

# 亚氯酸盐对大鼠仔鼠的运动神经毒理学影响

吴明松<sup>1,2</sup>, 张玉玲<sup>1,3</sup>, 李绍峰<sup>1,4</sup>, 冉治霖<sup>1</sup>, 李百祥<sup>5</sup>, 黄君礼<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 150090 哈尔滨; 2. 东北大学 秦皇岛分校, 066004 河北 秦皇岛;  
3. 华北电力大学 环境科学与工程学院, 071003 河北 保定; 4. 深圳职业技术学院 建筑与环境工程学院, 518055 广东 深圳;  
5. 哈尔滨医科大学 公共卫生学院, 150006 哈尔滨)

**摘要:** 为研究二氧化氯在水消毒过程中的主要副产物——亚氯酸盐对人体健康的影响, 通过前肌力测试、脑部解剖学观察等运动神经毒理项目的测试等研究手段, 研究 30、120 和 360 mg/L 的亚氯酸盐对 3 代 Wistar 大鼠仔鼠运动神经系统的毒性. 结果表明: 亚氯酸钠对 Wistar 大鼠仔鼠并未表现出明显的毒理学效应和剂量效应关系, 但部分 360 mg/L 剂量组仔鼠小脑发生病变; 对于 Wistar 大鼠仔鼠运动神经发育无明显副作用的剂量值为 30 mg/L, 亚氯酸盐在饮用水中的最大污染水平目标值为 1.1 mg/L.

**关键词:** 饮用水消毒; 二氧化氯; 亚氯酸钠; Wistar 大鼠; 运动神经毒理

中图分类号: TU993.1

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2012)10-0053-03

## Motor neurimotor toxicological effect of chlorite on the offspring rats

WU Ming-song<sup>1,2</sup>, ZHANG Yu-ling<sup>1,3</sup>, LI Shao-feng<sup>1,4</sup>, RAN Zhi-lin<sup>1</sup>, LI Bai-xiang<sup>5</sup>, HUANG Jun-li<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China;  
2. Northeastern University at Qinhuangdao, 066004 Qinhuangdao, Hebei, China; 3. College of Environmental Science and Engineering, North China Electric Power University, 071003 Baoding, Hebei, China; 4. Dept. of Architecture Engineering, Shenzhen Polytechnic Institute, 518055 Shenzhen, Guangdong, China; 5. The Public Health School, Harbin Medical University, 150006 Harbin, China)

**Abstract:** To evaluate the effect of the byproduct of chlorine dioxide—chlorite on human, the neurimotor toxicological effects of sodium chlorite with the concentrations of 30, 120 and 360 mg/L on the offspring rats was studied for three generation by using toxicological tests methods, such as muscle power and brain anatomical observation. The results show that no certain toxicological effect and dose-effect relationship in motor neurimotor system associated with chlorite was detected. Cerebellar lesions occurred in several offspring rat. No observed adverse effect was determined as the concentration is 30 mg/L, and the maximum contaminant level of chlorite in drinking water was 1.1 mg/L.

**Key words:** drinking water disinfection; chlorine dioxide; sodium chlorite; Wistar rat; motor neurimotor toxicology

二氧化氯( $\text{ClO}_2$ )因其广谱消毒且不生成三卤甲烷的优良特性, 作为液氯的替代消毒剂在饮

用水消毒中广泛使用<sup>[1-2]</sup>.  $\text{ClO}_2$  在饮用水消毒中的主要副产物为亚氯酸盐( $\text{ClO}_2^-$ ), 其毒理学特性一直备受关注. 已有报道表明: 200 mg/L 的亚氯酸钠( $\text{NaClO}_2$ )溶液实际无毒, 也无明显蓄积毒性<sup>[3-4]</sup>; 800 mg/L 的  $\text{NaClO}_2$  水溶液也无致癌作用<sup>[5]</sup>. 但  $\text{ClO}_2^-$  会降低新生大鼠的探索能力, 使大脑皮层树突脊计数和突触形成发生改变<sup>[6]</sup>, 对神经发育行为有潜在影响<sup>[7]</sup>. 美国化学品制造协会进行的一项两代大鼠繁殖发育实验表明: 接触

收稿日期: 2012-03-16.

基金项目: 城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学)开放研究项目(ES200903).

作者简介: 吴明松(1982—), 男, 博士, 讲师;

李百祥(1962—), 男, 教授, 博士生导师;

黄君礼(1938—), 男, 教授, 博士生导师.

通信作者: 黄君礼, Junli\_hit@126.com.

300 mg/L 剂量的大鼠出生时至哺乳期体重较轻,绝对脑重略低,且对于听觉惊吓刺激反应明显下降<sup>[8-9]</sup>. 基于此,美国环保署规定饮用水中  $\text{ClO}_2^-$  的最大污染水平  $L_{\text{MC}}$  (maximum contaminant level) 为 1.0 mg/L, 最大污染水平目标值  $G_{\text{MCL}}$  (maximum contaminant level goal) 为 0.8 mg/L<sup>[10]</sup>, 为  $\text{ClO}_2^-$  在饮用水中的应用提供了理论依据. 现有报道主要集中在  $\text{ClO}_2^-$  的生殖发育、血液学等毒理效应,关于神经发育毒性的研究尚不充分. 本文首次揭示  $\text{ClO}_2^-$  对运动神经发育的影响,对于扩大  $\text{ClO}_2^-$  的应用具有理论意义.

## 1 实验

### 1.1 实验材料

亚氯酸钠购于天津津亚化工有限公司,质量分数为 99.7%, 主要杂质为氯酸钠、氢氧化钠和氯化钠. 用蒸馏水配制成质量浓度 30、120 和 360 mg/L 的  $\text{ClO}_2^-$  溶液作为受试物. 每周配制 1 次并标定,以确保其质量浓度的均一、稳定.

### 1.2 实验动物及饲养条件

选用出生 5 周龄的 SPF 级 wistar 大鼠雌 120 只、雄 60 只作为  $F_0$  代(购于北京维通利华实验动物技术有限公司). 动物置于不锈钢笼具,饲养于 SPF 级屏障系统中<sup>[11-12]</sup>, 温度为 20~23 °C, 湿度为 50%~70%, 明暗控制为 12 h 明/12 h 暗, 换气次数为 12 次/h. 所有动物喂饲常规基础饲料(购于哈药集团制药总厂, 各组分质量分数为玉米 73.5%, 麦麸 20%, 鱼粉 5%, 骨粉 1%, 食盐 0.5%), 通过带吸管的聚丙烯瓶随意饮用纯水或受试物.

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 分组及繁殖

动物购入后于实验室适应性饲养 1 周, 确认正常后开始试验. 大鼠按体重随机分为 4 组, 每组均有雌鼠 30 只、雄鼠 15 只. 4 组动物分别设为对照组、低、中、高剂量组. 摄入剂量依次为 30、120 和 360 mg/L, 哺乳期剂量减半.

试验组大鼠出生第 6 周后通过自由饮水方式连续染毒, 6 周后雌雄合笼交配, 得 a 窝. 在 a 窝断乳 10 d 后进行第 2 次交配, 得 b 窝, 共繁殖 3 代.  $F_{1a}$ 、 $F_{2a}$  和  $F_{3a}$  用于各项毒理学指标的测试,  $F_{1b}$  和  $F_{2b}$  作为下一代的亲代. 雌雄亲代大鼠染毒期分别持续至泌乳期结束和交配结束.

#### 1.3.2 前后肢肌力测定

前肢握力: 将仔鼠平放在一 50 cm × 40 cm、网孔为 1 cm<sup>2</sup> 的金属网格上, 然后翻转 180° 使其倒挂

在网格上, 同时秒表计时, 如超过 2 min, 则记为 2 min. 每只测 3 次, 每次间隔 5 min, 取均值. 后肢撑力指数: 后肢用墨水标记, 手抓背部, 使其水平方向位于光滑平台上方 32 cm, 松手后, 准确记录双侧后肢爪尖滑开的最远距离, 每只测 4 次, 每次间隔 5 min, 取均值.

#### 1.3.3 脏器系数及病理组织学检查

取雌雄仔鼠各 10 只于 PND11 和 PND64 检查. 先用体积分数 10% 的水合氯醛溶液麻醉断头处死, 对 PND11 仔鼠总脑称重; 对 PND64 仔鼠总脑、海马和小脑称重, 并计算脏器系数. 另取部分 PND11 和 PND64 仔鼠处死后, 于 3 min 内取出整脑于体积分数 10% 甲醛中固定. 包埋、切片、H&E 染色后镜下观察大脑、海马和小脑的病理组织学变化.

#### 1.4 数据处理

数据采用 SPSS17.0 统计软件包进行统计学处理, 多组样本均数的比较采用单因素方差分析<sup>[13]</sup>. 若资料符合正态分布, 且各组方差齐性, 选用 LSD 检验, 若方差不齐选用 Tamhane's T2 检验.

## 2 结果与讨论

### 2.1 亚氯酸盐对运动能力的影响

$F_{1a}$  仔鼠无异常现象.  $F_{2a}$  仔鼠在 PND21 时, 高剂量组 2 只雄鼠、7 只雌鼠和中剂量的 1 只雌鼠、1 只雄鼠行走异常, 表现为后肢不能完全站立, 严重者双后肢拖拉无法正常行走.  $F_{3a}$  仔鼠在 PND13 时, 高剂量组有 1 只雌鼠、2 只雄鼠眼睑半睁并有分泌物, 4、5 d 后恢复正常. 其余未见异常.  $F_{2a}$  及  $F_{3a}$  的行走异常现象说明通过乳汁摄入  $\text{ClO}_2^-$  可引起后肢肌力减弱, 甚至导致自行觅食困难而死亡, 部分未死仔鼠恢复正常又表明此现象可逆.

各代仔鼠 PND21 和 PND63 时前后肢肌力结果见表 1. 可以看出,  $F_{2a}$ 、 $F_{3a}$  雌鼠高剂量组握力时间远小于对照组,  $F_{1a}$  和  $F_{2a}$  代仔鼠在 PND21 和 PND63 时, 对照组后肢撑力结果与 3 个剂量组间差异无统计学意义.  $F_{3a}$  仔鼠雄性 PND21 时, 中剂量组后肢撑力距离比对照组稍有增加, 差异有统计学意义, 但高剂量组与对照组之间无统计学意义. 上述结果说明  $\text{ClO}_2^-$  对仔鼠(特别是雌鼠)的四肢肌力有影响. 但并没有确定的剂量效应关系.

### 2.2 亚氯酸盐对运动神经系统影响

各代仔鼠脏体比见表 2. 可以看出, 各剂量组与对照组在 PND11 时总脑质量和 PND64 时仔鼠总脑、海马和小脑的脏体比之间差异均无统计学意义, 说明亚氯酸盐对脑部的总体发育没有明显影响.

表 1 各试验组仔鼠前肢握力时间和后肢撑力距离

剂量/(mg·L <sup>-1</sup> )	握力时间/s				撑力距离/cm				
	PND21		PND63		PND21		PND63		
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
F <sub>1a</sub>	0	48.49±22.98	51.32±26.92	41.48±20.94	37.98±21.65	9.25±0.95	9.27±0.95	13.58±1.18	14.12±2.27
	30	40.85±29.82	52.89±24.62	23.67±20.21	54.46±19.96	9.54±1.14	8.81±0.82	14.05±1.32	12.78±1.53
	120	40.63±21.89	48.72±31.47	24.17±22.13	38.84±21.14	9.45±1.04	9.02±1.11	14.16±1.30	13.11±1.54
	360	46.82±18.15	42.45±23.86	33.87±20.94	41.29±19.54	8.96±0.76	8.81±1.38	13.76±0.93	12.83±1.01
F <sub>2a</sub>	0	66.60±33.56	66.03±33.70	42.39±33.27	40.29±31.33	8.73±1.08	9.08±0.73	12.07±1.49	11.05±1.02
	30	65.07±30.37	62.68±37.02	40.75±23.61	50.31±26.39	9.08±0.84	8.92±0.89	11.11±1.65	10.68±1.37
	120	48.11±31.18	52.19±30.47	27.33±22.89	45.91±21.46	8.37±1.28	8.94±0.77	11.83±1.03	11.69±4.92
	360	47.36±35.22	49.82±35.47*	48.53±26.56	54.67±33.49	8.07±1.17	8.34±1.07	11.03±1.45	11.05±1.27
F <sub>3a</sub>	0	33.80±24.55	38.67±35.61	4.71±1.46	9.94±3.99	7.93±1.56	8.12±1.55	7.93±1.56	8.12±1.55
	30	53.02±38.22	50.43±39.64	6.69±2.46*	8.02±6.24	8.54±1.10	8.42±1.12	8.54±1.10	8.42±1.12
	120	24.00±29.13	29.36±24.88	7.19±4.30*	6.12±2.09*	8.96±1.23*	8.28±1.06	8.96±1.23*	8.28±1.06
	360	35.36±32.08	42.45±36.09	5.15±2.78	6.04±2.89*	8.31±1.14	7.61±1.69	8.31±1.14	7.61±1.69

\* 表示 P>0.05.

表 2 脑脏体比 (×100)

剂量/(mg·L <sup>-1</sup> )	PND11		PND64						
	总脑		总脑		小脑		海马		
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
F <sub>1a</sub>	0	4.37±0.43	4.24±0.29	0.89±0.14	0.92±0.06	0.15±0.02	0.16±0.03	0.045±0.012	0.051±0.008
	30	4.00±0.15	4.09±0.28	0.83±0.09	0.99±0.09	0.14±0.02	0.18±0.03	0.050±0.008	0.055±0.009
	120	4.30±0.34	4.43±0.29	0.87±0.12	0.95±0.07	0.17±0.04	0.16±0.01	0.051±0.009	0.055±0.008
	360	4.52±0.27	4.65±0.67	0.81±0.15	1.01±0.12	0.13±0.04	0.19±0.04	0.049±0.017	0.061±0.008
F <sub>2a</sub>	0	5.05±0.14	4.89±0.67	0.70±0.07	0.79±0.14	0.12±0.01	0.14±0.04	0.048±0.009	0.059±0.014
	30	4.70±0.59	5.17±0.79	0.78±0.11	0.89±0.08	0.13±0.01	0.15±0.02	0.056±0.014	0.060±0.009
	120	4.98±0.46	5.02±0.43	0.70±0.07	0.87±0.09	0.12±0.02	0.15±0.02	0.050±0.009	0.133±0.211
	360	5.09±0.21	5.08±0.58	0.73±0.11	0.92±0.06	0.12±0.01	0.15±0.01	0.048±0.011	0.059±0.007
F <sub>3a</sub>	0	4.11±0.22	3.87±0.37	0.67±0.10	0.84±0.05	0.12±0.02	0.14±0.01	0.057±0.025	0.061±0.005
	30	3.90±0.23	3.85±0.18	0.67±0.08	0.82±0.06	0.12±0.01	0.13±0.03	0.050±0.012	0.061±0.008
	120	3.91±0.37	3.88±0.35	0.74±0.13	0.92±0.09	0.13±0.03	0.15±0.03	0.059±0.015	0.071±0.011
	360	4.00±0.18	3.92±0.31	0.74±0.06	0.82±0.07	0.13±0.02	0.13±0.01	0.053±0.007	0.059±0.007

2.3 脑病理组织学检查

仔鼠在 PND11 时,高、中、低剂量组与对照组相似,无病理变化.但 F<sub>2a</sub> 及 F<sub>3a</sub> 高剂量组 PND63 的多张脑组织病理图可见小脑局灶性白质脱髓(图 1(a))、小脑白质血管周脱髓(图 1(b))、小脑白质疏松出血(图 1(c))、浦氏细胞固缩(图 1(d)).中剂量、低剂量和对照组未发现改变.

2.4 亚氯酸盐对人运动神经影响评价

综上并结合其他 ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> 对 3 代大鼠繁殖发育的影响研究(数据略),ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> 对仔鼠神经发育的无明显副作用剂量为 30 mg/L,约为 4 mg/(kg·d);最低可观察副作用水平为 120 mg/L,约为 15 mg/(kg·d).根据美国环保署的推导方法,取种内及种间差异系数为 100,典型成人体重取 70 kg,每日饮水量为 2 L,设从饮水中摄取的

ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> 占总量的 80%,则可得

$$G_{MCL} = \frac{4 \times 70 \times 0.8 \times 100}{2} = 1.1 \text{ mg/L.}$$

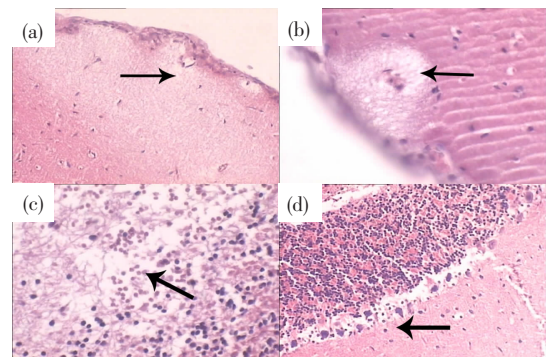


图 1 部分患病仔鼠脑组织 H&E 染色照片

(下转第 78 页)