

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20231017004

朱龙, 周尚颀, 马雨阳, 等. 双酚 A 致文蛤鳃组织氧化损伤[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(1): 223-231

Zhu L, Zhou S J, Ma Y Y, et al. Oxidative damage of bisphenol A to *Meretrix petechialis* gill tissues [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2024, 19(1): 223-231 (in Chinese)

双酚 A 致文蛤鳃组织氧化损伤

朱龙^{1,2}, 周尚颀¹, 马雨阳¹, 陈鑫翎¹, 王孝天¹, 许星鸿^{1,2,*}

1. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 连云港 222000

2. 江苏省海洋资源与开发研究院, 连云港 222000

收稿日期: 2023-10-17 录用日期: 2023-12-21

摘要: 双酚 A (bisphenol A, BPA) 是全球产量最大的化工产品之一, 在塑料制品生产中得到广泛应用。然而, BPA 的大量应用导致其在水环境中被频繁检出, 对水生生物健康构成潜在威胁。相关研究证实 BPA 对水生生物的生殖和发育具有一定的毒性效应, 但对双壳类毒性效应研究却十分有限。本研究将文蛤 (*Meretrix petechialis*) 分别暴露于 1、10、100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 中 14 d, 检测了文蛤鳃滤水率以及组织病理学变化, 同时测定鳃组织过氧化氢 (hydrogen peroxide, H_2O_2) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量, 以及过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽-S-转氨酶 (glutathione-S-transferase, GST)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的活性, 并对 Nrf2/Keap1 信号通路相关基因的表达水平进行分析。结果表明, BPA 暴露干扰了文蛤鳃滤水率, 导致文蛤鳃组织上皮细胞损伤和增生, 并观察到纤毛和鳃丝减少的现象, 且 BPA 浓度越高对文蛤鳃组织的影响越明显。BPA 暴露导致文蛤鳃组织 H_2O_2 和 MDA 水平显著升高, 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 处理组鳃组织氧化应激水平最为明显; BPA 暴露引起鳃组织 CAT 活性显著降低, 但对 SOD 活性无显著影响; 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露导致 GST 活性显著升高。此外, 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露下, 文蛤鳃组织中 Nrf2、Keap1、cat 和 *tnf- α* 的基因表达水平均受到抑制。10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露显著上调了 cat 基因表达。总之, 本研究发现 BPA 暴露能诱发文蛤鳃组织出现氧化应激反应并引起组织损伤。

关键词: 双酚 A; 文蛤; 氧化应激; Nrf2/Keap1 信号通路

文章编号: 1673-5897(2024)1-223-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Oxidative Damage of Bisphenol A to *Meretrix petechialis* Gill Tissues

Zhu Long^{1,2}, Zhou Shangjie¹, Ma Yuyang¹, Chen Xinling¹, Wang Xiaotian¹, Xu Xinghong^{1,2,*}

1. School of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222000, China

2. Jiangsu Institute of Marine Resources Development, Lianyungang 222000, China

Received 17 October 2023 accepted 21 December 2023

Abstract: Bisphenol A (BPA) is one of the highly produced chemicals globally and extensively utilized in the manufacturing of plastic products. However, the widespread application of BPA has led to its frequent detection in aquatic environments, posing potential threats to the health of aquatic organisms. Previous studies have confirmed the reproductive and developmental toxic effects of BPA on various aquatic organisms; however, limited research exists regarding its impact on bivalve shellfish. In this study, clams (*Meretrix petechialis*) were exposed to concen-

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2400800); 江苏省自然科学基金青年项目(BK20230690); 江苏省高等学校自然科学研究项目(23KJB180005); 江苏海洋大学研究生科研与实践创新计划项目(KYCX2023-105)

第一作者: 朱龙(1992—), 男, 博士, 研究方向为生态毒理学, E-mail: zhulong2021@jou.edu.cn

* **通信作者 (Corresponding author),** E-mail: xhxu119@163.com

trations of 1, 10, and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA for 14 d. The filtration rate of gill water and histopathological changes were examined while expression levels of genes in the Nrf2/Keap1 signaling pathway and the enzymatic activity, including the hydrogen peroxide (H_2O_2) and malondialdehyde (MDA), activities of catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and superoxide dismutase (SOD) were analyzed. The results showed that BPA exposure significantly influenced the filtration rate of the clam. BPA induced epithelial cell damage and hyperplasia in the gill tissues of the clam, accompanied by a reduction in cilia and gill filaments. Notably, the gill damage became more pronounced with increasing concentrations of BPA. BPA exposure significantly increased the levels of H_2O_2 and MDA, and the oxidative stress level was the most obvious under 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA exposure group. BPA exposure significantly decreased CAT activity in gill tissue, but had no significant effect on SOD activity. 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA exposure resulted in a significant increase in GST activity. In addition, the gene expression levels of *Nrf2*, *Keap1*, *cat*, and *tnf- α* in the gill tissue of clams were inhibited by 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA exposure. However, it is worth noting that *cat* gene expression was upregulated specifically under 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA exposure. This study reveals that BPA exposure induces oxidative stress and tissue damage in clam gill tissues.

Keywords: bisphenol A; *Meretrix petechialis*; oxidative stress; Nrf2/Keap1 signaling pathway

双酚 A (bisphenol A, BPA) 是一种化学合成物质, 主要用于制备聚碳酸酯和环氧树脂^[1], 并被广泛用于热敏纸、食品容器、阻燃剂及某些医疗设备生产^[2]。尽管目前中国、日本、美国、加拿大、欧盟等国家或地区已禁止在一些产品中添加 BPA, 但其在环境中残留量依旧处于较高水平, 尤其是水环境和沉积物中^[3]。在中国一些主要的入海河流和海洋中都检测到了 BPA 的存在^[4]。作为一种内分泌干扰物, BPA 能够通过食物链等途径进入生物体内, 对生物体健康构成威胁^[5]。由于水生生物终生栖息于水环境中, 难免长期受到 BPA 的暴露。已有相关研究表明, BPA 对水生生物的生殖发育具有一定的毒害效应, 如干扰胚胎和性腺发育、扰乱神经和免疫功能, 并引起组织氧化应激反应并诱发炎症等^[6]。

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是细胞代谢的正常产物, 在维持细胞正常生理功能和应对外源性刺激中发挥重要作用^[7]。然而, 过量的 ROS 会导致氧化应激, 造成生物体组织损伤, 产生细胞毒性^[8]。超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT) 是抵御 ROS 的第一道防线^[9]。谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione-S-transferase, GST) 主要参与外源物质和内源性化合物的解毒^[10]。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 是细胞中重要的抗氧化应激因子, 在调节细胞凋亡、自噬、炎症、氧化应激等方面都起着重要的作用^[11]。Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 不仅是一种氧化还原的传感器, 也是多种生物过程的调节

剂^[12]。Nrf2/Keap1 信号通路在维持体内过氧化物与抗氧化物平衡中发挥至关重要作用^[13]。

文蛤 (*Meretrix petechialis*) 广泛分布于中国沿海, 是一种味道鲜美的贝类, 是贝类捕捞量最丰富的物种之一, 具有重要的生态价值和经济价值^[14]。文蛤属于双壳类底栖生物, 通常生活在潮间带和潮下浅区的沙质基质中, 对海岸线的稳固及藻类的清除等也起到一定的促进作用^[15]。此外, 研究证实文蛤对污染物具有一定的敏感性^[16]。文蛤主要是依靠鳃过滤海水, 将藻类截留摄入来达到进食的目的^[17]。摄食过程中, 海水中的污染物 (比如 BPA) 会被文蛤摄入, 并充分接触到文蛤的鳃组织, 而这极有可能对文蛤的鳃组织造成损伤。然而, 目前 BPA 对水生生物的影响主要集中于低等脊椎动物, 但是对贝类影响的研究鲜有报道。因此, 本研究以文蛤为研究对象, 探究了 BPA 对文蛤鳃组织氧化损伤的影响, 本研究的开展将为评估 BPA 对贝类毒性效应提供理论基础。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 主要试剂和仪器

BPA (分析纯, 生工生物工程股份有限公司, 中国), 总蛋白含量 (total protein, TP)、过氧化氢 (hydrogen peroxide, H_2O_2)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、GST、CAT、SOD 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 中国), Trizol 试剂 (TaKaRa, Japan), cDNA 合成试剂盒 (深圳尚唯生物技术有限公司, 中国), PCR 扩增试剂盒 (康为世纪生物技术股份有限公司, 中国), *nrf2*、*keap1*、*Cu/Zn-SOD*、*cat*、*tnf- α* 引物 (生工生物工程股份有限公司, 中国), 超低温高速离心机 (Eppendorf

Centrifuge5424R,德国),PCR扩增仪(Q5 Multicolor, Bio-Tek,美国),PCR测定仪(Roche LightCycler96,瑞士)。

1.2 暴露试验

实验所用的文蛤购自连云港海州区文昌路海鲜市场(江苏,中国),平均壳长为(48.38±2.48) mm,壳高为(39.40±2.01) mm,壳宽为(22.78±1.83) mm,活体质量为(27.58±1.59) g。试验开始前将文蛤置于实验室的养殖系统中暂养14 d,暂养条件为:水温(25±1) °C、盐度24、pH 7.6±0.1。14 d后随机挑选180只活力较好的文蛤分别置于12个60 cm×40 cm的养殖缸中。设置1、10、100 μg·L⁻¹的BPA处理组和0.001% DMSO溶液对照组,每个组设置3个平行。试验条件与暂养条件相同,每日更换1/2的水,补充药物至实验所需的浓度,并喂食适量的小球藻(*Chlorella pacifica*)。每2 d取养殖水样,通过HPLC的方法检测暴露水体中BPA的浓度。暴露周期内,1 μg·L⁻¹ BPA组浓度范围为(0.75±0.16) μg·L⁻¹,10 μg·L⁻¹ BPA组浓度范围为(8.39±0.84) μg·L⁻¹,100 μg·L⁻¹ BPA组浓度范围为(91.14±5.32) μg·L⁻¹。BPA暴露14 d后取样,所有处理组文蛤在取样前一天停止喂食。

1.3 滤水率测定

暴露实验结束后,在各处理组中随机选取5只文蛤,分别放入装有4 L中性红溶液(1 mg·L⁻¹)的培养箱中,并使用分光光度计测定此时中性红溶液在530 nm处的吸光值。在经过2 h和4 h后分别测定各个组的吸光值。并根据下列公式计算文蛤的滤水率(m)单位为mL·animal⁻¹·h⁻¹[18]。

$$m = \left(\frac{M}{nt}\right) \log\left(\frac{C_0}{C_t}\right)$$

式中: M 为中性红溶液体积(4 L), n 为文蛤的数量, t 为测定时间(h), C_0 为中性红溶液的初始吸光值, C_t 为一定时间后溶液的吸光值。

1.4 组织病理学观察

暴露实验结束后,分别取BPA暴露组和对照组的文蛤鳃组织进行病理学观察,将鳃组织用4%多聚甲醛固定后静置1~2 d,于70%、80%、95%的乙醇溶液和无水乙醇中进行脱水处理,然后在二甲苯和石蜡中进行透明浸蜡包埋。切片机切片后,经苏木精和伊红染色,在NiKon 90i全自动显微镜下进行观察拍照。

1.5 氧化应激水平和抗氧化指标测定

对暴露组和对照组文蛤鳃组织进行称重,与生

理盐水以1 g:9 mL的比例混合后,进行冰水浴匀浆。使用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒,分别检测总蛋白、MDA、H₂O₂、SOD、GST和CAT等相关指标。

1.6 qRT-PCR检测mRNA表达

取鳃组织于离心管中,加入300 μL 4 °C预冷的Trizol溶液进行充分研磨后,再补加700 μL Trizol溶液。在冰上静置30 min后,12 000 r·min⁻¹、4 °C离心10 min。取上清液至新的离心管,加入200 μL三氯甲烷,剧烈摇晃15 s,室温,静置15 min。再次离心15 min。取上清液至新的离心管中,加入500 μL异丙醇上下颠倒10次后,室温静置15~20 min,以12 000 r·min⁻¹、4 °C的条件离心10 min。弃上清,加入1 mL 75%乙醇洗涤,7 500 r·min⁻¹、4 °C离心10 min。弃乙醇,通风橱中干燥透明,加入适量DEPC水,摇匀,测定RNA浓度。选择20 μL的反转录体系,以25 °C、10 min,55 °C、15 min,85 °C、5 min的条件进行反转录,得到cDNA。qPCR方法检测目标基因的相对表达量,具体操作流程为:95 °C预变性10 min,95 °C变性10 s,60 °C退火30 s,72 °C延伸32 s,变性、退火、延伸经过40个循环后进行融解曲线分析,确认PCR产物的特异性。以 β -actin为内参基因,引物序列参照Jiang等[9]的研究,对C_q值进行标准化,用2^{-ΔΔC_q}方法分析目的基因的相对表达量。实验所用到的目的基因特异引物序列见表1。

1.7 统计分析

采用GraphPad Prism 9.0进行统计分析和制图,结果以平均值±标准误差(mean±SEM)表示。用Levene检验和Kolmogorov-Smirnov检验数据的方差齐性和正态性,用单因素方差分析(ANOVA)和Turkey's检验进行显著性分析($P<0.05$)。

2 结果(Results)

2.1 BPA暴露对文蛤滤水率的影响

BPA暴露对文蛤滤水率的影响如图1所示。1 μg·L⁻¹ BPA暴露并未引起文蛤滤水率的变化;10 μg·L⁻¹ BPA暴露引起文蛤滤水率显著升高($P<0.05$);而100 μg·L⁻¹ BPA暴露导致文蛤滤水率显著降低($P<0.05$)。

2.2 文蛤鳃组织病理学观察

BPA暴露对文蛤鳃组织结构的影响如图2所示。结果显示在1 μg·L⁻¹ BPA暴露组中,文蛤鳃组织上皮细胞出现轻微损伤,并有部分纤毛脱落。而10 μg·L⁻¹ BPA暴露导致文蛤鳃组织纤毛脱落现象

明显,上皮细胞损伤进一步扩大,并出现增生的现象,同时伴有鳃丝数量减少的现象。 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露引起文蛤鳃组织纤毛脱落更加严重,上皮细胞损伤严重,增生现象加剧,同时鳃丝数量减少并出现相互连接现象。

2.3 BPA 对文蛤鳃组织氧化应激相关指标的影响

如图3所示,对经过14 d BPA 暴露的文蛤鳃组织进行氧化应激相关指标的测定。结果表明,与对照组相比, $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露引起文蛤鳃组织的 GST 活性、MDA 和 H_2O_2 含量显著升高($P<0.05$); $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露导致文蛤鳃中 CAT 活性显著降低($P<0.05$)。BPA 暴露并未引起文蛤鳃组织中 SOD 活性变化($P>0.05$)。

2.4 BPA 对 Nrf2/Keap1 信号通路相关基因表达水平的影响

如图4所示, $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露引起文蛤鳃组织的 *Nrf2* 基因表达显著下调($P<0.05$)。 *Keap1* 和 *cat* 基因表达水平在 $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露组中显著下调($P<0.05$),而在 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 组中显著上调($P<0.05$)。BPA 暴露并未引起 *Cu/Zn-SOD* 基因表达水平的变化。此外,BPA 暴露导致文蛤鳃组织中 *tnf- α* 基因表达显著下调($P<0.05$)。

3 讨论 (Discussion)

3.1 BPA 暴露对文蛤生理的影响

作为双壳类底栖生物,文蛤通过鳃组织过滤海水来获取食物,并利用纤毛进行转运完成摄食^[20]。研

究表明 BPA 可以在生物体内富集,而鳃组织作为最早接触 BPA 的器官最有可能直接受到 BPA 的影响^[21]。在本研究中,文蛤经过 BPA 暴露处理后,鳃组织上皮细胞出现明显的损伤和纤毛减少的现象。当暴露于 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 时,还观察到了鳃组织上皮细胞增生和鳃丝减少等变化。Jenzri 等^[22]研究发现 $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露会损伤海参的呼吸树组织,引起体腔上皮糜烂、内膜上皮肥大融合、内膜部分脱落、空泡化和结缔组织被破坏等。Minaz 等^[23]也发现,在虹鳟暴露 $1\ 000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 28 d 后,其鳃组织上皮细胞严重增生,并出现了坏死、

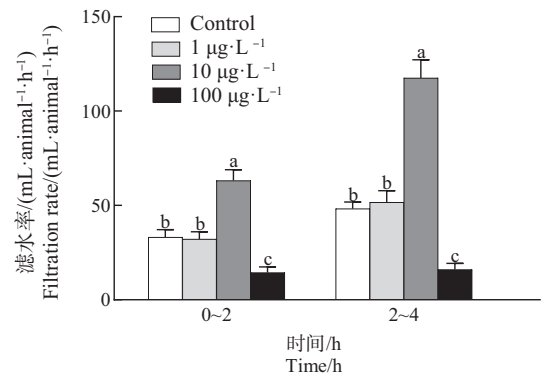


图1 双酚 A (BPA) 暴露 14 d 对文蛤滤水率的影响
注:不同小写字母表示不同处理组间存在显著差异($P<0.05$);下同。

Fig. 1 Effects of bisphenol A (BPA) on filtration rate of *M. petechialis* after exposure for 14 d

Note: Different lowercase letters represent significant difference between each group ($P<0.05$); the same below.

表1 各基因引物序列

Table 1 Primer sequence of each gene

基因名称 Genes	引物 Primers	引物序列 Sequences	扩增长度/bp Product size/bp
<i>Nrf2</i>	Forward	5'-GGAGATGGTCTGCCACAGGAGA-3'	106
	Reverse	5'-ACATGGCCGTGCTGATTGCT-3'	
<i>Keap1</i>	Forward	5'-TTGCTGTAGGCGGCTATGATGG-3'	117
	Reverse	5'-ATCCTGCACCGCTTCTGTGTG-3'	
<i>Cu/Zn-SOD</i>	Forward	5'-ATAACCTTGGCTTGTGCGGACG-3'	117
	Reverse	5'-GCTCACTGGTCCATCAGCAGAC-3'	
<i>cat</i>	Forward	5'-TGCCTTCTCTCCAGCTCACCTC-3'	109
	Reverse	5'-ACTGCCAAGCCTGTGTCTGTG-3'	
<i>tnf-α</i>	Forward	5'-GCAGCTATGTGTCATCCCTGGC-3'	206
	Reverse	5'-CACCACGACGAGCACGTATTCC-3'	
<i>β-actin</i>	Forward	5'-TTGTCTGGTGGTTCAACTATG-3'	/
	Reverse	5'-TCCACATCTGCTGGAAGGTG-3'	

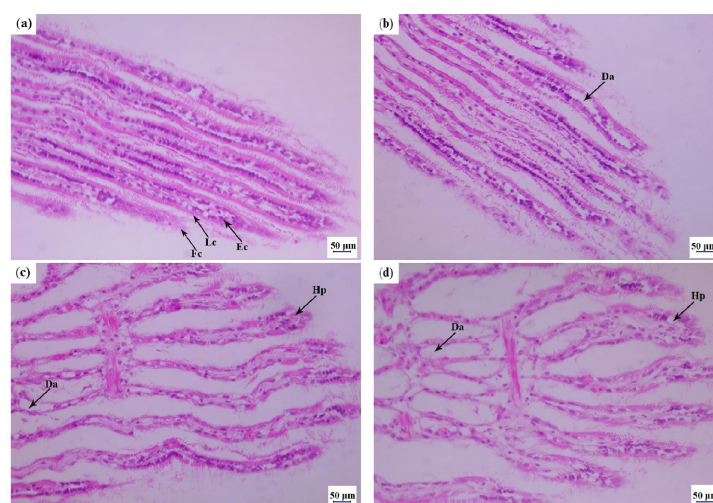


图 2 BPA 暴露对文蛤鳃组织结构的影响

注:(a) 对照组,(b) $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 处理组,(c) $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 处理组,(d) $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 处理组;

Fc 表示额纤毛,Lc 表示侧纤毛,Ec 表示上皮细胞,Da 表示损伤,Hp 表示增生。

Fig. 2 Effects of BPA exposure on the gills of *M. petechialis*

Note: (a) Control group, (b) $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA treatment group, (c) $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA treatment group, (d) $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA treatment group;

Fc stands for frontal cilia; Lc stands for lateral cilia; Ec stands for epithelial cell; Da stands for damage; Hp stands for hyperplasia.

肥大,空泡化等异常现象。这与本研究结果类似,BPA 暴露会对文蛤鳃组织造成不同程度的损伤,且损伤程度与 BPA 浓度呈正相关,这可能会对文蛤鳃组织正常的生理功能造成影响。

BPA 暴露引起文蛤鳃组织出现不同程度的损伤,这一定程度上可能会影响文蛤鳃组织的滤水率。本研究发现,文蛤鳃组织的滤水率在 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露下显著升高,而在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露下显著降低。无论是前 2 h 还是后 2 h,文蛤的鳃组织滤水率都呈现先升高后降低的趋势,这与全天衡^[24]使用 BUVSs 对河蚬进行暴露处理时观察到的虹吸速率变化趋势相似。 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露导致文蛤滤水率显著升高,这可能与文蛤的补偿机制有关。当文蛤接触到外源性刺激时,可能会通过闭壳效应减少污染物进入体内。Yan 等^[25]的研究表明,在阻燃剂暴露下河蚬采取闭壳效应来减少污染物的胁迫,并导致滤水率降低。作为反映生命活动重要指标之一,滤水率的降低会对生物机能造成损害^[18]。本研究结果显示, $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露引起文蛤滤水率的显著降低,这可能与文蛤闭壳效应有关。

3.2 BPA 暴露对文蛤抗氧化系统的影响

大多数生物都有一套抗氧化防御系统,来维持细胞正常的氧化还原反应的动态平衡^[26]。ROS 是生物正常代谢产物,在细胞信号传导、免疫功能和氧化还原动态平衡中起着关键的作用^[27]。然而,当生

物暴露在污染物时,机体受到刺激会产生大量的 ROS。过量的 ROS 会突破抗氧化防御系统,打破氧化还原平衡,造成生物体内组织损伤^[28]。SOD 和 CAT 是抵御过量 ROS 的第一道防线。SOD 能将过量超氧阴离子自由基(O_2^-)转换为 H_2O_2 ^[29]。本研究发现,BPA 暴露后,文蛤鳃组织中 H_2O_2 的含量显著升高,表明 BPA 暴露引起文蛤鳃组织出现氧化应激反应。尽管 SOD 被认为是暴露于污染物中最敏感的指标之一^[30],但在本研究中 BPA 暴露并未引起 SOD 活性的变化。这与 Yu 等^[31]的研究结果类似,我们推测这可能与文蛤内源性 SOD 活性足以清除 BPA 引起的超量 O_2^- 有关。本研究发现随着 BPA 浓度增加,CAT 活性逐渐降低,这与 Yuan 等^[32]得出的结论相一致,表明 CAT 可能无法清除过量的 ROS,导致细胞抗氧化活性下降且超出了生物体的调节范围,最终可能影响了 CAT 的合成和酶活性。MDA 是不饱和脂肪酸过氧化物的分解产物之一,会严重损伤细胞膜^[33],是评估生物体中脂质过氧化水平的标志物之一^[34]。本研究中,BPA 暴露引起文蛤鳃组织 MDA 水平显著升高,表明 BPA 暴露引起文蛤鳃组织出现脂质过氧化。GST 在抵御过氧化脂质分解产物中有重要的作用,并在解毒和氧化应激调节中起着关键作用。本研究中 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露引起 GST 活性显著升高,这与 Owagboriaye 等^[35]的结果类似。

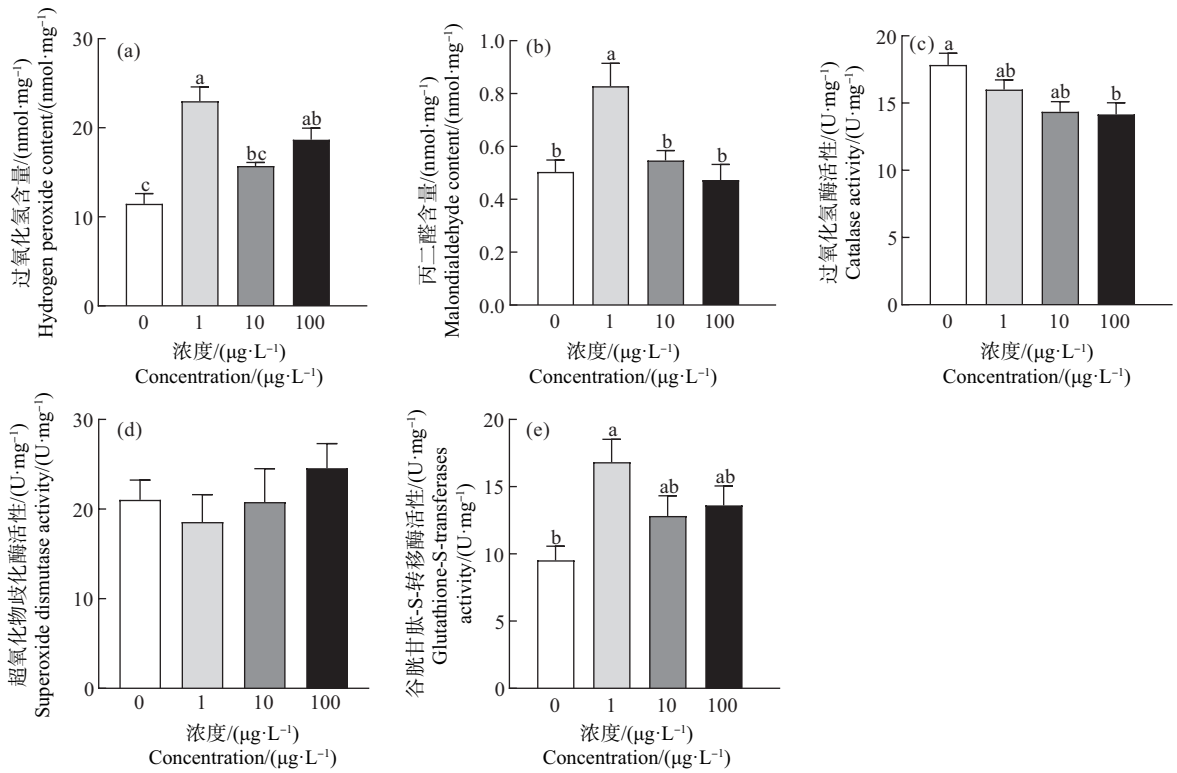


图 3 BPA 暴露对文蛤鳃中氧化应激相关指标的影响

Fig. 3 Effects of BPA exposure on oxidative stress-related indices in the gills of *M. petechialis*

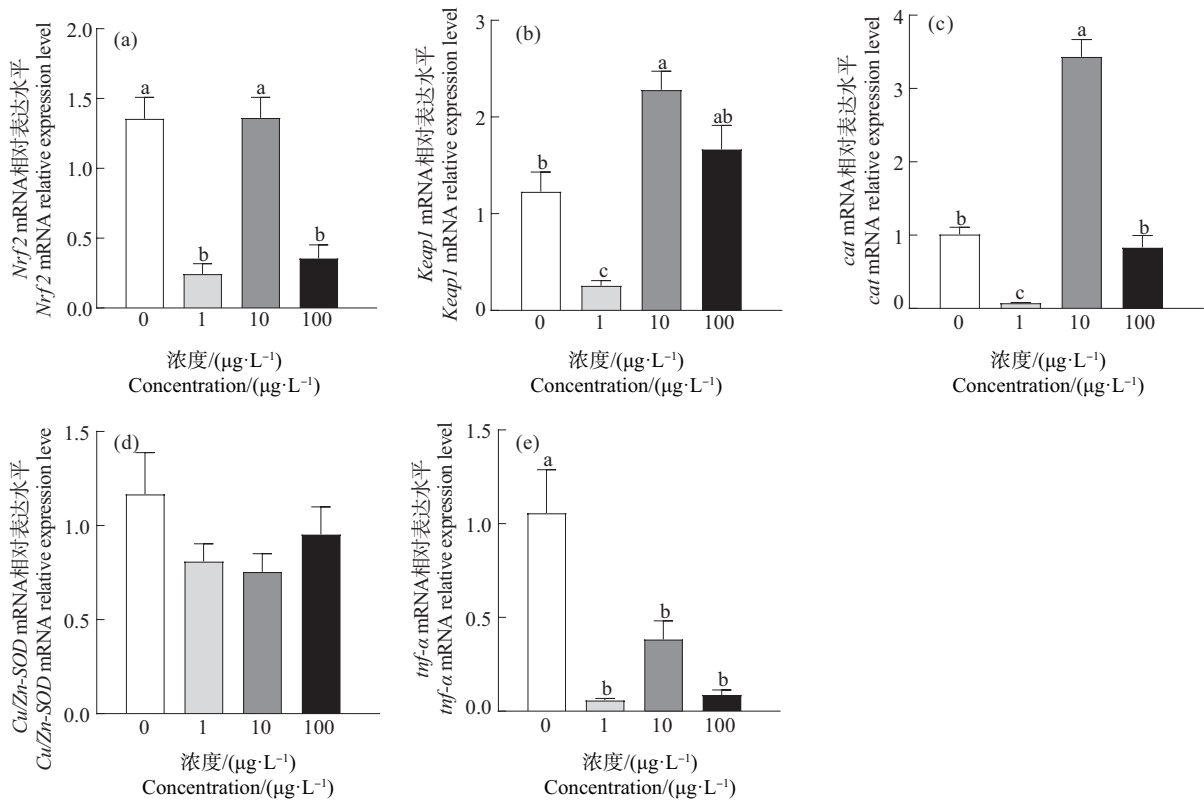


图 4 BPA 暴露对文蛤鳃中氧化应激相关基因表达水平的影响

Fig. 4 Effects of BPA exposure on the expression levels of oxidative stress-related genes in the gills of *M. petechialis*

Nrf2/Keap1 信号通路是生物抵御氧化应激的重要防御机制之一^[36]。ROS 的水平受到 Nrf2 和 Keap1 的调控,在稳态条件下,Nrf2 和 Keap1 互相作用,使 Nrf2 耦合在细胞质中^[37]。然而一旦受到应激刺激,Nrf2 和 Keap1 会解离,相关的抗氧化基因和抗炎因子都会激活,抑制 ROS 的含量,减轻因为过量 ROS 造成的生物体内组织器官的损伤。但是当应激反应超过临界值,相关的抗氧化基因会受到抑制,导致 ROS 含量异常,影响生物体内器官的正常功能^[38]。本研究中,不同暴露浓度下,Nrf2 和 Keap1 呈现不同水平的响应,这表明了 Nrf2/Keap1 信号通路可能参与了文蛤鳃组织中氧化应激的过程。Keap1 作为 Nrf2 的负调控因子和氧化应激传感器,在受到各种刺激后,其与 Nrf2 之间的相互作用可能会被破坏,从而影响 Nrf2 活性来适应环境变化^[39]。1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露下,文蛤鳃组织中 Nrf2、Keap1、cat 和 *tnf- α* 的基因表达水平均受到抑制,表明 BPA 暴露可能引起文蛤鳃组织氧化应激水平的异常,而文蛤鳃组织中 H_2O_2 和 MDA 含量的升高也印证了这一现象。值得注意的是,在 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 暴露条件下,cat 基因表达上调但 CAT 酶活性却呈现逐渐降低趋势。Regoli 等^[40]曾指出 CAT 酶活性与其基因表达水平的变化趋势不一致。这可能与生物受到污染物刺激后引起的代偿反应有关,在代偿反应的条件下,ROS 直接或间接攻击蛋白质并降低活性^[41]。

通信作者简介:许星鸿(1970—),女,博士,教授,主要研究方向为生态毒理学。

参考文献 (References):

- [1] Prueitt R L, Hixon M L, Fan T Y, et al. Systematic review of the potential carcinogenicity of bisphenol A in humans [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2023, 142: 105414
- [2] Wang J, Wu C Y, Zhang X, et al. Developmental neurotoxic effects of bisphenol A and its derivatives in *Drosophila melanogaster* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 260: 115098
- [3] Loganathan P, Vigneswaran S, Kandasamy J, et al. Bisphenols in water: Occurrence, effects, and mitigation strategies [J]. *Chemosphere*, 2023, 328: 138560
- [4] Czarny-Krzywińska K, Krawczyk B, Szczukocki D. Bisphenol A and its substitutes in the aquatic environment: Occurrence and toxicity assessment [J]. *Chemosphere*, 2023, 315: 137763
- [5] Hong T, Zou J, He Y M, et al. Bisphenol A induced hepatic steatosis by disturbing bile acid metabolism and FXR/TGR5 signaling pathways via remodeling the gut microbiota in CD-1 mice [J]. *The Science of the Total Environment*, 2023, 889: 164307
- [6] Gu Z Y, Jia R, He Q, et al. Alteration of lipid metabolism, autophagy, apoptosis and immune response in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*) after long-term exposure to bisphenol A [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211: 111923
- [7] Zhu W, Su J. Immune functions of phagocytic blood cells in teleost [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2021, 14(2): 630-646
- [8] Xie D M, Li Y W, Liu Z H, et al. Inhibitory effect of cadmium exposure on digestive activity, antioxidant capacity and immune defense in the intestine of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology*, 2019, 222: 65-73
- [9] Lee J W, Jo A H, Lee D C, et al. Review of cadmium toxicity effects on fish: Oxidative stress and immune responses [J]. *Environmental Research*, 2023, 236: 116600
- [10] Li Z Q, Chang X Q, Hu M H, et al. Is microplastic an oxidative stressor? Evidence from a meta-analysis on bivalves [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423(Pt B): 127211
- [11] Yang X, Fang Y, Hou J B, et al. The heart as a target for deltamethrin toxicity: Inhibition of Nrf2/HO-1 pathway induces oxidative stress and results in inflammation and apoptosis [J]. *Chemosphere*, 2022, 300: 134479
- [12] Geertsema S, Bourgonje A R, Fagundes R R, et al. The NRF2/Keap1 pathway as a therapeutic target in inflammatory bowel disease [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2023, 29(10): 830-842
- [13] Dai X J, Zhang Q Y, Zhang G C, et al. Protective effect of agar oligosaccharide on male *Drosophila melanogaster* suffering from oxidative stress via intestinal microflora activating the Keap1-Nrf2 signaling pathway [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 313: 120878
- [14] Ke A Y, Chen J, Zhu J, et al. Impacts of leachates from single-use polyethylene plastic bags on the early development of clam *Meretrix meretrix* (Bivalvia: Veneridae) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 142: 54-57
- [15] Li J S, Wang Y P, Du J B, et al. Effects of *Meretrix meretrix* on sediment thresholds of erosion and deposition on an intertidal flat [J]. *Ecology and Hydrobiology*, 2021, 21(1): 129-141

- [16] Wu X, Jia Y F, Zhu H J. Bioaccumulation of cadmium bound to ferric hydroxide and particulate organic matter by the bivalve *M. meretrix* [J]. Environmental Pollution, 2012, 165: 133-139
- [17] Capelle J J, Hartog E, van den Bogaart L, et al. Adaptation of gill-palp ratio by mussels after transplantation to culture plots with different seston conditions [J]. Aquaculture, 2021, 541: 736794
- [18] 单袁. 三种新烟碱农药对河蚬行为、组织病理及抗氧化系统的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019: 11
Shan Y. Effects of three neonicotinoid pesticides on the behavior, histopathology and antioxidant system of Asian freshwater clams (*Corbicula fluminea*) [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019: 11 (in Chinese)
- [19] Jiang F J, Yue X, Wang H X, et al. Transcriptome profiles of the clam *Meretrix petechialis* hepatopancreas in response to *Vibrio* infection [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 62: 175-183
- [20] Straquadine N R W, Kudela R M, Gobler C J. Hepatotoxic shellfish poisoning: Accumulation of microcystins in Eastern oysters (*Crassostrea virginica*) and Asian clams (*Corbicula fluminea*) exposed to wild and cultured populations of the harmful cyanobacteria, *Microcystis* [J]. Harmful Algae, 2022, 115: 102236
- [21] Xing S Y, Li P, He S W, et al. Physiological responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) induced by combined stress of environmental salinity and triphenyltin [J]. Marine Environmental Research, 2022, 180: 105736
- [22] Jenzri M, Gharred C, Bouraoui Z, et al. Assessment of single and combined effects of bisphenol-A and its analogue bisphenol-S on biochemical and histopathological responses of sea cucumber *Holothuria poli* [J]. Marine Environmental Research, 2023, 188: 106032
- [23] Minaz M, Er A, Ak K, et al. Investigation of long-term bisphenol A exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Hematological parameters, biochemical indicator, antioxidant activity, and histopathological examination [J]. Chemosphere, 2022, 303(Pt 2): 135136
- [24] 全天衡. BUVSs对河蚬抗氧化系统的影响及其毒性效应[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2019: 37-40
Tong T H. Effects of BUVSs on the antioxidant system and toxic effects of the *Corbicula fluminea* [D]. Huhhot: Inner Mongolia University, 2019: 37-40 (in Chinese)
- [25] Yan S H, Wu H M, Qin J H, et al. Halogen-free organophosphorus flame retardants caused oxidative stress and multixenobiotic resistance in Asian freshwater clams (*Corbicula fluminea*) [J]. Environmental Pollution, 2017, 225: 559-568
- [26] Li X Y, Liu Y, Chen Y B, et al. Long-term exposure to bisphenol A and its analogues alters the behavior of marine medaka (*Oryzias melastigma*) and causes hepatic injury [J]. The Science of the Total Environment, 2022, 841: 156590
- [27] Zorov D B, Juhaszova M, Sollott S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. Physiological Reviews, 2014, 94(3): 909-950
- [28] He L, He T, Farrar S, et al. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species [J]. Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology, 2017, 44(2): 532-553
- [29] Zhang X W, Jin Z Y, Shen M L, et al. Accumulation of polyethylene microplastics induces oxidative stress, microbiome dysbiosis and immunoregulation in crayfish [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2022, 125: 276-284
- [30] Hoyo-Alvarez E, Arechavala-Lopez P, Jiménez-García M, et al. Effects of pollutants and microplastics ingestion on oxidative stress and monoaminergic activity of seabream brains [J]. Aquatic Toxicology, 2022, 242: 106048
- [31] Yu X, Liu J H, Qiu T L, et al. Ocean acidification induces tissue-specific interactions with copper toxicity on antioxidant defences in viscera and gills of Asiatic hard clam *Meretrix petechialis* (Lamarck, 1818) [J]. The Science of the Total Environment, 2023, 875: 162634
- [32] Yuan X P, Wu H, Gao J W, et al. Acute deltamethrin exposure induces oxidative stress, triggers endoplasmic reticulum stress, and impairs hypoxic resistance of crucian carp [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology, 2023, 263: 109508
- [33] Xie D M, Li Y W, Liu Z H, et al. Inhibitory effect of cadmium exposure on digestive activity, antioxidant capacity and immune defense in the intestine of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology, 2019, 222: 65-73
- [34] Hu D C, Tian L L, Li X Y, et al. Tetramethyl bisphenol A inhibits leydig cell function in late puberty by inducing ferroptosis [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 236: 113515
- [35] Owagboriaye F, Dedek G, Bamidele J, et al. Biochemical response and vermiremediation assessment of three earthworm species (*Alma millsoni*, *Eudrilus eugeniae* and *Libyodrilus violaceus*) in soil contaminated with a glyphosate-based herbicide [J]. Ecological Indicators, 2020, 108: 105678
- [36] Wakabayashi N, Itoh K, Wakabayashi J, et al. Keap1-null

- mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation [J]. *Nature Genetics*, 2003, 35(3): 238-245
- [37] Zhong C C, Zhao T, Hogstrand C, et al. Copper (Cu) induced changes of lipid metabolism through oxidative stress-mediated autophagy and Nrf2/PPAR γ pathways [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2022, 100: 108883
- [38] Li Q W, Liao J Z, Zhang K, et al. Toxicological mechanism of large amount of copper supplementation: Effects on endoplasmic reticulum stress and mitochondria-mediated apoptosis by Nrf2/HO-1 pathway-induced oxidative stress in the porcine myocardium [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2022, 230: 111750
- [39] Motohashi H, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2004, 10(11): 549-557
- [40] Regoli F, Giuliani M E, Benedetti M, et al. Molecular and biochemical biomarkers in environmental monitoring: A comparison of biotransformation and antioxidant defense systems in multiple tissues [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 105(3-4): 56-66
- [41] Zhang X L, Chen X, Gao L, et al. Transgenerational effects of microplastics on Nrf2 signaling, GH/IGF, and HPI axis in marine medaka *Oryzias melastigma* under different salinities [J]. *The Science of the Total Environment*, 2024, 906: 167170
- ◆