

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20160405001

陈洁, 张积仁. 农药致慢性细胞毒性及基因毒性机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(1): 82-88

Chen J, Zhang J R. Progress in mechanism of pesticide-induced cytotoxicity and genotoxicity [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(1): 82-88 (in Chinese)

农药致慢性细胞毒性及基因毒性机制研究进展

陈洁¹, 张积仁^{2,*}

1. 南方医科大学珠江医院肿瘤中心, 广州 510282

2. 广东省靶向肿瘤干预与防控研究院, 清远 511500

收稿日期: 2016-04-05 录用日期: 2016-07-03

摘要: 大量流行病学研究和体内、体外检测分析表明, 长期低剂量接触农药可以导致人体细胞和分子损伤, 诱导细胞凋亡。农药致细胞及 DNA 损伤的机制主要与 DNA 加合物的形成、DNA 单链和/或双链的断裂有关。此外, 氧化应激参与农药致细胞及 DNA 损伤的过程, 可能成为农药致细胞及 DNA 损伤的促发因素。从总体上看, 其具体分子机制还不十分清楚, 有待进一步研究。

关键词: 农药; 细胞毒性; 基因毒性; 氧化应激

文章编号: 1673-5897(2017)1-082-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Progress in Mechanism of Pesticide-induced Cytotoxicity and Genotoxicity

Chen Jie¹, Zhang Jiren^{2,*}

1. Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510282, China

2. Guangdong Institute of Tumor Target Intervention and Prevention, Qingyuan 511500, China

Received 5 April 2016 accepted 3 July 2016

Abstract: The cytotoxicity and genotoxicity in human cells induced by chronic exposure of pesticides have been confirmed, proved by the epidemiologic studies and many alternative test methods *in vivo* and *in vitro*. The formation of DNA adduct and DNA single and/or double strand breakage are the main forms of DNA damage. In addition, oxidative stress plays an important role and may be a promoting factor in the mechanism of pesticide-induced cytotoxicity and genotoxicity in human cells. Overall, the specific molecular mechanism of pesticide is not entirely clear at present and further researches are needed to be done.

Keywords: pesticide; cytotoxicity; genotoxicity; oxidative stress

农药的广泛应用给现代社会, 尤其是发展中国家带来了革命性的益处。首先, 农药在预防、消灭和控制农作物虫害, 保证充足、优质的粮食生产做出了巨大的贡献; 其次, 农药在防治和控制流行性疾病中

也发挥了重大作用^[1]。但是, 农药的广泛使用也带来了许多负面影响, 有关研究及流行病学调查阐明了农药残留对人体各系统的危害, 如致癌性^[2-5]等。除了农药急性中毒能够引起明显的临床症状外, 长

作者简介: 陈洁(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤治疗与预防, E-mail: 295863932@qq.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: zhangjiren@126.com

期、低剂量的农药进入人体后,可能使 DNA 的功能及结构发生变化,进而诱导基因突变,并可能成为肿瘤发生、发展的原因之一^[6]。因此,农药与细胞及 DNA 之间相互作用的机制探讨已成为目前研究热点。本文就近年来常见的有机磷、有机氯、拟除虫菊酯等农药引起细胞及 DNA 损伤的机制研究进行总结,以期为进一步探讨如何避免或减少农药对人体损害的科学研究提供可能的干预靶点和启发。

1 细胞 DNA 损伤与农药的相关性 (The relevance of pesticides and DNA damage)

DNA 损伤是指 DNA 分子结构的异常改变,具体可表现为:点突变、缺失、插入、倒位或转位以及 DNA 链断裂。引起 DNA 损伤的常见原因有物理、化学因素和 DNA 自发性损伤。其中,常见的引起 DNA 损伤的化学制剂有:碱基类似物、脱氨剂、烷化剂、大型加合物、插入剂、交联剂等。当细胞内发生 DNA 损伤时,细胞会启动一系列修复机制,主要包括切除修复、直接修复、错配修复、交联修复、双链断裂修复、重组修复等。

近年来,国内外不少研究提出并证实了农药对人类及动植物均存在确切的细胞及分子毒性^[7-8]。Nakadai 等^[9]提出有机磷农药毒死蜱可诱发人单核细胞发生凋亡,Ramos-Chavez 等^[10]研究证明了苄氯菊酯/丙烯菊酯混合物对人外周血淋巴细胞具有明显的细胞毒性。Hreljac 等^[11]通过研究有机磷农药对人类肝癌 HepG2 细胞 DNA 的作用时指出,对硫磷、甲基对硫磷能上调 DNA 损伤反应性基因 p53, p21, GADD45 α , MDM2 的 mRNA 表达,最终导致细胞凋亡。也有人群调查研究显示^[12],在肺癌高发区——泰国上北部居住的肺癌患者中,影响 TP53 基因突变的危险因素之一是农药暴露。

2 农药致细胞 DNA 损伤的检测方法 (The test methods of DNA damage induced by pesticides)

农药可通过真皮吸收、呼吸道吸入、消化道摄入等途径进入体内。其中,皮肤被认为是农药暴露量最大的器官,这其中最典型的例子当属农民在田地、果园里喷洒农药时,可经皮吸收相当数量的农药。此外,农民在混配、分装农药,或洗刷农药喷洒器械、容具时,也同样避免不了这种长期、低剂量的农药暴露^[13]。农药标记物的生物监测通常可通过采集尿液、血液、汗液中的农药代谢产物,测定血清酶活性,以及基因表达改变等方法进行。早期生物效应的监

测方法包括评估蛋白或 DNA 加合物的形成、酶活性改变、微核(micronuclei, MN)的形成、染色体畸变(chromosomal aberrations, CA)、姐妹染色单体交换的频率(sister chromatid exchanges, SCE)和彗星形成水平(彗星试验)^[14]。其中,彗星试验,也可称单细胞凝胶电泳试验(single cell gel electrophoresis, SCGE 试验),能够简单、快速且敏感地检测到细胞内 DNA 单链和/或双链断裂。其原理大致为:当细胞核内 DNA 解开超螺旋后,在电泳电场作用下,染色体 DNA 移位,断裂碎片离开细胞核向阳极迁移,形成彗星图像^[15]。同时,农药致 DNA 加合物的形成,还可通过紫外光谱、荧光光谱、免疫分析、³²P-后标记、核磁共振、序列分析、碱洗脱法等方法来检测;另外,红外色谱、圆二色谱、共振光散射和拉曼光谱法也可用来有效地检测 DNA 微观结构的变化^[16-17]。此外,农药的细胞毒性检测还可采用 MTT 比色法、乳酸脱氢酶(LDH)释放试验、细胞增殖度法来实现^[18-19],其中 MTT 比色法主要是通过评估线粒体代谢功能来检测细胞毒性,而 LDH 释放试验是通过评估细胞膜的完整性来实现^[18]。

3 农药致 DNA 损伤的形式 (The main forms of DNA damage)

3.1 农药与细胞 DNA 发生加成反应

DNA 加合物,是指外源或内源性的亲电子性化合物或其代谢产物与亲核性的 DNA 碱基发生反应而生成的共价加合物,是 DNA 损伤的一类重要形式。邵华等^[20]采用紫外光谱移动法测定马拉硫磷、呋喃丹、氯氰菊酯两两混合后与小牛胸腺 DNA(ctDNA)相互作用,发现混合农药可加合到 ctDNA 的亲核位点中,研究结果显示,这些农药可通过形成 DNA 加合物的形式产生诱变作用,最终对有机体的 DNA 产生化学损伤。孙英等^[21]利用紫外光谱法研究 3 种氨基甲酸酯类农药乙霉威、甲萘威、克百威对 ctDNA 的损伤。另外,刘伟等^[22]探讨了氰戊菊酯、马拉硫磷、毒死蜱与 ctDNA 相互作用,结果均表明,农药中的活性分子可能嵌插进 ctDNA 的碱基对之间,或与 DNA 的磷酸基团发生静电结合,从而改变了 DNA 的空间构象,使得一些具有紫外吸收的官能团发生变化,导致 DNA 特征性紫外最大吸收波长段的位移。Kashanian 等^[23]通过紫外吸收光谱法、圆二色谱法、荧光光谱法、电化学技术等对二嗪农与 DNA 相互作用进行研究,结果发现二嗪农可以显著诱导 DNA 螺旋构象的变化,并可在 DNA 双螺旋的

大沟中与 DNA 发生作用,并且二噁农可直接绑定到 DNA 表面,而不是与 DNA 发生嵌插作用。然而,Hedli 等^[24]采用³²P-后标记法探测有机氯农药毒杀芬对小鼠 DNA 的相互作用,结果显示,没有 DNA 加合物的形成,农药对 DNA 的损伤可能还存在其他形式。

综上所述,一些农药在导致细胞 DNA 损伤的过程中,确实有 DNA 加合物的形成,有的是嵌插入 DNA 碱基对之间,有的是作用于 DNA 双螺旋的大沟影响双螺旋构象,有的是直接共价绑定到 DNA 表面。但是,并不是所有农药都是通过加合物的形式损伤 DNA 的,还有另外的损伤形式存在。

3.2 农药导致细胞 DNA 发生单链和/或双链断裂

彗星试验能够简单快速且敏感地检测到 DNA 单链和/或双链断裂。Suman 等^[25]通过彗星试验发现氯氰菊酯在低浓度(半数致死浓度 LC_{50} 的 1/10)的情况下就可导致 DNA 单链断裂,并且随着浓度的增加,DNA 损伤的程度也随之加重。另外,在低暴露浓度时,可观察到染色体畸变的存在,通过核型分析显示有染色体断裂和随体联合。同时,Ojha 等^[26]除了发现有机磷农药毒死蜱、甲基对硫磷、马拉硫磷可造成 DNA 单链和双链的断裂外,还通过荧光发射实验证明了这 3 种农药还可通过 DNA-蛋白交联的形式致 DNA 损伤。Zhao 等^[27]采用彗星试验研究久效磷与鲫鱼外周血红细胞 DNA 作用机制时发现农药以 DNA 单链和双链断裂以及碱不稳定性位点的形式广泛损伤 DNA。其中,单链断裂是主要的损伤形式。另外,对氧磷致人唾液腺细胞 DNA 损伤^[18]、溴氰菊酯对神经母细胞瘤细胞 DNA 损伤形式^[28]同样也是使 DNA 链发生断裂。Hossain 等^[28]还发现,一开始 DNA 断裂碎片的形成是由溴氰菊酯与钠离子通道的相互作用和由此产生的钙内流引起的,最终导致细胞凋亡。

综上,DNA 单链和/或双链的断裂也是很多农药致细胞 DNA 损伤的重要机制。然而,农药致 DNA 损伤的具体过程是什么?是直接导致 DNA 链断裂还是通过一些中间物质来促发损伤效应?针对这一问题,目前许多研究都发现了氧化应激是农药致细胞损伤的一个重要环节。但不同的研究也存在不少争议,如下文所述。

4 氧化应激参与细胞 DNA 损伤 (Oxidative stress plays an important role)

正常情况下,机体内氧化和抗氧化作用处于动

态平衡状态。当两者作用失衡,机体产生过量活性氧族(reactive oxygen species, ROS)或清除 ROS 的能力下降时,机体会发生氧化应激(oxidative stress, OS)。ROS 主要包括超氧阴离子($\cdot O_2^-$)、羟自由基($\cdot OH$)和过氧化氢(H_2O_2)等。机体存在 2 类抗氧化系统,一类是酶抗氧化系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等;另一类是非酶抗氧化系统,包括维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽、褪黑素、 α -硫辛酸、类胡萝卜素、微量元素铜、锌、硒等。当机体处于氧化应激状态时,组织细胞内相对过量的 ROS 可造成细胞内重要的大分子,如脂质、蛋白质、DNA 的损伤,进而导致细胞凋亡^[29-30]。

这一应激反应同样在农药与细胞相互作用的过程中出现。Lu 等^[31]发现 5 种有机磷农药(乙酰甲胺磷、甲胺磷、氯胺磷、马拉硫磷、马拉氧磷)可显著降低细胞的存活率,在细胞 DNA 损伤的同时,细胞内 ROS 和脂质过氧化作用产物丙二醛(MDA)水平显著升高,SOD、CAT、谷胱甘肽(GSH)的活性降低,因此提出氧化应激是农药致细胞损伤的始发事件。类似的实验结果也可见于杀螟硫磷与血细胞^[32],甲基对硫磷、对硫磷与人肝癌细胞之间的相互作用^[33]。Chen 等^[34]还发现,ROS 的大量产生和 Bcl-2 基因的表达改变是有机氯农药五氯苯酚及代谢产物四氯氧醌具有细胞毒性及致癌性的主要分子机制。

除了上述利用检测 ROS、氧化代谢产物及相关酶活性来评估氧化应激对农药致细胞 DNA 损伤的方法外,通过检测 ROS 基因 *gss*, *gstm2*, *gstt2* 和 *sod2* 等的上调,同样可以判断在农药暴露期间生物氧化应激的存在^[18]。也有研究者检测了 β 脂肪酸氧化、线粒体呼吸链和 ATP 合成的相关基因,它们的显著上调同样可作为细胞内氧化应激的证据^[35]。

此外,通过研究抗氧化剂对农药致细胞 DNA 损伤的保护作用,可进一步验证氧化应激的效应。El-Gohary 等^[36]发现,溴氰菊酯是通过氧化产物一氧化氮(NO)来诱导大鼠睾丸细胞凋亡的,并且一氧化氮合成酶抑制剂(NOS)可显著减轻细胞凋亡,从而验证了氧化损伤的观点。在研究乐果对 DNA 损伤及其氧化机制的基础上,Ben 等^[37]发现硒和维生素 E 能够有效减轻农药引起的毒性效应,提示了硒和维生素 E 作为潜在的抗氧化剂可起到对 DNA 损伤的保护作用。Hsu 等^[38]研究磷化氢诱导 ROS 致大鼠脑、肺、肝细胞氧化损伤的研究中发现褪黑素能够

几乎完全阻断这种氧化损伤效应。

以上各研究者在氧化应激致细胞 DNA 损伤这一问题上形成了较为一致的观点。但是,关于农药致细胞 DNA 损伤是否可逆、农药的暴露浓度和暴露时间这几个问题上,不同的研究者却有着不同的结论。Marques 等^[39]在发现草甘膦对细胞 DNA 损伤的基础上,得出氧化损伤是农药致 DNA 损伤的重要机制,并且在农药暴露后期可观察到 DNA 完整性恢复到暴露初期水平,说明草甘膦所致 DNA 损伤是暂时、可逆的,细胞内存在 DNA 氧化损伤的修复机制。然而,针对草甘膦所致 DNA 损伤是否可逆这一问题,Guilherme 等^[40]进行了更为具体的实验。他们按照草甘膦暴露浓度的高低把鱼的肝细胞进行分组,结果显示,农药暴露后 1 d 时,高、低浓度 2 组细胞都发现了 DNA 链断裂,而在 3 d,低浓度组细胞 DNA 损伤恢复,而高浓度组细胞 DNA 损伤不但不可逆,反而会随着时间推移而加重,这表明,农药暴露浓度也是致 DNA 损伤的一个重要因素。然而关于暴露浓度,Moore 等^[41]在研究马拉硫磷对人肝癌细胞的作用时发现,不同浓度的农药可产生截然不同的生物效应:低剂量马拉硫磷促有丝分裂,而高剂量马拉硫磷致细胞毒性、DNA 损伤。

Guilherme 等^[40]还对氧化应激对 DNA 损伤的作用进一步探讨,发现同一高暴露浓度组在暴露 1 d 后未发现氧化损伤的证据,而在暴露第 3 天可检测到 DNA 氧化嘌呤存在,这表明氧化应激与短时间农药暴露引起的 DNA 损伤并不相关,而在农药暴露的后期,氧化应激才扮演重要的角色。因此,我们可以推断在暴露时间的不同阶段,DNA 损伤的机制是不同的。然而,有趣的是,Zhao 等^[27]在探讨久效磷对金鱼 DNA 损伤机制时,通过检测农药暴露后不同时间点(24 h,48 h,96 h 和 168 h)的 DNA 损伤程度、MDA 浓度、SOD 及 GSH-Px 活性得出:DNA 损伤在 48 h 达到高峰,ROS、GSH-Px 活性分别在 48 h 和 96 h 达到高峰,SOD 在各时间点与对照组无显著差异。结果表明,DNA 损伤程度的变化趋势与丙二醛浓度的变化趋势呈正相关,而与 GSH-Px 活性的变化趋势呈负相关,提示久效磷暴露初期 ROS 的过量积聚是导致 DNA 损伤的重要机制,而农药暴露后期有效的 ROS 清除和 DNA 修复是 DNA 损伤恢复的重要原因,这一结论显然与 Guilherme 等^[40]的观点截然不同。

综上所述,氧化应激参与农药导致的细胞 DNA

损伤的过程,并扮演着重要的角色,氧化应激不仅能促进农药对细胞 DNA 的损伤,还可能成为农药毒性效应的促发事件。然而,对于不同暴露浓度引起的生物效应差异,以及不同暴露阶段 ROS 的作用差异的问题,笔者认为,这可能与不同种类的农药,其活性分子作用机理存在差异有关;也可能跟不同研究对象,其细胞对农药的耐受性和反应性不同有关。当然,这不能仅仅停留于猜想,仍然需要更加详尽确切的研究进一步阐明具体机制。

5 农药导致细胞凋亡 (Cell apoptosis induced by pesticides)

细胞凋亡指机体为维持内环境稳定,由基因控制的细胞自主的有序的死亡。细胞凋亡与细胞坏死不同,细胞凋亡不是一件被动的过程,而是主动过程,它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用,它并不是病理条件下,自体损伤的一种现象,而是为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程。许多研究表明,农药所致的细胞毒性结果便是细胞凋亡。

Saleh 等^[42]在比较对氧磷和对硫磷细胞毒性的实验中发现,对氧磷在低于半抑制浓度的时候就可诱导显著的细胞凋亡,而对硫磷却没有明显的致凋亡效应。Nakada 等^[9]研究证明毒死蜱是通过激活细胞内细胞凋亡蛋白酶-3 来促进细胞凋亡的。Hreljac 等^[11]发现 3 种有机磷农药甲基对硫磷、甲基对氧磷、甲氟磷中,只有前两者具有细胞毒性,而甲氟磷具有促有丝分裂活性。Ahmed 等^[43]在研究甲拌磷对人外周血单核细胞的 DNA 损伤及其相关机制的基础上进一步实验观察到,随着农药暴露浓度的增加,胞浆内细胞色素 C 也增加,因此研究者提出,甲拌磷导致凋亡机制是通过线粒体细胞色素 C 释放途径;另外,研究者还发现,N-乙酰半胱氨酸和姜黄素可以作为抗氧化剂,明显减少农药引起的细胞凋亡,这进一步说明,甲拌磷是通过氧化应激诱导线粒体细胞色素 C 的释放而导致细胞凋亡的。除了线粒体途径,Vaithinathan 等^[44]通过原位末端标记法(TUNEL 标记法)检测细胞凋亡,并观察到甲基滴滴涕可同时通过线粒体途径和 Fas 途径,启动一系列酶联反应,最终导致细胞凋亡。Jin 等^[35]通过检测凋亡相关基因 *p53*, *Apaf1* 和 *Cas3* 的上调,*Bcl2/Bax* 表达率的下降,同样证明了氯氰菊酯致细胞凋亡效应。

然而,并不是所有的农药都具有细胞毒性和分子毒性,有些农药不但没有细胞毒性,反而可促进细

细胞的增殖活动,甚至具有诱发肿瘤形成的潜力。Benford 等^[45]探讨了常见有机磷农药敌敌畏与小鼠前胃上皮细胞的相互作用,发现敌敌畏可诱发 DNA 的复制合成,并可使前胃组织增生,这表明敌敌畏的毒性效应是加强细胞增殖,而不是细胞毒性和基因毒性。Kolaja 等^[46]研究发现,有机氯农药异狄氏剂可以显著并选择性地促进小鼠和大鼠肝小叶中心区肝细胞的 DNA 合成,提示异狄氏剂促分裂机制的存在,并具有诱发肝癌发生的潜力。如前文所述,甲氟磷、低剂量马拉硫磷也具有促有丝分裂活性^[11, 41],可促进细胞增殖。

6 结语

总体上看,农药致细胞 DNA 损伤的证据确凿,损伤的形式多见于 DNA 加合物的形成和 DNA 单链或双链断裂,并且氧化应激是促发农药致细胞 DNA 损伤的重要因素,细胞损伤的结局以凋亡为主。然而,目前不同种类的农药致细胞 DNA 损伤的具体过程和分子机制还不十分清楚,仍有待进一步研究阐明。

通讯作者简介:张积仁(1955-),男,博士,教授,主任医师,研究方向为肿瘤个体化靶向综合治疗及慢病预防医疗。

参考文献 (References):

- [1] Ecobichon D J. Pesticide use in developing countries [J]. Toxicology, 2001, 160(1-3): 27-33
- [2] Choi S. Critical review on the carcinogenic potential of pesticides used in Korea [J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP, 2014, 15(15): 5999-6003
- [3] Huang J, Hu R, Qiao F, et al. Impact of insect-resistant GM rice on pesticide use and farmers' health in China [J]. Science China Life Sciences, 2015, 58(5): 466-471
- [4] Pingali P L, Marquez C, Pallis F G. Pesticides and Philippine rice farmer health: A medical and economic analysis [J]. American Journal of Agricultural Economics, 1994, 76(3): 587-592
- [5] Dabrowski J M, Shadung J M, Wepener V. Prioritizing agricultural pesticides used in South Africa based on their environmental mobility and potential human health effects [J]. Environment International, 2014, 62: 31-40
- [6] Belle R, Le Bouffant R, Morales J, et al. Sea urchin embryo, DNA-damaged cell cycle checkpoint and the mechanisms initiating cancer development [J]. Journal de la Societe de Biologie, 2007, 201(3): 317-327
- [7] 汤艳, 张青碧, 甘仲霖, 等. 杀虫剂诱导人外周血淋巴细胞 DNA 损伤[J]. 现代预防医学, 2006, 33(8): 1342-1343
- [8] Tang Y, Zhang Q B, Gan Z L, et al. Pesticides induced DNA damage to human peripheral lymphocytes *in vitro* [J]. Modern Preventive Medicine, 2006, 33(8): 1342-1343 (in Chinese)
- [9] Undeger U, Basaran N. Effects of pesticides on human peripheral lymphocytes *in vitro*: Induction of DNA damage [J]. Archives of Toxicology, 2005, 79(3): 169-176
- [10] Nakadai A, Li Q, Kawada T. Chlorpyrifos induces apoptosis in human monocyte cell line U937 [J]. Toxicology, 2006, 224(3): 202-209
- [11] Ramos-Chavez L A, Sordo M, Calderon-Aranda E, et al. A permethrin/allevrin mixture induces genotoxicity and cytotoxicity in human peripheral blood lymphocytes [J]. Journal of Toxicology and Environmental Health Part A, 2015, 78(1): 7-14
- [12] Hreljac I, Zajc I, Lah T, et al. Effects of model organophosphorous pesticides on DNA damage and proliferation of HepG2 cells [J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2008, 49(5): 360-367
- [13] Bumroongkit K, Rannala B, Traisathit P, et al. TP53 gene mutations of lung cancer patients in upper northern Thailand and environmental risk factors [J]. Cancer Genetics and Cytogenetics, 2008, 185(1): 20-27
- [14] Spiewak R. Pesticides as a cause of occupational skin diseases in farmers [J]. Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM, 2001, 8(1): 1-5
- [15] Kapka-Skrzypczak L, Cyranka M, Skrzypczak M, et al. Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure — State of the art [J]. Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM, 2011, 18(2): 294-303
- [16] Collins A R, Oscoz A A, Brunborg G, et al. The comet assay: Topical issues [J]. Mutagenesis, 2008, 23(3): 143-151
- [17] 许杭杰, 李婧, 张全, 等. 农药与 DNA 相互作用的光谱法分析[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(1): 5-8
- [18] Xu H J, Li J, Zhang Q, et al. Spectroscopic analyses on the interaction of pesticides and DNA [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2014, 53(1): 5-8 (in Chinese)
- [19] 卢国良, 夏昭林. DNA 加合物检测方法研究进展[J]. 职业卫生与应急救援, 2005, 23(1): 18-20
- [20] Lu G L, Xia Z L. Advance in detecting methods of DNA adduct[J]. Occupational Health and Emergency Rescue, 2005, 23(1): 18-20 (in Chinese)
- [21] Prins J M, Chao C K, Jacobson S M, et al. Oxidative stress resulting from exposure of a human salivary gland

- cells to paraoxon: An *in vitro* model for organophosphate oral exposure [J]. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA*, 2014, 28 (5): 715-721
- [19] 黄哲玮, 孙皎, 孟爱英. 两种体外细胞毒性检测方法的比较研究[J]. *上海生物医学工程*, 2005, 26(4): 205-207
Huang Z W, Sun J, Meng A Y. Study on comparison of two *in vitro* cytotoxicity tests[J]. *Shanghai Journal of Biomedical Engineering*, 2005, 26(4): 205-207 (in Chinese)
- [20] 邵华, 师以康. 紫外光谱法测定混配农药的 DNA 加合作用[J]. *中国公共卫生*, 2003, 19(1): 81-82
Shao H, Shi Y K. Determination of adduct actions of mixed pesticides on DNA by ultraviolet spectral method [J]. *China Public Health*, 2003, 19(1): 81-82 (in Chinese)
- [21] 孙英, 张立金, 闵顺耕, 等. 三种氨基甲酸酯类农药化合物对 DNA 的潜在损伤作用[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(3): 464-466
Sun Y, Zhang L J, Min S G, et al. The potential trauma of three kinds of carbamate pesticides to DNA [J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2004, 23(3): 464-466 (in Chinese)
- [22] 刘伟, 朱鲁生, 王军, 等. 利用吸收光谱法和微核法测定 3 种农药对 DNA 损伤的作用 [J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(2): 531-534
Liu W, Zhu L S, Wang J, et al. Determination of the damage of three pesticides on DNA by absorption spectrophotometry and micronucleus test [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(2): 531-534 (in Chinese)
- [23] Kashanian S, Gholivand M B, Ahmadi F, et al. Interaction of diazinon with DNA and the protective role of selenium in DNA damage [J]. *DNA and Cell Biology*, 2008, 27(6): 325-332
- [24] Hedli C C, Snyder R, Kinoshita F K, et al. Investigation of hepatic cytochrome P-450 enzyme induction and DNA adduct formation in male CD/1 mice following oral administration of toxaphene [J]. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 1998, 18(3): 173-178
- [25] Suman G, Naravaneni R, Jamil K. *In vitro* cytogenetic studies of cypermethrin on human lymphocytes [J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2006, 44(3): 233-239
- [26] Ojha A, Gupta Y. Evaluation of genotoxic potential of commonly used organophosphate pesticides in peripheral blood lymphocytes of rats [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2015, 34(4): 390-400
- [27] Zhao F, Wang B, Zhang X, et al. Induction of DNA base damage and strand breaks in peripheral erythrocytes and the underlying mechanism in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to monocrotophos [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, 41(3): 613-624
- [28] Hossain M M, Richardson J R. Mechanism of pyrethroid pesticide-induced apoptosis: Role of calpain and the ER stress pathway [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2011, 122(2): 512-525
- [29] 郑荣梁, Lesko S A, Ts'o P O P. 活性氧引起哺乳动物细胞 DNA 损伤[J]. *中国科学(B辑 化学 生物学 农学 医学 地学)*, 1988(4): 378-386
Zheng R L, Lesko S A, Ts'o P O P. DNA damage of mammal induced by reactive oxygen[J]. *Scientia Sinica*, 1988(4): 378-386 (in Chinese)
- [30] 褚启龙, 杨克敌, 王爱国. 氧化应激与细胞凋亡关系的研究进展[J]. *卫生研究*, 2003, 32(3): 276-279
Chu Q L, Yang K D, Wang A G. Research progress on oxidative stress and apoptosis[J]. *Journal of Hygiene Research*, 2003, 32(3): 276-279 (in Chinese)
- [31] Lu X T, Ma Y, Wang C, et al. Cytotoxicity and DNA damage of five organophosphorus pesticides mediated by oxidative stress in PC12 cells and protection by vitamin E [J]. *Journal of Environmental Science and Health Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 2012, 47(5): 445-454
- [32] Lavarias S, Garcia C, Crespo R, et al. Study of biochemical biomarkers in freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to organophosphate fenitrothion [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 96: 10-16
- [33] Edwards F L, Yedjou C G, Tchounwou P B. Involvement of oxidative stress in methyl parathion and parathion-induced toxicity and genotoxicity to human liver carcinoma (HepG(2)) cells [J]. *Environmental Toxicology*, 2013, 28 (6): 342-348
- [34] Chen H M, Lee Y H, Wang Y J. ROS-triggered signaling pathways involved in the cytotoxicity and tumor promotion effects of pentachlorophenol and tetrachlorohydroquinone [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2015, 28(3): 339-350
- [35] Jin Y, Zheng S, Pu Y, et al. Cypermethrin has the potential to induce hepatic oxidative stress, DNA damage and apoptosis in adult zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Chemosphere*, 2011, 82(3): 398-404
- [36] El-Gohary M, Awara W M, Nassar S, et al. Deltamethrin-induced testicular apoptosis in rats: The protective effect of nitric oxide synthase inhibitor [J]. *Toxicology*, 1999, 132(1): 1-8
- [37] Ben Amara I, Karray A, Hakim A, et al. Dimethoate induces kidney dysfunction, disrupts membrane-bound AT-

- Pases and confers cytotoxicity through DNA damage. Protective effects of vitamin E and selenium [J]. Biological Trace Element Research, 2013, 156(1-3): 230-242
- [38] Hsu C, Han B, Liu M, et al. Phosphine-induced oxidative damage in rats: Attenuation by melatonin [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2000, 28(4): 636-642
- [39] Marques A, Guilherme S, Gaivao I, et al, Progression of DNA damage induced by a glyphosate-based herbicide in fish (*Anguilla anguilla*) upon exposure and post-exposure periods--Insights into the mechanisms of genotoxicity and DNA repair [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology: CBP, 2014, 166: 126-133
- [40] Guilherme S, Gaivao I, Santos M A, et al. DNA damage in fish (*Anguilla anguilla*) exposed to a glyphosate-based herbicide -- Elucidation of organ-specificity and the role of oxidative stress [J]. Mutation Research, 2012, 743(1-2): 1-9
- [41] Moore P D, Yedjou C G, Tchounwou P B. Malathion-induced oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity in human liver carcinoma (HepG2) cells [J]. Environmental Toxicology, 2010, 25(3): 221-226
- [42] Saleh A M, Vijayasathay C, Fernandez-Cabezudo M, et al. Influence of paraoxon (POX) and parathion (PAT) on apoptosis: A possible mechanism for toxicity in low-dose exposure [J]. Journal of Applied Toxicology: JAT, 2003, 23(1): 23-29
- [43] Ahmed T, Tripathi A K, Ahmed R S, et al. Assessment of phosphamidon-induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells: Protective effects of N-acetylcysteine and curcumin [J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2010, 24(5): 286-292
- [44] Vaithinathan S, Saradha B, Mathur P P. Methoxychlor induces apoptosis via mitochondria- and FasL-mediated pathways in adult rat testis [J]. Chemico-Biological Interactions, 2010, 185(2): 110-118
- [45] Benford D J, Price S C, Lawrence J N, et al. Investigations of the genotoxicity and cell proliferative activity of dichlorvos in mouse forestomach [J]. Toxicology, 1994, 92(1-3): 203-215
- [46] Kolaja K L, Stevenson D E, Johnson J T, et al. Subchronic effects of dieldrin and phenobarbital on hepatic DNA synthesis in mice and rats [J]. Fundamental and Applied Toxicology: Official Journal of the Society of Toxicology, 1996, 29(2): 219-228 ◆