

饮水砷暴露对 DNA 的损伤作用

Damage of water arsenic exposure to DNA

吴建美 樊树理 姜华 尹幸念 曲琳

WU Jian-mei, FAN Shu-li, JIANG Hua, YIN Xing-nian, QU Lin

内蒙古自治区综合疾病预防控制中心卫生毒理所, 内蒙古 呼和浩特 010031

摘要:目的 探讨饮水砷暴露的致突变性及对大鼠脾脏淋巴细胞 DNA 的损伤作用。方法 采用组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门菌回复突变试验(Ames)检测不同剂量亚砷酸钠水溶液(450、150、50、17.5 g/皿)及阳性、溶媒及阴性对照组在加与不加肝微粒体酶活化系统条件下(+S9 与-S9)诱发 TA97、TA98、TA100 和 TA102 菌株的基因突变作用;应用单细胞凝胶电泳试验(彗星试验)分析不同剂量饮水砷暴露(50、150 和 450 $\mu\text{g/L}$)对大鼠脾脏淋巴细胞 DNA 的损伤作用。结果 Ames 试验结果显示,在+S9 与-S9 时,各剂量组亚砷酸钠水溶液作用下,TA97、TA98、TA100 和 TA102 回变菌落数和空白对照组相比均未达到 2 倍以上,差异无统计学意义($P>0.05$)。彗星试验结果显示,低剂量组和中剂量组脾细胞尾部 DNA 百分率、尾距和阴性对照组相比,差异均无统计学意义;高剂量组的尾部 DNA 百分率与阴性对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$);而其 DNA 的尾距与阴性对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 饮水砷暴露对原核细胞 DNA 未显示致突变作用,高剂量组饮水砷会引起大鼠脾脏淋巴细胞 DNA 一定程度的损伤。

关键词: 饮水砷; 鼠伤寒沙门菌回复突变试验; 彗星试验; 脾脏淋巴细胞; DNA 损伤

中国图书资料分类号: R332

文献标识码: A

文章编号: 1004-1257(2018)12-1626-05

Damage of water arsenic exposure to DNA

WU Jian-mei, FAN Shu-li, JIANG Hua, YIN Xing-nian, QU Lin

Institute for Toxicology, Inner Mongolia Center for Disease Control and Prevention, Hohhot Inner Mongolia, 010031, China

Abstract [Objective] To explore the damage of mutagenicity caused by water arsenic exposure to spleen lymphocyte DNA of rat. **[Methods]** Ames test was carried out with Salmonella typhimurium strains TA97, TA98, TA100 and TA102 by standard method with or without the liver microsomal enzyme activation system (+S9 and-S9) to explore the DNA gene mutation induced by different dose groups of sodium arsenite aqueous solution (450, 150, 50, 17, 5 g/plate). The DNA damage of rat spleen lymphocytes caused by different dose groups of drinking water arsenic (450 $\mu\text{g/L}$, 150 $\mu\text{g/L}$, and 50 $\mu\text{g/L}$) was detected by Single cell gel electrophoresis test (comet test). **[Results]** The Ames test showed that the reverse mutation colonies induced by all dosage groups of arsenite aqueous solution in TA97, TA98, TA100 and TA102 strains were less than twice compared to control group with presence of +S9 or-S9 ($P>0.05$). The comet test showed that the splenocyte percentage of tail DNA and tail moment were not significantly different between low, middle dose group and negative control group. The percentage of tail DNA was significantly different between high dose group and negative control group ($P<0.05$). Significant difference of tail moment was not observed between high dose group and negative control group. **[Conclusion]** The drinking water arsenic has no mutagenic effect on prokaryotic cells. The high dose group of drinking water arsenic can cause a certain degree of damage to spleen lymphocyte DNA of rat.

Key words: Water arsenic; Ames; Comet test; Spleen lymphocytes; DNA damage

DOI:10.13329/j.cnki.zyyjk.2018.0370

砷是自然界存在的有毒类金属元素,广泛分布于岩石、土壤和水环境中,同时,砷也是一种严重危害人类健康的环境毒物和致癌物^[1]。近年来发生的因地下水天然砷污染所造成的危害已引起全世界的关注,我国

内蒙古、新疆和山西均发现了严重的饮水型砷中毒^[2]。国内外研究表明,砷可诱发哺乳动物细胞染色体畸变、姊妹染色单体交换和微核率增高,抑制 DNA 的修复,从而诱导遗传物质损伤,产生致癌和致畸作用^[3-4],但砷本身是否引起基因突变,对 DNA 有损伤作用报道不一。有研究认为砷会引起大脑皮层组织细胞 DNA 损伤或损伤易感性增强^[5],还有研究证明小鼠成纤维细胞和

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2014MS08141)

作者简介: 吴建美,女,主管检验师,主要从事毒理学检验工作。

通讯作者: 曲琳,主任医师, E-mail: 645148666@qq.com

人 2BS 细胞的 DNA 断裂^[6],也有一些试验并未发现砷对 DNA 的损伤作用。相同的是这些研究中使用的砷化物浓度均较高,而高剂量的砷化物也会对细胞产生明显的毒性作用^[7]。因此,这些实验条件下的结果很难说明 DNA 是砷化物作用的敏感部位。本文主要针对当地居民饮水砷暴露浓度设定剂量组^[8-10],采用了组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验(Ames 试验)和单细胞凝胶电泳技术(彗星试验),探讨饮水砷暴露致突变作用及其对大鼠脾脏淋巴细胞 DNA 的损伤作用,为进一步揭示饮水砷的毒性作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌株及 S9 鼠伤寒沙门菌株 TA97、TA98、TA100、TA102 均购自 MOLTOX 公司 S9 由普莱特生物医药技术有限公司提供,液氮保存。

1.1.2 试验动物与饲料 48 只清洁级 Wistar 大鼠,平均体重 60 g,雌雄各 24 只,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2012-0001,动物质量合格证号 11400700148340。饲料由北京科澳协力饲料有限公司提供,实验饲料生产许可证号 SCXK(京)2014-0010。大鼠饲养于 SPF 级动物房内,实验动物使用许可证号 SYXK(蒙)2015-0002。

1.1.3 试剂 亚砷酸钠(北京化工厂)、彗星试验试剂盒(北京博乐通生物科技有限公司)、Hank's 液(Hyclone 公司)、小牛血清(Gibco 公司)、RPMI1640(Hyclone 公司)、2,4,7-三硝基-9-芴酮(Fluka 公司)、叠氮化钠(Fluka 公司)、甲基磺酸甲酯(Fluka 公司)、2-氨基芴(Fluka 公司)、1,8-二羟基蒽醌(Fluka 公司)、氧化型辅酶(Sigma 公司)、6-磷酸葡萄糖钠盐(Calbiochem)、L-组氨酸(Sigma 公司)、生物素(国药集团化学试剂有限公司)、甲醇(Thermo 公司)、环磷酰胺(Sigma 公司),其他试剂均为国产分析纯。

1.1.4 仪器 洁净工作台(双人)(苏州安泰空气技术有限公司)、电热恒温水槽(上海一恒科技有限公司)、电热恒温培养箱(上海一恒科技有限公司)、恒温振荡培养箱(上海一恒科技有限公司)、台式自动平衡低速离心机(北京时代北利离心机有限公司)、Bio-Rad 高电压电泳仪电源(美国 Bio-Rad 公司)、高通量彗星试验电泳槽(北京博乐通生物科技有限公司)、Leica DMI4000B 倒置相差荧光显微镜(德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 Ames 试验

1.2.1.1 菌株鉴定 菌株鉴定包括组氨酸缺陷、脂多糖

屏障(rfa)缺陷、R 因子(氨苄青霉素抗性)、四环素抗性、紫外损伤(uvrB)修复缺陷和标准自发回变率的鉴定。方法及鉴定标准见文献[11]。

1.2.1.2 对照组及剂量设定 试验设 5 个剂量组亚砷酸钠水溶液,分别为 450、150、50、17、6 g/皿,同时设空白对照(自发回变)、阴性对照组和阳性对照。阴性对照为 0.1 ml/皿的无菌蒸馏水,空白对照为 0.1 ml/皿的新鲜增菌液。不加 S9 阳性对照物,TA97、TA98 菌株是 2,4,7-三硝基-9-芴酮,TA100 菌株是叠氮钠,TA102 菌株是甲基磺酸甲酯(MMS);加 S9 阳性对照物,TA97、TA98、TA100 菌株均为 2-氨基芴(2-AF),TA102 为 1,8-二羟基蒽醌。

1.2.1.3 平板掺入法检测细菌回复突变率 将融化的顶层培养基(经 108 °C 20 min 高压灭菌)分装于无菌小试管,每管 2 ml(含 0.05 mmol/L 组氨酸-生物素),置 45 °C 恒温水浴中保温。在保温的顶层培养基中依次加入新鲜增菌液 0.1 ml,混匀。试验组加入受试物 0.1 ml,阳性对照组加入 0.1 ml 标准诱变剂,阴性对照组只加入 0.1 ml 无菌蒸馏水,空白对照组只在培养基上加菌液,需活化时加入体外代谢活化系统 S9 混合物 0.3 ml,混匀,迅速倒入已制备好的底层培养基平皿上,使其均匀分布,凝固后置 37 °C 培养 48 h。每一检测剂量设不加和加 S9 混合物各 3 个平行皿,试验重复 1 次。

1.2.1.4 判断标准 记录受检样品各剂量组以及阳性对照组、阴性对照组和空白对照组(自发回变)的每皿细菌回变菌落数。计算每个剂量组回变菌落数的均数与标准差,然后计算每组的突变率即 MR 值(MR=样品回变菌落数/自发回变菌落数)。如果受试物的回变菌落数是自发回变数的 2 倍或 2 倍以上(即 $MR \geq 2$)或受试物回复突变数的增加与剂量相关并有统计学意义,即呈剂量-反应关系,可判定为阳性(有致突变作用),反之则为阴性。

1.2.1.5 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件统计进行单因素方差分析。

1.2.2 单细胞凝胶电泳(彗星试验)

1.2.2.1 动物分组及处理 取 48 只洁净(SPF 级)Wistar 大鼠,购回观察 3 天后,随机分为 4 组,雌雄各 24 只,分别设为阴性对照组及低、中、高 3 个剂量组。饮水砷采用亚砷酸钠水溶液,将亚砷酸钠用蒸馏水配成 50、150、450 $\mu\text{g/L}$ 3 个浓度,然后以自由饮水的形式对大鼠进行连续染毒 90 天后,处死各组大鼠。

1.2.2.2 大鼠脾细胞悬液的制备 无菌取脾,置于盛有适量无菌 Hank's 液的小平皿中,用镊子轻轻将脾磨碎,制成单细胞悬液;经 200 目细胞筛网过滤,用

Hank's 液清洗 2 次,每次以 1 000 r/min 转速离心 10 min(离心半径为 12.5 cm);弃上清将细胞弹起,加入 0.5 ml 灭菌水 20 s,裂解红细胞后再加入 0.5 ml 2倍 Hank's 液及 8 ml Hank's 液,1 000 r/min,10 min 离心;用 1 ml 含 10%小牛血清的 RPMI 1640 完全培养液重悬,用台盼蓝染色计数活细胞数;RPMI 1640 完全培养液调整细胞浓度为 1×10^6 个/ml,在光学镜下用台盼蓝法检测活细胞率在 95%以上。将制备好的细胞悬液放在 4 °C 冰箱保存备用。

1.2.2.3 制片 将 10 μ l 脾细胞悬液与 90 μ l 42 °C 的 1%低熔点琼脂糖混匀后,取 100 μ l 混合液滴加在铺有 2 层胶的毛玻璃片上,加盖玻片,每一样品做 1 平行片,4 °C 冷凝 20 min。

1.2.2.4 细胞裂解 去掉盖玻片后将载玻片置于预冷的碱性裂解液中,4 °C 冰箱避光过夜裂解。

1.2.2.5 细胞 DNA 解旋及电泳 将裂解好的载玻片置于电泳缓冲液中,避光静置 30 min,使 DNA 充分解旋;于 250 V 电压,300 mA 电流下电泳 30 min。

1.2.2.6 中和、染色观察 电泳完毕,将载玻片置于中和液中中和 10 min,加核酸染料,避光染色 4 min 后迅速用蒸馏水冲洗干净,避光保存;于荧光显微镜下观察结果。

1.2.2.7 拍照与分析 每只动物随机观察 50 个细胞,使用 CCD 拍照,用 CASP 彗星图像分析软件自动分析。分析指标为国际公认的尾矩、尾长和 DNA 损伤率,同时记录彗星细胞出现率。

1.3 统计学分析 用 CASP 彗星图像分析软件对图像结果进行分析,记录 DNA 损伤率、尾长,以及尾矩(Tail moment, TM)。测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计分析软件对数据进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株鉴定结果 组氨酸营养缺陷鉴定 4 种菌株在补充有组氨酸的培养基上生长,在无组氨酸的培养基上不能生长;*rfa* 鉴定 4 种菌株均在结晶紫溶液渗透区出现抑制带;R 因子鉴定 4 种菌株在氨苄青霉素周

围生长不受抑制,即均带有 R 因子;*uvrB* 缺失鉴定,TA97、TA98、TA100 菌株仅在紫外线没有照射过的部分生长,TA102 在没有照射过的部分和照射过的部分均能生长。菌株基因型和自发回变鉴定符合使用标准,见表 1。

2.2 Ames 试验结果 2 次平行试验结果显示,背景菌苔生长良好,菌落清晰,边缘整齐,培养皿上未见沉淀,表明受试物对细菌没有毒性。在加与不加体外代谢活化系统 S9 条件下,受试物各剂量组的平均回变菌落数均未大于或等于空白对照组的 2 倍,差异无统计学意义($P > 0.05$),而阳性对照组的平均回变菌落数大于或等于空白对照组的 2 倍,呈现明显阳性反应,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2、表 3。

2.3 彗星试验结果 在荧光显微镜下,DNA 被核酸染料染成红色。阴性对照组中大部分脾脏细胞 DNA 未见损伤,表现为圆形类核,即彗星头部,荧光强度均匀,边缘整齐,见图 1;低剂量组和中剂量组中脾细胞 DNA 偶见发生轻度损伤,表现为向头部带一拖尾,尾部的荧光弱于头部,见图 2;高剂量组中脾细胞 DNA 损伤较重,断裂的 DNA 从类核中向阳极迁移,形成 1 个较长的尾部,荧光也较强,形似彗星,见图 3。

每组随机选取 50 只大鼠脾淋巴细胞,用 CASP 彗星图像软件对图像结果进行分析,记录彗星拖尾细胞数、尾长以及 TM。结果表明,50 μ g/L 和 150 μ g/L 低、中剂量组和阴性对照组脾淋巴细胞 DNA 的尾长差异无统计学意义($P > 0.05$),450 μ g/L 高剂量组和阴性对照组脾淋巴细胞 DNA 的尾长相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);各剂量组脾淋巴细胞 DNA 尾矩和阴性对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 4。

3 讨论

无机砷的毒性作用主要是砷通过抑制 DNA 修复,引起染色体畸变,诱导遗传物质损伤等多种途径产生致癌、致畸作用,但其作用机制尚未完全清楚。目前文献检索显示饮水砷体内研究的报道远不如人群的流行病学资料、体外细胞实验研究的多,即便有也大多较高浓度砷水造模,期望在尽可能短的时间,建立贴近临床

表 1 鼠伤寒沙门菌 4 种菌株生物学特性鉴定结果和自发回变率

菌株	基因型				标准自发回变菌落数 (不加 S9)	试验回变 菌落数
	组氨酸缺陷型	脂多糖屏障(<i>rfa</i>)缺陷	R 因子(氨苄青霉素抗性)	四环素抗性		
TA97	+	+	+	-	90~180	92
TA98	+	+	+	-	30~50	39
TA100	+	+	+	-	120~200	133
TA102	+	+	+	+	240~320	312

注: +表示阳性, -表示阴性, S_q—肝微粒体酶活化系统。

表2 饮水砷的第1次Ames试验结果($\bar{x}\pm s$)

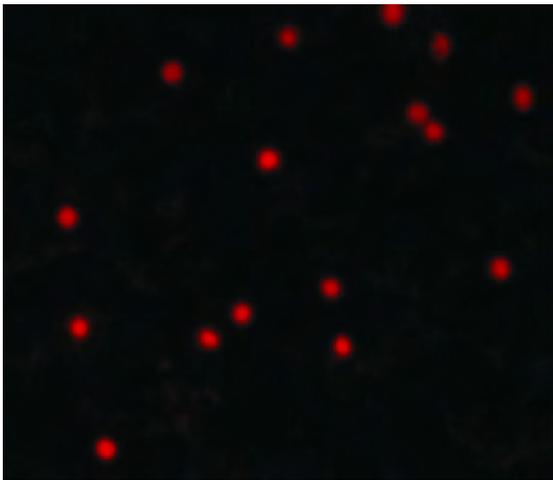
组别	TA97				TA98				TA100				TA102			
	-S9	MR	+S9	MR	-S9	MR	+S9	MR	-S9	MR	+S9	MR	-S9	MR	+S9	MR
阳性对照	1951±260 ^a	17.58	2061±251 ^a	17.18	1528±180 ^a	43.66	1845±259 ^a	47.31	2065±227 ^a	17.21	1548±115 _a	11.64	2040±259 ^a	7.97	1012±161 ^a	4.10
450 g/皿	110±9	0.99	122±5	1.02	41±4	1.17	42±4	1.08	113±11	0.94	124±8	0.93	253±7	0.99	232±7	0.94
150 g/皿	123±4	1.11	127±5	1.06	34±6	0.97	39±8	1.00	112±12	0.93	128±4	0.96	243±11	0.95	260±10	1.05
50 g/皿	114±8	1.03	125±11	1.04	33±7	0.94	40±9	1.03	121±10	1.01	143±9	1.08	250±9	0.98	290±10	1.17
17 g/皿	135±8	1.22	136±10	1.13	35±3	1.00	40±7	1.03	128±6	1.07	147±6	1.11	261±8	1.02	286±10	1.16
6 g/皿	132±8	1.19	137±11	1.14	34±7	0.97	41±7	1.05	133±5	1.11	146±8	1.10	248±5	0.97	266±7	1.08
阴性对照	116±6	1.05	120±8	1	32±3	0.91	36±3	0.92	119±8	0.99	138±8	1.04	266±5	1.04	252±7	1.02
空白对照	111±8	-	120±8	-	35±2	-	39±3	-	120±9	-	133±7	-	256±10	-	247±7	-

注 MR—突变率 S_q—肝微粒体酶活化系统 ;与阴性对照比较 ,*P*<0.05。

表3 饮水砷的第2次Ames试验结果($\bar{x}\pm s$)

组别	TA97				TA98				TA100				TA102			
	-S9	MR	+S9	MR	-S9	MR	+S9	MR	-S9	MR	+S9	MR	-S9	MR	+S9	MR
阳性对照	2101±299 ^a	18.27	2060±187 ^a	17.17	1516±112 ^a	38.88	1813±229 ^a	43.17	2039±282 ^a	15.93	1506±216 ^a	9.47	2005±255 ^a	7.14	1034±128 ^a	3.36
450 g/皿	125±9	1.09	128±9	1.07	39±1	1.00	46±3	1.10	115±10	0.90	144±5	0.91	294±7	1.05	305±5	0.99
150 g/皿	126±10	1.10	122±3	1.02	41±1	1.05	40±8	0.95	125±3	0.98	168±3	1.06	296±11	1.05	295±8	0.96
50 g/皿	119±5	1.03	124±11	1.03	46±6	1.18	47±1	1.12	117±4	0.91	143±6	0.90	293±9	1.04	299±10	0.97
17 g/皿	126±9	1.10	130±9	1.08	46±9	1.18	42±7	1.00	123±12	0.96	156±11	0.98	307±7	1.09	287±8	0.93
6 g/皿	133±8	1.16	131±5	1.09	43±5	1.10	44±3	1.05	154±5	1.20	165±7	1.04	283±7	1.01	289±11	0.94
阴性对照	124±4	1.08	128±7	1.07	36±5	0.92	39±5	0.93	124±7	0.97	138±8	0.87	273±9	0.97	323±12	1.05
空白对照	115±4	-	120±1	-	39±3	-	42±5	-	128±6	-	159±5	-	281±8	-	308±2	-

注 MR—突变率 S_q—肝微粒体酶活化系统 ;与阴性对照比较 ,*P*<0.05。



注 阴性对照组 ,可见细胞无拖尾

图1 彗星实验(核酸染色 ×100)



注 50、150 μg/L低、中剂量组 ,DNA 轻度损伤 ,有一个较小的拖尾

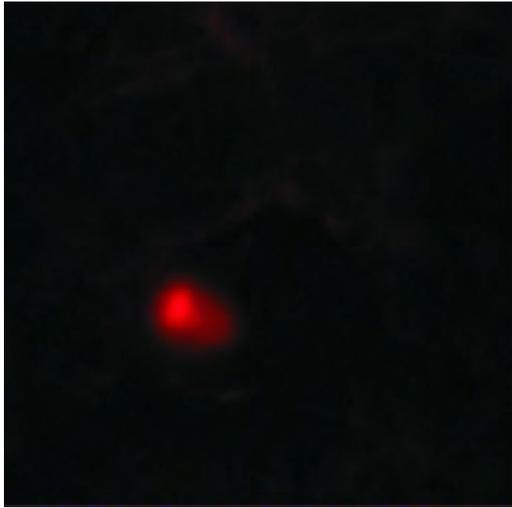
图2 彗星实验(核酸染色 ×100)

发病机制的砷暴露损伤动物模型^[12]。本研究采用细菌回复突变试验(Ames 试验)从碱基突变方面来探讨砷的致基因突变性 ,然后采用单细胞凝胶电泳技术(Single Cell Gel Electrophoresis ,SCGE) 即彗星试验检测大鼠脾脏淋巴细胞 DNA 的损伤情况。

Ames 试验结果显示 ,各饮水砷剂量组 TA97、TA98、TA100 和 TA102 菌株回复突变数与空白对照组相比差异均无统计学意义。这和以往研究认为砷在 Ames 试验中和腐植酸共同作用才有微弱致突变性 ,而单独作用并没有致突变性结果一致^[13]。有研究显示较高剂量的砷化合物有明显的细菌生长抑制作用^[14] ,因此

本研究根据砷病源地饮水中砷剂量设定的较低剂量饮水砷暴露组 ,结果显示各试验组均未诱发基因点突变。

Ames 试验是一种检测受试物能否引起伤寒沙门菌基因组碱基置换或移码突变的有效试验方法 ,虽然本试验并没有出现阳性结果 ,但是无法完全证明 DNA 不存在损伤。彗星试验是一种在单个细胞水平上检测 DNA 损伤的方法 ,能反映细胞群体中不同类型细胞对作用因素的不同反应 ,而不仅仅是群体细胞的平均效应水平 ,因此更为灵敏 ,因此通过彗星试验检测通过自由饮水方式进行染毒 ,每日饮水量约 190 ml/kg ,连续染毒 90 天 ,不同浓度饮水砷作用下大鼠脾脏淋巴细胞



注:450 μg/L高剂量组,可见明显彗星拖尾

图3 彗星实验(核酸染色, ×200)

表4 饮水砷对大鼠脾细胞DNA损伤作用彗星实验结果

浓度 (μg/L)	观察细胞数 (个)	拖尾细胞		尾长(μm) ($\bar{x} \pm s$)	尾矩
		数目	百分率(%)		
50	50	8	16	10.88±2.09	1.06±0.61
150	50	8	16	15.25±7.05	2.13±1.91
450	50	17	34	19.06±4.03 ^a	4.25±3.57
阴性对照	50	3	6	9.00±4.24	1.05±0.96

注:与阴性对照比, ^aP<0.05。

DNA 的损伤情况。结果显示,对照组中脾细胞未损伤的 DNA 表现为一圆形类核,即彗星头部,荧光强度均匀,边缘整齐。低剂量组发生轻度损伤的脾细胞 DNA 表现为伸出一个较小的尾,一般尾部的荧光弱于头部,高剂量组中损伤较重的脾细胞其断裂的 DNA 形成一个较长荧光也较强的尾部,形似彗星。统计学分析结果表明,低剂量组、中剂量组脾细胞 DNA 的尾长、尾距和阴性对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$),高剂量组尾长与阴性对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。这和一些研究证明的亚砷酸钠可以引起人外周血淋巴细胞 DNA 的损伤,同时随着亚砷酸钠剂量升高, DNA 损伤程度加重结果基本一致^[15]。本研究结果也说明了这一点,脾脏淋巴细胞在本试验较低的受试浓度下即表现出了一定的 DNA 损伤作用。

4 结 论

上述结果提示,低剂量饮水砷暴露未能引起原核

细胞的基因突变,低剂量长期饮水砷暴露会引起大鼠脾淋巴细胞 DNA 的毒性损伤,这也为长期慢性饮水型砷对机体毒性作用的防治提供了体外和动物体内实验室依据

作者声明 本文无实际或潜在的利益冲突

参考文献

[1] BROWN KG, ROSS GL. Arsenic, drinking water, and health: a position paper of the American Council on Science and Health [J]. Regul Toxicol Pharm, 2002, 36(2): 162-174.

[2] 金银龙, 梁超轲, 何公理, 等. 中国地方性砷中毒分布调查(总报告)[J]. 卫生研究, 2003, 32(6): 519-540.

[3] 王淑梅, 王治伦, 张艺蓓. 砷对动物和人的生殖毒性及其研究进展[J]. 中华地方病杂志, 2013, 32(3): 351-354.

[4] 陈晓琴, 郑艳艳, 凌健安, 等. 亚砷酸钠对雄性小鼠的生殖毒性作用[J]. 中国职业医学, 2009, 36(2): 112-113.

[5] 张敏, 陈腾翔, 胡晓霞, 等. 慢性砷砷对大鼠大脑皮层组织细胞 DNA 损伤及细胞凋亡的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2007, 32(4): 390-392.

[6] 张爱华, 黄晓欣, 李军, 等. 用 SCGE 法检测燃煤污染性砷中毒患者血细胞 DNA 的损伤作用[J]. 中国地方病防治杂志, 2000, 19(1): 7-9.

[7] 陆景坤, 陈朝军, 刘小雷, 等. 不同砷化合物对人胚肾细胞系 HEK-293 细胞的毒性研究[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(1): 25-28.

[8] 郭志伟, 夏雅娟. 地方性砷中毒致人群临床损伤研究进展[J]. 中国地方病防治杂志, 2015, 34(7): 543-546.

[9] 郭志伟, 夏雅娟, 武克恭, 等. 内蒙古饮水型地方性砷中毒病区人群皮肤损伤危险因素分析 [J]. 中国地方病防治杂志, 2011, 30(6): 638-641.

[10] 武克恭, 伊力奇, 刘献铭, 等. 内蒙古自治区地方性砷中毒调查项目水砷筛查结果分析[J]. 中国地方病防治杂志, 2007, 20(26): 114-116.

[11] 祝寿芬, 裴秋玲. 现代毒理学基础[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2003: 384-388.

[12] 李玲, 吴君, 蒋玲, 等. 慢性饮水砷暴露致小鼠肝纤维化作用的研究[J]. 山东医药, 2009, 49(33): 34-36.

[13] 余孝颖, 洪清霖. 中国砷中毒病区腐植酸样品致突变性研究[J]. 中华预防医学杂志, 1998, 32(2): 70-72.

[14] 高艳芳, 裴秋玲. Ames 试验对低剂量亚砷酸钠致突变性的研究[J]. 中国地方病学杂志, 2008, 27(4): 389-392.

[15] 高颖. 亚砷酸钠对角质形成细胞的氧化损伤作用 [J]. 中国公共卫生, 2005, 21(4): 455-456.

收稿日期: 2017-12-22 修回日期: 2018-03-12 责任编辑: 张军

