

基于¹H-NMR 代谢组学法研究辛硫磷诱导鲫鱼代谢变化

Study on metabolic changes of crucian carp induced by phoxim based on ¹H-NMR metabolomics

李宏¹ 李丹² 李丽娟¹ 吴霓¹

LI Hong¹ LI Dan² LI Li-juan¹ WU Ni¹

(1. 湖南省产商品质量检验研究院食品安全监测与预警湖南省重点实验室, 湖南长沙 410017;

2. 湖南食品药品职业学院, 湖南长沙 410208)

(1. *Hunan Provincial Institute of Product and Goods Quality Inspection, Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Changsha, Hunan 410117, China;*

2. Hunan Food and Drug Vocational College, Changsha, Hunan 410208, China)

摘要:目的:规范辛硫磷的使用,保证水产品安全。方法:以淡水鲫鱼为研究对象,选取农业上经常使用的有机磷农药辛硫磷作为外源性环境污染物代表物,采用¹H-NMR 代谢组学方法并结合 PCA、PLS-DA、OPLS-DA 等多元统计学方法研究辛硫磷暴露下鲫鱼体内正常生理代谢的变化,据此推断辛硫磷对鲫鱼的毒性影响及在鲫鱼体内的毒理机制。结果:辛硫磷组与空白组血清样本之间存在显著的差异性代谢产物。与空白组鲫鱼血清相比,辛硫磷组血清中 3-羟基丁酸酯、葡萄糖及苯丙氨酸含量显著升高,而谷氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、组氨酸等氨基酸,乳酸,不饱和脂肪酸,脂质,甘油磷酸胆碱,磷酸胆碱,胆碱,鸟嘌呤核苷,肌苷含量显著下降($P < 0.05$)。结论:辛硫磷能够改变鲫鱼体内的能量代谢和氨基酸代谢,干扰鲫鱼体内神经递质的传递以及诱导鲫鱼氧化应激等。同时,这些内源性代谢产物差异性变化可能与辛硫磷在鲫鱼体内发生的 II 相代谢反应有关。

关键词:辛硫磷;¹H-NMR;鲫鱼;体内代谢;代谢组学

Abstract: Objective: Standardize the use of phoxim to ensure the safety of aquatic products. **Methods:** Taking freshwater crucian carp as the research object, Selecting phoxim, an organic phosphorus pesticide often used in agriculture, as the representative of exogenous environmental pollutants. The

changes in normal physiological metabolism of crucian carp exposed to phoxim were studied by using the ¹H-NMR metabolomics method combined with PCA, PLS-DA, OPLS-DA and other multivariate statistical methods. Based on this, the toxic effects of phoxim on crucian carp and the toxicological mechanism of phoxim in the crucian carp were deduced. **Results:** Compared with the control group, the metabolites in the crucian carp serum sample of the phoxim group have a significant increase in concentration of 3-HB, glucose and phenylalanine, and a significant decrease of glutamic acid, alanine, asparagine, histidine, lactic acid, glycerol phosphate of choline, phosphoric acid, choline, choline and unsaturated fatty acids, lipids, guanine nucleoside, inosine ($P < 0.05$). **Conclusion:** The results showed that phoxim can change amino acid metabolism, energy metabolism, disturbance of neurotransmitter balance and oxidative stress in crucian carp, and the endogenous metabolites change may be related to II metabolic reactions of phoxim in crucian carp.

Keywords: phoxim; ¹H-NMR; crucian; metabolism in vivo; metabolomics

辛硫磷(Phoxim)又名胍硫磷、倍腈磷等,其在酸性或中性条件下贮藏稳定,在碱性或高温、光照下易发生降解。辛硫磷作为一种高效、低毒、广谱的有机磷农药,被广泛应用于动物养殖、农作物生产以及水产养殖中。有研究^[1]报道,辛硫磷对高等动物毒性较低,对鱼类毒性较大。辛硫磷可以通过诸多途径进入水体中对鱼类产生毒性威胁。比如辛硫磷直接施用于农田,随水迁移流入水体、辛硫磷挥发飘散经大气沉降进入水体中,辛硫磷用于

基金项目:湖南省市场监督管理局科技计划项目(编号:2022KJJH57)

作者简介:李宏,男,湖南省产商品质量检验研究院工程师,硕士。
通信作者:李丹(1989—),女,湖南食品药品职业学院助理讲师,硕士。E-mail:825419992@qq.com

收稿日期:2023-02-26 **改回日期:**2023-05-18

消灭水中有害生物,直接施于水体以及辛硫磷生产厂家排放的废水,污染水体等^[2]。目前,随着中国对甲胺磷等高毒类有机磷农药全面禁止使用后,辛硫磷等一些高效低毒类有机磷农药使用更加广泛。由于没有具体的辛硫磷使用管理规范以及人们缺乏农药安全使用意识,使得辛硫磷污染水体状况变得愈发严重。

代谢组学是继蛋白质组学和基因组学发展之后,又一个重要的组学技术学科。代谢组学研究主要是利用¹H-NMR、HPLC-MS-MS、GC-MS 和 HR-MAS 等现代先进的仪器分析技术对受到某种生物刺激后生物体的生物组织及体液中代谢物浓度的差异变化进行系统的检测和分析,然后结合统计学分析方法和模式识别方法对差异代谢物进行归属,最后根据生物体代谢物的变化来推断机体受刺激后的毒理学特征^[3]。1999 年, Nicholson 等提出了代谢组学的概念,目前代谢组学技术已被广泛应用于药物毒理^[4]、分子生理学^[5]、环境毒理学^[6]、营养学^[7]、药物研发^[8]、基因功能组学^[9]等领域。

目前代谢组学方法研究对象主要集中在人类及哺乳动物和试验动物中,在水产生物上的研究相对较少。有研究^[10-12]表明,代谢组学方法能够很好地应用于杀虫剂对鱼类等水产生物的潜在毒性影响及毒理机制中。同时,发现的差异代谢物可以作为农药污染的代谢标志物,以监测农药污染程度。利用代谢组学方法研究环境污染物对鱼类的毒性,有利于确定环境污染物对鱼类作用的靶器官及其特异性的差异代谢物,获得环境污染物对鱼类的毒理机制,从而有助于系统地理解环境污染物对鱼类及整个水生环境所造成的危害,为早期预警环境危害提供快速识别的方法。研究拟以淡水鲫鱼为研究对象,选取农业上经常使用的有机磷农药辛硫磷作为外源性环境污染物代表物,采用¹H-NMR 代谢组学方法并结合主成分分析(PCA)、偏最小二乘法—判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘法—判别分析(OPLS-DA)等多元统计学方法研究辛硫磷暴露下鲫鱼体内正常生理代谢的变化,据此推断辛硫磷在鲫鱼体内的 II 相代谢途径,并进一步推断辛硫磷对鲫鱼的毒性影响及在鲫鱼体内的毒理机制,旨在规范辛硫磷的使用,保证水产品安全。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

辛硫磷纯品:96.2%,上海市农药研究所;

磷酸氢二钾、磷酸二氢钠、甲苯:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

重水(D₂O):99.9%,Cambridge Isotope laboratories;
淡水鲫鱼:市售。

1.2 仪器设备

超声波清洗机:SB-3200DT 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

超速冷冻离心机:Avanti J-E 型,美国贝克曼仪器公司;

¹H-NMR 核磁共振仪:Agilent DD2-600 MHz 型,美国 Agilent 公司。

1.3 溶液配制

(1) 核磁缓冲溶液的配制:配制 45 mmol/L 的 K₂HPO₄/NaH₂PO₄ 磷酸缓冲溶液,用 50% 的重水(D₂O) 配制。其中 V_{K₂HPO₄}:V_{NaH₂PO₄} 为 4:1,调节 pH 至 7.4。

(2) 辛硫磷溶液的配制:配制质量浓度为 6.6 mg/mL 的辛硫磷储备液。

1.4 试验方法

1.4.1 动物试验 鲫鱼 25 尾,平均体重(200.5±6.8) g,平均体长(15.48±0.88) cm,养殖于实验室鱼房 50 cm×30 cm×20 cm 的玻璃水箱中,随机分配每个玻璃箱 5 尾,养殖用水为提前曝气 1 周除氯后的自来水,pH 为 7.1±0.2,水硬度(以 CaCO₃ 计)(129.1±1.5) mg/L。增氧泵连续充氧,每天换水 1 次。试验前实验室驯养 2 周以使其适应环境,每日定时投喂饲料,试验前 1 d 停止喂食。

挑选优质鲫鱼 20 尾,随机分为两组 4 个养殖水箱,即空白对照组与辛硫磷染毒组。采用半静态换水法,辛硫磷组鲫鱼在辛硫磷对鲫鱼影响的安全质量浓度 0.33 mg/L 的水环境中生长 2 周,空白对照组鲫鱼生长在纯净水环境中,在此期间各组鲫鱼进行正常饲养。2 周后,于鲫鱼臀鳍位置的侧线偏下进针插入尾静脉取血,每尾 2 mL,制备鲫鱼血清样本。

1.4.2 鲫鱼血清的制备 采集各组鲫鱼血液 2 mL,静置 30 min,等待血液凝固,析出血清。取上层液体,4 ℃、3 000 r/min 离心 5 min,取上层清液(一般为淡黄色),每个血清样本取 500 μL,准确记录并编号。此过程中每个生物学重复样本所用的时间应保持一致,且血样在室温放置不能超过 3 h,4 ℃不超过 24 h,以防止血液中的代谢物发生变化,鲫鱼血清样本于-80 ℃冰冻贮藏。

1.4.3 核磁样品制备 将制备好的鲫鱼血清样本于常温下解冻,分别取各组鲫鱼血清样本 200 μL,加入 400 μL 核磁缓冲溶液(K₂HPO₄/NaH₂PO₄)以消除 pH 的微小变化对结果的影响,涡旋混匀震荡 60 s,4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,取 550 μL 上清液转移到 5 mm 核磁管中进行 NMR 检测。

1.4.4 ¹H-NMR 检测分析 所有制备的鲫鱼血清样本分别于核磁共振波谱仪中进行¹H-NMR 检测。H 质子共振频率为 599.83 MHz。采用有预饱和压水的¹D CPMG 脉冲序列,观测小分子代谢产物。CPMG 条件:谱宽 16 mg/L,采样温度 293 K,采样时间 2.30 s,累加 128 次,空扫 16 次,等待时间 2 s,回波演化时间 350 μs,回波循环 100 次。

1.5 数据处理与分析

使用 MestReNova 软件(V7.0)对¹H-NMR 谱图的

FID 信号加上增宽因子为 1 Hz 的指数窗函数以有效去除鲫鱼血清样品谱峰采集时的噪声信号,通过傅立叶变换将时域信号转化为频域信号,手动进行相位和基线校正,并采用葡萄糖进行定标(δ 5.23)。将核磁共振谱图(9.0~0.6 mg/L)进行分段积分(0.002 mg/L),积分时去除水峰信号(5.20~4.60 mg/L)和乙醇峰(1.199~1.155, 3.689~3.630 mg/L)。为了消除各血清样本之间浓度的差异,将对每一个积分后的数据谱图进行体积归一化处理。将归一化处理后的数据输入 Simca-P 11.0 软件中进行多元统计分析。在 Simca-P 11.0 软件中,采用 Ctr 变换对数据进行标准化,首先采用 PCA 进行无监督的数据分析,观察各数据的聚类趋势并去除离群样本;然后用 PLS-DA 进行有监督的数据分析,采用置换检验防止 PLS-DA 模型的过度拟合,进一步通过 OPLS-DA 模型变量的 VIP 值和相关系数对差异变量进行筛选,并对差异代谢物进行分析。

在 Simca-P 11.0 软件多变量统计分析中,评价所建模型可靠程度的参数主要为 $R^2 X$ 、 $R^2 Y$ 、 Q^2 等。其中 $R^2 X$ 和 $R^2 Y$ 分别代表所建模型对 X 和 Y 矩阵的可解释变量, Q^2 代表模型的可预测能力。试验所建模型中 R^2 值和 Q^2 值越接近 1,说明所建模型越好。一般情况下 R^2 值和 Q^2 值均 >0.5 ,说明所建模型可靠。在进行 PLS-DA 时,由于事先要对所有样本进行分组,因此需要采用置换检验来防止 PLS-DA 模型过度拟合。通常置换检验中截距 Q^2 值小于所建模型的 Q^2 值时所建模型可靠,且 Q^2 值越接近 0 模型越可靠。

2 结果与分析

2.1 鲫鱼血清 $^1\text{H-NMR}$ 代谢谱图分析

由图 1 可知,鲫鱼血清中主要由葡萄糖(Glucose),肌氨酸(Cre)、谷氨酸(Gln)、丙氨酸(Ala)、组氨酸(His)、亮

氨酸(Leu)等氨基酸,甲酸盐(Formate),甘油磷酸胆碱(GPC),磷酸胆碱(PC),甘油三酸酯(TG),柠檬酸盐(Citrate),*O*-乙酰糖蛋白(OAG)以及一些脂质构成。某些化合物的化学位移值以及波峰面积存在明显差异,说明两组鲫鱼的代谢产物发生明显变化。但是,从两组鲫鱼血清 $^1\text{H-NMR}$ 代谢谱图只能看出血清中某些葡萄糖、氨基酸、脂类物质发生明显变化,其他代谢产物通过肉眼很难识别,因此,样品 $^1\text{H-NMR}$ 谱图需要结合多元统计模式识别方法进行分析。

2.2 多元统计模式识别分析

2.2.1 主成分分析(PCA) 由图 2 可知,辛硫磷组与空白组 PCA 分析模型参数为: $R^2 X = 87.8\%$, $Q^2 = 0.834$,说明试验所建 PCA 分析模型拟合程度较好。辛硫磷组与空白组两组血清样本基本处于 95% 置信区间内,辛硫磷组与空白组之间的代谢轮廓有明显的分离趋势,且两组之间存在明显的聚类趋势,说明辛硫磷组与空白组存在明显的代谢差异。

2.2.2 偏最小二乘法—判别分析(PLS-DA)及模型验证

由图 3 可知,两组鲫鱼血清样本的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图 PLS-DA 参数为: $R^2 X = 44.9\%$, $R^2 Y = 0.974$, $Q^2 = 0.944$,表明所建 PLS-DA 模型能够很好地解释辛硫磷组与空白组血清样本之间代谢产物存在明显的差异。由图 4 可知,200 次验证结果显示 R^2 在 Y 轴上的截距为 0.833, Q^2 在 Y 轴上的截距为 0.157。置换检验中的截距均小于原来的 PLS-DA 参数值,说明所建 PLS-DA 模型是稳定的,可靠的,无过拟合现象存在,可以用于辛硫磷组与空白组血清样本之间代谢产物差异性分析。

2.2.3 正交偏最小二乘法—判别分析(OPLS-DA) 由图 5 可知,两组血清样本的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图 OPLS-DA 得

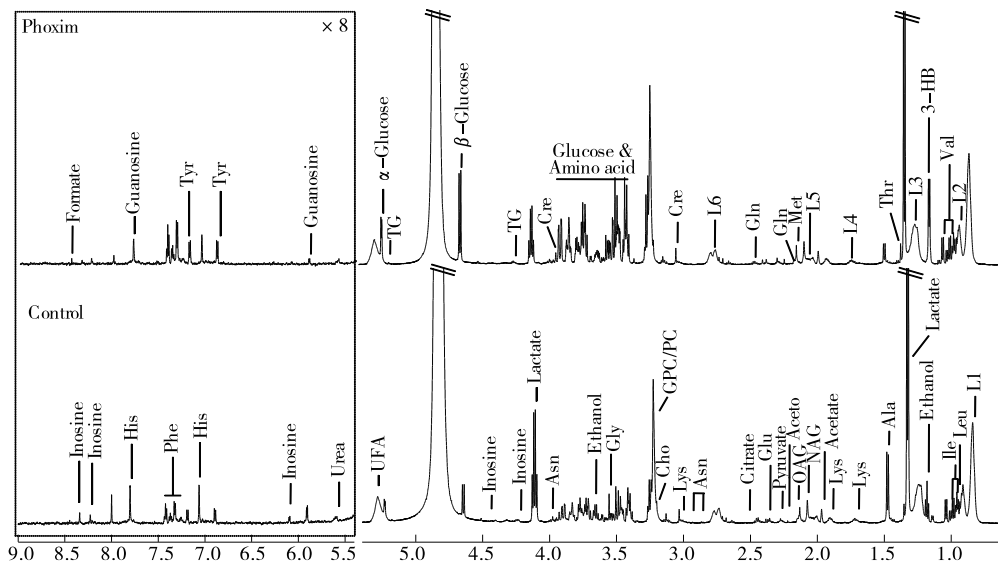
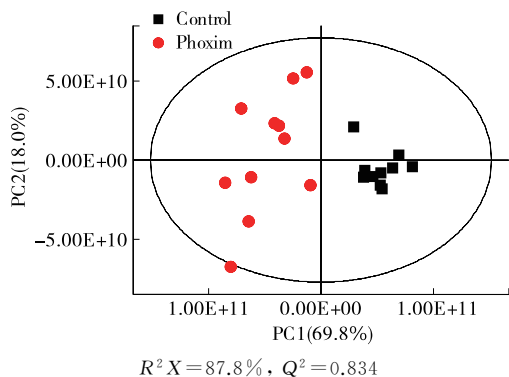


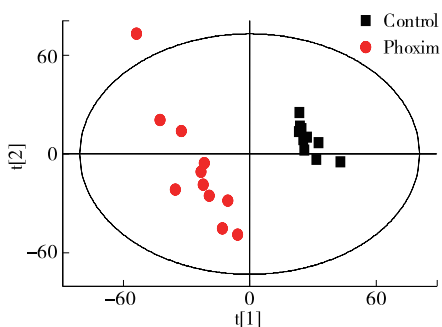
图 1 空白组与辛硫磷组鲫鱼血清的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图

Figure 1 Representative $^1\text{H-NMR}$ spectra of serum from control and phoxim group at crucian carp



$R^2 X = 87.8\%$, $Q^2 = 0.834$

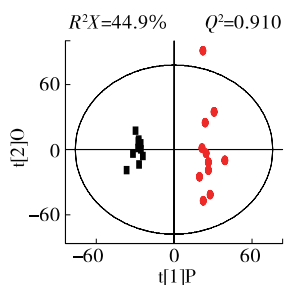
图 2 辛硫磷组和空白组两组样品的 PCA 得分图
Figure 2 PCA scores plots derived from $^1\text{H-NMR}$ spectra of serum for control and phoxim



$R^2 X = 44.9\%$, $R^2 Y = 0.974$, $Q^2 = 0.944$

图 3 辛硫磷组和空白组两组样品的 PLS-DA 得分图
Figure 3 PLS-DA scores plots derived from $^1\text{H-NMR}$ spectra of serum for control and phoxim

分图参数 $R^2 X = 44.9\%$, $Q^2 = 0.910$, 其 Q^2 值较高, 说明所建模型可靠性较高。各颜色柱代表各代谢产物变化的相关系数值 $|r|$ 。其中, 颜色柱越深, 说明该代谢产物在模型中差异性越大。与空白组鲫鱼血清相比, 辛硫磷组血清中 3-羟基丁酸酯、葡萄糖及苯丙氨酸含量显著升高, 而谷氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、组氨酸等氨基酸, 乳酸, 不饱和脂肪酸, 脂质, 甘油磷酸胆碱, 磷酸胆碱, 胆碱, 鸟嘌呤核苷, 肌苷含量显著下降 ($P < 0.05$)。试验所建 OPLS-DA 模型能够直观地显示辛硫磷组与空白组血清样本之



$R^2 X = 44.9\%$, $Q^2 = 0.910$

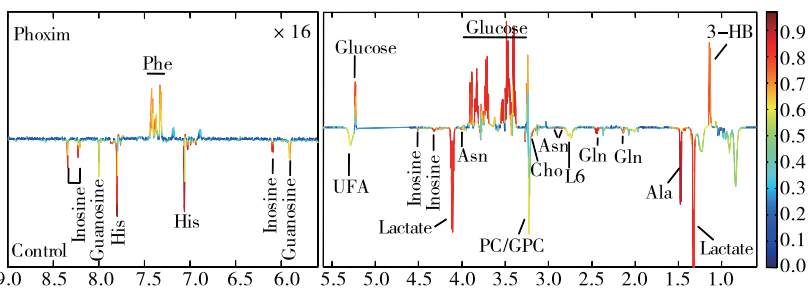
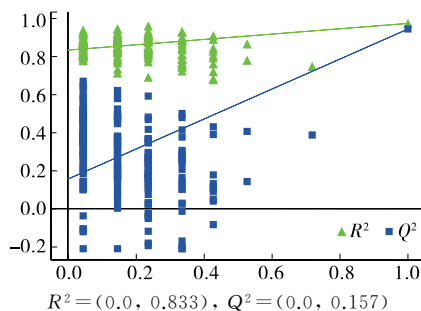


图 5 辛硫磷组和空白组两组样品的 OPLS-DA 分析图

Figure 5 Cross-validated OPLS-DA scores plots and the corresponding loadings plots derived from $^1\text{H-NMR}$ spectra of serum for control and phoxim



$R^2 = (0.0, 0.833)$, $Q^2 = (0.0, 0.157)$

图 4 辛硫磷组和空白组两组样品的 PLS-DA 置换检验图
Figure 4 PLS-DA permutation test derived from $^1\text{H-NMR}$ spectra of serum for control and phoxim

间显著的代谢产物的差异性。

2.2.4 辛硫磷组与空白组鲫鱼血清中差异代谢物的筛选

由表 1 可知, 辛硫磷组与空白组血清样本之间存在显著差异性代谢产物, 与空白组鲫鱼血清相比, 辛硫磷组血清中 3-羟基丁酸酯、葡萄糖及苯丙氨酸含量显著升高, 而谷氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、组氨酸等氨基酸, 乳酸, 不饱和脂肪酸, 脂质, 甘油磷酸胆碱, 磷酸胆碱, 胆碱, 鸟嘌呤核苷, 肌苷含量显著下降 ($P < 0.05$)。

鱼类氨基酸不仅可以作为鱼体蛋白质合成的底物和糖异生途径的底物, 还可作为鱼体神经递质和信号传导的前体物质。与空白组相比, 辛硫磷染毒组鲫鱼血清中苯丙氨酸含量增加, 谷氨酰胺、丙氨酸、天冬酰胺、组氨酸等氨基酸含量下降。其中, 丙氨酸、组氨酸和天冬酰胺是细胞内蛋白质合成的重要氨基酸^[13]。丙氨酸、天冬酰胺、组氨酸、谷氨酰胺和苯丙氨酸是参与鱼体内三羧酸循环 (TCA) 途径的重要中间代谢产物^[14]。鱼体的 TCA 途径能够为鱼体提供大量能量。同时, 谷氨酰胺与谷氨酸是生物体中两种重要的神经递质和信号传导的前体物质^[15]。因此, 染毒组鲫鱼血清中氨基酸含量变化结果表明, 辛硫磷可能破坏鱼体细胞的膜蛋白, 鱼体为了修复这些膜蛋白损伤, 而引起鱼体中氨基酸代谢紊乱。其次, 辛硫磷能够影响鱼体三羧酸循环代谢途径, 从而破坏鱼体

表 1 辛硫磷组与空白组存在显著性差异的代谢物及其相关系数[†]

Table 1 Significantly changed metabolites with corresponding correlation coefficients between control and phoxim

代谢物	化学位移	辛硫磷组和空白组的相关系数
Ala	1.48(d), 3.77(q)	-0.926
Gln	2.15(m), 2.43(m), 3.78(m)	-0.912
Asn	2.84(dd), 2.94(dd), 3.95(m)	-0.867
Phe	7.33(m), 7.38(m), 7.43(m)	+0.748
His	7.06(s), 7.80(s)	-0.963
Lactate	1.33(d), 4.12(q)	-0.865
3-HB	1.14(d), 2.32(m), 2.42(m), 4.16(m)	+0.793
Glucose	5.23(d), 4.65(d), 3.90~3.26(m),	+0.823
L6:C=CCH ₂ C=C	2.76(m)	-0.626
UFA	5.30(m)	-0.615
Cho	3.19(s), 3.53(t), 4.07(t)	-0.759
PC	3.22(s), 3.60(t), 4.17(t)	-0.620
GPC	3.22(s), 3.69(t), 4.33(t)	-0.620
Guanosine	8.00(s), 5.90(d)	-0.698
Inosine	8.34(s), 8.23(s), 6.09(d), 4.45(m), 4.30(m)	-0.925

[†] a. 相关系数、正负号分别表示浓度的正相关和负相关;在 $P < 0.05$ 和 $df(\text{自由度}) = 9$ 的水平上,相关系数 $|r| > 0.602$ 用作判别临界值的显著性;b. 多重性;s. 单线态;d. 双重;t. 三元组;dd. 双偶中的双偶;m. 多重态。

的能量代谢。最后,染毒组血清中谷氨酰胺含量下降表明辛硫磷可能引起鱼体神经代谢紊乱,具有一定的神经毒性。

葡萄糖氧化代谢是生物体内产生能量的主要来源^[16]。葡萄糖代谢途径主要有糖酵解途径和糖异生途径。葡萄糖在生物体内通过糖酵解途径生成乳酸及产生少量能量。而乳酸是生物体内参与三羧酸循环的重要中间代谢底物,在血液的能量代谢中发挥重要作用。糖异生途径是生物体内丙氨酸在酶的作用下形成葡萄糖及消耗部分能量。辛硫磷染毒组鲫鱼血清中葡萄糖含量显著升高,表明辛硫磷能够抑制鲫鱼血清中葡萄糖的糖酵解途径,增强其糖异生途径,从而引起鲫鱼血清中葡萄糖代谢紊乱,能量代谢受到影响。而辛硫磷染毒组鲫鱼血清中乳酸含量和丙氨酸含量显著降低验证了该结论。同时,乳酸含量降低表明辛硫磷影响鲫鱼血清中三羧酸循环途径,从而影响鲫鱼血清中的能量代谢。

脂质不仅为鱼类生存和生长提供能量和必需脂肪酸,而且还是鱼体内细胞膜的重要组成部分。辛硫磷染毒组鲫鱼血清中脂质含量和不饱和脂肪酸含量显著下降,一方面说明辛硫磷能够导致鲫鱼血清中脂类代谢紊乱,从而导致机体免疫功能下降及影响鲫鱼血清中的能量代谢。另一方面,由于辛硫磷是脂溶性化合物,辛硫磷进入鲫鱼后会渗透到机体细胞膜并在细胞膜脂质上聚集,诱导细胞膜上脂质发生过氧化反应,并产生大量的自由基和活性氧,从而损坏机体细胞膜,引起机体氧化损伤。辛硫磷对鲫鱼

脂质代谢的作用机制同样体现在丁草胺对金鱼的毒作用机制中^[17]。胆碱代谢物包括胆碱、磷酸胆碱和甘油磷酸胆碱,是细胞膜的重要组成部分,其含量可以反映细胞膜的更新动态。胆碱代谢物对维护机体的脂类代谢以及细胞膜的完整性发挥了重要作用^[18]。同时,胆碱、磷酸胆碱、甘油磷酸胆碱是合成生物体内神经递质乙酰胆碱的重要前体物质,其含量变化势必干扰生物体内的神经递质的传递,从而产生神经毒性。辛硫磷染毒组鲫鱼血清中胆碱、磷酸胆碱和甘油磷酸胆碱含量显著降低,其原因可能有两方面:① 这3种胆碱代谢物过度修复由于脂质代谢产生的大量自由基与活性氧所引起的细胞膜损坏而使其含量显著下降,表明辛硫磷能够损坏鲫鱼机体的细胞膜,引起机体氧化损伤。② 这些胆碱代谢物作为乙酰胆碱合成前体物质,其含量降低说明辛硫磷能够干扰鲫鱼体内神经递质的传递,从而对鲫鱼产生神经毒性。

3-羟基丁酸(3-HB)是生物体中脂肪酸在肝细胞线粒体中发生 β -氧化后所形成的特殊中间代谢产物。3-羟基丁酸作为脂肪酸的一种能量源,在肝细胞中生成后能够透过肝细胞线粒体细胞膜,通过机体血液循环而转运到其他组织中,被其他组织利用。有研究^[19]显示,机体的糖酵解途径和三羧酸循环途径受到抑制都可以增强机体脂肪酸的 β -氧化,加速机体内3-HB的生成。3-羟基丁酸是一种酸性物质,其在机体中含量过高可引起机体酸中毒。由于3-羟基丁酸在肝脏中形成,其含量变化也可以间接反映机体的肝功能出现障碍。辛硫磷染毒组鲫鱼血清中

3-羟基丁酸含量显著升高,表明辛硫磷能够加速鲫鱼血清中脂肪酸的 β -氧化,破坏鲫鱼体内的能量代谢,导致鲫鱼肝功能受损。生物体中核苷酸具有重要的生理生化功能,不仅可以参与机体中遗传信息的编码和翻译,而且作为 ATP 分解的代谢产物,可以调节机体的能量代谢。辛硫磷染毒组鲫鱼血清中鸟嘌呤核苷酸和次黄嘌呤核苷酸含量显著下降,可能是由于辛硫磷破坏了鲫鱼体内的能量代谢所致。

3 结论

有机磷农药进入生物体后,主要是在生物体氧化功能酶系的作用下发生氧化、还原、水解等 I 相代谢反应。但是一些含有一OH、—NH₂、—COOH、—SH、—NHOH 等基团的有机磷农药或者代谢产物能够与生物体的内源性代谢物(如糖类、氨基酸、硫酸酯等)在酶的作用下发生结合反应,这些反应统称为有机磷农药的 II 相代谢反应。有机磷农药的 II 相代谢反应主要包括糖类的结合反应、氨基酸结合反应,谷胱甘肽结合反应,硫酸酯结合反应以及一些有机磷农药在生物体内的甲基化、酰基化反应等。参与有机磷农药的 II 相代谢反应主要酶系包括葡萄糖醛酸转移酶、谷胱甘肽转移酶、氨基酸转移酶以及磺基转移酶等。

试验表明,辛硫磷能够影响鲫鱼体内的糖类代谢,氨基酸代谢,以及胆碱能代谢,可能与辛硫磷或其代谢产物在鲫鱼血液中发生糖类结合反应、氨基酸结合反应以及由胆碱提供甲基的辛硫磷甲基化反应有关。这些反映都有利于增加辛硫磷在鲫鱼体内的极性,有利于辛硫磷在鲫鱼体内通过体液循环而排出体外。但是,该结论仅仅是根据有机磷农药的 II 相代谢反应代谢特征进行推断得出的,辛硫磷在鲫鱼体内是否会发生这些反应还需进一步验证。

参考文献

- [1] 曹岩, 朱邦科, 王剑伟. 四种渔药对稀有鲫的急性毒性[J]. 淡水渔业, 2010, 40(3): 56-60.
- [2] CAO Y, ZHU B K, WANG J W. Acute toxicity of four fishery drugs to rare crucian carp[J]. *Freshwater Fisheries*, 2010, 40(3): 56-60.
- [2] LIN B, YU Y, HU X, et al. Degradation mechanisms of phoxim in river water[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(1): 312-321.
- [3] VIANT M R, BEARDEN D W, BUNDY J G, et al. International NMR-based environmental metabolomics intercomparison exercise [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 43(1): 219-225.
- [4] LI Y, LIANG H, REN B, et al. Enantioselective toxic effects of mefenitruflonazole in the liver of adult zebrafish (Danio rerio) based on transcription level and metabolomic profile[J]. *Toxicology*, 2022, 467: 153095.
- [5] BISPO D, JESUS C, CORREIA M, et al. NMR metabolomics assessment of osteogenic differentiation of adipose-tissue-derived

- mesenchymal stem cells[J]. *Journal of Proteome Research*, 2022, 21(3): 654-670.
- [6] YANG X, LAI J L, ZHANG Y, et al. Microbial community structure and metabolome profiling characteristics of soil contaminated by TNT, RDX, and HMX [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 285: 117478.
- [7] LI Y, ZHAO Y, LIU X, et al. Effects of endogenous potential probiotic *Lactobacillus rhamnosus* M2-4 on intestinal microflora and metabolomics in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2022, 555: 738247.
- [8] ALARCON-BARRERA J C, KOSTIDIS S, ONDO-MENDEZ A, et al. Recent advances in metabolomics analysis for early drug development[J]. *Drug Discovery Today*, 2022(6): 1763-1773.
- [9] BENSU K, AYLIN E, MEHMET A, et al. Metabolomics mapping changed after olanzapine therapy in drug-naive schizophrenia patients: The significant impact of gene polymorphisms [J]. *Toxicology Research*, 2022, 11(3): 547-556.
- [10] VIANT M R. Metabolomics of aquatic organisms: The new omics on the block[J]. *Marine Ecology Progress*, 2007, 332: 301-306.
- [11] LU X, DENG D F, HUANG F, et al. Chronic exposure to high-density polyethylene microplastic through feeding alters the nutrient metabolism of juvenile yellow perch (*Perca flavescens*) [J]. *Animal Nutrition*, 2022, 9: 143-158.
- [12] ZOU T, LIANG Y Q, LIAO X, et al. Metabolomics reveals the reproductive abnormality in female zebrafish exposed to environmentally relevant levels of climbazole [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 275: 116665.
- [13] LI M, WANG J, LU Z, et al. Nmr-based metabolomics approach to study the toxicity of lambda-cyhalothrin to goldfish (*carassius auratus*) [J]. *Aquat Toxicol*, 2014, 146: 82-92.
- [14] KOKUSHI E, UNO S, HARADA T, et al. ¹H-NMR-based metabolomics approach to assess toxicity of bunker a heavy oil to freshwater carp, *Cyprinus carpio* [J]. *Environmental Toxicology*, 2012, 27(7): 404-414.
- [15] WU H, WANG W X. NMR-based metabolomic studies on the toxicological effects of cadmium and copper on green mussels *Perna viridis*[J]. *Aquat Toxicol*, 2010, 100(4): 339-345.
- [16] XU H D, WANG J S, LI M H, et al. ¹H-NMR based metabolomics approach to study the toxic effects of herbicide butachlor on goldfish (*Carassius auratus*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 159: 69-80.
- [17] WANG J S, MING H. ¹H-NMR based metabolomics approach to study the toxic effects of herbicide butachlor on goldfish (*Carassius auratus*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 159: 69-80.
- [18] ANSARI R W, SHUKLA R K, YADAV R S, et al. Cholinergic dysfunctions and enhanced oxidativestress in the neurobehavioral toxicity of lambda-cyhalothrin in developing rats[J]. *Neurotoxicity Research*, 2012, 22: 292-309.
- [19] NICHOLAS P C, KIM D, CREWS F T, et al. ¹H-NMR based metabolomic analysis of liver, serum, and brain following ethanol administration in rats[J]. *Chem Res Toxicol*, 2008, 21: 408-420.