

环丙沙星在异育银鲫 (*Allogynogenetic crucian*) 体内的积累分布及其毒性效应

聂湘平¹, 陈菊芳², 王 翔^{1,3}, 周孝治², 鹿金雁¹, 杨宇峰¹

(1. 暨南大学水生生物研究所, 广州 510632; 2. 暨南大学环境工程系, 广州 510632;

3. 水利部中国科学院水工程生态研究所, 武汉 430079)

摘要:采用模拟水生态系统研究了环丙沙星 (Ciprofloxacin, CPFX) 在异育银鲫 (*Allogynogenetic crucian*) 体内的积累和分布动态, 并测定了异育银鲫体内 I 相、II 相代谢酶活性的响应。结果表明, 饲料暴露、水体暴露和混合暴露 3 种不同给药方式对 CPFX 在异育银鲫的体内积累趋势有明显影响, 在饲料给药暴露方式中 CPFX 在鱼体内脏、肌肉中的残留量远高于水体给药暴露。3 种不同给药方式暴露下, CPFX 在异育银鲫内脏和肌肉中的积累趋势大致相同, 暴露初期吸收较快, 并且很快达到峰值。随暴露时间延长, CPFX 在鱼体内含量逐渐下降。在 CPFX 暴露初期, 异育银鲫体 EROD 酶活性受到抑制, 暴露 45d 后, 3 种暴露方式异育银鲫 EROD 活性均恢复到暴露前水平。异育银鲫 GST 酶活性受到 CPFX 的诱导, 3 种不同给药方式均导致 GST 活性增加, 并且表现出滞后响应。暴露初期不同处理组 GSH 含量均有下降。但随暴露时间延长, 异育银鲫体内 GSH 受到诱导, 在暴露后期又恢复至暴露前水平。

关键词: 环丙沙星; 异育银鲫; 积累与分布; 7-乙氧基异吩恶唑酮-脱乙酰酶; 谷胱甘肽硫转移酶

文章编号: 1000-0933(2008)01-0246-07 中图分类号: Q178, Q958, X171 文献标识码: A

Bioaccumulation of Ciprofloxacin in *Allogynogenetic crucian carp* and its toxic effects

NIE Xiang-Ping¹, CHEN Ju-Fang², WANG Xiang^{1,3}, ZHOU Xiao-Zhi², LU Jin-Yan, YANG Yu-Feng¹

1 Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China

2 Environmental Engineering Department of Jinan University, Guangzhou 510632, China

3 Institute of Hydroecology, Ministry of Water Resources & Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430079, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1): 0246 ~ 0252.

Abstract: The bioaccumulation and distribution of Ciprofloxacin in carp, *Allogynogenetic crucian* were assessed with stimulated aquatic microsystem, the same was done for the enzymatic activities in phase I, II metabolisms process of the carp. Results showed that the bioaccumulation and distribution of CPFX in *A. crucian* exhibited remarkable differences under various exposure ways. The residual concentration of CPFX in visceral and muscle tissues of carp were much higher through feeding exposure than via waterborne exposure. But no matter which way was made, there was same the trend: CPFX were absorbed quickly at initial stages and reached the highest value soon. With the extent of the exposure time, the residue of CPFX in carp decreased gradually. EROD activity was inhibited at the primary period under the exposure of CPFX and then returned to the original level after 45 days of exposure. GST activity in carp was induced under the exposure

基金项目: 国家自然科学基金(40471118); 国家自然科学基金委与广东省联合基金(U0633006)

收稿日期: 2007-01-16; 修订日期: 2007-08-23

作者简介: 聂湘平(1966~), 男, 新疆阿尔泰人, 博士, 副教授, 主要从事生态毒理学研究. E-mail: txpnie@jnu.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 40471118; U0633006)

Received date: 2007-01-16; Accepted date: 2007-08-23

Biography: NIE Xiang-Ping, Ph. D., Associate professor, mainly engaged in ecotoxicology. E-mail: txpnie@jnu.edu.cn

of CPF_X showing a lag response phenomenon and the increase of GST activity displayed in three exposure pathways. GSH content in carp decreased in all treatment groups early and then displayed inducement response and resumed the level before being exposed after 45 days.

Key Words: Ciprofloxacin; *Allogynogenetic crucian*; Bioaccumulation; EROD; GST

抗生素药物是水产养殖中广泛使用的一类药物,它在水产养殖病害控制过程中发挥了重要的作用。但是抗生素药物的不合理使用可能导致许多负面影响,如药物的原形或其代谢产物可能在养殖对象的组织、器官或可食性产品中产生蓄积,对消费者健康构成威胁^[1~3];频繁使用抗生素化学药物可能容易诱导部分病原体产生耐药性^[1,4,5];施用于水体中或饲料中的抗生素药物不仅作用于靶生物以防治病害,而且对非靶生物也产生影响和毒害^[6,7];另外许多抗生素药物理化性质比较稳定,不容易降解,具有较长的半衰期^[8],还可能通过食物链的传递而对整个生态系统产生影响^[1,9,10]。

喹诺酮类抗生素(Quinolones)是当前水产养殖上普遍使用具有代表性的水产药物。环丙沙星(Ciprofloxacin)作为氟喹诺酮类抗菌药物中的典型药物,在水产养殖业中常被作为鱼药或饲料添加剂,用来预防和治疗水生动物细菌感染疾病。

水产养殖过程中使用的各种抗生素药物在环境中的归趋及其生态效应是一个值得关注的问题。关于这些药物在水体环境中的迁移转化和归趋行为、在生物体内富集以及对水生生物的毒性效应尚未得到明确的评价^[5,7]。本文通过不同的药物暴露方式,研究 CPF_X 典型渔药在异育银鲫(*Allogynogenetic crucian*)鱼体内的积累与分布状况以及在药物暴露情况下异育银鲫的生物响应特征。为进一步了解抗生素药物生物体中的迁移、转化及降解规律提供科学依据,这对保障水产品安全和生态环境保护具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验生物与试验药品

异育银鲫:长 6~7 cm,重(10.3±0.2) g,广东海大集团畜牧水产研究中心提供。盐酸环丙沙星(分子量 385.82,易溶于水或氢氧化钠溶液),纯度 99.5%,浙江华义医药有限公司。水产饲料:广东海大集团畜牧水产研究中心提供,经检测不含实验渔药。

试剂和药品:盐酸环丙沙星标准品购自 Sigma 公司,纯度 99.9%;乙腈为色谱纯(HPLC),德国默克公司;正己烷为分析纯(A.R.),广州化学试剂厂。7-羟基-3-异吩恶唑酮(Resorufin, RF)、7-乙氧基-3-异吩恶唑酮(Ethoxyresorufin, ERF)、还原辅酶(NADPH)购自 Sigma 公司;1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)、5,5'-二硫代双-2-硝基苯甲酸(DTNB)购自 Fluka 公司。还原型谷胱甘肽(Glutathione, GSH)、小牛血清蛋白购自中国南京建成公司。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱 Agilent1100 系列,配有 G1313A 自动进样器和荧光检测器;冷冻高速离心机(Sigma 2-16k);紫外可见分光光度计(Thermo Helios-α)、荧光分光光度计(HITACHI F-4500)。

1.3 试验模拟生态系统的构建及试验设计

1.3.1 人工模拟生态系统

采用室内静水养殖系统,在体积为 300 L 的聚乙烯水族箱($\Phi=80$ cm, $H=60$ cm)中放入 5 cm 深泥土(取自花园泥土,过 24 目筛以除去石子等大的颗粒物),加入曝气自来水 250 L,采用自然光照。静置一周后,栽入 20 棵皇冠草(*Echinodorus amazonicus*),系统稳定后,在水族箱内放入经驯化的异育银鲫(*Allogynogenetic crucian*)30 尾,河蚬(*Corbicula fluminea*)60 只。养殖试验期间水温变化在 26~30℃,溶氧 6 mg O₂·L⁻¹以上,连续充气,pH 为 6.8±0.2。每组试验设置 3 个平行试验水族箱,1 个空白对照,所有实验生物试养 10 d,定时投喂空白饲料。

1.3.2 药物暴露方式

设置3组不同的暴露方式 (1)水体给药,准确称取盐酸环丙沙星 125.0 mg 用水溶解,加入试验水样中并混匀,使水中盐酸环丙沙星浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; (2)饲料给药,准确称取盐酸环丙沙星 125.0 mg,加入空白饲料中制成药物浓度为 $900 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 人工配合饲料,22 d 投喂完。(3)水体和饲料混合给药,准确称取盐酸环丙沙星 62.5 mg 用水溶解,加入试验水样中并混匀,使水中盐酸环丙沙星浓度为 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;同时准确称取盐酸环丙沙星 62.5 mg,加入空白饲料中制成药物浓度为 $450 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 人工配合饲料,22 d 投喂完。3 种方式药物暴露总量一致。试验期间每日投喂2次(即9:00和15:00各投喂1次),日投喂量按鱼体重的3%计(水体给药组投喂空白饲料,饲料给药及水体和饲料混合给药组投喂完人工加药配合饲料22d后,其余时间投喂空白饲料)。每3天用曝气自来水补足蒸发耗水,定期观测水温、pH值、溶解氧(DO)及浮游动植物变化。试验暴露共计45 d。

1.4 样品处理与分析

1.4.1 样品收集

分别于1、7、15、30、45 d 分别取5尾鱼,取肌肉、内脏、肝脏不同组织收集样品,各样均取3个平行并作空白对照,所取样品置于 -80°C 超低温冰箱内保存备测。

1.4.2 液相色谱条件及操作参数

色谱柱:Hypersil ODS 分析柱($250 \text{ mm} \times 4.0 \text{ mm i.d.}$, $5 \mu\text{m}$);流动相: $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸/三乙胺缓冲液(pH 2.4):乙腈体积比例为80:20;检测器:荧光检测器,激发波长为280 nm,发射波长为452 nm。柱温: 30°C ;流速: $0.8 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 。进样量:10 μl 。

1.4.3 样品的预处理

从低温冰箱中取出组织,室温下自然解冻。用匀浆机打碎,制成匀浆,准确称取2.0 g 匀浆样品于50 ml 聚丙烯离心管中,加入10 ml 乙腈,充分搅拌,旋涡混合2 min,以 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度离心10 min,吸取全部上清液于另一离心管中。残渣按照上述操作重复提取一次,将两次提取的上清液合并,加入10 ml 正己烷,涡旋震荡脱脂,静置弃去上层。再加入10 ml 正己烷重复脱脂一次。下层液在 40°C 水浴中用氮气吹干, -20°C 冰箱保存待测。测定时用1 ml 流动相溶解,以 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度离心10 min,上清液用针头式微孔滤膜过滤器过滤,滤液以备HPLC检测之用。

1.4.5 精密度的测定

将加标的组织样品(按高、中、低3种浓度分别加标,鱼样: 0.01 、 0.50 、 $2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,水样: 0.005 、 0.05 、 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)按上述同样方法提取和净化后,在同日内5次重复测定高、中、低3种药物浓度的各组织样品,求得峰面积,根据标准曲线回归方程计算实测浓度,求得日内(或批内)标准偏差和变异系数。在一周内不同日5次重复测定高、中、低三种药物浓度的各组织样品,求得日间(或批间)标准偏差和变异系数。

1.5 酶活性测定

将 -80°C 保存的肝脏样品取出,在预冷的研钵中加入少许石英砂和1.5 ml Tris-蔗糖($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖, $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, pH 7.5)缓冲液,研碎后转入离心管, $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,上清液为粗酶液。蛋白测定采用考马斯亮兰法,用小牛血清蛋白作标准曲线。

1.5.1 谷胱甘肽硫转移酶(GST)测定

按Habig方法进行^[11]。一个GST活力单位定义为:每mg蛋白质,扣除非酶反应,以1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)为底物,每min使GSH浓度下降 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.5.2 EROD

测定参考Pohl^[12]等的快速终止荧光光度法略有改进。反应系统为1.88 ml $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.8 磷酸缓冲液;10 μl $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 酶反应底物(ERF);100 μl 粗酶液。混匀后放置5 min,然后加入10 μl $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的还原辅酶(NADPH),反应立即开始(空白不加NADPH)。反应准确进行10 min后,加0.5 ml 甲醇终止反应,

放入荧光比色池中,于 560 nm 激发波长和 580 nm 发射波长测定样品的荧光强度。

1.5.4 GSH 测定

采用 DTNB 显色分光光度法^[13]。反应体积为 5 ml,粗酶提取液 0.40 ml,磷酸钠缓冲液($0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 8.0)4.55 ml,0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTNB 0.05 ml。在波长 412 nm 处测定吸光度,由 GSH 标准曲线计算样品中 GSH 的含量。

1.6 数据处理

数据采用 SPSS 12.0 统计软件处理,结果用平均值 $\pm$ 标准误差 (Mean $\pm$ SD) 表示,处理组与对照组数据用单尾检验法 (ANOVA) 进行比较, $p < 0.05$ 为显著差异 (*); $p < 0.01$ 为极显著差异 (**).

2 结果

2.1 不同暴露方式下,CPFX 在异育银鲫体内积累分布

2.1.1 水体给药 CPFX 在鱼体不同组织中的含量变化

CPFX 进入生物体内组织非常快,在鱼体内脏、肌肉中含量表现出相似的变化过程。在暴露 1 d 后 CPFX 在鱼体内达到峰值,在脏、肌肉中的残留量分别为 42.19 、 $10.15 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。之后 CPFX 在鱼体内脏、肌肉中的含量逐渐降低,到在试验结束时,脏和肌肉中 CPFX 含量分别是 4.89 、 $2.12 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (表 1)。

表 1 不同给药方式和不同暴露时间下 CPFX 在异育银鲫不同组织中的残留量
Table 1 Residues of CPFX in different tissue samples by different exposure ways ($\bar{x} \pm S, n=3$)

给药方式 Exposure pathways	样品 Samples	盐酸环丙沙星的残留量 CPFX residual concentration ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)				
		1	7	15	30	45
水体暴露 Waterborne exposure	鱼肌肉 Muscle	10.15 ± 1.17	8.39 ± 0.79	5.72 ± 0.99	3.70 ± 0.45	2.12 ± 0.31
	鱼内脏 Visceral	42.19 ± 3.62	19.76 ± 1.86	16.37 ± 2.11	9.85 ± 1.75	4.89 ± 0.96
饲料暴露 Feeding exposure	鱼肌肉 Muscle	72.89 ± 10.93	42.34 ± 4.72	51.63 ± 7.55	24.31 ± 5.38	7.12 ± 1.95
	鱼内脏 Visceral	645.37 ± 32.62	271.57 ± 27.74	316.43 ± 20.34	62.18 ± 15.30	17.66 ± 4.88
混合暴露 Mixture exposure	鱼肌肉 Muscle	43.43 ± 7.43	27.95 ± 4.08	21.11 ± 3.24	11.26 ± 2.15	5.36 ± 0.93
	鱼内脏 Visceral	368.17 ± 30.82	99.41 ± 18.07	85.75 ± 6.30	34.01 ± 8.24	13.54 ± 3.29

2.1.2 饲料给药 CPFX 在鱼体不同组织中的含量变化

饲料给药方式下,CPFX 在鱼体内脏、肌肉中的积累变化过程也很相似,刚开始鱼体吸收较快。暴露 1 d 后,鱼体内脏、肌肉中 CPFX 的残留量分别高达 645.37 、 $72.89 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。之后 CPFX 在鱼体内脏、肌肉中的含量逐渐降低,但 15 d 时略有增加,之后又逐渐下降。到试验结束时,脏和肌肉中 CPFX 含量分别是 17.66 、 $7.12 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.1.3 水体和饲料混合给药 CPFX 在鱼体不同组织中的含量变化

混合给药方式下,第 1 天鱼体内脏、肌肉中 CPFX 的残留量分别为 368.17 、 $43.43 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,此时 CPFX 在鱼体内含量也达到峰值,之后 CPFX 在鱼体内脏、肌肉中缓慢降解,到在试验结束时,脏和肌肉中 CPFX 含量分别是 13.54 、 $5.36 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。不论以什么方式给药暴露,异育银鲫脏和肌肉对 CPFX 的积累分布变化大致相同,CPFX 可以迅速分布于鱼体组织中,并且药物含量在异育银鲫体内很快就达到峰值,然后迅速下降,7 d 后药物降解缓慢。

2.2 不同暴露方式下异育银鲫的酶系响应

CPFX 对异育银鲫 EROD 的影响见图 1,在暴露 1 d 时,EROD 活性受到明显抑制,饲料暴露组 EROD 活性只有 $4.15 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot}$,约为对照组的 27%。饲料暴露组和混合暴露组与对照组有极显著差异 ($p < 0.01$),而水体暴露组 EROD 活性也受到抑制,但和对照处理组没有显著变化 ($p > 0.05$);随着暴露时间的延

长, EROD 活性有所提高, 第 7 天和第 15 天, 异育银鲫 EROD 在饲料暴露组和混合暴露组中仍然受到抑制, 与对照有显著差异 ($p < 0.05$)。暴露 30d 后, 3 种暴露方式异育银鲫 EROD 活性均恢复到暴露前水平, 与对照组无显著差异 ($p > 0.05$)。

在饲料给药暴露和水体给药暴露 1d 后, GST 活性受到诱导, 与对照组有显著差异 ($p < 0.05$), 但混合暴露与对照无显著差异 ($p > 0.05$)。随着时间的延长, 第 7 天和第 15 天, 3 种给药暴露方式均导致 GST 活性增加。暴露 30 d 后, 饲料给药组在停止饲料暴露后 GST 活性仍然受到诱导 (图 1), 而水体暴露组和混合暴露组 GST 活性已恢复暴露前水平, 45 d 三种不同给药方式处理组与对照处理组无显著差异。

GSH 是生物体内一种非酶活性的抗氧化物质。在暴露 1 d 后, 各处理组 GSH 含量均有下降, 但除了饲料暴露组外, 其他两组处理与对照组相比无显著差异。第 7 d, 异育银鲫体内 GSH 受到诱导, 饲料暴露组中 GSH 含量为 $67.78 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 为对照处理组的 1.3 倍, 有显著差异 ($p < 0.05$)。暴露 15d 后, 异育银鲫体内 GSH 含量又有所下降, 在饲料暴露组中 GSH 含量为 $39.57 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 只有对照处理组的 67%, 而其他两组与对照无显著差异。至 30d 后, 各处理组与对照组均无差异 ($p > 0.05$)。

3 讨论

在水体方式给药暴露初期, CPFX 在鱼体内含量就达到相对较高值。鱼体对药物的积累一方面可通过鳃呼吸从水体中直接获得, 另一方面也可通过摄食水中悬浮颗粒物获得。有资料报道 CPFX 在颗粒物表面的吸附能力较强^[1,14]。在水体暴露方式下, 水体各种胶体颗粒物等介质可以吸附药物, 鱼体内的药物残留变化与它在水体中的消除规律相关。在饲料暴露处理中, 鱼体通过摄食药饵吸收了大量 CPFX 药物, 并且很快分布到生物体各组织中, 喹诺酮类药物组织渗透性非常好, 不论哺乳动物还是鱼类, 在药物暴露 24h 内, 就可在生物体不同组织中检测到, 没有明显的种类差别^[2,3,15]。CPFX 在肌肉中的积累速率没有在内脏中快, 这可能与 CPFX 在生物体内的代谢有关, 因为很大一部分药物是在内脏各器官中转化或直接以原形排出体外的。研究表明^[3], 当 CPFX 以口服或静脉注射的方式进入鱼体后, 最终是经肾脏和非肾脏两种机制被清除出机体的, 其中当 CPFX 以非肾脏机制排除时, 主要是通过肝脏排出的, 且非肾脏机制占 CPFX 血清清除率的 $1/3 \sim 1/2$; 这可能是造成 CPFX 在内脏中的浓度相对较高, 残留时间较长的原因。在饲料暴露组第 7 天后随着鱼体继续摄取药饵, CPFX 在鱼体内在残留量又缓慢增加, 这可能与沉积物的扰动和再悬浮有关。混合暴露下, CPFX 在鱼体内脏、肌肉中残留的变化趋势大致相同, 刚开始含量都较高, 这是因为鱼体从药饵中摄取了大量 CPFX 药物, 同时它还可通过鳃呼吸从水体中和摄食水中悬浮颗粒物来富集药物。

药物在生物体内的积累多少一方面与暴露的浓度和方式有关, 另一方面也和生物的代谢氧化密切相关。细胞色素 P450 酶系 (CYP450) 就是其中最重要的一类多功能氧化酶。他分布在生物体多种器官、组织中, 参

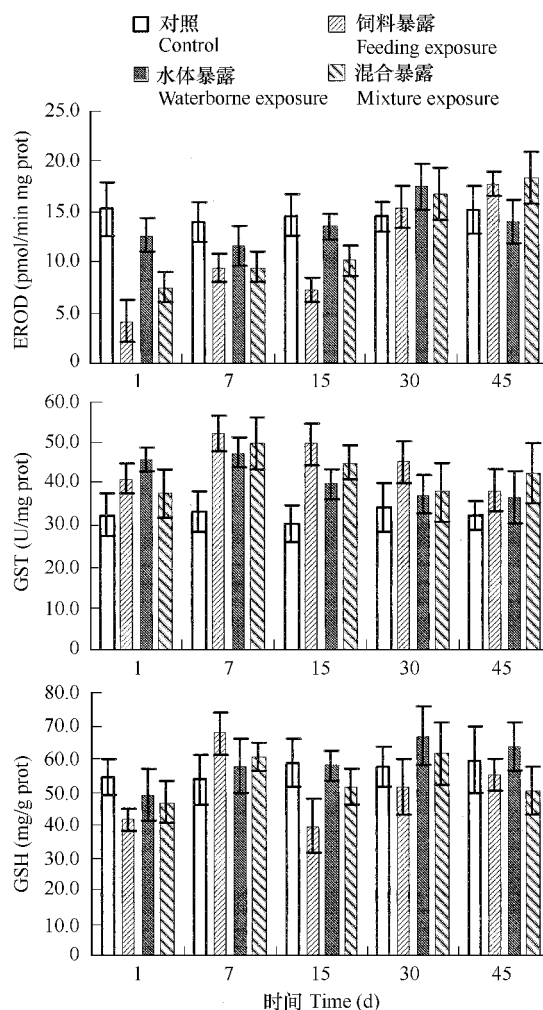


图1 CPFX对异育银鲫体内代谢酶活性的影响

Fig. 1 Effects of CPFX in different exposure pathways upon the enzymatic activity of *Allogynogenetic crucian carp*

与生物体内各种内源和外源性物质的氧化代谢。大部分药物和外源污染物的代谢都与 P450 酶系有关^[16,17]。其中 P450 酶系 CYP1A1 依赖的 EROD 酶的活性的诱导与抑制,作为评价各种环境污染暴露的灵敏的生物标志物指标之一,已广泛应用于环境毒理学研究^[17]。在 CPFX 饲料暴露和混合暴露 1d 后,CPFX 在饲料暴露组鱼体内脏、肌肉中 CPFX 的残留量分别高达 645.37、72.89 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,此时异育银鲫肝脏 EROD 活性也受到显著抑制。有文献报道在哺乳动物体内喹诺酮类药物如环丙沙星、诺氟沙星均是 CYP1A2 抑制药,由于 CPFX 能抑制多种物质在生物肝脏中代谢酶活性,从而影响药物在生物体内的清除率,而有些喹诺酮类药物如氧氟沙星对 CYP450 酶如 CYP1A2 则有诱导作用^[18]。本试验鱼体在连续饲料暴露和混合暴露 15d 之内,EROD 活性均受到抑制作用。但水体暴露中 EROD 活性与对照组相比,并未表现出明显的差异,这可能与水体暴露 CPFX 浓度相对较低有关。

GST 是生物体内广泛存在的一类催化谷胱甘肽与多种疏水性化合物的亲电子基团相连接的胞质酶,其功能可消除体内自由基和解毒双重功能^[19,20]。在暴露 7d 后,鲫鱼体内 GST 活性在 3 种不同给药方式处理中都表现出明显的诱导作用,虽然此时鱼体内积累的 CPFX 并没有第 1d 高,并且随暴露时间的延长呈下降趋势,但 GST 活性仍然高于第 1 天。相对于 EROD 指标对早期暴露比较敏感的响应,异育银鲫体内 GST 活性的响应比较滞后于药物的积累时间。即便在停止饲料暴露后 8 d(第 30 天,此时 CPFX 在鱼体肌肉和内脏中分别为 24.31 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 62.18 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),在饲料暴露组 GST 仍然可测得较高的诱导。

GSH 是生物体内非酶促抗氧化保护系统最重要的一种还原物质,在清除生物体内活性氧,稳定蛋白质中的 -SH 基团过程中起重要作用。GSH 在饲料给药组暴露初期表现出抑制作用,而在第 7 天后又表现出诱导作用。这与许多文献报道关污染物暴露中 GSH 的响应不太一致^[21]。GSH 含量在暴露早期出现下降,可能是较高浓度的 CPFX 暴露在细胞色素 P450 酶作用下产生了一些具有亲电子活性的中间产物,大量的消耗了鱼体内的 GSH 含量^[17]。随着暴露时间的延长和 CPFX 浓度的下降,CPFX 不足以对酶蛋白产生了破坏时可能对 GSH 合成的酶活性产生诱导,导致 GSH 合成增强,含量增加。30d 后,当鱼体内 CPFX 浓度下降至 2.12 ~ 17.66 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,3 种暴露方式下鱼体内 GSH 含量与对照组相比已没有差异。

4 结论

不同给药暴露方式对 CPFX 在异育银鲫的体内积累与分布影响有明显影响,通过饲料给药暴露方式,异育银鲫对 CPFX 的积累高于水体暴露。3 种不同暴露方式下 CPFX 在鱼体内脏、肌肉中的积累变化过程相似,暴露初期吸收和分布较快。随暴露时间的延长,CPFX 在鱼体内的含量逐渐下降,但在体内的消除时间较长。在 CPFX 暴露条件下,异育银鲫体内 EROD 酶活性受到抑制,并且与异育银鲫体内 CPFX 积累程度相关,其中饲料给药暴露方式中 EROD 受抑制最为明显。而异育银鲫 GST 酶活性则受到 CPFX 的诱导,3 种不同暴露方式均导致 GST 酶活性增高,并且表现出时间滞后响应。GSH 含量在 CPFX 暴露初期下降,随时间延长,其含量又受到诱导增加。在暴露后期又回复暴露前水平。

References:

- [1] Wang R, Liu T Z, Wang T. The fate of antibiotics in environment and its ecotoxicology: A review. *Ecologica Sinica*, 2006, 26(1): 265 - 270
- [2] Wu H, Yin W L, Shao J Z, *et al.* Depletion role of ciprofloxacin residues in eel (*Anguilla japonica*) tissues. *Bulletin of Science and Technology*, 2003, 19(6): 448 - 451.
- [3] Yang Y H, Tong H M, Lu T Y, *et al.* Absorbing, elimination and bio availability of ciprofluoxacin lactate in *Cyprinus carpio*. *Journal of Fisheries of China*, 2003, 27(6): 582 - 589.
- [4] Bound J P, Voulvoulis N. Pharmaceuticals in the aquatic environment a comparison of risk assessment strategies. *Chemosphere*, 2004, 56: 1143 - 1155
- [5] Sanderson H, Brain R A, Johnson D J, *et al.* Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular and sex hormones. *Toxicology*, 2004, 203: 27 - 40.
- [6] Nunes B, Carvalho F, Guilhermino L. Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmis chuii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 61: 413 - 419.

- [7] Costanzo S D, Murby J, Bates J. Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment. *Marine Pollution Bulletin*, 2005, 51: 218 — 223.
- [8] Xu W H, Zhang G, Zou S C, *et al.* Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*, 2007, 145: 672 — 679.
- [9] Heberer T. Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 2002, 131: 5 — 17.
- [10] Giorgia M L, Drvide C, Prolo G. Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy. *Chemosphere*, 2004, 54: 661 — 668.
- [11] Habig W H, Pabst M J, Jacoby W B. Glutathione S-Transferases, the First Enzymatic Step in the Mercapturic Acid Formation. *Journal of Biology Chemistry*, 1974, 249: 7130 — 7139.
- [12] Pohl R J, Fouts J R. A rapid method for assaying the metabolism of 7-ethoxyresorufin by microsomal subcellular fractions. *Analytical Biochemistry*, 1980, 107: 150 — 155.
- [13] Hissin P J, Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry*, 1976, 74: 214 — 226.
- [14] Wu Y B, Wang Z S, Liao X D, *et al.* Study on the absorption and desorption of soil to enrofloxacin. *Ecology and Environment*, 2005, 14(5): 645 — 649.
- [15] Yang X L, Liu Z Z, Masahito Y. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*). *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(1): 18 — 22.
- [16] Laville L, Ait-Assa S, Gomez E, *et al.* Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes. *Toxicology*, 2004, 196: 41 — 55.
- [17] Vaccaro E, Giorgi M, Longo V, *et al.* Inhibition of cytochrome P450 enzymes by enrofloxacin in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Toxicology*, 2003, 62: 27 — 33.
- [18] Zhou Y W, Qian Y S, Sheng J Q. Effects of Ciprofloxacin upon human beings hepatic microsome pharmaceuticals metabolisms enzyme activity. *Modern Medicine Hygiene*, 2001, 17(9): 688 — 689.
- [19] Zhang J F, Wang X R, Sheng Y. Influence of low-level 2,4-DCP on the antioxidant defense system in livers of *Carassius auratus*. *China Environmental Science*, 2003, 23(5): 531 — 534.
- [20] Li F Y, Ji L L, Luo Y, *et al.* Hydroxyl radical generation and oxidative stress in *Carassius auratus* liver as affected by 2,4,6-trichlorophenol. *Chemosphere*, 2007, 67: 13 — 19.
- [21] Huang Z Y, Wang C G, Zuo Z H, *et al.* Effects of tributyltin on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in the sin of hard clam *Meretrix meretrix*. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(10): 1408 — 1413.

参考文献:

- [1] 王冉, 刘铁铮, 王恬. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性. *生态学报*, 2006, 26(1): 265 ~ 270.
- [2] 吴皓, 尹文林, 邵健忠, 等. 环丙沙星在鳊鱼组织中残留的消除规律. *科技通报*, 2003, 19(6): 448 ~ 451.
- [3] 杨雨辉, 佟恒敏, 卢彤岩, 等. 环丙沙星在鲤体内吸收、代谢和生物利用度. *水产学报*, 2003, 27(6): 582 ~ 589.
- [14] 吴银宝, 汪植三, 廖新倮, 等. 土壤对恩诺沙星的吸附和解吸特性研究. *生态环境*, 2005, 14(5): 645 ~ 649.
- [15] 杨先乐, 刘至治, 横山雅仁. 盐酸环丙沙星在中华绒螯蟹体内药物代谢动力学研究. *水生生物学报*, 2003, 27(1): 18 ~ 22.
- [18] 周义文, 钱元恕, 盛家琦. 环丙沙星对人肝微粒体药物酶活性的影响. *现代医药卫生*, 2001, 17(9): 688 ~ 689.
- [19] 张景飞, 王晓蓉, 沈骅. 低浓度 2,4-DCP 对鲫鱼肝脏抗氧化防御系统的影响. *中国环境科学*, 2003, 23(5): 531 ~ 534.
- [21] 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. *环境科学学报*, 2005, 25(10): 1408 ~ 1413.