高趋势, 第 15 天, $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组的诱导率为 17.2%; 恢复阶段, 外套膜 MDA 含量相对于对照组仍显著性升高, $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组在恢复 7 d 的诱导率为 68.6%。

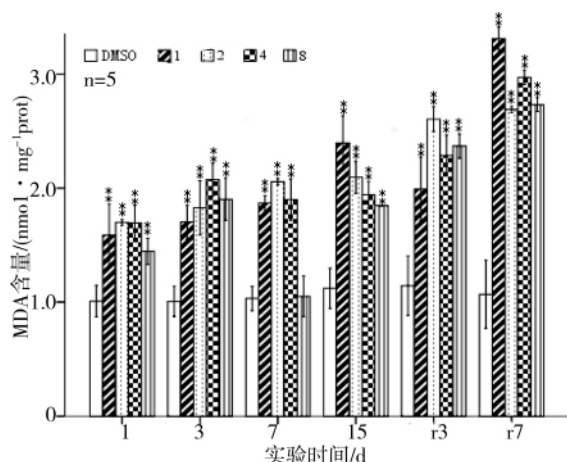


图 5 PFOS 对翡翠贻贝外套膜 MDA 含量的影响

Fig. 5 Effects of PFOS on MDA content in mantle of *Perna viridis*

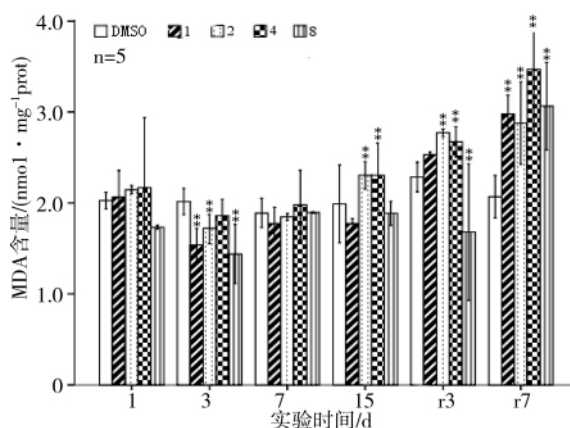


图 6 PFOS 对翡翠贻贝内脏团 MDA 含量的影响

Fig. 6 Effects of PFOS on MDA content in visceral of *Perna viridis*

3 讨论 (Discussion)

3.1 PFOS 对翡翠贻贝的急性毒性

本实验结果发现 PFOS 对翡翠贻贝的 96 h-LC₅₀ 为 $68.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 低于 PFOS 对日本三角涡虫 (*D. japonica*) 的 96 h-LC₅₀ ($17 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)^[17], 原因是日本三角涡虫身体结构特别简单, 渗透压调节机制不健全对外来毒物吸收的选择性较小, 更容易中毒死亡。PFOS 对斑马鱼 (*Danio rerio*) 胚胎的 96 h-LC₅₀ 为 $71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 脊柱畸形对急性暴露的 ED₅₀ 为 $9.14 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[18]; 可见 PFOS 对斑马鱼胚胎的毒性略小于翡翠贻贝, 并具有显著的发育毒性。胡芹等^[19]的研究也发现, 在 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PFOS 暴露下, 斑马鱼胚胎 228 h 全部死亡, 雄性和雌性斑马鱼全部死亡的时间分别是 18 和 22 d。这样的原因可能是斑马鱼胚胎处于生物体的初始发育阶段, 没有形成具有特异性功能的器官, 因此 PFOS 对其毒性较成年斑马鱼高; 相对于更高等的动物, 大鼠 (*Rattus norvegicus*) 经口半致死剂量 (LD₅₀) 为 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 吸入 1 h 半致死浓度 (LC₅₀) 为 $5.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[20], 由此可见, PFOS 对生物体的急性毒性效应与生物所处的种类、发育阶段、性别和染毒的途径有密切的关系。此外, 很多研究发现, 温度对化合物的毒性也会产生影响, 但对 PFOS 毒性的影响方面尚缺乏相关资料, 有待进一步研究。

3.2 PFOS 胁迫下翡翠贻贝体内抗氧化指标的响应

抗氧化酶在防御机体氧化损伤中起重要作用, 其中 SOD 能将 O_2^- 转化为 H_2O_2 , 再经其他抗氧化酶转化成 H_2O , 消除自由基带来的损伤, 因此其活性变化可以指示污染导致的生物损伤程度, 是污染物胁迫检测的生物指标之一。很多研究表明, 生物 SOD 活性在受到毒物低浓度或短时间胁迫时升高, 受到毒物高浓度或长时间时降低。本研究中, 翡翠贻贝受 PFOS 胁迫后, 外套膜 SOD 活性受到低浓度组 PFOS ($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 显著的诱导作用, 但随着浓度升高, $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 PFOS 对翡翠贻贝外套膜 SOD 活性表现出显著的抑制作用。斑马鱼成鱼暴露实验结果也表明, 受到中低浓度 PFOS ($0.5 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 刺激时, 斑马鱼肝脏 SOD、GPT 和 GR 活力显著升高, MDA 和抗超氧阴离子自由基含量上升, 但高浓度 PFOS ($2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 可抑制上述抗氧化酶的活力及相关产物的生成^[21]。翡翠贻贝内脏团作为代谢器官, 更容易富集污染物及其降解产物, 对污染物胁迫的指示具有重要意义。秦洁芳等^[22]研究发现,

邻苯二甲酸二丁酯(DBP)能胁迫翡翠贻贝内脏团SOD活性先抑制后升高,而高浓度DBP则持续抑制其SOD活性。本实验中,8 mg·L⁻¹浓度组胁迫的早期,翡翠贻贝内脏团SOD活性受到显著的抑制作用,但随着胁迫浓度升高,2、4和8 mg·L⁻¹PFOS并没有表现出显著的抑制作用,这种差异可能是由于不同污染物在翡翠贻贝体内的代谢方式和毒性效应具有很大区别,具体机制有待进一步深入研究。有研究表明,PFOS可以增加细胞内的活性氧影响SOD活性和含量的变化,同时可激活SOD水解酶的受体 α (PPAR α)加速SOD分解^[22-23]。因此,生物组织中SOD活性的变化不但与免疫系统的响应有关,还与所在组织的生理功能、外来毒物的性质以及对毒物暴露时间有密切关系。

GSH是一种组织细胞内重要的调节代谢剂和抗氧化剂,在组织中的含量可以反映生物对外界环境刺激的响应程度。赵扬等^[24]通过三丁基锡对褐菖鲉(*Sebastes marmoratus*)胁迫发现,各浓度组肝脏GSH含量在7 d时显著上升,而在50 d时比对照组显著下降;Rana SVS等^[25]的研究表明,短期亚急性的汞暴露会诱导蓝点石斑鱼(*Epinephelus coeruleopunctatus*)的GSH含量上升,更长时间的暴露则导致降低。本实验结果表明,翡翠贻贝外套膜和内脏团的GSH含量的变化规律明显,受到PFOS胁迫后都是先升高后降低,同时PFOS诱导作用随浓度升高而降低,抑制作用随浓度升高而增强,证实了一定浓度的PFOS胁迫可以引起翡翠贻贝活性氧水平的升高,产生氧化损伤。同时,GSH含量与胁迫时间存在显著的时间-效应关系,并在3 d时各浓度组达到最高值,这说明翡翠贻贝抗氧化防御系统对PFOS胁迫产生强烈的响应;PFOS胁迫15 d时两组组织中GSH的含量均达到最低值,说明机体的氧化损伤程度已经达到影响到GSH代谢水平。笔者认为GSH含量的升高是机体对毒物胁迫产生过量自由基的响应,而降低则主要由3个方面的原因导致的,一是由于清除自由基的消耗;二是在自由基破坏了形成条件;三是-SH被自由基脱H失去活性。

MDA是生物膜中多价不饱和脂肪酸受自由基作用生成的脂质过氧化代谢产物,其含量反映机体脂质过氧化的程度,代表自由基的活性^[26],能与蛋白质氨基酸残基或核酸反应生成shiff碱,破坏细胞膜上的离子通道,从而使细胞的结构与功能发生紊乱,严重时导致细胞死亡^[27]。在本研究中,外套膜

中MDA含量随时间延长而增加,而随PFOS胁迫时间延长,外套膜中SOD活性先被诱导后被抑制,GSH含量也呈先增加后减少的变化规律。上述变化规律表明SOD和GSH等抗氧化酶未能对过多的自由基进行有效的清除,从而导致脂质过氧化程度则逐渐加深。进一步研究发现,在曝毒15 d时,外套膜GSH含量和SOD活性处于被抑制状态,此时外套膜MDA含量也处于较高水平,说明该组织内自由基对抗氧化酶系统可产生损害。杨涛等^[28]也发现,MDA的含量在非胁迫红鳍笛鲷(*Lutjanus erythopterus*)的鳃和肝中随着浓度的升高或时间的延长有上升的趋势,这与秦洁芳等^[30]关于DBP对汉氏梭鲈(*Thryssa hamiltonii*)的内脏团中MDA影响的研究结果一致。但是也有不同的研究结论,例如PFOS胁迫下斑马鱼的肝脏、汞胁迫下红鳍笛鲷的鳃和肝、氯化三丁基锡胁迫下黑鲷(*Sparus macrocephalus*)的鳃和肝脏,在这些组织中MDA的含量随着浓度升高或时间的延长有先上升后下降的趋势^[19,29-30]。与外套膜不同,本研究中内脏团中MDA含量随时间的变化趋势也呈先减少后增加的规律。研究表明,GSH能够清除·OH、HOCl、ONOO⁻、LO·、LOO·、O₂⁻·、H₂O₂等多种活性氧和使有机自由基恢复为原有机化合物防护脂质过氧化物造成的损伤。PFOS胁迫3 d时内脏团MDA含量明显减少,而内脏团GSH含量此时显著升高,说明PFOS胁迫对翡翠贻贝自由基有明显的诱导作用,但由于生物体中GSH等抗氧化防御系统酶对自由基的清除作用,使自由基水平降低。随PFOS胁迫时间延长,翡翠贻贝自由基水平继续升高,而GSH含量降低,结果,MDA含量显著性升高,表明自由基的量达到了引起组织损伤的水平。因此笔者认为,不同的外源毒物都可以起生物机体组织中MDA含量的变化,并随着毒物的浓度升高或暴露时间的延长而上升,当细胞由于胁迫严重受损时,MDA含量开始下降,总体上呈现先上升后下降的趋势。

3.3 PFOS胁迫解除后翡翠贻贝体内抗氧化指标的变化

机体对污染物产生的应激效应并不会随着胁迫的解除而马上停止,而是在体内污染物降低到无害的水平后才能消失。黄周英等^[31-32]研究三丁基锡对文蛤(*Meretrix meretrix*)胁迫20 d后,鳃中的MDA和GSH与消化腺中SOD活力和MDA都表现出积极的响应,释放20 d后恢复到对照组水平。翡

翠贻贝在 DBP 胁迫 15 d 时,内脏团和外套膜中 MDA 的含量与对照组相比有显著性差异,在释放 10 d 后恢复到对照组水平^[21]。在本研究中,净水释放 7 d 时两组织的 SOD 活性恢复到对照组水平,而 GSH 含量和 MDA 含量处于显著的诱导水平;表明 PFOS 胁迫对翡翠贻贝产生的损伤在污染解除后能够恢复,但不同的酶由于其性质不同所需的恢复时间也不一样;同时,外套膜与污染物长时间直接接触,胁迫解除后其 SOD 迅速恢复。两组织中 GSH 含量恢复并持续升高的原因可能由于 GSH 较为敏感,生物体解除曝露后可呈现一定范围的“过度应激”^[33]反应。此外,污染解除后翡翠贻贝两组织中的 MDA 含量显著高于对照组,原因可能是清除自由基作用时 MDA 在体内的积累尚未及时排除的结果。PFOS 胁迫 15 d 后,低浓度组的翡翠贻贝较高浓度组的 SOD 活性和 GSH 含量恢复得更快,说明低浓度组对翡翠贻贝的胁迫程度低于高浓度组,低浓度组体内的 PFOS 含量很快释放到无害水平而得到恢复,高浓度需较长的释放时间。综上,PFOS 短期胁迫对翡翠贻贝造成的氧化损伤是可以恢复的,但长期对水生生物造成的可遗传毒性可能是不可逆的。

综上所述,PFOS 胁迫下翡翠贻贝两组织生理指标的变化,反映了翡翠贻贝对 PFOS 不同胁迫阶段的响应,但是这些生理指标受多种因素的影响,因此这种酶诱导或抑制的机理仍需进一步探讨。本研究抗氧化防御系统的变化指示了 PFOS 对翡翠贻贝的胁迫效应: SOD 活性和 GSH 含量被明显诱导(或抑制),MDA 含量在 PFOS 胁迫下明显升高。值得注意的是,抗氧化酶活性的变化是一个动态过程,其变化受到多因素制约,这些因素可以是污染物种类和浓度,也可以是实验生物、环境条件等;MDA 含量也可能因时间累积而升高,另外,翡翠贻贝内脏团和外套膜中的 SOD 活性和 GSH 含量大小与变化规律差异显著。因此,在考虑利用生理生化指标监测环境中的 PFOS 时需要考虑多方面的条件和因素,筛选出最合理最具指示性的生物和指标。翡翠贻贝的外套膜和内脏团的抗氧化系统在暴毒的早期即有响应,可以起到对机体的保护作用,因此在应用这些酶学指标作为指示生物的生化分析指标时,应考虑其有效时间段而提高可靠性。虽然在自然水域内 PFOS 浓度达不到实验水平,但是 PFOS 具有生物浓缩和富集效应,在食物链顶端生物的个别器官内可

能达到相当高的浓度,因此研究 PFOS 对生物体的毒性效应是十分必要的。

通讯作者简介: 贾晓平(1949—),男,研究员,博士生导师,中国渔业水域污染事故技术审定委员会主任,中国水产学会理事,中国海洋学会理事。

参考文献:

- [1] Kurunthachalam K, Lin T, Ewan S, et al. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a great lakes food chain [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2005, 48 (4): 559 – 566
- [2] 冉小蓉, 张政祥, 张之旭. 环境水中全氟羧酸及全氟磺酸类化合物(PFCs)的分析[J]. *环境化学*, 2009, 28(3): 459 – 461
- [3] 吕刚, 王利兵, 刘军, 等. 全氟辛烷磺酰基化合物水生生态风险和人体健康风险评价[J]. *长江流域资源与环境*, 2008, 17(6): 904 – 908
- [4] Lv G, Wang L B, Liu J, et al. Ecological and human health risk assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) [J]. *Resource and Environment in the Yangtze Basin*, 2008, 17(6): 904 – 908 (in Chinese)
- [5] 王亚韩, 江桂斌. 人体中多溴联苯醚(PBDEs)和全氟辛烷磺酰基化合物(PFOS)研究进展[J]. *科学通报* 2008, 53(2): 129 – 140
- [6] So M K, Taniyasu S, Lam P K S, et al. Alkaline digestion and solid phase extraction method for perfluorinated compounds in mussels and oysters from south china and japan [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2006, 50(2): 240 – 248
- [7] Li X M, Yeung L W Y, Xu M Q, et al. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish blood collected near the outfall of wastewater treatment plant (WWTP) in Beijing [J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3): 1298 – 1303
- [8] Shi Y L, Pan Y Y, Yang R Q, et al. Occurrence of perfluorinated compounds in fish from Qinghai - Tibetan Plateau [J]. *Environment International*, 2010, 36(1): 46 – 50
- [9] 史亚利, 潘媛媛, 王杰明, 等. 全氟化合物的环境问题[J]. *化学进展*, 2009, 21(2/3): 369 – 376
- [10] Shi Y L, Pan Y Y, Wang J M, et al. Perfluorinated chemicals related environmental problems [J]. *Progress*

- in Chemistry, 2009, 21(2/3): 369 - 376 (in Chinese)
- [9] 金一和, 汤先伟, 曹秀娟, 等. 全球性全氟辛烷磺酰基化合物环境污染及其生物效应[J]. 自然杂志, 2002, 24(6): 344 - 348
- Jin Y H, Tang X W, Cao X J, et al. Global environmental pollution and biological effects of perfluorooctane sulfonate [J]. Ziran Zazhi, 2002, 24(6): 344 - 348 (in Chinese)
- [10] 胡存丽, 仲来福. 全氟辛烷磺酸和全氟辛酸毒理学研究进展[J]. 中国工业医学杂志, 2006, 19(6): 354 - 358
- Hu C L, Zhong L F. Progress of toxicological study on PFOS and PFOA [J]. Chinese Journal of Industrial Medicine, 2006, 19(6): 354 - 358 (in Chinese)
- [11] 周启星, 胡献刚. PFOS/PFOA 环境污染行为与毒性效应及机理研究进展[J]. 环境科学, 2007, 28(10): 2153 - 2162
- Zhou Q X, Hu X G. Researching progresses in environmental pollution behavior, toxic effects and mechanisms of PFOS/PFOA [J]. Environmental Science, 2007, 28(10): 2153 - 2162
- [12] 于红瑶, 刘利, 刘薇, 等. PFOS致大鼠肝脏氧化损伤及对脂褐质含量影响[J]. 中国公共卫生, 2009, 25(5): 578 - 579
- Yu H Y, Liu L, Liu W, et al. Oxidative damage of perfluorooctane sulfonate on lipofuscin levels in rat livers [J]. Chinese Journal of Public Health, 2009, 25(5): 578 - 579 (in Chinese)
- [13] 孙云之, 刘缠民. 全氟辛烷磺酰基化合物对无齿蚌保护酶系的影[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(21): 11150 - 11151
- Sun Z Y, Liu C M. Effect of Perfluorooctane sulfonate on the protective enzyme activities in the gill of *Anodonta woodiana* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(21): 11150 - 11151 (in Chinese)
- [14] 方雪梅, 王建设, 戴家银. 全氟类有机污染物的污染状况及其生态毒理研究进展[J]. 地球科学进展, 2010, 25(5): 543 - 551
- Fang X M, Wang J S, Dai J Y. The progress in environmental distributions and toxicological effects of perfluoroalkyl acids [J]. Advance in Earth Science, 2010, 25(5): 543 - 551 (in Chinese)
- [15] 贾晓平. 南海渔业生态环境与生物资源的污染效应研究[M]. 北京: 海洋出版社, 2004: 4 - 5
- [16] Liu J H, Kueh C S W. Biomonitoring of heavy metals and trace organics using the intertidal mussel *Perna viridis* in Hong Kong coastal waters [J]. Marine Pollution Bulletin, 2005, 51(8 - 12): 857 - 875
- [17] Li M H. Effects of nonionic and ionic surfactants on survival, oxidative stress, and cholinesterase activity of planarian [J]. Chemosphere, 2008, 70(10): 1796 - 1803
- [18] 叶露. 典型全氟化合物水生毒理学效应与致毒机理初探[D]. 上海: 同济大学硕士论文, 2008: 36
- Ye L. Study on the Aquatic Toxicology Effects of Two Typic Perfluorochemical to Zebrafish Embryos [D]: Shanghai: Master Degree Dissertation of Tongji University, 2008: 36 (in Chinese)
- [19] 胡芹. 全氟辛烷磺酸(PFOS)对斑马鱼胚胎发育及成鱼的毒性效应研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士论文, 2009: 24, 34
- Hu Q. Embryo Developmental and Maternal Toxicity of Perfluorooctanesulfonate (PFSO) in the Zebra Fish [D]: Wuhan: Master Degree Dissertation of Hua Zhong Agricultural University, 2009: 24, 34 (in Chinese)
- [20] Paul S. Perfluorooctane sulfonate: Current summary of human sera [Z]. Health and Toxicology Date, 3M, MN1999: 0226 0548
- [21] 秦洁芳, 陈海刚, 蔡文贵, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对翡翠贻贝抗氧化酶及脂质过氧化水平的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(7): 1878 - 1884
- Qin J F, Chen H G, Cai W G, et al. Effects of di-n-butyl phthalate on the antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation level of *Perna viridis* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(7): 1878 - 1884 (in Chinese)
- [22] Kirsten T E, Ole R N, Mette S, et al. Genotoxic potential of the perfluorinated chemicals PFOA, PFOS, PFBS and PFHxA in human HepG2 cell [J]. Mutation Research, 2010, 700(1 - 2): 39 - 43
- [23] Klaunig J E, Babich M A, Baetcke K P, et al. PPAR agonist - induced rodent tumors: modes of action and human relevance [J]. Critical Reviews of Toxicology, 2003, 33(6): 655 - 780
- [24] 赵扬, 王云, 左正红, 等. 三丁基锡(TBT)对褐菖鲉肝脏抗氧化系统的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2008, 47(5): 748 - 751
- Zhao Y, Wang Y, Zuo Z H, et al. Effects of tributyltin on hepatic antioxidant system in *Sebastes marmoratus* [J]. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2008, 47(5): 748 - 751 (in Chinese)
- [25] Rana SVS, Singh R, Verma S. Mercury - induced lipid peroxidation in the liver, kidney, brain and gills of a fresh water fish, *Channa punctatus* [J]. Japanese Journal of Ichthyology, 1995, 42(3 - 4): 255 - 259
- [26] 陈瑗, 周玫. 自由基医学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991: 30 - 31
- [27] 汪美贞, 贾秀英, 董爱华, 等. 镉长期暴露对黑斑蛙的

- 氧化胁迫和抗氧化能力的影响[J].生态学报,2006,26(6): 1718 - 1724 (in Chinese)
- Wang M Z, Jia X Y, Dong A H, et al. Effects of cadmium on oxidative stress and antioxidative ability in Frog *Rana nigromaculata* under a long term exposure [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(6): 1718 - 1724
- [28] 杨涛, 陈海刚, 蔡文贵, 等. 菲胁迫对红鳍笛鲷急、慢性毒性效应的研究[J]. 水产学报, 2011, 35(2): 298 - 304
- Yang T, Chen H G, Cai W G, et al. Acute and chronic toxicity effects of phenanthrene in seawater on crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(2): 298 - 304 (in Chinese)
- [29] 王学锋, 陈海刚, 蔡文贵, 等. 汞离子胁迫对红鳍笛鲷抗氧化酶及乙酰胆碱酯酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(12): 1829 - 1835
- Wang X F, Chen H G, Cai W G, et al. Effects of mercury exposure on the antioxidant enzymes and acetylcholinesterase activities in the young crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(12): 1829 - 1835 (in Chinese)
- [30] 陈海刚, 马胜伟, 林钦, 等. 氯化三丁基锡对黑鲷鳃和肝组织 SOD、MDA 和 GPx 的影响[J]. 南方水产, 2009, 5 (2): 23 - 27
- Chen H G, Ma S W, Lin Q, et al. Effects of tributyltin-chloride (TBTCl) on SOD activities, MDA contents and GPx activities in gill and liver of the black porgy (*Sparus macrocephalus*) [J]. *South China Fisheries Science*, 2009, 5(2): 23 - 27 (in Chinese)
- [30] 黄周英, 王重刚, 左正宏, 等. 三丁基锡对文蛤鳃的抗氧化酶活性及脂质过氧化的影响[J]. 环境科学学报, 2005, 25(10): 1408 - 1413
- Huang Z Y, Wang C G, Zuo Z H, et al. Effects of tributyltin on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in the gill of hard clam *Meretrix meretrix* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25 (10): 1408 - 1413 (in Chinese)
- [32] 黄周英, 王重刚, 左正宏, 等. 三丁基锡对文蛤消化腺脂质过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 厦门大学学报, 2006, 45 (1): 102 - 105
- Huang Z Y, Chen YX, Zuo Z H, et al. Effects of tributyltin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity of digestive gland in hard clam *Meretrix meretrix* [J]. *Journal of Xiamen University: Natural Science*, 2005, 25(10): 102 - 105 (in Chinese)
- [33] 吴永魁, 胡仲明. 动物应激医学及应激的分子调控机制[J]. 中国兽医学报, 2005, 25(5): 557 - 560
- Wu Y K, Hu Z M. Animal stress medicine and molecular mechanism of stress [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2005, 25(5): 557 - 560 (in Chinese) ◆