

镉对长江华溪蟹心肌细胞超微结构的影响

王 兰 孙海峰

(山西大学生命科学系, 太原 030006)

摘要:应用透射电镜方法,研究了镉在24h内对长江华溪蟹心肌细胞超微结构的影响。结果表明:注射镉后0.5h,心肌细胞超微结构即出现变化,且随着时间的延长,变化渐趋明显,主要表现在细胞核和线粒体。细胞核核膜肿胀、弥散、最后解体。线粒体嵴部分解体、直至全部解体;线粒体内室部分肿胀、明显肿胀、直至高度肿胀。此外,溶酶体的数量和类型随镉处理时间的延长而增多,肌原纤维出现断裂。

关键词:长江华溪蟹;心肌细胞;镉中毒;超微结构

中图分类号: Q959.223 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2002)01-0008-06

镉是一种蓄积性元素,对动物是有害的,当它进入细胞后可能会进行不正确的结合,而造成直接中毒或潜在中毒^[1]。有关镉对动物毒性影响的研究,主要集中在脊椎动物^[2],而在甲壳动物的研究很少,特别是对组织器官超微结构的影响,迄今为止未见报道。鉴于此,本文将镉对长江华溪蟹(*Sinopotamon yangtsekiense*)心肌细胞超微结构的不同影响进行了研究,以便了解镉在溪蟹体内的积累情况,探讨镉对心肌细胞超微结构的影响程度,为镉污染程度的评估提供基础资料。该课题不但在理论上,而且在实践中都具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 实验动物 于1999年3—5月购自太原市二营盘花鸟鱼虫批发市场,置实验室内玻璃缸中饲养。

1.2 实验毒剂 $\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,用生理盐水配成注射液。

1.3 实验方法 取15只大小略等且健康活泼的成熟雄性个体,分别称体重,平均体重12g。实验分对照组和染毒组,第一组,在体腔内注射等量生理盐水,以作对照;第二组,按体重进行氯化镉体腔注射,剂量 $1.5\mu\text{g/g}$ 体重。在注射后0.5h、2h、4h、24h后活体解剖蟹,快速取出心脏,先放入2%戊二醛的固定液中固定2h,再放入1%锇酸中固定2h。丙酮梯度脱水,618环氧树脂包埋,瑞典LKB-5型超薄切片机切片,切片指示厚度500—700Å,醋酸铀-柠檬酸铅双重染色,日本JEM-100CX透射电镜观察并拍照。

收稿日期:2000-09-13;修订日期:2001-09-30

基金资助:国家自然科学基金资助项目(30070092)

作者简介:王 兰(1960—),女,山西省太原市人;教授,博士;主要从事发育生物学的研究

2 结果

2.1 对照组 注射生理盐水的雄蟹, 其心肌细胞超微结构无异常表现。

2.2 注射组 各种心肌细胞出现的异常超微结构分述如下。

2.2.1 细胞核 注射镉 0.5h 后, 即见细胞核外膜向外肿胀突起, 形成不规则花边状, 核内膜较正常。异染色质沿核膜边缘分布, 常染色质分布较均匀。细胞核形状较规则, 呈卵圆形或椭圆形(图版 : 1)。2—4h 后, 细胞核外膜呈弥散状, 开始解体。核内膜随之而改变。细胞核边缘的异染色质局部断裂, 细胞核变为不规则的长椭圆形(图版 : 2)。24h 后, 细胞核外膜大部分解体, 核内膜部分解体, 核物质外溢。异染色质凝聚断裂形成许多不规则小块分散在核中。常染色质电子密度增大。细胞核收缩变形, 形态极不规则(图 : 3)。

2.2.2 线粒体 注射镉 0.5h 后, 线粒体开始出现变化, 主要表现为嵴部分消失、呈模糊状或排列不整齐, (图版 : 1)。部分线粒体内室肿胀, 线粒体基质浓度较高。2~4h 后, 线粒体嵴开始变短, 部分解体或大部分解体, 线粒体明显肿胀, 趋于空泡化, 线粒体基质浓度降低, 电子密度减小(图版 : 4)。24h 后, 线粒体出现高度肿胀变形, 大部分线粒体的嵴几乎全部解体, 空泡化程度更加严重(图版 : 5)。

2.2.3 溶酶体 注射镉 0.5~4h 后, 出现许多溶酶体, 这些溶酶体大部分属于初级溶酶体, 形状多为卵圆形(图版 : 6), 也有部分次级溶酶体, 内有消化物存在, 形状多为圆形。24h 后, 溶酶体数量明显增多, 有初级溶酶体、次级溶酶体、还有少量溶酶体的残体, 这些溶酶体大小不一, 有的正在形成, 有的刚刚形成, 有的已经形成, 偶尔可见吞噬性溶酶体(图版 : 7)。

2.2.4 肌原纤维 注射镉 0.5~2h 后, 未发现肌原纤维有形态上的异常现象。4h 后, 肌原纤维开始出现细微的变化, 但不明显(图版 : 8)。24h 后, 肌原纤维排列不规则, 边缘不整齐且有膨胀现象, 部分肌原纤维出现断裂现象, 断裂主要发生在暗带区域, 明带区域也有部分裂开的现象。由于在暗带处出现裂痕或断裂, 致使暗带不明显(图版 : 9)。此外, 在肌原纤维的周围出现许多微管(图版 : 10)。

3 讨论

3.1 镉对细胞核的影响 注射镉后 0.5h, 心肌细胞的细胞核即出现异常现象, 并随着处理时间的延长(2h、4h、24h), 镉对细胞核的影响愈来愈严重。镉对细胞核超微结构的影响顺序是: 先影响细胞核的外膜, 再影响细胞核的内膜, 进而影响细胞核内染色质。整个细胞核先是膨胀, 后收缩变形。细胞核膜的变化可分为三个时期: 肿胀不规则期、弥散期和解体期。

3.2 镉对线粒体的影响 心脏作为循环系统的主要组成部分, 在动物的新陈代谢中起着重要作用。由于心脏的特殊功能, 线粒体含量很高, 线粒体为心脏的收缩提供能量。这些线粒体有的分布在心肌细胞中, 有的聚集在肌原纤维的周围。镉对线粒体超微结构的影响首先表现在线粒体嵴上, 使嵴变得模糊、缩短, 最后解体。镉对线粒体基质也有影响, 开始基质的电子密度较高, 随着镉处理时间的延长及嵴的不断变化, 基质内电子密度逐渐降低。当线粒体空泡化后, 基质几乎呈透明状。空泡化后的线粒体仍可见双层膜结构, 这一

现象表明线粒体外膜渗透性较强,可使大分子通过。镉对线粒体的影响主要是使线粒体内膜中的一些酶失去功能活动,造成细胞呼吸受到抑制。

3.3 镉对溶酶体的影响 溶酶体是细胞内的消化器官。在心肌细胞中,存在初级溶酶体和次级溶酶体。初级溶酶体有幼年的及成熟的;次级溶酶体执行消化功能,将细胞内的代谢产物,衰老的细胞器进行消化。实验中,在注射镉的不同时间内,溶酶体的变化较明显,数量和类型由少到多。早期初级溶酶体占多数,中后期次级溶酶体明显增多,说明溶酶体正在吞噬并消化损伤的细胞器。此外,也存在消化后的溶酶体残体。

3.4 镉对肌原纤维的影响 镉对心肌细胞肌原纤维的影响处于后期,也就是说,镉先影响聚集在肌原纤维周围的线粒体,造成线粒体严重损伤甚至破坏作用,没有线粒体为肌原纤维提供能量,肌原纤维处于饥饿状态,心肌的收缩失去动力,导致肌原纤维断裂,使心脏不能收缩,最后造成动物死亡。

3.5 镉中毒机理 镉中毒机理在哺乳动物以及人类研究较多。镉对机体组织的原发性损伤系在血管,造成组织缺血而引起继发性病变^[3];亦有人认为,镉主要损及需锌等微量元素激活的酶系统,它与巯基、羧基及含氮配基结合其亲合力比锌大,因此,体内一些含锌酶中锌被镉取代而丧失其固定功能^[4];尚有实验证实,镉对肝细胞内线粒体的氧化磷酸化过程,对于肾素、淀粉酶、木瓜蛋白酶、过氧化物酶、转移酶、麦芽糖淀粉酶、还原酶和羧化酶等活性均有抑制作用。最近,Shukla 等指出,由于镉可以抑制超氧化物歧化酶的活性,增强细胞质过氧化速率,导致脂质过氧化物的堆积,从而损伤膜结构,改变膜的通透性,导致细胞器的崩溃^[2]。从本实验结果看,镉对心肌细胞核的影响先外后内,即核外膜破裂后,再作用于核内膜,进而影响染色质。这一结果支持镉损伤细胞生物膜的观点。镉对线粒体的影响却是先内后外,即先是嵴的缩短解体,尔后是线粒体的变形。这是因为镉影响了线粒体膜结构,使膜的通透性增强而导致的结果。

综上所述,在注射镉后 24h 内,心肌细胞超微结构发生了很明显变化,这些变化直接影响了心脏的功能。尤其是线粒体,是细胞内最易受损伤的一个细胞器,线粒体可显示细胞受损伤的程度。

参考文献:

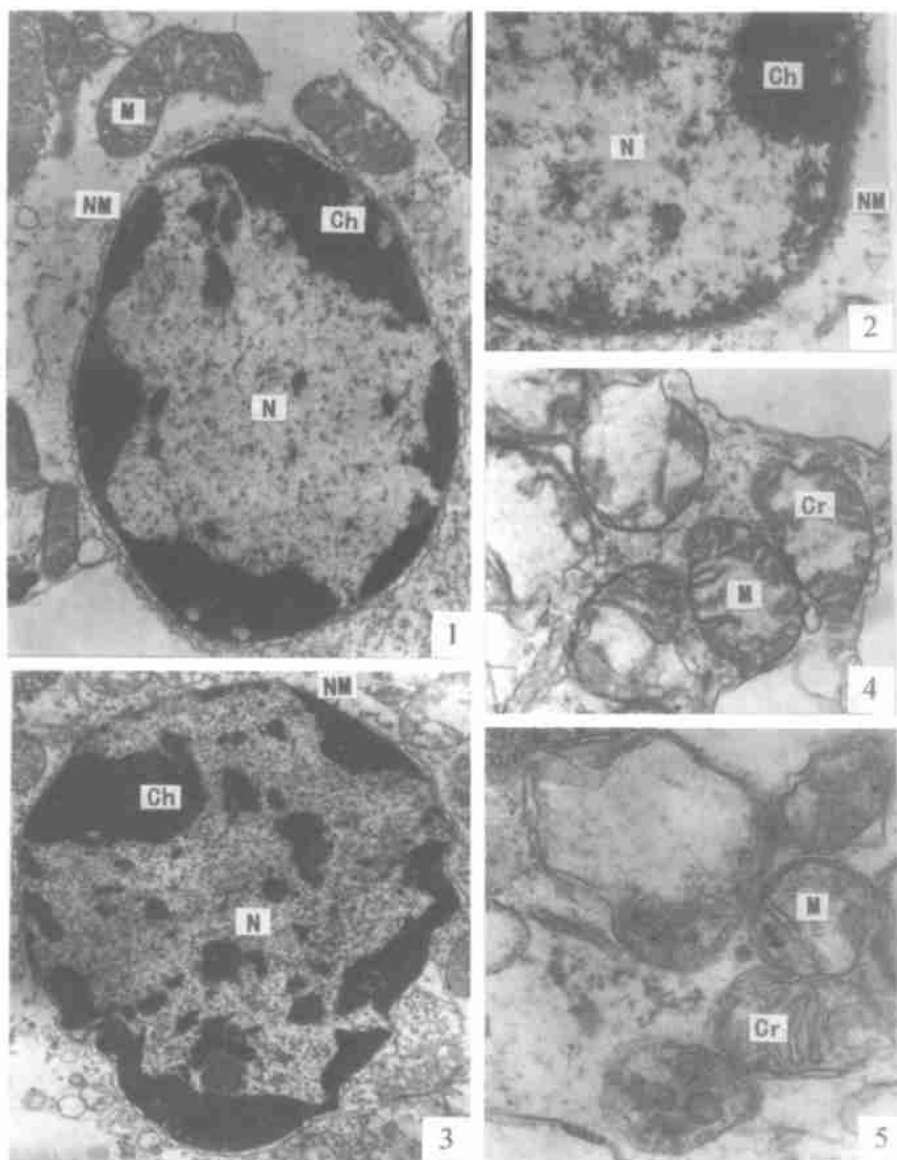
- [1] 王安利,王维娜,王建平等. 海水中铬和镉对中国对虾体内氨基酸含量的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(Suppl.): 127—131
- [2] Shukla G S, Hussain T, Srivastava R S, et al. Glutathione peroxidase and catalase in liver, kidney, testis and brain regions of rats following cadmium exposure and subsequent withdrawal [J]. *Industr. Health*, 1989, 27(2): 59
- [3] Gunn S A, Gould T C. Vasculature of the testis and adnexa [A]. In: Greep RO, et al (eds). *Handbook of physiology. Sec 7: Endocrinology. Vol 5: Male reproductive system* [C]. Washington DC: Amer physiol Soc, 1975, 117—142
- [4] Muller L, Ohnesorge F K. Different response of liver parenchymal cells from starved and fed rats to cadmium. *Toxicology*, 1982, 25: 141

**EFFECT OF CADMIUM ON ULTRASTRUCTURE OF MYOCARDIAL
CELL OF FRESHWATER CRAB, *SINOPOTAMON YANGTSEKIENSE***

WANG Lan and SUN Hai-feng
(*Shanxi University, Taiyuan 030006*)

Abstract: From March to May in 1999, by method of transmission electron microscopy (TEM), effect of cadmium on ultrastructure of myocardial cell of freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense* Bott (1967) was revealed for the first time. The results showed that the main alterations were both mitochondria and nucleus from 30 minutes to 24 hours. First of all, nuclear membrane appeared swelling. Later, nuclear membrane disintegrated were. The mitochondrial cristae partly disintegrated, fully disintegrated. In the course of time, mitochondrial showed swelling and a lot of vacuolus. Besides, the numbers and types of lysosome were increased in the mean time. Myofibril broke and losed contracted function of myocardium.

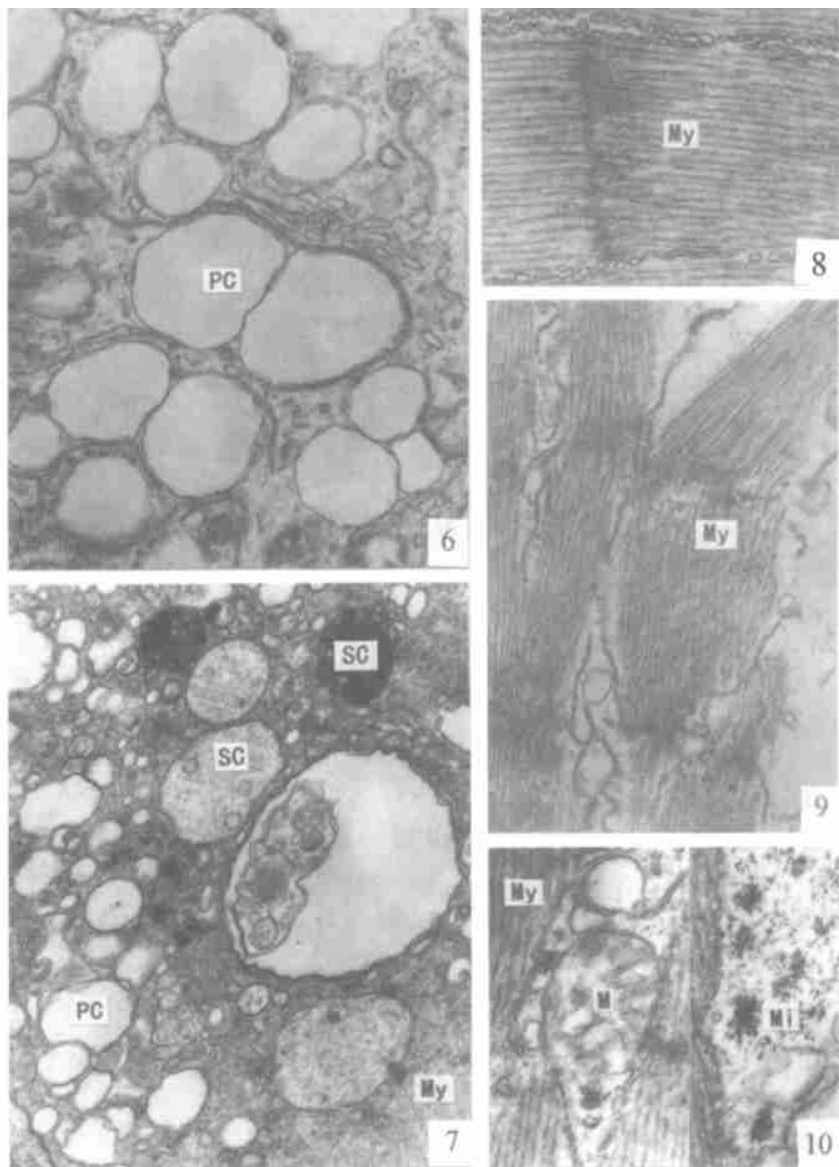
Key words: *Sinopotamon yangtsekiense*; Myocardial cell; Cadmium toxication; Ultrastructure



图版 (Plate)

1. 细胞核核外膜向外肿胀突起。× 6,000; 2. 细胞核核外膜出现弥散现象, 染色局部断裂。× 8,000;
3. 细胞核不规则, 核膜解体, 染色质断裂。× 5,000; 4. 线粒体嵴部分解体, 内室肿胀, 空泡化。
× 10,000; 5. 线粒体高度肿胀, 嵴全部解体, 空泡化程度加重。× 25,000

1. Showing nuclear outer membrane (NM) swelling, × 6,000; 2. Showing nuclear outer membrane spreading all over the place, chromatin (Ch) partly broke, × 8,000; 3. Showing irregular nucleus (N), disintegrated nuclear member and broke chromatin, × 5,000; 4. Showing cristae (Cr) partly disintegrated, mitochondrial (M) swelling and vesicle, × 10,000; 5. Showing cristae total disintegrated, mitochondrial great swelling and vacuolus, × 25,000



图版 (Plate)

6. 出现许多初级溶酶体。×10,000; 7. 溶酶体的数量和种类有所增加。×10,000; 8. 肌原纤维出现膨胀。×15,000; 9. 肌原纤维断裂。×8,000; 10. 肌原纤维间的线粒体和微管。×15,000

6. Showing primary lysosome (PL), ×10,000; 7. Showing increased lysosome (Ly) in number and type, ×10,000; 8. Showing expanded myofibril (My), ×15,000; 9. Showing broke myofibril, ×8,000; 10. Showing mitochondrion (M) and microtubule (Mi) around myofibril, ×15,000