# 三种有机紫外吸收剂对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)鳃组织抗氧化能力和细胞 周亡相关基因表达的影响<sup>\*</sup>

张韦炜<sup>1,2</sup> 董飞龙<sup>1,2</sup> 荆 晨<sup>1,2</sup> 刘尚书<sup>1,2</sup> 胡丰晓<sup>1,2</sup>

(1. 福建农林大学海洋学院 福建福州 350002; 2. 福建省海洋生物技术重点实验室 福建福州 350002)

摘要 二苯甲酮-3 (BP-3)、4-甲基苄亚基樟脑(4-MBC)和 4-甲氧基肉桂酸-2-乙基己酯(EHMC)是三 种常用的有机紫外吸收剂,在水环境中被频繁检出,对水生生态系统安全构成潜在威胁。为探究三种 有机紫外吸收剂对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)鳃组织抗氧化响应和相关细胞凋亡基因的影 响,将蛤仔分别暴露于环境相关浓度的三种紫外吸收剂溶液中,检测鳃组织抗氧化酶活性和细胞凋 亡相关基因转录水平,并通过第二代整合生物标志物响应法(IBRv2)对三种紫外吸收剂的生物毒性 进行比较分析。结果显示,三种紫外吸收剂短期暴露会诱导抗氧化响应提高抗氧化能力,而长期高浓 度暴露会导致抗氧化能力的降低。BP-3、4-MBC 和 EHMC 可能通过启动线粒体途径和 *fas* 介导的死 亡受体途径诱导菲律宾蛤仔鳃组织产生细胞凋亡。通过 IBRv2 分析发现,在环境常见浓度 1 µg/L 的 暴露水平下,短期(1 d, 7 d)暴露时, BP-3 对菲律宾蛤仔鳃组织表现出的综合毒性效应最强,而随着暴 露时间的延长(28 d),三种紫外吸收剂表现出的综合毒性效应相近。研究结果为水环境中有机紫外吸 收剂的生态风险评估提供了参考数据。

关键词 有机紫外吸收剂; 菲律宾蛤仔; 鳃; 氧化胁迫; 细胞凋亡; 整合生物标志物响应法 中图分类号 Q957; S968.3; Q789 doi: 10.11693/hyhz20230600126

紫外吸收剂(UV filters)可以反射或吸收紫外辐 射,被广泛应用于防晒霜、乳液、肥皂、口红、牙膏、 香水等个人护理产品(personal care products, PCPs)以 及建筑材料、涂料、粘合剂、玻璃和鞋子等(Carve et al, 2021)。这些化合物可分为两类:无机紫外吸收剂 和有机紫外吸收剂(Langford et al, 2015)。有机紫外吸 收剂主要通过吸收紫外来发挥作用,其中二苯甲酮-3 (Benzophenone-3, BP-3)、4-甲基苄亚基樟脑(4-methylbenzylidene camphor, 4-MBC)和 4-甲氧基肉桂酸-2-乙 基己酯(2-ethyl-hexyl-4-trimethoxycinnamate, EHMC) 用途广泛且使用量巨大(Ruszkiewicz et al, 2017)。有 机紫外吸收剂通过两种主要途径进入水生环境:游 泳等娱乐活动的直接输入和废水处理厂的间接输入。 大多数有机紫外吸收剂是高度亲脂性的,因此可以 在生物体和人体中富集。

近年来,有机紫外吸收剂污染在废水、湖泊、河流和海水以及沉积物中被频繁检出。例如,有研究发现 EHMC 在处理过的废水中的浓度在 0.01~0.1 mg/L 之间,在未经处理的城市废水中高达 19 mg/L (Balmer *et al*, 2005)。BP-3 和 4-MBC 在澳大利亚废水中的含量分别高达 1 340 和 691 ng/L (O'Malley *et al*, 2020)。BP-3 和 EHMC 在中国巢湖中的检测浓度分别达到 68.4 和 32.2 ng/L (Tang *et al*, 2018)。在日本河流地表水中 BP-3 含量为 16~41 ng/L 之间(Kameda *et al*,

通信作者: 胡丰晓, 博士, 硕士生导师, E-mail: hufengxiao@fafu.edu.cn 收稿日期: 2023-06-18, 收修改稿日期: 2023-09-19

<sup>\*</sup> 自然资源部东南生态脆弱区监测修复工程技术创新中心自主研究课题, KY-090000-04-2022-017 号; 福建省大学生创新创 业计划项目, S202210389038 号。张韦炜, 硕士研究生, E-mail: zhangweiwei0605@126.com

2011), 4-MBC 和 EHMC 在维多利亚州菲利普湾河口 地表水中的含量分别高达 642 和 640 ng/L (Allinson *et al*, 2018)。4-MBC 和 EHMC 在香港近岸海水中为 98.67 和 55.7 ng/L (Tsui *et al*, 2015), 在台湾万里通和 南海附近海水中 BP-3 浓度分别高达 1233 和 55.7 ng/L (Kung *et al*, 2018; Pei *et al*, 2023)。在智利和哥伦比亚 的海洋沉积物中发现 BP-3、4-MBC 和 EHMC 的最高 浓度分别为 2.5、7.9 和 17.8 ng/g(DW) (Rodil *et al*, 2009), 而 EHMC 在中国香港和珠江口的海洋沉积物 中甚至分别达到 447 ng/g 和 0.5 mg/g(DW) (Tsui *et al*, 2015; Huang *et al*, 2016)。以上数据显示,这类新兴的 环境污染物在水体中广泛存在,对水生生态系统安 全造成威胁。

近年来,越来越多的研究开始关注有机紫外吸 收剂 BP-3、4-MBC 和 EHMC 污染对水生动物造成的 负面影响,包括发育毒性、生殖毒性、内分泌毒性和 神经毒性等。例如,在 4-MBC 暴露下,塞内加尔鳎 (Solea senegalensis)的体长缩短、CAT 活性下降和氧 化损伤增加(Araújo et al, 2021)。EHMC 导致斑马鱼 (Danio rerio)孵化延迟、畸形增加、多种抗氧化酶活 性降低(Nataraj et al, 2020)。BP-3 和 4-MBC 暴露会影 响大型溞(Daphnia magna)的蜕皮和发育,并上调内 分泌相关基因 usp 的表达(Lambert et al, 2021)。BP-3 能通过 MAPK/ERK 信号通路诱导斑马鱼肠神经系统 异常发育(Wang et al, 2021)。然而,关于 BP-3、4-MBC 和 EHMC 对海洋无脊椎动物的毒性研究鲜有报道。

菲律宾蛤仔(Ruditapes philippinarum)(俗称花 蛤、杂色蛤)目前已成为世界范围内的重要养殖贝类 之一,也常被用作毒理学实验对象和环境指示物种 (Marisa et al, 2021)。鳃作为滤食性贝类的呼吸和摄食 器官,与海水直接接触,在对外源污染物的摄入、富 集和解毒代谢过程中发挥关键作用(Li et al, 2020)。本 研究将菲律宾蛤仔暴露于不同浓度的三种有机紫外 吸收剂(BP-3、4-MBC 和 EHMC)海水溶液中,检测鳃 组织抗氧化酶活性、脂质过氧化水平和细胞凋亡相关 基因转录水平的剂量和时间特异性变化,并通过第 二代整合生物标志物响应法(IBRv2)来比较分析菲律 宾蛤仔对 BP-3、4-MBC 和 EHMC 的综合毒性响应, 为典型有机紫外吸收剂对海洋无脊椎动物的毒性效 应研究提供参考数据。

- 1 材料与方法
- 1.1 实验材料 有机紫外吸收剂: BP-3 (CAS#131-57-7, 纯度≥98%)、

4-MBC (CAS#36861-47-9, 纯度 ≥98%)、 EHMC (CAS#5466-77-3, 纯度≥98%)和内标 BP-3-d<sub>5</sub>(纯度≥ 99%)购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司。二甲 基亚砜(DMSO, 纯度≥99%)、纯水、丙酮和甲醇均购 自美国 Thermo 公司。本研究中各组 DMSO 最终浓度 均低于 0.001%, 以避免溶剂效应的干扰 (Aguirre-Martínez *et al*, 2016)。

1.2 实验动物和实验设计

菲律宾蛤仔[(3.61±0.14) cm]购自福州市西营里 水产市场。在暴露实验之前,将菲律宾蛤仔置于 40 L 塑料养殖箱中暂养一周、连续曝气、水温控制在 (15±1)°C, 盐度 32, pH 8.1~8.3, 溶解氧(8.0±1.0) mg/L。 每日人工投喂螺旋藻粉两次[30 mg/(ind./d)]。暂养结 束后、将菲律宾蛤仔暴露于不同浓度(0、1、10和 100 µg/L)的 BP-3、4-MBC 和 EHMC 海水溶液中 28 d, 每组设置 3 个重复(每个重复 50 只贝)。其中, 1 μg/L 为 3 种有机紫外吸收剂的水环境常见浓度(Balmer et al, 2005; Richardson et al, 2011), 10 和 100 µg/L 仅能 在极端环境检测到(Mao et al, 2019; Huang et al, 2021)。每天更换全部海水并加入适量的污染物,以保 持 BP-3、4-MBC 和 EHMC 的浓度相对稳定。每周采 集一次水样冻于-80 °C 冰箱, 留待测定紫外吸收剂 的实际浓度。在暴露 1 d、7 d 和 28 d 时,从每个平行 组中随机选择 10 只菲律宾蛤仔, 解剖收集鳃组织, 置于-80°C中冻存。

#### 1.3 暴露溶液中紫外吸收剂的定量

采用固相萃取法(SPE)对水样(5 mL, N=3)进行富 集和净化。用4mL甲醇和LC级纯水对OASIS®HLB (500 mg, 6 mL)固相萃取柱(Waters, USA)进行预处 理。在水样中加入内标 BP-3-d<sub>5</sub>并将 pH 调整为 3.0。 装样后、用 5 mL 水清洗试剂盒、然后用 4 mL 丙酮/ 甲醇(1:1, V/V)和6 mL 甲醇洗脱, 洗脱液于1 mL 水/ 甲醇(1:1, V/V)中在氮气流(40°C)下轻轻干燥。参照 Fisch 等(2021)描述的方法,在 Waters ACQUITY UPLC®H-Plus Class 高效液相色谱系统与 Waters® XevosTM TQ-XS 质谱仪(TQ-XS/MS) (Milford, MA, USA)上进行定量分析。目标物质在色谱柱 ACQUITY UPLC®C18 (2.1 mm×50 mm, 1.7 µm 粒径) (Waters, Ireland)上进行色谱分离。BP-3、4-MBC和 EHMC 的 平均回收率分别为 89%、92%和 97%。BP-3、4-MBC 和 EHMC 的检出限定义为信噪比 3:1, 分别为 1.5、 4.2 和 1.5 ng/L。

1.4 鳃组织氧化应激相关指标检测

称取 100 mg 鳃组织, 将样品加入液氮后研磨,

根据质量体积比加入9倍预冷的PBS缓冲液,旋涡振 荡器充分混匀,制备组织匀浆液。冰上静置 5 min 后, 3 000 r/min、4 °C 离心 10 min,取上清液用于酶活性 检测。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、 谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽 S 转移酶(GST) 活性以及谷胱甘肽还原酶(GSH)、丙二醛(MDA)含量 的测定均采用比色法,所用检测试剂盒均购自南京 建成生物工程研究所。

## 1.5 荧光定量 PCR

鳃组织总 RNA 采用 Fast Pure® Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2 (南京诺唯赞生物科技有限公司) 试剂盒提取。RNA 完整性通过 1%琼脂糖凝胶电泳检 测, 纯度用 NanoDrop ND-2000c 仪器(赛默飞世尔科 技公司)进行定量。使用 HiScript® Q RT SuperMix for qPCR (gDNA wiper) (南京诺唯赞生物科技股份有 限公司)逆转录试剂盒将 RNA 进行反转录获得 cDNA 模板。使用 ChamQTM Universal SYBR® qPCR Master Mix 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)在 Roche Light Cycle® 480 荧光定量 PCR 仪(瑞士罗 氏)上进行 qPCR 反应。以  $\beta$ -actin 作为内参基因, 采 用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法来计算目的基因的相对表达量(Livak *et al*, 2001; Volland et al, 2017)。引物通过 NCBI 网站的在 线工具 Primer-Blast 设计,目标及内参基因的引物序 列见表 1。

÷	表 1	引物序列		
Tab.1	The	primer sequences		
리는 아이지 않는 것이 같아.				

基因名称	引物序列(5'~3')	序列长度/bp
p53	F: CCAAGCTCCAGAAGTCGGAA R: CATGCGTTTCGGTGAAGGTC	184
gadd45	F: GATTGTTTGAGTCGGCGCAT R: CCACTTGGGAGGATGCATGT	70
cdk	F: TCTCCTGCCTTTGGTTGTCTG R: AGTGGCAGGGAAACTTACTGA	177
fas	F: TCCCTTGGGAAACACTGGTC R: AACACTGGTGGATCTGTTCCT	112
caspase-2	F: AGCGCAGATCTTGTAGCCAA R: TCAAATGCACGTGGACCTCT	143
bcl-2	F: TTTGCGGGTGCTATGTCAGT R: AACTGGCAAGTCCACTCTCG	83
$\beta$ -actin	F: GCGACGTCGACACCTCTATG R: CGCCGGAGTCCATCACAATA	93

#### 1.6 第二代整合生物标志物响应法(IBRv2)

整合生物标志物响应法(Integrated Biomarker Response, IBR)由法国生态毒理学家 Benoit Beliaeff 和 Thierry Burgeot 首创, 经过 Wilfried Sanchez 等改 良后形成 IBRv2法, 用于全面评估各种毒理因子对生 物的毒害效应。本研究将 SOD、CAT、GPx、GST 的 酶活性和 GSH、MDA 含量, 以及 *p53、gadd45、cdk*、 *bcl-2、fas*和 *caspase-2* 基因转录水平这 12 个指标全部带入,计算菲律宾蛤仔鳃组织的 IBRv2 指数。

#### 计算方法如下:

(1) 数值标准化

 $Y_n = lg(X_n/X_0),$  (1) 其中,  $X_n$ 为某一生物标志物在某暴露条件下的均值,  $X_0$ 为对照组平均值,  $Y_n$ 为标准化值。

(2) 数值均一化

 $Z_n = (Y_n - M) / S,$  (2) 其中, M为所有暴露条件下的总均值, S为所有暴露条 件下的总标准差,  $Z_n$ 为均一化值。

(3) 赋值

$$A = Z_n - Z_0, \tag{3}$$

其中, Z<sub>0</sub>为对照组某生物标志物均一化值, A 为某生物标志物在某暴露条件下的生物标志物偏差系数, 正值代表诱导, 负值代表抑制。

(4) 计算 IBRv2 值

$$IBRv2 = \Sigma |A|/n.$$
 (4)

1.7 数据统计分析

本研究所有数据分析均通过 SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)实验数据表示为平均值±标准差 (mean±S.D.)。数据的方差齐性和正态性首先采用 Kolmogorov-Smirnov 检验和 Levene's 检验。对照组与 实验组间的数据差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 差异显著性通过 Tukey's HSD 检验, 显著 性水平为 *P*<0.05。

#### 2 结果

2.1 暴露溶液中紫外吸收剂水平分析

暴露溶液中紫外吸收剂的实际浓度见表 2。结果 表明, 实际的 BP-3 水平相对稳定, 与暴露试验期间

表 2 暴露溶液中的紫外吸收剂浓度

Tab.2	Concentrations of UV filters in exposure solutions

姕外吸收刻	标定波度/(ug/L)	实际浓度/(μg/L)		
示기 72 42 /13	$\pi \mathcal{L} \mathcal{R} \mathcal{R} \mathcal{R} (\mu g \mathcal{L}) =$	换水前	换水后	
BP-3	1	$1.0\pm0.2$	$1.2 \pm 0.3$	
	10	$9.2\pm0.4$	$9.8\pm0.7$	
	100	$89.5\pm3.7$	$94.6\pm2.3$	
4-MBC	1	$0.8\pm0.1$	$1.1 \pm 0.2$	
	10	$8.6\pm0.9$	$9.5 \pm 1.2$	
	100	$79.0\pm3.8$	$93.4\pm4.4$	
ЕНМС	1	$0.5\pm0.2$	$0.8 \pm 0.3$	
	10	$5.2\pm0.8$	$8.3 \pm 1.5$	
	100	$64.2\pm4.7$	$89.7\pm5.6$	

的 BP-3 标定浓度接近;换水后 4-MBC 的测量浓度基本与标准值相当,而在下一次换水前 4-MBC 的测量浓度下降了约 20%;EHMC 换水前、后实际暴露浓度分别为标定浓度的 50%~95.3%和 30%~68.9%。

#### 2.2 鳃组织抗氧化酶活性分析

如图 1 所示,在 BP-3、4-MBC 和 EHMC 胁迫下, 鳃组织 SOD 活性在 1 d 时显著上升(P<0.05),随着暴 露时间的延长恢复到接近或低于对照组水平(除 1 µg/L 4-MBC 组暴露 28 d 仍高于对照组水平)(P<0.05)。BP-3 和 4-MBC 暴露 1 d 时 CAT 活性受到明显抑制(P<0.05), 7 d 和 28 d 时恢复到对照组水平,而 EHMC 暴露对 CAT 活性无显著影响。在 BP-3、4-MBC 和 EHMC 胁 迫下, 鳃组织 GPx 活性在 1 d 和 7 d 时无显著变化(除 1  $\mu$ g/L BP-3 组暴露 7 d 仍高于对照组水平), 随着暴露 时间的延长, GPx 活性低于对照组水平(P<0.05)。 4-MBC 暴露 1 d 时 GSH 含量显著下降, 随着暴露时 间的延长, GSH 含量恢复到接近或低于对照组水平 (除 1  $\mu$ g/L 4-MBC 组暴露 28 d 仍高于对照组水平) (P<0.05); 而在 BP-3 和 EHMC 胁迫下, 鳃组织 GSH 含量在 1 d 时无显著变化, 随着暴露时间的延长, GSH 含量恢复到接近或低于对照组水平(除 1  $\mu$ g/L BP-3 组暴露 7 d 仍高于对照组水平) (P<0.05)。 BP-3、 4-MBC 和 EHMC 暴露对 GST 活性无显著影响(除 1  $\mu$ g/L EHMC 组暴露 7 d 低于对照组水平)。



图 1 不同浓度的 BP-3、4-MBC 和 EHMC 暴露及不同暴露阶段对菲律宾蛤仔鳃 SOD、CAT、GPx、GST 活性和 GSH 含量的影响(1 d、7 d 和 28 d)

Fig.1 Activities of SOD, CAT, GPx, and GST, and the content of GSH in gills of *R. philippinarum* exposed to different concentrations of UV filter (BP-3, 4-MBC, and EHMC) for 1, 7, and 28 days 注:不同字母表示组间显著性差异(P<0.05)。下同</p>

#### 2.3 鳃组织 MDA 含量分析

与对照组相比, BP-3 (100 μg/L)和 4-MBC (10 和 100 μg/L)暴露组在1 d时 MDA 含量显著降低(*P*<0.05), 而随着暴露时间延长, BP-3、4-MBC 和 EHMC 各暴 露组与对照组相比无显著性差异(图 2)。

# 2.4 鳃组织细胞凋亡相关基因表达分析

如图 3 所示,在 BP-3、4-MBC 和 EHMC 胁迫下,

鳃组织 *p53、gadd45* (除 10 μg/L BP-3 组、1 μg/L
4-MBC 组显著上调)、*cdk* (除 100 μg/L EHMC 组显著上调)基因相对表达量在1d时显著下调(*P*<0.05), 7d</li>
时 *p53* (除 10 μg/L EHMC 组显著下调)、*gadd45* (除各浓度 BP-3 组显著下调)、*cdk* (除 1、10 μg/L BP-3 组显著下调)基因相对表达量显著上调(*P*<0.05)。BP-3、</li>
4-MBC 和 EHMC 暴露1d时 *fas* 基因相对表达量显著



图 2 不同浓度的 BP-3、4-MBC 和 EHMC 暴露及不同暴露阶段对菲律宾蛤仔鳃 MDA 含量的影响(1 d、7 d 和 28 d) Fig.2 Content of MDA in gills of *R. philippinarum* exposed to different concentrations of UV filter (BP-3, 4-MBC and EHMC) for 1, 7, and 28 days



图 3 不同浓度的 BP-3、4-MBC 和 EHMC 暴露及不同暴露阶段对菲律宾蛤仔鳃细胞凋亡相关基因 p53、gadd45、cdk、fas、 caspase-2 和 bcl-2 表达量的影响(1 d、 7 d 和 28 d)

Fig.3 mRNA expression of apoptosis-related genes *p53*, *gadd45*, *cdk*, *fas*, *caspase-2*, and *bcl-2* in gills of *R*. *philippinarum* exposed to different concentrations of UV filter (BP-3, 4-MBC, and EHMC) for 1, 7, and 28 days

下调(P<0.05),随着暴露时间的延长恢复到接近或高 于对照组水平(除各浓度组 BP-3 暴露 7 d 低于对照组 水平)(P<0.05)。在 BP-3 和 4-MBC 胁迫下,鳃组织 *caspase-2* 基因相对表达量在 1 d 时显著下调(除 10 μg/L BP-3 组显著上调)(P<0.05),随着暴露时间的 延长恢复到接近或高于对照组水平(P<0.05);而 EHMC 暴露 7 d 下调了 *caspase-2* 基因相对表达量(除 100 μg/L EHMC 组显著上调) (*P*<0.05), 28 d 时高于对 照组水平(*P*<0.05)。BP-3 暴露 1 d和 7 d时下调了 *bcl-2* 基因相对表达量(*P*<0.05), 暴露至 28 d 时则高于对照 组水平(*P*<0.05); 在 4-MBC 和 EHMC 胁迫下, 鳃组织 *bcl-2* 基因相对表达量在 7 d 时显著上调(*P*<0.05), 28 d 时显著下调(P<0.05)。

2.5 IBRv2 分析

如图 4 所示, 雷达图展示出不同浓度的三种紫 外吸收剂暴露 1、7 和 28 d 菲律宾蛤仔鳃中生物标 志物的偏差系数, 反映出不同生物标志物对不同浓 度紫外吸收剂暴露的响应差异。结果发现, 暴露于 1 µg/L 的三种紫外吸收剂中, 1 d 时 SOD 活性、GSH 含量和 cdk 转录水平变化幅度较大; 7 d 时 fas 和 caspase-2 转录水平变化幅度较大; 28 d 时 p53 和 gadd45转录水平变化幅度较大。暴露于 10  $\mu$ g/L 的 三种紫外吸收剂中,1 d 时主要是 GSH 含量变化幅度 最大;7 d 时 GST 活性、p53 和 fas 转录水平变化幅 度较大;28 d 时 CAT 和 GPx 活性以及 caspase-2 转录 水平变化幅度较大。暴露于 100  $\mu$ g/L 的三种紫外吸 收剂中,1 d 时主要是 MDA 含量变化幅度最大;7 d 时主要是 GPx 和 GST 活性以及 fas 转录水平变化幅 度较大;28 d 时主要是 GPx 活性和 caspase-2 转录水 平变化幅度较大。



图 4 不同浓度的 BP-3、4-MBC 和 EHMC 暴露及不同暴露阶段菲律宾蛤仔鳃组织生物标志物偏差系数(1 d、 7 d 和 28 d) Fig.4 Values of multi-biomarker deviation index in gills of *R. philippinarum* exposed to different concentrations of UV filter (BP-3, 4-MBC, and EHMC) for 1, 7, and 28 days

对环境常见浓度 1 μg/L 的三种紫外吸收剂暴露 下菲律宾蛤仔鳃组织的 12 种生物标志物响应的偏差 系数绝对值进行求和,得到 1 μg/L 三种紫外吸收剂 在暴露 1 d、7 d 和 28 d 的 IBRv2 指数(图 5)。结果显 示, 三种紫外吸收剂的 IBRv2 值在暴露 1 d 时为 BP-3 (1.20) > 4-MBC (1.08) > EHMC (0.79); 暴露 7 d 时为 BP-3 (1.21) > EHMC (0.89) > 4-MBC (1.18); 暴露 28 d时为 BP-3 (1.09) ≈ 4-MBC (1.10) ≈ EHMC (1.04)。





3 讨论

由于有机紫外吸收剂的广泛使用、在水环境中的 普遍存在和潜在的生态毒性效应,近年来它们潜在 的生态风险已成为环境领域的研究热点(Kwon *et al*, 2021)。然而,目前有关有机紫外吸收剂对海洋无脊椎 动物的毒性效应研究鲜见报道。本研究从诱导氧化应 激和细胞凋亡两方面阐释 BP-3、4-MBC 和 EHMC 三 种有机紫外吸收剂对菲律宾蛤仔鳃组织的毒性效应, 旨在揭示常见有机紫外吸收剂对海洋无脊椎动物的 生态风险。

抗氧化系统可以通过酶和非酶调节保护生物体 免受氧化损伤并维持氧化还原平衡(Birnie-Gauvin et al, 2017)。SOD 和 CAT 是动物体内抗氧化应激的第 一道防线, SOD 可以加速自由基转化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT 能 够将 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解成水, 从而清除 ROS 减少机体氧化应 激损伤(Lesser, 2006)。在本研究中, 三种紫外吸收剂 短期暴露显著诱导了鳃组织 SOD 酶活性升高, 随着 暴露时间延长 SOD 酶活性恢复到接近或低于对照组 水平,并且高浓度暴露组的抑制作用更加显著,表现 出明显的时间和剂量特异性变化,这与高浓度 BP-3 暴露 28 d 后的鲫鱼组织 SOD 活性下降的结果一致 (Liu et al, 2015)。本研究发现短期的 BP-3 和 4-MBC 暴露会抑制鳃中CAT活性、随着暴露时间的延长、所 有处理组的 CAT 活性均与对照组无显著性差异。 Campos 等(2017)将摇蚊四龄幼虫(Chironomus riparius) 暴露于 4-MBC 中 48 h 后也观察到 CAT 活性下降。长 时间暴露下, CAT 活性的恢复可能是机体面对紫外吸 收剂诱导的氧化应激产生的适应性响应(Zhang et al, 2014a)。一项近期研究同样发现, 4-MBC 暴露 15 d 后 不会导致斑马鱼 5 dpf (days post fertilization, 受精后

天数)幼虫的 CAT 活性变化(Prakash et al, 2022)。GPx 和 GSH 一起参与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的分解, 作为共同底物清除过 多的 ROS 来防止氧化性细胞损伤(Binelli et al, 2011)。 有研究表明、暴露于 BP-3、4-MBC 和 EHMC 的嗜热 四膜虫(Tetrahymena thermophila) GPx 活性在 24 h 后 均未见明显变化,这与本研究结果一致(Gao et al, 2013)。但是在 28 d 时暴露于 100 µg/L 的 3 种紫外吸 收剂的鳃中 GPx 活性显著降低, 这与 BP-3 暴露 30 d 后的斑马鱼 GPx 活性显著降低结果一致(Velanganni et al, 2021),这些结果显示紫外吸收剂长期暴露会导 致 GPx 活性下降,并表现出明显的时间依赖性。此外, 在本研究中高浓度的 4-MBC 和 EHMC 暴露 28 d 时, 会导致鳃中 GSH 含量显著下降。作为维持细胞内氧 化还原平衡的重要物质, GSH 含量的减少会破坏机体 的抗氧化防御系统, 导致氧化应激(Lushchak, 2012)。 GST 是一种 相代谢酶, 能催化外源物质与 GSH 结 合,加速排出体外从而达到解毒代谢的目的。本研究 发现在整个暴露期间、大多数浓度组的 GST 活性均 无显著变化。与本研究结果相似、有研究报道将摇蚊 四龄幼虫暴露在不同浓度 BP-3 或 OC 中, 48 h 内同样 未观察到 GST 活性显著变化(Campos et al, 2017)。这 些结果说明 GST 可能不是典型有机紫外吸收剂污染 的敏感生物标志物。

MDA 是膜脂过氧化的最终分解产物,其含量变 化可反映膜系统遭受氧化伤害的程度。本研究发现在 100 μg/L 的 BP-3 和 4-MBC 暴露 1 d 时菲律宾蛤仔鳃 中 MDA 含量显著降低,7 d 和 28 d 时无显著性变化。 与本研究结果相似,有学者将 10 μg/L 的 BP-3 胁迫黄 尾蓝魔鱼 7 d 后,在其肝脏内未观察到 MDA 含量显 著变化(柯怀泱等, 2022)。本研究结果说明紫外吸收 剂短期暴露会提高抗氧化防御能力,降低脂质过氧 细胞凋亡是一种基因调控的能使细胞产生主动 而有序的死亡的细胞自杀机制,主要分为内源性途 径[线粒体途径和内质网(ER)应激诱导途径]和外源性 途径(死亡受体途径)(Redza-Dutordoir *et al*, 2016)。本 研究发现三种紫外吸收剂暴露可能通过线粒体途径 和 *fas* 介导的死亡受体途径诱导菲律宾蛤仔鳃组织细 胞凋亡。

p53 可调控多个下游基因的转录,包括 gadd45、 cdk、bcl-2 等,诱导线粒体途径介导的细胞凋亡。肿 瘤抑制基因 p53 能阻滞细胞周期、促进细胞周亡(魏 永永等, 2012)。gadd45 是 p53 调控的生长停滞和 DNA 损伤诱导型基因, 其可介导 DNA 修复、细胞周期停 滞和细胞凋亡。cdk 能控制细胞周期进程。抗凋亡成 员 bcl-2 在线粒体外膜发挥作用、以保持膜的完整性。 本研究结果显示、长期暴露于高浓度的三种紫外吸 收剂中, 鳃内 *p53* 基因相对表达量显著上调并呈浓度 依赖性升高,这表明紫外吸收剂暴露可导致 p53 的激 活,从而通过线粒体途径诱导细胞凋亡。本研究发现 暴露于100 μg/L 三种紫外吸收剂1d 时菲律宾蛤仔鳃 内gadd45和cdk基因相对表达量显著下调,而随着暴 露时间延长显著上调。有研究报道 gadd45 下调能促 进细胞补偿性增殖; cdk 上调在一定程度上能降低细 胞凋亡比例(Zhang et al, 2014b; 吕童歆等, 2023)。此 外、先前研究发现将菲律宾蛤仔暴露于高浓度 4-MBC (10 和 100 µg/L) 7 d 时 gadd45 编码基因显著高表达 (Santonocito et al, 2020)。这些下游基因的显著表达可 能和 p53 被激活有关,进一步说明 gadd45 和 cdk 参与 线粒体途径的细胞凋亡(曾小莉, 1999; Schade et al, 2019)。此外, p53 可以通过调节 Bcl-2 家族基因的转 录,调控细胞凋亡(Wei et al, 2021)。Bcl-2 是这个家族 中抗凋亡因子, 主要存在于线粒体膜上, 通过与促凋 亡因子 Bax 形成二聚体从而起到抑制凋亡的作用 (Czabotar et al, 2014)。在本研究中、暴露于高浓度 4-MBC 和 EHMC (10 和 100 µg/L)7 d 时鳃内 bcl-2 基 因相对表达量显著上调。与此相似,在10和100 μg/L 的 4-MBC 暴露 7 d 后, 菲律宾蛤仔消化腺中 bcl-2 基 因表达量显著增加(Santonocito et al, 2020)。因此, 机 体可能通过上调 bcl-2 的转录表达来抑制紫外吸收剂 短期暴露导致的细胞凋亡。有研究表明、丙硫菌唑通 过上调 p53 表达, 下调 bcl-2 基因转录来诱导斑马鱼 胚胎细胞凋亡(Shen et al, 2021), 这与本研究 28 d 时 观察到鳃组织内 p53 基因的上调表达和 bcl-2 基因转 录水平下降的结果一致。这些结果表明, 长期高浓度 的 4-MBC 和 EHMC 暴露能激活 p53 通路, 削弱 bcl-2 的转录表达, 诱导线粒体途径的细胞凋亡。而在本研 究中, BP-3 暴露组抗细胞凋亡基因 bcl-2 相对表达量短 期内显著下调, 继续暴露至 28 d 时则显著上调。这结 果表明, 长期暴露于 BP-3 后, 菲律宾蛤仔可能通过上 调鳃内 bcl-2 表达来阻遏细胞凋亡(Novo et al, 2006)。

fas 介导的细胞凋亡途径是重要的死亡受体信号 转导途径之一(Pallepati et al, 2011)。 caspase-2 是癌细 胞中应激诱导的细胞凋亡所需的起始 Caspase, 与 p53、fas 等的表达密切相关(Zhivotovsky et al, 2005; Baptiste-Okoh et al, 2008)。在本研究中, 暴露 1 d 时 100 µg/L 的 4-MBC 和 EHMC 显著下调了鳃内 fas 基 因相对表达量、但在 7 d 和 28 d 时均被显著诱导、这 说明 fas 被胞外刺激激活向胞内传递更多信号来诱导 细胞凋亡(Elmore, 2007)。有研究报道 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 暴露后, 奶牛子宫内膜细胞中 fas 基因表达量显著上调, 而抑 制 fas 基因表达在一定程度上能降低氧化应激诱导的 细胞凋亡比例(靳青等, 2022)。因此, 本研究中有机紫 外吸收剂也可能是通过上调 fas 的表达从而激活死亡 受体途径诱导细胞凋亡。此外,本研究结果发现,菲 律宾蛤仔暴露于 100 ug/L 的 BP-3 和 4-MBC 1d 时鳃 组织中 caspase-2 基因相对表达量显著下调,而暴露 于 10 μg/L 和 100 μg/L 三种紫外吸收剂 28 d 时鳃内 caspase-2 基因相对表达量显著上调。同样、朱含开等 (2008)发现五氯酚暴露能引起斑马鱼胚胎 caspase-2 表达上调增加细胞凋亡。已有研究证实, 通过膜的死 亡受体作用, caspase-8 被细胞外部因子 fas 活化后激 活 caspase-2, 诱导死亡受体途径的细胞凋亡; 这两种 caspase 还可通过 Bid 裂解激活线粒体途径(Pallepati et al, 2010)。综上所述,本研究结果表明,三种紫外吸 收剂的长期暴露可上调鳃内 fas 和 caspase-2 表达, 既 能激活死亡受体途径诱导细胞凋亡、又可增加线粒 体途径介导的细胞凋亡。

第二代整合生物标志物响应法(IBRv2)是目前生态毒理学领域表征某种污染物对受试生物的综合毒性效应常用的研究方法。本研究中通过与参照值比较多种生物标志物的偏差系数发现,12种不同生物标志物对 BP-3、4-MBC 和 EHMC 的响应情况有明显差异。 暴露在环境常见浓度1 μg/L 的三种紫外吸收剂1 d时, SOD 活性、GSH 含量和 *cdk* 转录水平指标变化幅度 大,而7d和28d*p53、gadd45、fas*和*caspase-2*转 录水平指标变化幅度较大,这表明紫外吸收剂短期 暴露主要引起氧化胁迫响应,而随着暴露时间的延 长,主要的生物学响应与细胞凋亡有关。此外,本研 究发现,在环境常见浓度 1 μg/L 的三种紫外吸收剂 短期暴露下, BP-3 表现出最强的毒性效应,而随着暴 露时间的延长,三种紫外吸收剂表现出相近的毒性 效应。

## 4 结论

本研究结果表明,短期暴露于有机紫外吸收剂 会诱导菲律宾蛤仔鳃组织抗氧化响应,而长期高浓 度暴露则会削弱其抗氧化防御能力。BP-3、4-MBC 和 EHMC 可能通过激活线粒体途径和 fas 介导的死亡 受体途径从而诱导菲律宾蛤仔鳃组织细胞凋亡。 IBRv2 分析发现短期暴露环境常见浓度 1 μg/L 时, BP-3 表现出的综合毒性效应最强。本研究结果为典 型有机紫外吸收剂 BP-3、4-MBC 和 EHMC 的生态风 险评估以及对海洋无脊椎动物的毒性机制研究提供 了重要参考。

#### 参考文献

- 吕童歆, 巩双铭, 李磊, 2023. 细胞周期蛋白依赖性激酶及其 在肿瘤治疗中的意义[J]. 生物学教学, 48(3): 5-8.
- 朱含开, 吴兆毅, 赵庆顺, 等, 2008. 五氯酚暴露诱导斑马鱼 胚胎细胞凋亡相关基因的变化及 caspase-2 基因克隆和系 统进化分析[J]. 生态毒理学报, 3(4): 356-362.
- 柯怀決, 张彦坤, 张纪亮, 等, 2022. 二苯甲酮(BP-3)对黄尾蓝 魔鱼(Chrysiptera parasema)的生态毒理效应[J]. 生态毒理 学报, 17(5): 75-81.
- 曾小莉,1999. 细胞凋亡基因调控机制研究进展[J]. 国外医学 临床生物化学与检验学分册,20(2):80-82.
- 靳青, 张相伦, 魏晨, 等, 2022. 氧化应激通过 Fas/FasL 信号 通路调控奶牛子宫内膜细胞凋亡[J]. 畜牧兽医学报, 53(6): 1819-1828.
- 魏永永,侯静,唐文如,等,2012. p53 与 Ras 协同及其在肿瘤 发生中的作用[J]. 遗传,34(12):1513-1521.
- AGUIRRE-MARTÍNEZ G V, DELVALLS T A, MARTÍN-DÍAZ M L, 2016. General stress, detoxification pathways, neurotoxicity and genotoxicity evaluated in *Ruditapes philippinarum* exposed to human pharmaceuticals [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 124: 18-31.
- ALLINSON M, KAMEDA Y, KIMURA K, *et al*, 2018. Occurrence and assessment of the risk of ultraviolet filters and light stabilizers in Victorian estuaries [J]. Environmental Science and Pollution Research, 25(12): 12022-12033.
- ARAÚJO M J, SOARES A M V M, MONTEIRO M S, 2021. Effects of exposure to the UV-filter 4-MBC during *Solea* senegalensis metamorphosis [J]. Environmental Science and

Pollution Research, 28(37): 51440-51452.

- BALMER M E, BUSER H R, MÜLLER M D, et al, 2005. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes [J]. Environmental Science & Technology, 39(4): 953-962.
- BAPTISTE-OKOH N, BARSOTTI A M, PRIVES C, 2008. Caspase 2 is both required for p53-mediated apoptosis and downregulated by p53 in a p21-dependent manner [J]. Cell Cycle, 7(9): 1133-1138.
- BINELLI A, PAROLINI M, PEDRIALI A, et al, 2011. Antioxidant activity in the zebra mussel (*Dreissena* polymorpha) in response to triclosan exposure [J]. Water, Air, & Soil Pollution, 217(1/2/3/4): 421-430.
- BIRNIE-GAUVIN K, COSTANTINI D, COOKE S J, *et al*, 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: a review [J]. Fish and Fisheries, 18(5): 928-942.
- CAMPOS D, GRAVATO C, QUINTANEIRO C, *et al*, 2017. Toxicity of organic UV-filters to the aquatic midge *Chironomus riparius* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 143: 210-216.
- CARVE M, NUGEGODA D, ALLINSON G, *et al*, 2021. A systematic review and ecological risk assessment for organic ultraviolet filters in aquatic environments [J]. Environmental Pollution, 268: 115894.
- CZABOTAR P E, LESSENE G, STRASSER A, *et al*, 2014. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 15(1): 49-63.
- ELMORE S, 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death [J]. Toxicologic Pathology, 35(4): 495-516.
- FISCH K, ZHANG R, ZHOU M, et al, 2021. PPCPs-A human and veterinary fingerprint in the Pearl River Delta and northern South China Sea [J]. Emerging Contaminants, 7: 10-21.
- GAO L, YUAN T, ZHOU C Q, et al, 2013. Effects of four commonly used UV filters on the growth, cell viability and oxidative stress responses of the *Tetrahymena thermophila* [J]. Chemosphere, 93(10): 2507-2513.
- HUANG Y R, LAW J C F, LAM T K, *et al*, 2021. Risks of organic UV filters: A review of environmental and human health concern studies [J]. Science of the Total Environment, 755: 142486.
- HUANG W X, XIE Z Y, YAN W, et al, 2016. Occurrence and distribution of synthetic musks and organic UV filters from riverine and coastal sediments in the Pearl River estuary of China [J]. Marine Pollution Bulletin, 111(1/2): 153-159.
- KAMEDA Y, KIMURA K, MIYAZAKI M, 2011. Occurrence and profiles of organic sun-blocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes [J]. Environmental Pollution, 159(6): 1570-1576.
- KUNG T A, LEE S H, YANG T C, *et al*, 2018. Survey of selected personal care products in surface water of coral reefs in Kenting National Park, Taiwan [J]. Science of the Total Environment, 635: 1302-1307.
- KWON B, CHOI K, 2021. Occurrence of major organic UV

filters in aquatic environments and their endocrine disruption potentials: a mini-review [J]. Integrated Environmental Assessment and Management, 17(5): 940-950.

- LAMBERT F N, GRACY H R, GRACY A J, *et al*, 2021. Effects of ultraviolet-filters on *Daphnia magna* development and endocrine-related gene expression [J]. Aquatic Toxicology, 238: 105915.
- LANGFORD K H, REID M J, FJELD E, *et al*, 2015. Environmental occurrence and risk of organic UV filters and stabilizers in multiple matrices in Norway [J]. Environment International, 80: 1-7.
- LESSER M P, 2006. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology [J]. Annual Review of Physiology, 68: 253-278.
- LI Z L, FENG C H, WU Y H, *et al*, 2020. Impacts of nanoplastics on bivalve: Fluorescence tracing of organ accumulation, oxidative stress and damage [J]. Journal of Hazardous Materials, 392: 122418.
- LIU H, SUN P, LIU H X, *et al*, 2015. Hepatic oxidative stress biomarker responses in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to four benzophenone UV filters [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 119: 116-122.
- LIVAK K J, SCHMITTGEN T D, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_{T}}$  method [J]. Methods, 25(4): 402-408.
- LUSHCHAK V I, 2012. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions [J]. Journal of Amino Acids, 2012: 736837.
- MAO F J, HE Y L, GIN K Y H, 2019. Occurrence and fate of benzophenone-type UV filters in aquatic environments: a review [J]. Environmental Science: Water Research & Technology, 5(2): 209-223.
- MARISA I, ASNICAR D, MATOZZO V, et al, 2021. Toxicological effects and bioaccumulation of fullerene C<sub>60</sub> (FC<sub>60</sub>) in the marine bivalve *Ruditapes philippinarum* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 207(7): 111560.
- NATARAJ B, MAHARAJAN K, HEMALATHA D, *et al*, 2020. Comparative toxicity of UV-filter Octyl methoxycinnamate and its photoproducts on zebrafish development [J]. Science of the Total Environment, 718: 134546.
- NOVO E, MARRA F, ZAMARA E, *et al*, 2006. Overexpression of Bcl-2 by activated human hepatic stellate cells: resistance to apoptosis as a mechanism of progressive hepatic fibrogenesis in humans [J]. Gut, 55(8): 1174-1182.
- O'MALLEY E, O'BRIEN J W, VERHAGEN R, et al, 2020. Annual release of selected UV filters via effluent from wastewater treatment plants in Australia [J]. Chemosphere, 247: 125887.
- PALLEPATI P, AVERILL-BATES D, 2010. Mild thermotolerance induced at 40 °C increases antioxidants and protects HeLa cells against mitochondrial apoptosis induced by hydrogen peroxide: role of p53 [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 495(2): 97-111.
- PALLEPATI P, AVERILL-BATES D A, 2011. Mild thermotolerance induced at 40 °C protects HeLa cells against activation of

death receptor-mediated apoptosis by hydrogen peroxide [J]. Free Radical Biology and Medicine, 50(6): 667-679.

- PEI J Y, HU J J, ZHANG R J, et al, 2023. Occurrence, bioaccumulation and ecological risk of organic ultraviolet absorbers in multiple coastal and offshore coral communities of the South China Sea [J]. Science of the Total Environment, 868: 161611.
- PRAKASH V, JAIN V, CHAUHAN S S, et al, 2022. Developmental toxicity assessment of 4-MBC in Danio rerio embryo-larval stages [J]. Science of the Total Environment, 804: 149920.
- REDZA-DUTORDOIR M, AVERILL-BATES D A, 2016. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 1863(12): 2977-2992.
- RICHARDSON S D, TERNES T A, 2011. Water analysis: emerging contaminants and current issues [J]. Analytical Chemistry, 83(12): 4614-4648.
- RODIL R, SCHRADER S, MOEDER M, 2009. Non-porous membrane-assisted liquid–liquid extraction of UV filter compounds from water samples [J]. Journal of Chromatography A, 1216(24): 4887-4894.
- RUSZKIEWICZ J A, PINKAS A, FERRER B, *et al*, 2017. Neurotoxic effect of active ingredients in sunscreen products, a contemporary review [J]. Toxicology Reports, 4: 245-259.
- SANTONOCITO M, SALERNO B, TROMBINI C, et al, 2020. Stress under the sun: Effects of exposure to low concentrations of UV-filter 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) in a marine bivalve filter feeder, the Manila clam *Ruditapes philippinarum* [J]. Aquatic Toxicology, 221: 105418.
- SCHADE A E, FISCHER M, DECAPRIO J A, 2019. RB, p130 and p107 differentially repress G1/S and G2/M genes after p53 activation [J]. Nucleic Acids Research, 47(21): 11197-11208.
- SHEN J, LIU P, SUN Y Q, et al, 2021. Embryonic exposure to prothioconazole induces oxidative stress and apoptosis in zebrafish (*Danio rerio*) early life stage [J]. Science of the Total Environment, 756: 143859.
- TANG Z W, HAN X, LI G H, et al, 2018. Occurrence, distribution and ecological risk of ultraviolet absorbents in water and sediment from Lake Chaohu and its inflowing rivers, China [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 164: 540-547.
- TSUI M M P, LEUNG H W, KWAN B K Y, et al, 2015. Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in marine sediments in Hong Kong and Japan [J]. Journal of Hazardous Materials, 292: 180-187.
- VELANGANNI S, SIVAKUMAR P, MILTONPRABU S, 2021. Impact of environmentally relevant concentration of benzophenone-3 on antioxidant enzymes, oxidative stress markers and morphology of gills in *Danio rerio* (Hamilton) [J]. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 14(3): 189-196.

- VOLLAND M, BLASCO J, HAMPEL M, 2017. Validation of reference genes for RT-qPCR in marine bivalve ecotoxicology: systematic review and case study using copper treated primary *Ruditapes philippinarum* hemocytes [J]. Aquatic Toxicology, 185: 86-94.
- WANG J, MENG X Y, FENG C Z, et al, 2021. Benzophenone-3 induced abnormal development of enteric nervous system in zebrafish through MAPK/ERK signaling pathway [J]. Chemosphere, 280: 130670.
- WEI H D, QU L Z, DAI S Y, et al, 2021. Structural insight into the molecular mechanism of p53-mediated mitochondrial

apoptosis [J]. Nature Communications, 12(1): 2280.

- ZHANG H, PAN L Q, TAO Y X, 2014a. Toxicity assessment of environmental pollutant phenanthrene in clam *Venerupis philippinarum* using oxidative stress biomarkers [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 37(2): 697-704.
- ZHANG L, YANG Z J, LIU Y Z, 2014b. GADD45 proteins: roles in cellular senescence and tumor development [J]. Experimental Biology and Medicine, 239(7): 773-778.
- ZHIVOTOVSKY B, ORRENIUS S, 2005. Caspase-2 function in response to DNA damage [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 331(3): 859-867.

# EFFECT OF THREE ORGANIC ULTRAVIOLET FILTERS ON ANTIOXIDANT CAPACITY AND EXPRESSION OF APOPTOSIS-RELATED GENES IN GILLS OF *RUDITAPES PHILIPPINARUM*

ZHANG Wei-Wei<sup>1, 2</sup>, DONG Fei-Long<sup>1, 2</sup>, JING Chen<sup>1, 2</sup>, LIU Shang-Shu<sup>1, 2</sup>, HU Feng-Xiao<sup>1, 2</sup>

(1. College of Marine Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of Marine Biotechnology of Fujian Province, Fuzhou 350002, China)

**Abstract** Benzophenone-3 (BP-3), 4-methyl-benzylidene camphor (4-MBC), and 2-ethyl-hexyl-4-trimethoxycinnamate (EHMC) are commonly used organic ultraviolet (UV) filters. Recently, these UV filters have been frequently detected in aquatic environment, posing a potential threat to the safety of aquatic ecosystem. To investigate the effects of the three UV filters on the antioxidant response of *Ruditapes philippinarum* gill and apoptosis-related genes, *R. philippinarum* was exposed to the three filters at environmentally relevant concentrations, and the activity of antioxidant enzymes and transcriptional levels of apoptosis-related genes in gills were investigated. Afterwards, the adverse effects of the filters were compared and analyzed using the Integrated Biomarker Response (IBR) (Version 2) method. Results show that the organic UV filters could induce initial antioxidative response to improve antioxidant capacity, while a long-term exposure to high concentrations of the UV filters could decrease the antioxidant capacity. In addition, the three filters could induce apoptosis in the gill tissue of *R. philippinarum* via mitochondria pathway and death receptor pathway. After exposure to the three organic UV filters at common environmental concentration (1  $\mu$ g/L) for 1 d and 7 d, BP-3 exhibited the strongest toxic effects on *R. philippinarum* gill; and the biomarker responses were similar among the three filters in 28 d. Therefore, the toxicity of organic UV filters depends on chemical species, exposure dose, and exposure duration. This study provides reference data for ecological risk assessment of organic UV filters in aquatic environments.

Key words organic UV filters; *Ruditapes philippinarum*; gill; oxidative stress; apoptosis; integrated biomarker response