

亚硫酸盐对小鼠免疫指标的影响

赵坚华, 金铁岩, 权伍荣*

摘要: [目的] 研究亚硫酸盐对昆明种小鼠免疫系统的影响, 为其合理使用提供依据。[方法] 实验动物随机分成高、中、低剂量组和对照组, 采用经口灌胃染毒, 剂量分别为 30.00、14.49、7.00 mg/kg 体重, 每天染毒 1 次, 对照组灌等体积生理盐水, 连续 14 d。末次染毒后取材测定其血液碳粒廓清指数、吞噬指数、胸腺指数、脾脏指数, 制作胸腺、脾脏组织结构石蜡切片图, 进行病理观察。[结果] 与对照组相比, 高、中剂量组的碳粒廓清指数、吞噬指数明显降低 ($P < 0.05$)。胸腺指数和脾脏指数 ($P < 0.05$), 低剂量组与对照组之间无明显差异。[结论] 亚硫酸钠对小鼠免疫系统有一定抑制作用。

关键词: 亚硫酸盐; 免疫; 小鼠

Effects of Sulfite on Immune Indices in Mice ZHAO Jian-hua, JIN Tie-yan, QUAN Wu-rong* (Department of Food Science, Agricultural College, Yanbian University, Longjing, Jilin 133400, China). *Address correspondence to QUAN Wu-rong; E-mail: wrquan@ybu.edu.cn

Abstract: [Objective] To research the effects of sulfite on immunologic system in Kunming mice. [Methods] The experiment animals were divided randomly into 4 groups: high dose group, medium dose group, low dose group and the control group. Each test group was conducted by gavage with sodium sulfite every day for 14 d and the control group was treated with physiological saline in the same volume as the exposure groups. The doses of sulfite for the 3 exposure groups were 30.00, 14.49 and 7.00 mg/kg body weight separately. Then all mice were sacrificed, the index of blood carbon expurgation, the index of thymus and the index of spleen were detected. Thymus and spleen sliced specimens were prepared for pathological observation. [Results] It showed great difference in the index of carbon particle expurgation between the high, medium exposure groups and the control group ($P < 0.08$), but there was little difference between the low dose group and the control group. The index of thymus/spleen of high and middle dose groups also showed high significant difference than the control group ($P < 0.05$), but there was little difference between the low dose group and the control group. [Conclusion] Sodium sulfite has an inhibiting effect on immunologic system in mice.

Key Words: sulfite; immunity; mice

亚硫酸盐是目前使用的漂白剂之一, 由于具有良好的改善食品色泽、抑菌及抗氧化等作用, 而广泛应用于食品的漂白与保藏等^[1-3]。

免疫系统是机体重要的功能系统, 当机体受到外来抗原物质的刺激时, 引起机体的免疫细胞活化、增殖, 并产生免疫应答, 识别和清除外来异物, 对机体进行防御和保护。外来化合物对免疫功能的抑制作用包括对细胞免疫、体液免疫、巨噬细胞功能、NK 细胞功能的抑制, 可直接损伤免疫细胞的形态和功能, 影响淋巴细胞的亚群比例和分泌功能, 以及抗体的生成量和种类等^[4-5]。

目前, 国内外关于亚硫酸盐对食品漂白作用方面的报道较多, 而对机体免疫系统影响的研究报道较少^[6-7]。本试验拟通过观察不同剂量的亚硫酸钠对小鼠免疫系统的影响, 阐明其对小鼠免疫系统是否有毒性作用, 以便为合理利用亚硫酸盐提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及饲养条件

6~8 周龄昆明种健康小鼠 32 只, 雌雄各半, 由延边大学农学院动物实验中心提供。饲养条件为温度 22~25℃、湿度 40%~70%, 给予普通饲料, 自由饮水。

1.2 实验试剂和仪器

无水亚硫酸钠(广东汕头市西陇化工厂); 甲醛(甲原化学试剂一厂); 刚果红(中国医药公司北京采购供应站经销); 氯化钠(北京化工厂)。FA2104A 电子天平(上海精天电子仪器有限公司); 722 型分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

1.3 实验方法

将 32 只小鼠, 随机分成高、中、低和对照组 4 组, 每组 8 只, 雌雄各半, 分别给予 30.00、14.49、7.00 mg/kg 体重亚硫酸钠溶液灌胃, 每天 1 次, 连续灌胃 14 d。对照组给予同等体积生理盐水。

1.3.1 碳粒廓清实验 小鼠末次给药 30 min 后, 通过尾静脉注射刚果红染料 0.005~0.010 mL/g 体重 2、8 min 后, 分别用预先被肝素溶液浸湿的毛细管分别从眼眶后静脉丛中吸取血液 20 μ L, 溶于 2 mL 浓度为 1% 的 Na_2CO_3 溶液中, 摇匀后立即用 722 型分光光度计在波长 680 nm 处比色, 记录吸光强度值。然后颈椎脱臼处死小鼠, 取出肝脏和脾脏, 用滤纸吸干其表面血

[作者简介] 赵坚华(1961-), 女, 学士, 主管检验师; 研究方向: 公共卫生与预防医学; E-mail: ynwss@ybu.edu.cn

[*通信作者] 权伍荣教授; E-mail: wrquan@ybu.edu.cn

[作者单位] 延边大学农学院食品科学系, 吉林 龙井 133400

液,称重。按下列公式计算碳粒廓清指数 K 和吞噬指数 α ^[8-10]。

$$K = (\lg A_1 - \lg A_2) / (t_2 - t_1)$$

$$\alpha = K^{1/3} \cdot W / W_{LS}$$

式中, A 为血样吸光值, t 为采血时间, W 为体重, W_{LS} 为肝脾合重。

1.3.2 胸腺指数、脾脏指数测定 颈椎脱臼处死小鼠,取脾脏、胸腺放于无菌生理盐水平皿中,洗净后用滤纸吸干,称重。分别计算脾脏指数和胸腺指数:脾脏指数 = 脾脏平均重(mg)/小鼠平均体重(g);胸腺指数 = 胸腺平均重(mg)/小鼠平均体重(g)。

1.3.3 制作石蜡切片 称重后小鼠胸腺、脾脏置于 10% 甲醛中固定,制作常规石蜡切片,HE 染色。观察小鼠的胸腺、脾脏组织显微结构。

1.3.4 统计方法 实验数据用均数加减标准差($\bar{x} \pm s$)表示,试验组与对照组进行组间 t 检验。

2 结果

2.1 亚硫酸钠对小鼠血液碳粒廓清指数 K 、吞噬指数 α 、胸腺指数、脾脏指数的影响

与对照组相比,高、中剂量组的廓清指数、吞噬指数、胸腺指数和脾脏指数均明显降低,见表 1。

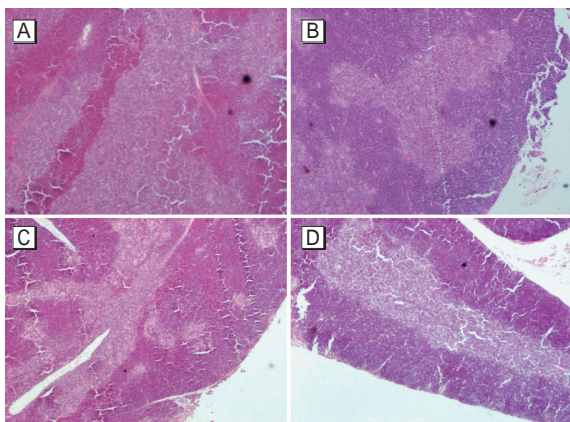
表 1 亚硫酸钠对小鼠各免疫指标的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	廓清指数 K	吞噬指数 α	胸腺指数	脾脏指数
对照组	0.025 ± 0.004	9.83 ± 1.25	0.0051 ± 0.0004	0.0078 ± 0.0090
低剂量组	0.020 ± 0.008	8.51 ± 1.47	0.0049 ± 0.0003	0.0065 ± 0.0003
中剂量组	0.019 ± 0.005*	8.27 ± 1.21*	0.0042 ± 0.0004*	0.0058 ± 0.0004*
高剂量组	0.016 ± 0.006**	7.74 ± 1.33**	0.0035 ± 0.0007**	0.0054 ± 0.0005**

[注] *: 与对照组比较, $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ 。

2.2 亚硫酸钠对小鼠胸腺、脾脏组织结构影响

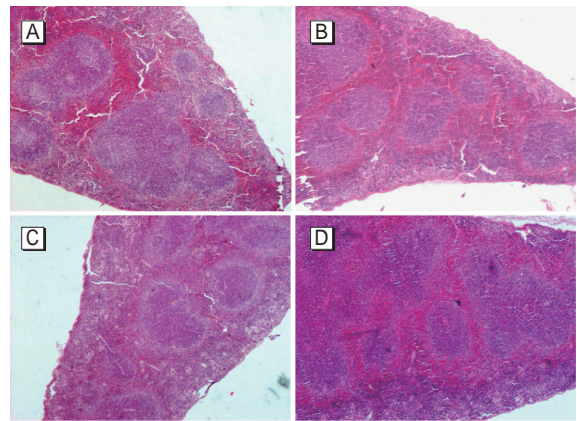
高、中剂量组小鼠的胸腺组织中皮质变厚,髓质面积变小,组织结构清晰无出血现象,无病变,见图 1。



A. 对照组; B. 高剂量组; C. 中剂量组; D. 低剂量组

图 1 亚硫酸钠所致的小鼠胸腺组织结构变化(石蜡切片 $\times 400$)

脾小体和脾小梁的结构清晰,高、中剂量组脾脏组织中的脾小体数量和大小比例呈现一致性,脾小体较小,数量较多,而低剂量和对照组脾小体相对较大,数量相对较少,见图 2。



A. 对照组; B. 高剂量组; C. 中剂量组; D. 低剂量组

图 2 亚硫酸钠所致的小鼠脾脏组织结构变化(石蜡切片 $\times 400$)

3 讨论

人们从 1664 年首次将亚硫酸盐用作食品添加剂,到 21 世纪已有 5 个世纪。由于亚硫酸盐制剂其性质的特殊性和应用的历史很久,所以在很长时间以来都被认为是安全的。但随着亚硫酸盐应用的广泛,问题也逐渐暴露,于 20 世纪 60 年代人们开始发现和注意亚硫酸盐的毒性问题^[11],相应地提出了一些限制标准^[12]。可是,由于限制标准的约束性有限,随着我国食品工业的发展,食品添加剂残留量超标的问题日益严重。亚硫酸盐作为食品添加剂之一而被广泛应用于食品加工工业中,特别是在我们日常生活中常用的罐头食品、保藏食品及啤酒中都含有相当水平的这种化合物;至于采用硫磺熏蒸漂白木耳、银耳、馒头等产品,其中亚硫酸盐的含量则相对更高^[13-14]。

尽管亚硫酸盐对健康的影响已逐渐受到人们的关注,尤其是临床发现含亚硫酸盐水平高的氨基酸输注液可引起患者血清中转氨酶活性增强,严重的还引起肝细胞坏死^[15];一些流行病学调查也发现亚硫酸盐纸浆生产企业个人的肝癌发病率增加^[16-17]。目前,关于亚硫酸盐致健康损伤作用的研究主要集中在毒理作用及其机制方面^[18]和对其流行病学方面的研究^[19]。文献也大部分是关于亚硫酸盐的致突变、脂质过氧化及分子毒理学作用^[12, 20-23],以及呼吸系统和神经系统损伤作用的报道^[24-26],关于亚硫酸盐对小鼠免疫系统的影响研究较为少见^[12, 27]。

从本试验结果可知,亚硫酸盐高、中剂量组的碳粒廓清指数和吞噬指数与对照组相比均明显降低($P < 0.01$),低剂量组与对照组差异无统计学意义。这说明,小鼠血液的碳粒廓清指数是随着添加量的不同而呈现逐渐下降的趋势。碳粒廓清指数所反映的是体内单核-巨噬细胞的吞噬功能的强弱,即小鼠的非特异性免疫功能的强弱。血液碳粒廓清指数下降,表明该免疫组织的体液免疫功能也下降。本试验结果还表明,小鼠的体液免疫功能随着添加量的增加而逐渐下降。由此可见亚硫酸钠对小鼠血液碳粒廓清指数和吞噬指数具有一定的抑制作用。

胸腺是机体的中枢免疫器官,在淋巴细胞的形成、诱导和分化过程中起着重要作用。胸腺可有效辅助、增强全身免疫功能。脾脏是免疫细胞居住、增殖、经营和产生免疫效应物质及免疫力的场所,并能合成增强吞噬细胞作用特有的物质从而激

活、增强巨噬细胞及中性粒细胞的巨噬和清异作用。胸腺指数和脾脏指数都可用于评价机体的非特异性免疫水平。

从本试验结果可知,高、中剂量组的胸腺指数和脾脏指数低于对照组($P < 0.01$),低剂量组与对照组相比无差异。这说明,亚硫酸钠对小鼠的免疫器官具有抑制作用。

由小鼠胸腺和脾脏的石蜡切片图可知,高、中剂量组胸腺皮质变厚,胸腺髓质面积明显减小;脾小体变小,脾小梁清晰,低剂量组与对照组之间差异不明显,这说明不同剂量的亚硫酸钠对小鼠免疫系统的影响程度不同。

参考文献:

- [1] 孟紫强. 氧化应激效应与二氧化硫全身性毒作用研究[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(12): 1422-1424.
- [2] 孟紫强, 秦国华, 白巨利, 等. SO_2 长期吸入对大鼠肺组织基因表达谱的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(2): 229-234.
- [3] 王世香, 王琴, 邹法俊, 等. 我国二氧化硫污染状况及控制对策[J]. 信阳农业高等专科学校学报, 2002, 12(3): 20-21.
- [4] 吴敏毓, 刘恭植. 医学免疫学[M]. 中国科学技术大学出版社, 1999: 10-15.
- [5] 陈学敏, 吴德生, 王国全, 等. 环境卫生学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 73-75.
- [6] 白剑英, 孟紫强. 二氧化硫对肝脏组织学结构的影响[J]. 中华病理学杂志, 2004, 33(2): 155-157.
- [7] 孟紫强, 张连珍. 亚硫酸氢钠(SO_2)对人血淋巴细胞染色体畸变、姊妹染色单体互换及微核的效应[J]. 遗传学报, 1994, 21(1): 1-6.
- [8] 孟紫强. 二氧化硫对人体淋巴细胞的遗传毒理效应[J]. 城市环境与城市生态, 1994, 7(4): 17-21.
- [9] 李云波. 免疫毒理学常用方法及其评价[J]. 国外医学: 卫生分册, 1987, 14(6): 329-333.
- [10] SHEN ZY, CHEN Y. Comparative study of effect and kidney-tonifying recipe on regulatory effect of T lymphocytes apoptosis genes in corticosterone-treated rats[J]. Chin J Immunol, 2002, 18(3): 187-190.
- [11] 党卫红. 亚硫酸盐的毒性作用[J]. 河南预防医学杂志, 2008, 19(4): 318-320.
- [12] 白剑英. 食品添加剂亚硫酸盐的研究进展[J]. 环境与职业医学, 2007, 24(4): 431-434.
- [13] 高秀英, 张香馥, 张红英, 等. 石家庄市市售馒头中二氧化硫残留量的调查分析[J]. 卫生研究, 1994, 23(6): 370-371.
- [14] 季坚, 俞丽虹. “雪白”银耳有点黑[J]. 化工之友, 2001, 10: 22.
- [15] 胡容融. 氨基酸输液中抗氧化剂亚硫酸盐的控制与测定[J]. 广东药学报, 2001, 17: 283-284.
- [16] MATANOSKI GM, KANCHANARAKSA S, LEES PSJ, et al. Industry wide study of mortality of pulp and paper mill workers[J]. Am J Ind Med, 1998, 33(4): 354-365.
- [17] ANDERSSON E, NILSSON T, PERSSON B, et al. Mortality from asthma and cancer among sulfite mill workers[J]. J Swe Scand J Work Environ Health, 1998, 24(1): 12-17.
- [18] 张波, 刘承芸, 孟紫强. 二氧化硫气体对小鼠生殖细胞的毒性作用研究[J]. 卫生研究, 2005, 34(2): 167-169.
- [19] 刘玉香. SO_2 的危害及其流行病学与毒理学研究[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(2): 225-231.
- [20] MENG Z, ZHANG L. Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by sodium bisulfite[J]. Mutation Res, 1992, 298(2): 63-69.
- [21] MENG Z, ZHANG B, RUAN A, et al. Micronuclei induced by sulfur dioxide inhalation in mouse bone-marrow cells in vivo[J]. Inhal Toxicol, 2002, 14(3): 303-309.
- [22] MACRAE WD, STICH HF. Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells by the reducing agents bisulfite and ascorbic acid[J]. Toxicology, 1979, 13(2): 167-74.
- [23] 刘玉香, 杜青平, 孟紫强. SO_2 体内衍生物对人血红细胞的氧化损伤及其防护[J]. 环境科学学报, 2006, 26(9): 1520-1523.
- [24] LABBÉ P, PELLETIER M, OMARA FO, et al. Functional responses of human neutrophils to sodium sulfite(Na_2SO_3) in vitro[J]. Hum Exp Toxicol, 1998, 17(11): 600-605.
- [25] RATTHE C, PELLETIER M, ROBERGE CJ, et al. Activation of human neutrophils by pollution sodium sulfite: effect on cytokine production, chemotaxis, and cell surface expression of cell adhesion molecules[J]. Clinical Immunology, 2002, 105: 169-175.
- [26] KAYE EM, HYLAND KEIH. Amino acid and the brain: too much, too little, or just inappropriate use of a good thing[J]. Neurology, 1998, 51(3): 668-670.
- [27] 张波, 孟紫强. 二氧化硫对小鼠超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 环境与职业医学, 2003, 20(1): 13-16.

(收稿日期: 2009-10-10)

(编辑: 王晓宇; 校对: 吴德才)