

# 三氧化二砷对黄鳝毒理学效应

钱晓薇\*

(温州大学生命与环境科学学院, 温州 325003)

**摘要** 以黄鳝为实验动物, 研究了不同剂量的三氧化二砷对黄鳝的毒理学效应。采用鱼类致突变实验、鱼类红、白血球计数等方法, 测定外周血白细胞数、红细胞微核和核异常以及肝脏过氧化氢酶(CAT)活性。结果发现: 在低剂量范围内, 随着三氧化二砷剂量的增加红细胞的微核率及核异常率逐渐增加、CAT活性升高, 白细胞数则下降; 至0.50 mg/kg剂量时红细胞的微核率、核异常率及CAT活性均达最大值, 而白细胞数达最低值; 随着剂量的进一步增加红细胞的微核率、核异常率以及CAT活性均反而下降, 白细胞数则上升。结果表明一定剂量三氧化二砷能明显影响黄鳝外周血细胞及肝脏CAT活性。

**关键词** 三氧化二砷; 毒理学效应; 微核率; 核异常率; 肝脏过氧化氢酶活性

砷在地壳中以砷矿(雌黄 $\text{As}_2\text{S}_3$ , 雄黄 $\text{As}_4\text{S}_4$ , 砷硫铁矿 $\text{FeAsS}$ )存在或者伴生于Cu、Pb、Zn等硫化物。由于砷在许多行业中广为应用, 通过开采、加工、使用等过程使砷大量残留到土壤中, 造成世界范围内土壤中砷污染<sup>[1,2]</sup>。砷化物的应用已有2000~3000年的历史, 砷可用以生产杀虫剂、杀菌剂、除草剂、木材防腐剂、颜料等。由于砷及其化合物的生产使用, 人为地将大量砷化物引入环境, 污染水源和危害人体健康。砷并非生物体内的必须元素, 可引起皮肤癌、膀胱、肝脏等疾病及所谓黑足病等慢性砷中毒<sup>[1,3]</sup>。研究表明砷对哺乳动物和人体具有致突、致畸和致癌作用<sup>[4-6]</sup>, 可明显影响果蝇的发生量<sup>[7]</sup>; 且三氧化二砷对蚕豆根尖细胞具有明显的细胞遗传学毒性, 并具有积累有丝分裂中期细胞的效应<sup>[8]</sup>。研究农药、除草剂等因子对黄鳝红细胞的微核及核异常的实验报道屡有所见, 但关于三氧化二砷对黄鳝的毒理学效应研究报道不多。为此本文就三氧化二砷对黄鳝外周血白细胞数目、红细胞微核和核异常以及肝脏过氧化氢酶(CAT)活性的影响进行了研究, 以探讨三氧化二砷对黄鳝的毒理学效应。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

黄鳝(*Monopterus albus*)购自温州市洪殿农贸市场, 体重20~30 g, 全长为28~35 cm。实验前驯养5天, 每天换水2~3次。实验时挑选外观健康

的正常个体进行处理。三氧化二砷由哈尔滨伊达药业有限公司生产, 其浓度为1 mg/ml, 实验时再将其稀释。考马斯亮蓝、CAT试剂盒、标准蛋白质均由南京建成生物工程研究所提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 染毒与分组** 通过腹腔注射的方法进行染毒。实验共分6组: I组注射生理盐水(阴性对照组); II~VI组为实验组, 注射三氧化二砷的量分别为0.25 mg/kg、0.50 mg/kg、0.75 mg/kg、1.00 mg/kg、1.50 mg/kg。两次注射的时间间隔为24 h, 第二次注射6 h后取血。

**1.2.2 血涂片的制备** 断尾取血涂片, 晾干, 甲醇固定15 min, 15% 吉姆萨(Giemsa)染液染色15 min, 水洗, 自然晾干。每尾鱼观察2 000个以上细胞, 记录带有微核及核异常的红细胞数, 观察结果以千分率(%)表示。每尾鱼观察2 000个以上细胞, 统计白细胞数, 并对白细胞进行分类, 计算各种白细胞的百分率<sup>[9]</sup>。

**1.2.3 CAT活性的测定** 取出黄鳝肝脏, 匀浆后, 用7%生理盐水配成2%溶液, 制成酶源。用UV751-GB分光光度计(上海分析仪器总厂生产)依照试剂盒提供的方法测定CAT活性。

**1.2.4 统计方法** 均采用SPSS9.0数据处理系统进行方差分析。

收稿日期: 2005-11-17 接受日期: 2006-04-17

浙江省自然科学基金(No.M303606)、温州市科技局科研基金(No.S2002A015)、温州师范学院科研基金(No.2003Z20)

\* 通讯作者。Tel: 0577-88371046, E-mail: qianxiaowei@126.com

## 2 结果

### 2.1 三氧化二砷对黄鳝红细胞微核细胞率及微核率的影响

微核及核异常的识别方法依照耿德贵等<sup>[10]</sup>的标准。由表 1 可知：组 II、组 III 的微核细胞率及微核率均明显高于组 I；组 VI 的均略低于组 I，但差异不显著( $P>0.05$ )。5 个实验组组间比较：组 II 明显低于组 III( $P<0.001$ )、组 III 明显高于组 IV( $P<0.001$ )。其中组 III 的微核细胞率及微核率最高，高于其他 5 组，且差异极显著( $P<0.001$ )。

### 2.2 三氧化二砷对黄鳝红细胞核异常的影响

核异常包括双核、无核、核外凸、核内凹和核内空泡等，各种核异常的识别方法依照耿德贵等<sup>[10]</sup>的标准。由表 2 可知，5 个实验组中：组 II、组 III、组 IV 及组 V 的核异常细胞率均明显高于组 I ( $P<0.001$ )，而组 VI 的核异常细胞率则明显低于组 I ( $P<0.01$ )。随着三氧化二砷剂量的增加核异常细胞率明显升高，组 III 的为最大值，此后，随着三氧化二

砷剂量的继续增加核异常率呈下降趋势。组 VI 的明显低于组 I ( $P<0.001$ )。

### 2.3 三氧化二砷对黄鳝红细胞总核异常细胞率的影响

由表 3 可见 5 个实验组中：组 II、组 III、组 IV 及组 V 的核异常细胞率均明显高于组 I ( $P<0.001$ )，而组 VI 的核异常细胞率则明显低于组 I ( $P<0.01$ )。实验组间比较，差异显著( $P<0.001$ )。其中组 III 的总核异常细胞率最高，明显高于其他 5 组 ( $P<0.001$ )；组 VI 的为最低，明显低于其余 5 个组 ( $P<0.001$ )。

### 2.4 三氧化二砷对黄鳝白细胞的影响

由表 4 可见，随着  $As_2O_3$  剂量的增加黄鳝白细胞百分数逐渐下降，当剂量为 0.50 mg/kg 时白细胞百分数达最低值；随着  $As_2O_3$  剂量的进一步增加白细胞百分数反而上升。其中组 II、组 III、组 IV 的白细胞百分数均明显低于对照组( $P<0.01$  或  $P<0.001$ )；组 V 的白细胞略高于对照组( $P>0.05$ )，组 VI 的白细

表 1 三氧化二砷对黄鳝外周血红细胞微核率的影响

| 组别       | $As_2O_3$ (mg/kg) | 观察动物数 | 微核细胞数<br>/2 000 个红细胞 | 微核细胞率(%)<br>( $\bar{x}\pm s$ ) | 微核率(%)<br>( $\bar{x}\pm s$ ) |
|----------|-------------------|-------|----------------------|--------------------------------|------------------------------|
| I (阴性对照) | 0.00              | 5     | 1 1 0 0 0            | $0.20 \pm 0.27$                | $0.30 \pm 0.45$              |
| II       | 0.25              | 5     | 2 2 3 1 1            | $0.90 \pm 0.42^{**}$           | $1.00 \pm 0.35^{**}$         |
| III      | 0.50              | 5     | 5 3 4 5 4            | $2.10 \pm 0.42^{***}$          | $2.30 \pm 0.45^{***}$        |
| IV       | 0.75              | 5     | 1 1 0 1 0            | $0.30 \pm 0.27$                | $0.30 \pm 0.27$              |
| V        | 1.00              | 5     | 1 1 0 0 1            | $0.30 \pm 0.27$                | $0.30 \pm 0.27$              |
| VI       | 1.50              | 5     | 0 0 0 0 1            | $0.10 \pm 0.22$                | $0.10 \pm 0.22$              |

与对照组比较，\*\* $P<0.01$ ，\*\*\* $P<0.001$ 。

表 2 三氧化二砷对黄鳝红细胞核异常率的影响

| 组别       | 观察动物数 | 核异常细胞数 /2 000 个红细胞  | 核异常细胞率(%) ( $\bar{x}\pm s$ ) |
|----------|-------|---------------------|------------------------------|
| I (阴性对照) | 5     | 38 40 44 50 48      | $22.00 \pm 2.55$             |
| II       | 5     | 126 130 138 136 140 | $67.00 \pm 2.92^{***}$       |
| III      | 5     | 413 427 488 465 418 | $221.10 \pm 16.37^{***}$     |
| IV       | 5     | 110 120 117 121 97  | $56.50 \pm 4.96^{***}$       |
| V        | 5     | 98 97 89 80 76      | $44.00 \pm 4.94^{***}$       |
| VI       | 5     | 10 11 8 9 12        | $5.00 \pm 0.79^{**}$         |

与对照组比较，\*\* $P<0.01$ ，\*\*\* $P<0.001$ 。

表 3 三氧化二砷对黄鳝红细胞总核异常细胞率的影响

| 组别       | 观察动物数 | 总核异常细胞数 /2 000 个红细胞 | 总核异常细胞率(%) ( $\bar{x}\pm s$ ) |
|----------|-------|---------------------|-------------------------------|
| I (阴性对照) | 5     | 39 41 44 50 48      | $22.20 \pm 2.31$              |
| II       | 5     | 128 132 141 137 141 | $67.90 \pm 2.86^{***}$        |
| III      | 5     | 418 430 492 470 422 | $223.20 \pm 16.41^{***}$      |
| IV       | 5     | 111 122 119 123 98  | $57.30 \pm 5.20^{***}$        |
| V        | 5     | 99 98 89 80 77      | $44.30 \pm 5.03^{***}$        |
| VI       | 5     | 10 11 8 9 12        | $5.00 \pm 0.79^{**}$          |

与对照组比较，\*\* $P<0.01$ ，\*\*\* $P<0.001$ 。

表 4 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对黄鳝白细胞的影响

| 组别       | 观察动物数 | 分叶             | 白细胞分类(%)      |             | 白细胞数(%)         |
|----------|-------|----------------|---------------|-------------|-----------------|
|          |       |                | 淋巴球           | 单核球         |                 |
| I (阴性对照) | 5     | 4.60 ± 0.55    | 6.80 ± 0.84   | 1.20 ± 0.45 | 12.60 ± 1.14    |
| II       | 5     | 4.20 ± 0.84    | 5.60 ± 0.55*  | 1.00 ± 0.00 | 10.80 ± 0.84**  |
| III      | 5     | 2.40 ± 0.55*** | 5.00 ± 0.71** | 0.60 ± 0.55 | 8.00 ± 1.00***  |
| IV       | 5     | 3.60 ± 0.55    | 6.20 ± 0.84   | 0.80 ± 0.45 | 10.60 ± 1.14**  |
| V        | 5     | 4.20 ± 0.45    | 7.40 ± 0.55   | 1.40 ± 0.55 | 13.00 ± 0.71    |
| VI       | 5     | 5.40 ± 0.55**  | 8.40 ± 0.89** | 1.60 ± 0.55 | 15.40 ± 1.14*** |

与对照组比较, \**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01, \*\*\**P* < 0.001。

表 5 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对黄鳝肝脏 CAT 活性的影响

| 组别       | CAT 活性 / 组(U/gprot) |       |       |       |       |  | CAT 活性( $\bar{x} \pm s$ ) |
|----------|---------------------|-------|-------|-------|-------|--|---------------------------|
| I (阴性对照) | 105.8               | 110.1 | 108.4 | 102.1 | 107.5 |  | 106.78 ± 3.04             |
| II       | 199.5               | 201.7 | 203.9 | 198.8 | 206.8 |  | 202.14 ± 3.28***          |
| III      | 320.5               | 318.9 | 325.6 | 319.6 | 331.2 |  | 323.16 ± 5.21***          |
| IV       | 252.5               | 249.9 | 263.9 | 258.7 | 260.4 |  | 257.08 ± 5.76***          |
| V        | 178.6               | 169.9 | 175.3 | 173.8 | 168.6 |  | 173.24 ± 4.06***          |
| VI       | 109.4               | 110.2 | 105.4 | 107.7 | 101.5 |  | 106.84 ± 3.51***          |

与对照组比较, \*\*\**P* < 0.001。

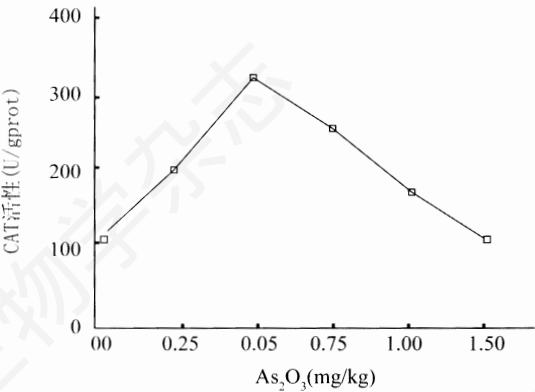


图 1 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对黄鳝肝脏 CAT 活性的影响

胞百分率则明显高于对照组(*P* < 0.001)。

2.5 三氧化二砷对黄鳝肝脏 CAT 活性的影响

表 5 表明, 随着 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 剂量的增加, 黄鳝肝脏的 CAT 活性逐渐提高, 组 III 达高峰; 随着 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 剂量的进一步增加 CAT 活性则逐渐下降。5 个实验组 CAT 活性与对照组均有显著差异(*P* < 0.001)。表明在该实验剂量范围内, 不同高剂量的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 均能提高黄鳝肝脏 CAT 的活性, 表现为激活作用(图 1)。

3 讨论

本实验的 5 个实验剂量组中, 0.50 mg/kg 剂量(组 III)诱发的黄鳝外周血红细胞微核细胞率、红细胞核异常率均为最高, 实验结果和耿德贵等<sup>[10]</sup>的研究结果一致。以上结果表明: 三氧化二砷能诱发黄

鳝外周血红细胞产生微核以及较高频率且多种类型的核异常, 具有核损伤作用。普遍认为, 染色体断裂剂打断染色体产生的无着丝粒片断形成小微核, 纺锤体毒剂打断纺锤丝造成的一条或一组染色体滞后形成大微核<sup>[11~14]</sup>。也有人认为微核是主核外突形成的, 原因是有些微核与主核有一细丝相连<sup>[10]</sup>, 我们在实验中发现这种现象(图 2)。我们在实验中发现, 三氧化二砷剂量为 0.25 mg/kg、0.50 mg/kg 时会明显诱发黄鳝外周血红细胞小微核和大微核的产生, 表明三氧化二砷具有染色体断裂剂和纺锤体毒剂的双重作用。而且, 在该 2 个剂量时也会明显诱发核外凸的形成, 表明其也会对细胞核产生毒性, 引起核外凸而形成微核。我们观察到有些微核与主核之间有细丝相连(图 2)。

实验结果还显示: 随着三氧化二砷剂量的增加黄鳝 3 种白细胞百分数(分叶、淋巴细胞及单核球)均逐渐下降, 当剂量为 0.50 mg/kg 时达最低值(组 III), 随着三氧化二砷剂量的进一步增加, 白细胞百分数反而上升。白细胞与机体的免疫功能有关, 白细胞数目的变化则显示了机体的免疫系统受到影响。本研究结果说明一定剂量的三氧化二砷影响黄鳝的免疫系统。

5 个实验组中组 III 的 CAT 活性是最高的, 但随着三氧化二砷剂量的进一步增大 CAT 活性逐渐下降。低剂量三氧化二砷对黄鳝体内染毒, 导致了肝脏 CAT 活性明显升高, 以利于肝脏解毒功能<sup>[15]</sup>的提

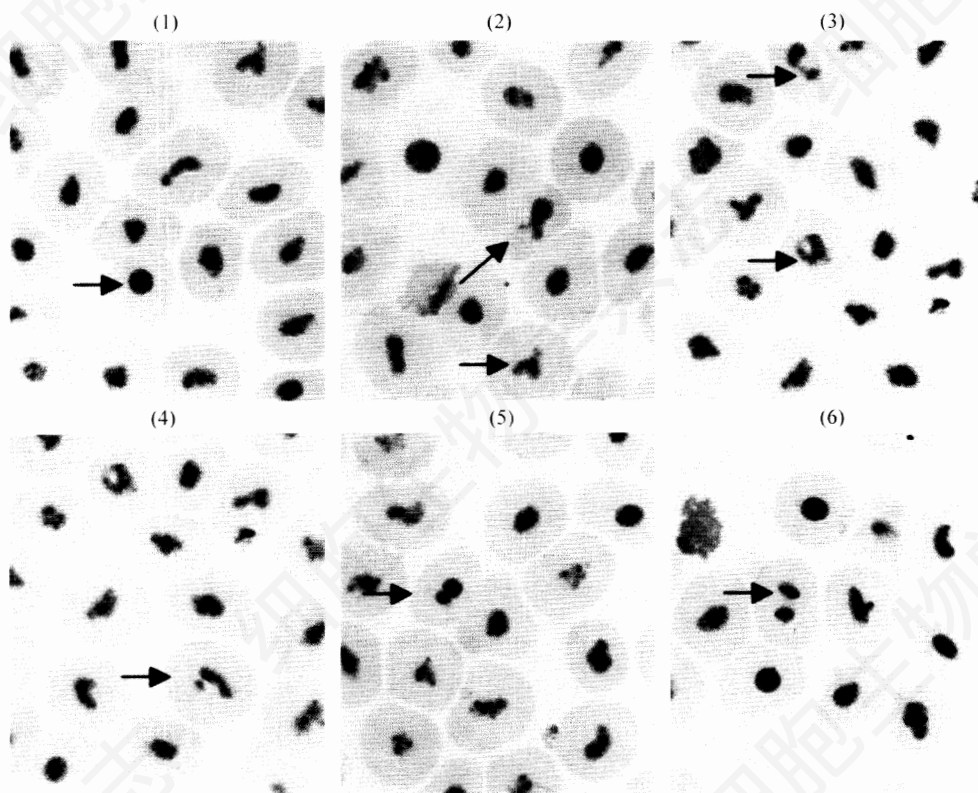


图2 三氧化二砷对黄鳝外周血红细胞核的影响

1: 正常的红细胞核; 2: 核外凸; 3: 核内凹和核内空泡; 4: 微核; 5: 核断裂; 6: 双核。

高。CAT 的主要生理作用就是催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解形成  $\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{O}_2$ 。CAT 活性的提高, 可以加快  $\text{H}_2\text{O}_2$  的分解, 使得  $\text{H}_2\text{O}_2$  不致于与  $\text{O}_2^{\cdot-}$  在铁螯合物作用下反应生成非常有害的  $\cdot\text{OH}$ 。在正常的生理情况下, 体内自由基不断产生, 但也不断被清除, 使之维持在一个正常的生理水平上, 过多或过少都会给机体造成损伤。三氧化二砷对人体的毒理作用, 主要是与人体细胞中的酶系统结合, 使许多酶的生物作用受到抑制而失去活性, 造成多谢障碍, 促使细胞死亡<sup>[16]</sup>。

综上所述, 本实验的 5 个剂量组对黄鳝外周血白细胞数目、红细胞微核和核异常以及 CAT 活性均具有显著的影响。结果表明一定剂量的三氧化二砷对黄鳝具有明显的毒性效应, 其详细机制有待于进一步的研究和探讨。

## 参考文献 (References)

- [1] Smith E *et al.* *Adv Agron*, 1998, **64**: 149
- [2] 赵其国. *土壤学报*, 2003, **40**: 321
- [3] 将成爱等. *土壤*, 2004, **36**: 264
- [4] 李 勇等. *中华预防医学杂志*, 1998, **32**: 37
- [5] 张 晨等. *新疆医学院学报*, 1996, **19**: 257
- [6] 钱晓薇. *细胞生物学杂志*, 2003, **25**: 179
- [7] 钱晓薇等. *浙江师范大学学报(自然科学版)*, 2002, **25**: 299
- [8] 钱晓薇等. *遗传*, 2002, **24**: 305
- [9] 邱郁春. *水污染鱼类毒性实验方法*, 北京: 中国环境科学出版社, 1992, 104
- [10] 耿德贵等. *癌变·畸变·突变*, 1999, **11**: 134
- [11] 楼允东等. *中国环境科学*, 1996, **16**: 275
- [12] 陈军建等. *水生生物学报*, 1993, **17**: 298
- [13] 王蕊芳等. *动物学研究*, 1996, **17**: 469
- [14] 贺维顺等. 1992, **13**: 275
- [15] 朱 毅等. *水产养殖*, 1998, (2): 22
- [16] 杨胜利等. *地球科学与环境学报*, 2004, **26**: 69

## The Toxicological Effects of Arsenic Trioxide on *Monopterus albus*

Xiao-Wei Qian\*

( School of life and Enviromental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325003, China )

**Abstract** To study the toxicological effects of the different dosages of  $\text{As}_2\text{O}_3$  on *Monopterus albus*. The methods of the mutagenesis test and red and white blood cells counting in fish were used to assay the white cell number, micronuclei and nuclear abnormity of red cell in peripheral blood erythrocytes, and CAT activity of liver in *Monopterus albus*. Results show that the rate of micronuclei and the rate of nuclear abnormity, and CAT activity gradually increase, white cell number gradually decrease, in rang of lower dosage. At 0.50 mg/kg they are respectively the highest and the lowest. With the dosage continuing to increase, the frequency of micronuclei and nuclear abnormity of red cell, and CAT activity decrease instead, white cell number gradually increase. The experiment enunciates that the some dosage of  $\text{As}_2\text{O}_3$  can effect on erythrocytes and leucocyte of peripheral blood, and CAT activity of liver in *Monopterus albus*.

**Key words** arsenic trioxide; toxicological effects; micronucleus frequency; frequency of nuclear abnormity; CAT activity of liver

---

Received: November 17, 2005      Accepted: April 17, 2006

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.M303606), the Foundation of Wenzhou Technology Bureau (No.S2002A015) and the Wenzhou Normal College (No.2003Z20)

\*Corresponding author. Tel: 86-577-88371046, E-mail: qianxiaowei@126.com