

镉对白鲢 (*Hypophthalmichthys Molitrix*) 脑组织显微结构影响的初步研究*

王 良 春 郭 永 灿

(湖南师范大学生物系)

重金属对于人类的危害是很明显的,日本的“骨痛病”就是重金属镉中毒引起的^[1].在我国,随着工业的发展,水环境中重金属污染日益严重,水体中镉不仅对人体有损害,还危及水生生物,镉对鱼类的毒性研究已有一些报道.为了进一步探讨镉的中毒机理,我们曾以白鲢为材料对白鲢镉中毒后外周血细胞、心肌纤维以及外周血红细胞微核率进行了研究,还对白鲢肾细胞超微结构变化进行了观察^[2,3],发现镉中毒后血细胞数量改变,红细胞的碳酸酐酶活性降低,血细胞的核酸发生变化,肌纤维断裂,肾细胞超微结构发生核膜解体,核质外流,线粒体肿胀或解体,内质网也出现肿胀.有关鱼类镉中毒后脑组织的显微结构影响研究的报道较少.为此我们对白鲢脑镉中毒前后显微结构的变化初步观察,现报道如下:

一、材料与方 法

1. 材料

白鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*), 体长 15 ± 3 cm, 体重 40 ± 15 g, 由无重金属污染源的长沙市郊西湖渔场提供.

2. 毒剂

$\text{CdCl}_2 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$, AR, 湖南师范大学化学试剂厂出品, 用蒸馏水配制成注射液, 以离子计算浓度分别为 30、60 mg/ml 二个浓度组.

3. 实验方法

毒物处理 30 尾实验鱼分成实验组(20 尾)和对照组(10 尾). 实验组又等分为 A、B 两小组, A 组腹腔注射 Cd^{2+} 溶液 30 mg/kg 体重(浓度 30 mg/ml), B 组注射 Cd^{2+} 溶液 60 mg/kg 体重(浓度 60 mg/ml). 对照组腹腔注射相等体积生理盐水. 手术处理后分养在三个有机玻璃水族箱(大小: $96.5 \times 48.0 \times 48.3 \text{ cm}^3$) 中, 水位 25.5 cm, 饲养水为春片池池水, 水温 $20-30^\circ\text{C}$, pH: 7.0—7.5, 溶氧量: 4.70—6.05 mg/l.

取材 处理鱼濒于中毒死亡(以全翻白, 沉水底, 尚在呼吸为标志)时, 剖开颅腔取出鱼脑, 分别置于 Carnoy 氏固定液, 95% 酒精和福尔马林(随要求而定)中固定, 同时取对照组鱼脑于相应固定液中固定以作对照.

制片 固定 30 分钟后, 取出鱼脑, 仔细辨别区分各部脑, 再分别固定, 石蜡包埋, 切片厚度 $7 \mu\text{m}$. 用下列染色方法染色:

示组织结构: 苏木精——伊红染色

示尼氏体: Fischinger 氏缓冲美蓝法染色

示色素: Liellie 氏改良法染色

示核酸: 改良倍花青法染色

观察后用 Olympus 显微摄影仪进行照相记录.

二、实 验 结 果

1. 中毒后的行为反应

* 本工作得到周青山、长沙市郊西湖渔场的大力支持, 特此感谢.

镉中毒后的死亡时间,大体解剖的症状观察请见文献^[2],中毒后的行为表现为:注射毒物后一瞬间,白鲢呈翻白状态,很快恢复正常,并保持较长时间无异常行为出现,以后,慢慢地活动变得迟缓,上颌露出水面,呼吸频率加快。然后失去平衡,偏翻,最后沉底翻白,呼吸减弱且无节律。再后,作冲击式运动,急冲出水面,但很快又瘫沉水底,反复多次后,渐渐停止呼吸死于水底。死后,体表常附有小气泡。

2. 中毒后白鲢脑组织显微结构的变化

(1) 镉中毒后白鲢脑组织显微结构变化 中毒后脑组织的显微结构发生了明显的变化,在高倍镜下观察可见神经元胞质减少或凝集,整个细胞皱缩、变瘪,有些甚至变为线状,毫无膨胀感,皱缩神经元四周留有宽敞的空隙,神经细胞边缘模糊,质膜不完全(见图1)。

但是,即使是在受损最严重的延脑也并非全部神经细胞都发生了这种变化,这也间

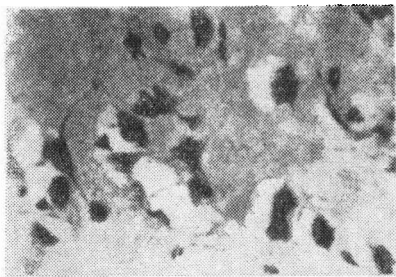


图1 镉中毒白鲢延脑局部显微镜
(示神经元皱缩,细胞残缺,质膜不完整)3.3×100

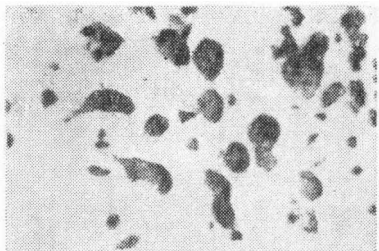


图2 镉中毒白鲢延脑局部显微镜(示神经元颗粒状尼氏体溃散,结构模糊)3.3×100

接地说明了神经元的严重皱缩并非是染色处理造成的。

(2) 尼氏体的变化 对照组白鲢脑神经细胞中具有明显的呈颗粒状的尼氏体(Nissel Body),而中毒后,颗粒状尼氏体消失,结构模糊(见图2)。

尼氏体的变化不仅在各部脑中程度不同而且随毒物浓度变化而有变化,具体情况如下表。

表1 尼氏体在不同毒物浓度下的变化

	端脑	间脑	中脑	小脑	延脑
A组(30mg/kg体重)	0	--	0	--	--
B组(60mg/kg体重)	0	—	0	--	—

注:表1中“0”表示无明显变化,“—”表示有减少,“--”表示明显减少。

(3) 色素的变化 对照组白鲢脑神经细胞含有少量色素(褐色素,脂色素等),中毒白鲢脑神经细胞色素变化明显,且与所处部位及毒物浓度有关,具体变化情况如表2:

(4) 核酸的变化 用改良棉花青法染色,核酸被染成蓝色。对照组白鲢脑神经细胞被染成深蓝色,中毒白鲢脑神经细胞蓝色物的变化情况如表3所示:

表2 色素在不同毒物浓度下的变化

	端脑	间脑	中脑	小脑	延脑
对照组	+	+	+	+	+
A组	++	+++	++	+++	+++
B组	+	++	+	+++	+++

注:“+”表示含少量色素,“++”表示色素含量增加,“+++”表示色素含量显著增加。

表3 核酸含量的变化

	端脑	间脑	中脑	小脑	延脑
A组	+	--	+	--	--
B组	+	—	+	--	—

注:“+”表示看不出变化,“—”表示有减少,“--”表示减少明显。量的减少程度是根据蓝色深浅度判断的。

三、讨 论

1. 某些资料^[1]表明,腹腔注射 Cd^{2+} 溶液与鱼直接从镉污染环境吸收镉而引起的中毒具有相似的效应。通过腹腔注射使组织吸收镉,蓄积于细胞内,达到一定的“临界浓度”既引起细胞机能的变化,鱼表现出中毒反应。注射的 Cd^{2+} 溶液浓度越高,通过吸收和排泄等综合作用达到“临界浓度”所费时间就越短,即中毒时间越短^[2]。由于个体间营养状况、生长发育状况,吸收和排泄机能以及抵抗力等因素的差异,中毒时间的长短具有明显的个体差异。

2. 镉离子被组织吸收后,一部分镉可能随血液循环到达各组织器官,引起各组织细胞的机能变化,肝、肾、胰腺是主要的积集镉的器官;另一部分镉离子则可能与血浆中的蛋白质及红血球等结合,使血红蛋白、红血球数目减少,白血球数目增多,妨碍血液机能,造成贫血^[2,4]。镉离子与有关蛋白质(如鳃上皮粘蛋白,血红蛋白以及与呼吸有关的酶类)结合,使这些蛋白质沉淀或凝集,从而造成血氧不足,呼吸困难^[5]。另 Cd^{2+} 使血细胞中碳酸酐酶活性降低或失活,也使呼吸发生障碍^[2]。中毒鱼的冲击式运动可能是缺氧的“刺激”造成的,中毒鱼死后体表附有小气泡说明了确实造成了鱼的窒息。呼吸困难,血氧不足影响到脑的机能,同时镉离子也可能直接进入脑组织而发生影响,造成脑机能障碍,特别是小脑机能的障碍,使中毒鱼失去平衡,引起偏翻,甚至底翻,沉入水底。

3. 镉离子急性中毒对大脑的影响主要在于对神经元的损伤。镉离子引起神经细胞皱缩可能是镉离子与质膜某些阴离子结合造成

质膜溃散,原生质外溢,也可能是镉离子进入原生质,与蛋白质的 $-\text{SH}$ 结合引起变性凝集^[1],从而神经元变瘪,或许这两种情况兼而有之。镉离子还能与带负电的核酸结合,引起核酸裂解,正在进行细胞分裂的细胞染色体被阻断,产生微核^[3],同样,尼氏体中含有丰富的核糖核酸,核酸的裂解势必导致尼氏体结构的溃散,数量的减少。色素是某些特殊代谢过程的产物,它的沉积标志着细胞的衰老和退化^[6],因此,中毒白鲢脑神经元色素沉积现象加重说明了脑神经元因中毒而机能退化。

4. 不同毒物浓度对神经元的影响程度不一致,低浓度毒物所引起的破坏更深刻。高浓度毒物下,鳃为“临界器官”(最先受到损害的器官)^[1],有报道^[5],高浓度毒物使镉离子在短时间内达到“临界浓度”,使呼吸骤然受阻,氧供应阻滞,废物排泄和渗透调节失常,造成中毒死亡,故脑所受影响不够充分;而在低浓度毒物下,镉引起的呼吸障碍是一缓慢过程,在此过程中,其它较敏感的器官(如肝、脑等)较长时间地受到损伤,最终由于呼吸障碍以及肝、脑等器官的损伤的共同影响,鱼中毒死亡。当然是否完全确实如此还有待更进一步的探讨。

参 考 文 献

- [1] 野山见一生,环境污染物质与毒性,91--104页,四川人民出版社,成都,1981年。
- [2] 郭永灿等,中国环境科学,5(4)38(1985)。
- [3] 郭永灿等,湖南师范大学自然科学学报,8(3),79(1985)。
- [4] 贾敬德,环境污染与防治,2,45(1981)。
- [5] W. E. 里贝林, G. 三恒,鱼类病理学,330—348页,农业出版社,北京,1981年。
- [6] 郑国温,细胞生物学,324页,人民教育出版社,北京,1980年。