

DEHP短期暴露下的大鼠代谢酶及其代谢动态变化

黄卓权, 刘瑞菁, 黄少文, 贺永健, 刘焕, 郑冬冬, 柳春红

引用本文:

黄卓权, 刘瑞菁, 黄少文, 等. DEHP短期暴露下的大鼠代谢酶及其代谢动态变化[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 943-948.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1200>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

土壤微生物对邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯胁迫的生态响应

夏庆兵, 王军, 朱鲁生, 王金花, 刘文军

农业环境科学学报. 2016, 35(7): 1344-1350 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.07.017>

邻苯二甲酸酯降解菌的筛选、降解特性及土壤修复研究

杨婧, 郭楚玲, 刘沙沙, 党志, 卢桂宁

农业环境科学学报. 2018, 37(5): 933-940 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1689>

珠三角地区稻田土壤和谷粒中邻苯二甲酸酯(PAEs)的分布特征及人体健康暴露风险

鲁磊安, 陈学斌, 赵海明, 莫测辉, 李慧, 李彦文, 蔡全英

农业环境科学学报. 2016, 35(7): 1242-1248 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.07.003>

甜菜-牧草体系对土壤中4种邻苯二甲酸酯的修复研究

魏丽琼, 呼世斌, 王娇娇, 柴琴琴, 刘晋波, 王梦柯, 史超

农业环境科学学报. 2016, 35(6): 1097-1102 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.06.011>

中国地膜产品塑化剂特点及风险评价

丁伟丽, 刘琪, 刘秋云, 严昌荣

农业环境科学学报. 2021, 40(5): 1008-1016 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1331>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

黄卓权, 刘瑞菁, 黄少文, 等. DEHP短期暴露下的大鼠代谢酶及其代谢动态变化[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 943–948.

HUANG Zhuo-quan, LIU Rui-jing, HUANG Shao-wen, et al. Metabolic enzymes and DEHP metabolic dynamics in rats under short-term exposure to DEHP[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(5): 943–948.



开放科学 OSID

DEHP短期暴露下的大鼠代谢酶及其代谢动态变化

黄卓权^{1,2}, 刘瑞菁², 黄少文², 贺永健², 刘焕², 郑冬冬², 柳春红^{1,2*}

(1. 华农(潮州)食品研究院有限公司, 广东 潮州 521000; 2. 华南农业大学食品学院, 广东省食品质量安全重点实验室, 广州 510642)

摘要:为探讨短期重复暴露邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)在大鼠体内的代谢变化及对肝脏氧化酶和Ⅱ相酶的影响,将32只SPF级SD雄性大鼠随机分为4组:对照和DEHP低、中、高剂量处理(300、1 000、3 000 mg·kg⁻¹),每个处理组8只,连续灌胃染毒28 d。使用ELISA试剂盒检测大鼠血清及肝脏中总超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)等氧化指标,以及肝微粒体中尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶1(UGT1)、肝胞液中谷胱甘肽硫转移酶(GST)、谷胱甘肽硫转移酶pi(GST-pi)含量,采用高效液相色谱法测定血清和尿液中邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯(MEHP)含量。结果显示:DEHP会降低大鼠肝脏的SOD、GSH-Px活力,提高MDA水平,同时会诱导肝脏Ⅱ相酶UGT1、GST和GST-pi含量显著升高。在28 d重复染毒期内,DEHP的代谢产物MEHP在尿液中的含量经历了一个先升高后降低的变化过程,且各染毒组均在染毒第7 d时达到最高值。研究表明,DEHP对大鼠肝脏造成氧化损伤的同时诱导肝脏Ⅱ相酶含量的升高,其代谢产物MEHP在尿液中含量的变化与DEHP染毒剂量呈正相关趋势。

关键词:邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP);氧化应激;Ⅱ相酶;代谢

中图分类号:X503.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2021)05-0943-06 **doi:**10.11654/jaes.2020-1200

Metabolic enzymes and DEHP metabolic dynamics in rats under short-term exposure to DEHP

HUANG Zhuo-quan^{1,2}, LIU Rui-jing², HUANG Shao-wen², HE Yong-jian², LIU Huan², ZHENG Dong-dong², LIU Chun-hong^{1,2*}

(1. SCAU (Chaozhou) Food Institute Co. Ltd., Chaozhou 521000, China; 2. College of Food Sciences, South China Agricultural University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Food Quality and Safety, Guangzhou 510642, China)

Abstract: To investigate the metabolic changes in di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in rats and the effects of DEHP on the oxidase and phase II enzymes after repeated short-term exposure to DEHP, 32 specific pathogen-free (SPF) grade male Sprague Dawley (SD) rats were randomly assigned to four groups ($n=8$ each), including normal control and DEHP low (300 mg·kg⁻¹), medium (1 000 mg·kg⁻¹), and high dose (3 000 mg·kg⁻¹) groups. All rats were treated via gastric gavage for 28 days. Oxidation indicators in the serum and liver, such as total superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), malondialdehyde (MDA), and phase II enzymes in the liver, such as UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1), glutathione S-transferase (GST), and glutathione S-transferase-pi (GST-pi), were detected with ELISA. The levels of mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP, a metabolite of DEHP) in the serum and urine were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). The results indicated that DEHP exposure reduced the activities of SOD and GSH-Px and increased the level of MDA and the contents of phase II enzymes UGT1, GST, and GST-pi in the rat liver significantly. During the 28 days

收稿日期: 2020-10-18 录用日期: 2021-01-05

作者简介: 黄卓权(1994—),男,广东开平人,硕士研究生,从事食品安全及营养领域的研究。E-mail: im_huangzq@163.com

*通信作者: 柳春红 E-mail: liuch@scau.edu.cn

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC1601702); 华南农业大学与华农(潮州)食品研究院有限公司合作项目(H2019397); 广东省“扬帆计划”引进创新创业团队项目(2016YT03S056)

Project supported: National Key R&D Program of China in 13th Five-Year Period (2017YFC1601702); Cooperation Project Between South China Agricultural University and SCAU (Chaozhou) Food Institute Co., Ltd. (H2019397); Guangdong Province Sail Plan for Introduction of Innovative Entrepreneurial Team Project (2016YT03S056)

repeated exposure, MEHP concentrations initially increased and then decreased, and those of each treatment reached the highest value on the 7th day of DEHP exposure. The results showed that DEHP caused oxidative damage to rat livers and induced the expression of phase II enzymes. The changes in MEHP in urine were positively correlated with the DEHP dosages, and the highest values were found on the 7th day of exposure.

Keywords: di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP); oxidative stress; phase II enzymes; metabolism

邻苯二甲酸酯(Phthalate esters, PAEs)是一类用于增强产品稳定性、耐久性等的化学增塑剂和工业溶剂,多用于聚氯乙烯管、食品包装、医疗设备、儿童玩具、化妆品、黏合剂、杀虫剂和护理产品中。随着PAEs广泛用作增塑剂,其已成为遍布土壤、大气、水体和生物体中的污染物^[1-2]。邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[Di-(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]是一种油性、低挥发性液体,在塑料制品中以非共价键的形式和高度疏水性维持自身的化学性质,当接触到亲脂性物质时,便会从塑料制品中逸出,进入环境中^[3]。研究表明,在空气、水体、土壤、城市污水、肉类、蔬菜等中均有DEHP检出^[4-5],其最终会通过呼吸道、消化道和皮肤等途径暴露于人群^[1,4]。DEHP作为毒性较大的一种环境内分泌干扰物,具有生殖毒性、免疫毒性、肝毒性及遗传毒性等^[6-8]。

研究表明,在人类和动物体内,DEHP会被肠腔中的胰脂肪酶迅速代谢为邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯[Mono-(2-ethylhexyl) phthalate, MEHP]^[9],体内约67%的DEHP以MEHP的形式经尿液排出体外,因此MEHP可作为DEHP暴露水平的生物标志物^[10]。肝脏是体内重要的毒物代谢和转运器官,肝脏II相代谢酶可与外来化合物结合,进行生物转化,降低化合物毒性,使外来化合物水溶性增加,便于排出体外。肝脏重要的II相代谢酶有尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyl transferases, UGT),其催化的葡萄糖醛酸化是重要的肝脏II相反应机制之一,约占II相新陈代谢的35%^[11]。UGT一共有4种类型,分别是UGT1、UGT2、UGT3和UGT8,其中UGT1能有效利用葡萄糖醛酸使外来化合物糖基化,增加化合物水溶性,更易于外来化合物通过尿液等途径排出体外^[12]。此外,主要的肝脏II相代谢酶还包括谷胱甘肽硫转移酶(Glutathione S-transferase, GST),GST的主要作用有:催化各种亲脂性、亲电性代谢产物与还原型谷胱甘肽(Glutathione, GSH)结合反应生成亲水性代谢产物,加快各种外来化学物及其代谢产物排出体外;还可以减少氧化应激过程中产生的脂质过氧化物、胆固醇类过氧化物和脂肪酸类过氧化物,从而阻止氧化应

激对细胞的进一步损伤^[13-15]。谷胱甘肽硫转移酶pi (Glutathione S-transferase pi, GST-pi)是GST的一种亚型,可催化GSH与化疗药物的结合,从而可以保护细胞免受化疗药物的损伤^[16]。

本研究在分析DEHP短期重复暴露对大鼠肝脏氧化指标影响的基础上,进一步探讨DEHP对肝脏II相代谢酶的影响以及在血清、尿液中的代谢水平变化,研究结果不仅能丰富DEHP的基础毒性资料,也可为后续毒性机制、毒性干预等研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

DEHP纯度99.5%(美国Sigma-Aldrich公司);金龙鱼玉米油(市售);考马斯亮蓝试剂盒、MDA试剂盒、SOD试剂盒、GSH-Px试剂盒(南京建成生物工程研究所);大鼠UGT1试剂盒、GST试剂盒、GST-pi试剂盒(上海江莱生物科技有限公司);三羟甲基氨基甲烷(Tris)(国药集团化学试剂有限公司);其他试剂均为国产分析纯。配SPD-20A检测器的高效液相色谱仪LC-20A(日本岛津公司);Enspire Xenon Light Module多功能酶标仪(美国Perkin Elmer公司);Lynx 4000高速冷冻离心机(美国Thermo Fisher公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 试验动物与分组

32只SPF级Sprague Dawley雄性大鼠,4~5周,体质量90~110 g,一批次购于广东省医学动物实验中心,试验动物合格证号:SCXK(粤)2013-0002。单笼饲养,适应性饲养一周后采用随机区组设计分组法^[17]按体质量分为4组,其中依据前人文献报道和DEHP大鼠经口急性毒性LD₅₀(30.6 g·kg⁻¹)设置低(300 mg·kg⁻¹)、中(1 000 mg·kg⁻¹)、高(3 000 mg·kg⁻¹)剂量组^[18],另设对照组,每组8只,低中高剂量组灌胃1 mL DEHP玉米油溶液,对照组以等体积玉米油灌胃。饲养期间大鼠自由摄食、饮水,动物室温度22~24℃,相对湿度45%~55%。按照大鼠的生活习性,每日上午9:00灌胃,以经口灌胃的染毒方式,连续灌胃28 d,每4 d同一时间称大鼠的体质量及饲料消耗量,清洗

水瓶并更换饮水,在第7、14、21、28 d上午9:00收集24 h大鼠尿液。处死大鼠前禁食12 h,继续保持自由饮水。末次染毒24 h后,大鼠断颈处死并迅速分离肝脏。

1.2.2 脏器系数

分离得到的32份大鼠肝脏分别用预冷的生理盐水冲洗,吸水纸吸干后称质量。脏器系数是脏器质量与大鼠体质量之比,计算公式如下:

$$\text{脏器系数} = \frac{\text{脏器质量(g)}}{\text{大鼠体质量(g)}} \times 100\%$$

1.2.3 血清制备

末次染毒24 h后,32只大鼠断颈处死并迅速采血完毕,将采血管分别轻轻颠倒3~5次,室温(20~25℃)静置30 min后,于4℃、3 000 r·min⁻¹离心15 min,待测。

1.2.4 肝匀浆制备

以肝脏质量:体积=1:9的比例加入适量PBS缓冲液,大鼠肝组织通过冷冻研磨仪进行匀浆,得到的匀浆液在4℃下2 000 r·min⁻¹离心20 min,上清液即为10%肝匀浆。

1.2.5 大鼠肝微粒体的制备

取新鲜肝脏,用预冷的PBS缓冲液(0.01 mol·L⁻¹)冲洗后,滤纸吸干,剪取1.5 g,按质量:体积=1:4的比例加入TMS缓冲液(Tris 3.025 g, MgCl₂ 0.304 5 g,蔗糖34.20 g,加蒸馏水溶解, HCl调节pH至7.40,蒸馏水再定容至500 mL),用冷冻研磨仪制备成肝匀浆,4℃高速离心机12 000 g离心20 min,小心吸取上清,按每毫升上清液加0.1 mL 88 mmol·L⁻¹ CaCl₂溶液,轻轻搅拌数次,置冰浴中5 min,再将混合液于4℃高速离心机27 000 g离心15 min,弃去上清,按每克肝组织所得微粒体沉淀重悬于5 mL 0.10 mol·L⁻¹ Tris溶液中(pH=7.40),用移液枪轻轻吹打,洗涤,除去杂蛋白和过量CaCl₂,在4℃高速离心机27 000 g离心15 min,所得沉淀为肝微粒体,上清液为肝胞液^[8]。

32只大鼠的肝匀浆、肝微粒体和肝胞液均采用考马斯亮蓝法定量总蛋白,蛋白标准品浓度为0.563 g prot·L⁻¹,严格按照试剂盒说明书检测SOD、GSH-Px、MDA、UGT1、GST和GST-pi。

1.2.6 大鼠尿液和血清中MEHP含量的测定

将32只大鼠的尿液分别置于10 mL EP离心管中,13 000 r·min⁻¹离心5 min,取1 mL上清液放入新的10 mL离心管中,加入250 μL醋酸铵溶液(1 mol·L⁻¹, pH=6.5)和20 μL β-葡糖醛苷酸酶(200 U·mL⁻¹),摇匀,超声3 min,37℃水浴酶解90 min。酶解处理后

的样品中加入3 mL乙酸乙酯,在旋涡振荡器上充分振荡后,以4 000 r·min⁻¹离心5 min。吸取上层乙酸乙酯至10 mL离心管中,重复萃取3次。将萃取液合并后,45℃氮吹至近干,用乙腈复溶,0.22 μm微孔滤膜过滤后上机^[19]。

1.2.7 统计分析

以SPSS 23.0进行统计学分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,再进行组间两两比较,若方差齐,采用LSD检验;若方差不齐,采用Tamhane's检验, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 DEHP对大鼠体质量的影响

28 d染毒期内各组大鼠体质量均有所增长(图1),3 000 mg·kg⁻¹组体质量在12 d后增速放缓,28 d时体质量显著低于其他各组。

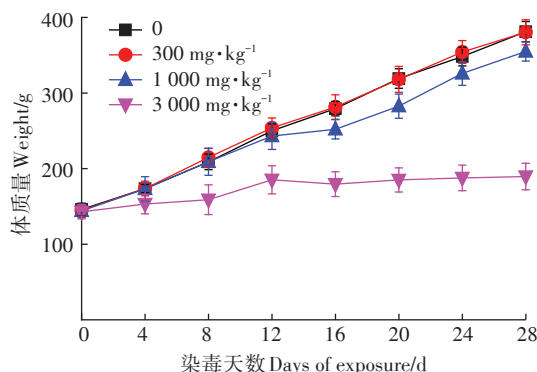


图1 大鼠体质量变化曲线(n=8)

Figure 1 Curves of body weight in rats(n=8)

2.2 DEHP对大鼠脏器系数的影响

各组大鼠肝脏脏器系数显著升高($P < 0.05$)(图2),且呈现剂量-效应关系。3 000 mg·kg⁻¹组肾脏脏器系数极显著高于其他各组($P < 0.01$)。

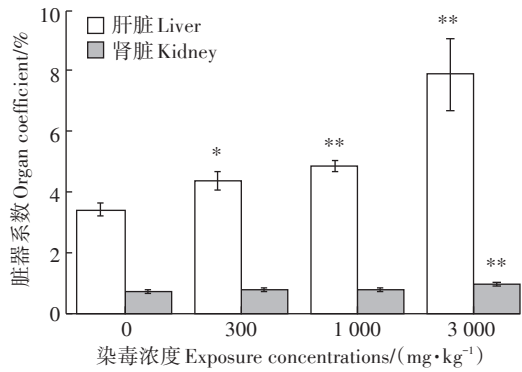
2.3 DEHP对大鼠氧化系统的影响

2.3.1 血清中氧化指标的检测

300、1 000 mg·kg⁻¹组的SOD、GSH-Px活力和MDA含量与对照组差异不显著($P > 0.05$)(表1),3 000 mg·kg⁻¹组SOD、GSH-Px活力显著降低,MDA含量显著升高($P < 0.05$)。

2.3.2 肝脏中氧化指标的检测

肝脏各处理组SOD、GSH-Px活力较对照组有下降趋势(表2),3 000 mg·kg⁻¹组显著降低($P < 0.05$);3 000 mg·kg⁻¹组MDA含量极显著升高($P < 0.01$)。



与对照组比较, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。下同
Compared with the control group, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$. The same below

图2 DEHP对大鼠脏器系数的影响($n=8$)
Figure 2 Effect of DEHP on organ coefficients in rats($n=8$)

表1 大鼠血清中氧化指标($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 1 Oxidation indices in rat serum($\bar{x}\pm s, n=8$)

染毒浓度 Exposure concentrations/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	SOD/ ($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)	GSH-Px/ ($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)	MDA/ ($\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$)
0	290±35	2 180±224	6.54±1.14
300	273±34	2 030±297	6.52±1.89
1 000	274±13	2 080±168	7.07±1.74
3 000	250±30*	1 900±229*	7.45±2.17*

注:与对照组比较, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$ 。下同。
Note: Compared with the control group, *: $P<0.05$; **: $P<0.01$. The same below.

表2 大鼠肝脏中氧化指标($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 2 Oxidation indices in rat liver($\bar{x}\pm s, n=8$)

染毒浓度 Exposure concentrations/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	SOD ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$)	GSH-Px/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{prot}$)	MDA/ ($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$)
0	1 750±371	690±139	1.76±0.29
300	1 630±302	681±78	2.18±0.60
1 000	1 560±321	614±114	2.00±0.29
3 000	1 450±633*	606±151*	2.42±0.49**

2.4 DEHP对肝微粒体中Ⅱ相酶UGT1、GST及GST-pi的影响

肝微粒体各处理组UGT1、GST-pi含量较对照组呈升高趋势(图3),其中1 000、3 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组UGT1含量极显著升高($P<0.01$)。与对照组相比,3 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组GST含量极显著升高($P<0.01$)。染毒各组GST-pi含量均显著升高($P<0.05$)。

2.5 DEHP在体内的代谢情况

2.5.1 血清中MEHP含量

血清各组MEHP含量随染毒剂量加大而增加(图4),对照组有微量检出,1 000、3 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组MEHP

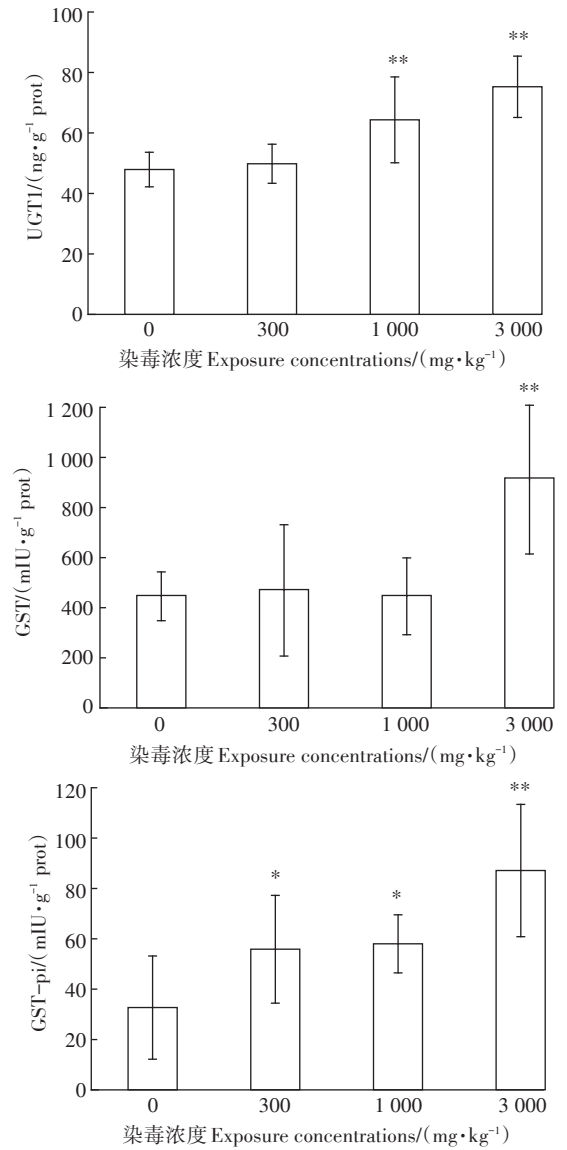


图3 大鼠肝脏中UGT1、GST及GST-pi的含量($n=8$)
Figure 3 Levels of UGT1, GST and GST-pi in rat liver($n=8$)

含量较对照组极显著升高($P<0.01$)。

2.5.2 尿液中MEHP含量变化趋势

28 d染毒期内尿液各组MEHP含量先升高(图5),在第7 d达到峰值,随后逐渐降低,在第28 d降到最低。在整个试验周期内,对照组尿液均有微量MEHP检出。

3 讨论

氧化应激反映了机体活性物质(包括活性氧和活性氮)产生和消除的不平衡,以及抗氧化剂产生的减少^[20]。SOD和GSH-Px是体内的主要抗氧化酶,它们可以通过清除自由基来保护细胞免受氧化应激的伤

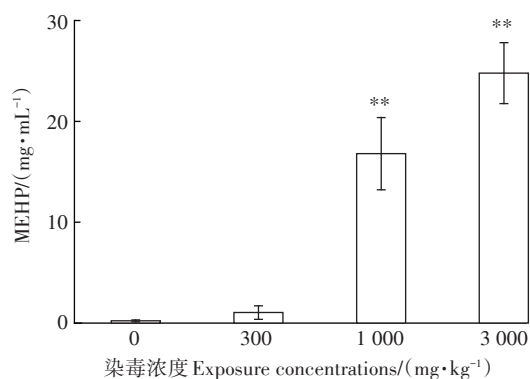


图4 血清中MEHP的含量(n=8)

Figure 4 Level of MEHP in serum(n=8)

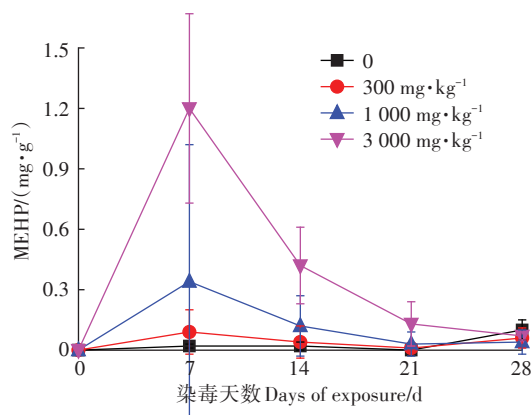


图5 尿液中MEHP含量变化曲线(n=8)

Figure 5 Curves of MEHP in urine(n=8)

害。MDA是细胞中多不饱和脂肪酸过氧化的最终产物之一,其过量产生与自由基的增加有关,因此该指标可以反映机体组织内脂质过氧化的程度^[21-22]。在本研究中,大鼠体质量增长速度随着DEHP染毒剂量的增加而减缓,肝脏脏器系数却显著升高,与Li等^[23]的报道一致,说明DEHP会造成肝脏损伤,影响动物生长。高剂量的DEHP显著降低大鼠血清和肝脏中SOD、GSH-Px活力,增加MDA含量($P<0.05$)。这与Luo等^[24]的研究结果相似,Nrf2通路是细胞内重要的调节氧化还原反应的信号通路,可通过调节下游抗氧化酶的表达预防氧化应激,然而高剂量DEHP暴露会过表达Nrf2,导致Nrf2的持续积累,抑制Nrf2下游基因表达,阻断了Nrf2介导的氧化应激防御反应,从而提高ROS的含量。Nrf2下游基因表达被抑制,使抗氧化酶含量下降,ROS的升高增加了MDA的含量,引起大鼠体内的氧化应激和脂质过氧化,导致大鼠肝脏氧化损伤,并且染毒剂量越大,染毒时间越长,毒性作用越强,各项指标差异越显著,呈现明显的剂量-效应关系。

Ⅱ相代谢酶UGT1通过催化DEHP代谢产物

MEHP在肝脏的葡萄糖醛酸化反应,改变其官能团,增加MEHP水溶性,使其便于从尿液等途径排出体外^[25-26];GST、GST-pi均为受Nrf2信号通路调节的靶基因^[27],其中GST可通过亲电性物质改变成亲水性物质,不仅有利于化合物从尿液排出,还保护组织免受氧化应激的损伤^[13-15];而GST-pi是GST的一类亚型,可保护细胞免受化疗药物的损伤^[28]。在本研究中,随着DEHP染毒剂量的增加,大鼠肝脏的UGT1、GST、GST-pi含量总体呈现逐渐升高的趋势,在高剂量组中,UGT1、GST和GST-pi含量极显著升高($P<0.01$)。这说明来自DEHP的刺激诱导肝脏Ⅱ相代谢酶UGT1、GST、GST-pi的合成增加,提升其含量,从而促进大鼠肝脏加强对DEHP的解毒,使DEHP更容易从大鼠体内排出;GST含量的升高还意味着大鼠肝脏在抵抗DEHP诱导发生的氧化应激和脂质过氧化反应,减少肝脏的氧化损伤。

MEHP是DEHP在大鼠体内的代谢产物,其毒性是DEHP的10倍^[29],在肝脏经过葡萄糖醛酸结合反应后随着尿液排出体外^[26]。在本研究中,大鼠尿液中MEHP含量在染毒第7d时最高,并且染毒剂量越大,峰值越高,在第7d之后,MEHP含量降低。这可能是由于大鼠受到DEHP的刺激后,肝脏开始应激性调节,加强解毒作用,促使MEHP经过葡萄糖醛酸化反应后通过尿液途径排出体外;在DEHP暴露28d后,大鼠血清中的MEHP含量随染毒剂量加大而升高,且高剂量组的肾脏脏器系数极显著高于对照组($P<0.01$),反映出随着染毒时间的延长,肝脏虽然仍在代谢DEHP,生成代谢产物MEHP,但可能因为持续的染毒,导致肾脏排泄能力下降,使得肝脏代谢的MEHP蓄积在血液中,无法随尿液排出体外,进而使后期大鼠尿液中MEHP均有所减少。而本实验对照组大鼠也被检出少量MEHP,推测可能是因为对照组与各染毒组饲养在同一环境中,加上饮水中也会有极微量DEHP^[2],导致对照组不可避免地摄入DEHP。

4 结论

- (1)DEHP有致大鼠肝脏氧化损伤的毒性。
- (2)DEHP会诱导肝脏Ⅱ相代谢酶UGT1、GST和GST-pi含量升高,从而使得大鼠肝脏解毒作用反馈性增强。
- (3)DEHP的代谢产物MEHP在尿液中的含量与DEHP染毒剂量呈剂量-效应关系,且均在染毒第7d时达到最高值。

参考文献:

- [1] Miodovnik A, Edwards A, Bellinger D C, et al. Developmental neurotoxicity of ortho-phthalate diesters: Review of human and experimental evidence[J]. *Neuro Toxicology*, 2014, 41: 112-122.
- [2] Gao D, Li Z, Wang H, et al. An overview of phthalate acid ester pollution in China over the last decade: Environmental occurrence and human exposure[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 645: 1400-1409.
- [3] Yang L, Yang B, Lu D, et al. The dynamic assessment of toxicity and pathological process of DEHP in germ cells of male Sprague Dawley rats[J]. *Reproductive Biology*, 2020, 20(4): 465-473.
- [4] Wang W, Leung A O W, Chu L H, et al. Phthalates contamination in China: Status, trends and human exposure-with an emphasis on oral intake[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 238: 771-782.
- [5] 王晓南, 张瑜, 王婉华, 等. 邻苯二甲酸二乙基己酯(DEHP)污染及其毒性研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(3): 135-150. WANG Xiao-nan, ZHANG Yu, WANG Wan-hua, et al. Environmental pollution and toxicity of DEHP[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(3): 135-150.
- [6] Wang S, Cao Y, Wang S, et al. DEHP induces immunosuppression through disturbing inflammatory factors and CYPs system homeostasis in common carp neutrophils[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 96: 26-31.
- [7] Molino C, Filippi S, Stoppiello G A, et al. *In vitro* evaluation of cytotoxic and genotoxic effects of Di (2-ethylhexyl) -phthalate (DEHP) on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) embryonic cell line[J]. *Toxicology in Vitro*, 2019, 56: 118-125.
- [8] 刘瑞菁, 贺永健, 刘焕, 等. DEHP对大鼠肝组织及肝细胞色素P450酶系的影响[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(7): 2749-2754. LIU Rui-jing, HE Yong-jian, LIU Huan, et al. Effects of DEHP on hepatic tissue and cytochrome P450 enzymes in liver of rats[J]. *China Environmental Science*, 2017, 37(7): 2749-2754.
- [9] Chiu C, Sun S, Chiang C, et al. Plasticizer di (2-ethylhexyl) phthalate interferes with osteoblastogenesis and adipogenesis in a mouse model [J]. *Journal of Orthopaedic Research*, 2018, 36(4): 1124-1134.
- [10] Koch H M, Bolt H M, Preuss R, et al. New metabolites of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP[J]. *Archives of Toxicology*, 2005, 79(7): 367-376.
- [11] Yang N, Sun R, Liao X, et al. UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) and their related metabolic cross-talk with internal homeostasis: A systematic review of UGT isoforms for precision medicine[J]. *Pharmacological Research*, 2017, 121: 169-183.
- [12] Meech R, Hu D G, Mckinnon R A, et al. The UDP-Glycosyltransferase (UGT) superfamily: New members, new functions, and novel paradigms[J]. *Physiological Reviews*, 2019, 99(2): 1153-1222.
- [13] Allocati N, Masulli M, Di Ilio C, et al. Glutathione transferases: Substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases[J]. *Oncogenesis*, 2018, 7(1): 8-15.
- [14] Hayes J D, Flanagan J U, Jowsey I R. Glutathione transferases[J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2005, 45(1): 51-88.
- [15] 韩永龙, 李丹, 孙习鹏, 等. 中药对Ⅱ相药物代谢酶GST和UGT的影响[J]. *中国药房*, 2010(3): 274-276. HAN Yong-long, LI Dan, SUN Xi-peng, et al. Effects of Chinese medicine on phase II drug metabolizing enzymes GST and UGT[J]. *China Pharmacy*, 2010(3): 274-276.
- [16] Parker L J, Bocedi A, Ascher D B, et al. Glutathione transferase P1-1 as an arsenic drug-sequestering enzyme[J]. *Protein Science*, 2017, 26(2): 317-326.
- [17] 周一平. 用Excel软件进行药物毒理实验的随机分组[J]. *药学进展*, 2005(9): 425-427. ZHOU Yi-ping. Randomized block design with Excel software in drug toxicology research[J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2005(9): 425-427.
- [18] Gesler R M. Toxicology of di-2-ethylhexyl phthalate and other phthalic acid ester plasticizers[J]. *Environmental Health Perspectives*, 1973, 3: 73-79.
- [19] 王玮, 郭欣, 闻福, 等. 孕妇尿中五种邻苯二甲酸酯代谢产物的液-液萃取反相高效液相色谱测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2011, 28(8): 711-713. WANG Wei, GUO Xin, WEN Fu, et al. Determination of five phthalate metabolites in urine of pregnant women by liquid-liquid extraction-reversed-phase high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Environment and Health*, 2011, 28(8): 711-713.
- [20] Tan H K, Yates E, Lilly K, et al. Oxidative stress in alcohol-related liver disease[J]. *World Journal of Hepatology*, 2020, 12(7): 332-349.
- [21] Ito F, Sono Y, Ito T. Measurement and clinical significance of lipid peroxidation as a biomarker of oxidative stress: Oxidative stress in diabetes, atherosclerosis, and chronic inflammation[J]. *Antioxidants*, 2019, 8(3): 72.
- [22] 陈文婕, 戴红, 陈敏, 等. 邻苯二甲酸二乙基己酯(DEHP)对小白鼠肝脏毒性及脂质过氧化损伤[J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(1): 93-98. CHEN Wen-jie, DAI Hong, CHEN Min, et al. Hepatotoxic effect and lipid oxidative damage of diethylhexyl phthalate (DEHP) on mice[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(1): 93-98.
- [23] Li Y, Zhang Q, Fang J, et al. Hepatotoxicity study of combined exposure of DEHP and ethanol: A comprehensive analysis of transcriptomics and metabolomics[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2020, 141: 111370.
- [24] Luo Y, Li X, Zhao Y, et al. DEHP triggers cerebral mitochondrial dysfunction and oxidative stress in quail (*Coturnix japonica*) via modulating mitochondrial dynamics and biogenesis and activating Nrf2-mediated defense response[J]. *Chemosphere*, 2019, 224: 626-633.
- [25] Sugatani J. Function, genetic polymorphism, and transcriptional regulation of human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1[J]. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2013, 28(2): 83-92.
- [26] Hanioka N, Kinashi Y, Tanaka-Kagawa T, et al. Glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate in humans: Roles of hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases[J]. *Archives of Toxicology*, 2017, 91(2): 689-698.
- [27] Bartolini D, Comodi J, Piroddi M, et al. Glutathione S-transferase pi expression regulates the Nrf2-dependent response to hormetic diselenides[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2015, 88: 466-480.
- [28] Singh S. Cytoprotective and regulatory functions of glutathione S-transferases in cancer cell proliferation and cell death[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2015, 75(1): 1-15.
- [29] Yang G, Zhang W, Qin Q, et al. Mono(2-ethylhexyl) phthalate induces apoptosis in p53-silenced L02 cells via activation of both mitochondrial and death receptor pathways[J]. *Environmental Toxicology*, 2015, 30(10): 1178-1191.