

三丁基氟化锡对内刺盘管虫的 实验性中毒研究*

宋裕昌 许梅青 谢嘉琳

(中国科学院海洋研究所)

评价防污涂料的毒效,通常采用以附着生物的幼虫作室内药物筛选和外海挂板检验的方法,前者常在解剖镜下检查幼虫是否变态,后者是检查附着的成体数量,但这两者都不能说明药物进入附着生物体内的途径及其作用机制。

本文通过有机锡药物——三丁基氟化锡 (tributyltin fluoride) 对内刺盘管虫 *Hydroides elegans* 的实验性中毒观察,试图解答上述问题。

一、材料和方法

以内刺盘管虫为实验材料,因为它是北太平洋亚洲种,也广泛分布于黄海。实验标本取自青岛中港浮筏和北海船厂坞修船舶的船底,部分标本在小心除去石灰质外壳后,和未剥壳标本一起养于经过过滤的新鲜海水中。

我们采用三丁基氟化锡作毒剂,主要是因为国内外对此种化合物的机制研究较少报道。

三丁基氟化锡以 4% 乙醇、4% 丙酮的海水混合液为溶剂,配成 5×10^{-3} mol/L 浓度的母液,然后用海水稀释成 15 ppm 和 45 ppm 的药液,挑选剥壳后的成体浸于药液中,并用此乙醇、丙酮海水和正常海水作对照。考虑壳的影响,又用未剥壳盘管虫作药液浸渍试验,以资比较。

分两方面观察。

(1) 光镜观察: 用实体显微镜观察活体的活动和外形的变化,用研究显微镜作病理切片观察。切片标本取成体的头胸节和腹节的一部分,用 Bouin 液、10% 中性甲醛、Zenker 液固定,石蜡包埋,整体连续切片 ($8\mu\text{m}$),用 H-E 和 Mallory 三色染色。

(2) 电镜观察: 取标本的襟部和胸膜及鳃丝,用 4% 戊二醛磷酸缓冲液 ($\text{pH} = 7.2$) 和 3% 戊二醛海水及 3% 戊二醛、二甲肿酸缓冲液 ($\text{pH} = 7.2$) 分别作预固定剂,2% 锇酸为后固定液,用丙酮脱水, Epon812 包埋,用醋酸铀-柠檬酸铅染色, LKB III 型超薄切片机切片,日立 H-500 透射电镜观察。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 1259 号。

中国科学院上海动物生理研究所电镜室协助部分技术工作,特此致谢。

收稿日期: 1985 年 9 月 2 日。

二、结 果

1. 光镜观察 实体显微镜下观察药液对内刺盘管虫的影响如表 1。

表 1 药液对内刺盘管虫作用的外表观察

组别 \ 征 状	躯 体	鳃 丝	襟胸膜、鳃血管颜色	腹襟下钙沉淀
药 液	细长、软弱无力	卷曲	浅橙色	无
海 水	正常卷曲	张开	蟹青色	白色片状沉淀
溶 剂	正常卷曲	张开	蟹青色	白色片状沉淀

在药液中,剥壳的内刺盘管虫首先表现出频繁的收缩,随着中毒时间的延长,其躯体的摆动和伸缩,鳃丝的伸缩频率和幅度逐渐减小;半小时以后,鳃丝就不再张开,躯体越来越细长,动作变慢直至呈强直性麻痹状态(图版 I:2),鳃、襟和胸膜上的血管颜色逐渐由蟹青色变为橙色。正常海水和4%乙醇、4%丙酮海水内的内刺盘管虫在1.5小时后,其腹襟下即出现白色片状石灰质沉淀(图版 I:1 箭头所示)。

未剥壳盘管虫,初浸入药液时,能见到触手和襟从管内伸出,但立即就缩入石灰质管内,过一会又继续伸出和缩回,但频率越来越慢,经半小时或更长时间后,触手再不伸出管外。12小时后剥壳,其体表血管变为橙色。

切片观察内刺盘管虫,中毒损伤最明显部位为襟、胸膜、鳃丝、体表皮肤以及脑神经节。其表现为:襟和胸膜上皮细胞变性,核固缩,上皮外角质层呈波纹形膨胀,有的甚至溶解,上皮细胞排列紊乱,完全脱离基膜,细胞的界线已不清楚,通常在具有粘液腺细胞的一面损伤更为严重,结缔组织中的血窦已分辨不清(图版 I:3),白细胞增多。

鳃丝的纤毛溶解,特别在鳃丝末端上皮细胞,有较多的细胞变性和坏死,有的已侵入结缔组织,白细胞明显增多。

除襟、胸膜和鳃丝外,躯体的表面上皮细胞产生雾浊肿胀,细胞质的染色变浅,有的延至结缔组织。

内部器官变化比较明显的是脑神经节和腹神经索产生空泡化(图版 I:4)和退行性病变;而消化系统未见明显改变。

未剥壳内刺盘管虫的损伤部位主要在鳃丝的末端。溶剂海水内的内刺盘管虫同正常海水组,未见损伤。

2. 透射电镜观察 襟的上皮细胞表面的微绒毛已断裂,核周隙扩大,线粒体肿胀,内质网膨胀,次级溶酶体显著增多,原生质褶曲溶解(图版 I:5),在核与细胞表面之间以及两细胞之间的原生质中出现胀大的液泡(图版 I:7),基质变稀(图版 I:6,7)。

胸膜上皮细胞线粒体肿胀,内质网膨胀,溶酶体增多。

鳃上皮细胞出现高尔基体的扁平囊泡空泡化,线粒体肿胀,内质网膨胀。

三、讨 论

通过外海挂板筛选,证明有机锡的防污效果优于有机砷、有机氯、有机汞、氨基磺酸化合物,硫系秋兰姆化合物等^[1],因而被用作防污涂料的毒剂。五十年代,日本首次以三丁基氟化锡作为专利涂料,在以后的十年间,三丁基氯化锡、三苯基氯化锡等一系列有机锡的防污涂料相继产生¹⁾,"Toxin"——机械微孔渗出装置和合成有机锡的橡胶或塑料(商品名"No Foul")更认为是一种延长防污时间和节省开支的新防污方法^[8]。中国科学院海洋研究所也在同时开展了有机锡的研究^[2],他们研究了有机锡的生物学效应,施奠族等作了有机锡改变藤壶线粒体生化和亚微结构的报道^[4];上海劳动卫生职业病防治院²⁾和中国科学院生物化学研究所³⁾在这方面也做了不少研究,但主要从劳动保护出发,而对海洋附着生物,特别是对海洋环境中的管栖附着生物,尚缺少了解。

本实验的结果说明,三丁基氟化锡是一种接触性毒剂,当内刺盘管虫外有钙管时,损伤仅是伸出管外的鳃丝,这是因受药剂浸渍或因厣的闭合不全,造成鳃丝部分受损;而剥壳的内刺盘管虫却受到大面积损伤,所有接触海水的裸露体表部分,都受到不同程度的损伤,这和 Barnes 等^[6]、宫泽寿一郎⁴⁾和中村敬三等^[5]认为所有丁基锡化合物是通过皮肤引起损伤的结论相一致。

上皮组织损伤程度的顺序为厣>鳃和胸膜>躯干胸、腹体表上皮,这主要和细胞本身的结构有关。作者看到了如 Nott 等^[9]用电镜观察到的螺旋虫 *Spirorbis spirorbis* 幼虫厣具有离子泵功能的亚微结构,在内刺盘管虫成体厣部同样存在(丰富的原生质褶曲和线粒体以及表面的微绒毛,参阅图版 I:6)。这说明厣吸收毒品的能力最大,因而中毒损伤程度也最大。另一方面,有机锡的损伤能力直接影响了腹甲上皮和厣部对钙的吸收,因此在外形上就看不到白色钙沉淀在钙腺导管开口处出现。胸膜没有这种具有离子泵功能的结构,只有微绒毛,因此损伤也比厣轻。

有机锡化合物具有脂溶性,可通过皮肤吸收^[3],在实验的切片上,可见到毒物已深入结缔组织内的血窦,由此推断,机体中毒的途径是毒物经血液流到全身。由于中枢神经系统,特别是脑神经节,具有丰富的磷脂,因而它对有机锡的吸收能力特别强,切片上显出它的空泡化和退行性病变。内刺盘管虫的中毒发病征状是首先活动频繁(兴奋),然后躯体无力、伸长、鳃丝卷曲,肌肉强直收缩到僵直(图版 I:2)。这与临床观察大白鼠被注射三丁基氟化锡后的四肢无力、瘫痪、死亡的情况,以及有机锡中毒病人出现乏力,病理解剖发现脑水肿等现象相一致,而其他内部器官如消化道、肾,却未见任何病变。这说明三丁基氟化锡对内刺盘管虫的毒害途径是皮肤→血液→神经中枢,最后产生严重的神经性中毒。

关于三丁基氟化锡的中毒机制国内外学者有许多不同的报道。例如有人认为三价有机锡化合物抑制生物机体的氧化磷酸化,使三磷酸腺苷不能形成,因而它能抑制革兰氏阴

1) 上海涂料所,1971。有机锡船底防污漆的进展。国外涂料报道 2: 36—42。

2) 上海市劳动卫生职业病防治院,1971。有机锡中毒的临床及防治。

3) 中国科学院生物化学研究所,1971。S₂中毒生化总结报告。

4) 宫泽寿一郎,1961。丁基锡中毒实验病理形态学的研究。农药中毒与农药毒理学专辑,1964,上海市科学技术编译馆译,第 145—151 页。

性细菌的生长;而二价有机锡能与含硫醇基的酶结合,从而抑制革兰氏阳性细菌^[7]。在关于用作昆虫杀虫剂、防除寄生蠕虫以及哺乳类毒理试验的一些报道中都有相似看法。在海洋附着生物方面,施奠族等认为有机锡的中毒机制在于抑制氧化磷酸化^[4];但是也有人认为是改变细胞的通透性或使神经组织内的5-羟色胺不能合成^[9],从而使神经机能发生障碍。本实验的结果,从皮肤到神经中枢的水肿,都说明三丁基氟化锡使细胞膜、细胞器的膜性结构起了变化,因此,改变细胞的通透性可能起了主要作用,对氧化磷酸化的抑制也是因改变了线粒体的双层膜而引起的;反过来,氧化磷酸化过程抑制又导致钠、钾离子平衡的破坏,从而进一步水肿。所以改变细胞的通透性和抑制氧化磷酸化这两方面的作用皆有,而前者的影响可能更大些。

四、小 结

1. 三丁基氟化锡是一种接触性毒剂,对内刺盘管虫各种上皮细胞的损伤程度主要取决于细胞本身的结构。
2. 附着生物中毒的途径为皮肤→血液→中枢神经,最后产生严重的神经性中毒。
3. 三丁基氟化锡对机体的中毒机制在于改变细胞的通透性和抑制氧化磷酸化,可能前者的影响更为重要。

参 考 文 献

- [1] 川田 修、松浦勝彦,1962。船底防汚漆用有机毒物的研究(王朱唇译,1966)。涂料译丛 1: 1—7。
- [2] 中国科学院海洋研究所实验动物生态组,1978。海洋钻孔生物和附着生物的危害及防除。海洋科学(增刊): 52—55。
- [3] 北京医学院第三附属医院职业病科,1977。金属中毒。人民卫生出版社,第9页。
- [4] 施奠族、吴厚余、朱谨钊,1981。有机锡对海洋附着生物的防污机理研究 I. 三苯基氟化锡对藤壶线粒体的影响。海洋与湖沼12(5): 422—426。
- [5] 中川敬三、渡部崇,1976。高性能防汚防藻形船底涂料—ラバマソン A/F No 1000。涂料の研究97: 20—26。
- [6] Barnes, J. H. and J. B. Stoner, 1959. The toxicology of tin compounds. *Pharmacol. Rev.* 11:211—231.
- [7] Bennett, R. F. and R. J. Zedler, 1966. Biologically active organotin compounds in paint manufacture. *J. Oil. Colour. Chem. Ass.* 49:928.
- [8] Luijten, J. G. A., 1972. Applications and biological effects of organotin compounds. In: *Organotin Compounds*, Edited by A. K. Sawyer, Vol. 3. pp. 931—973.
- [9] Nott, J. A. and K. R. Parkes, 1975. Calcium accumulation and secretion in the Serpulid polychaete *Spirorbis spirorbis* L. at settlement. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 55:911—924.

1) 中国科学院生物化学研究所, 1971。S₈中毒生化总结报告。

STUDIES OF THE EFFECTS OF TRIBUTYLTIN FLUORIDE ON THE *HYDROIDES EZOENSIS**

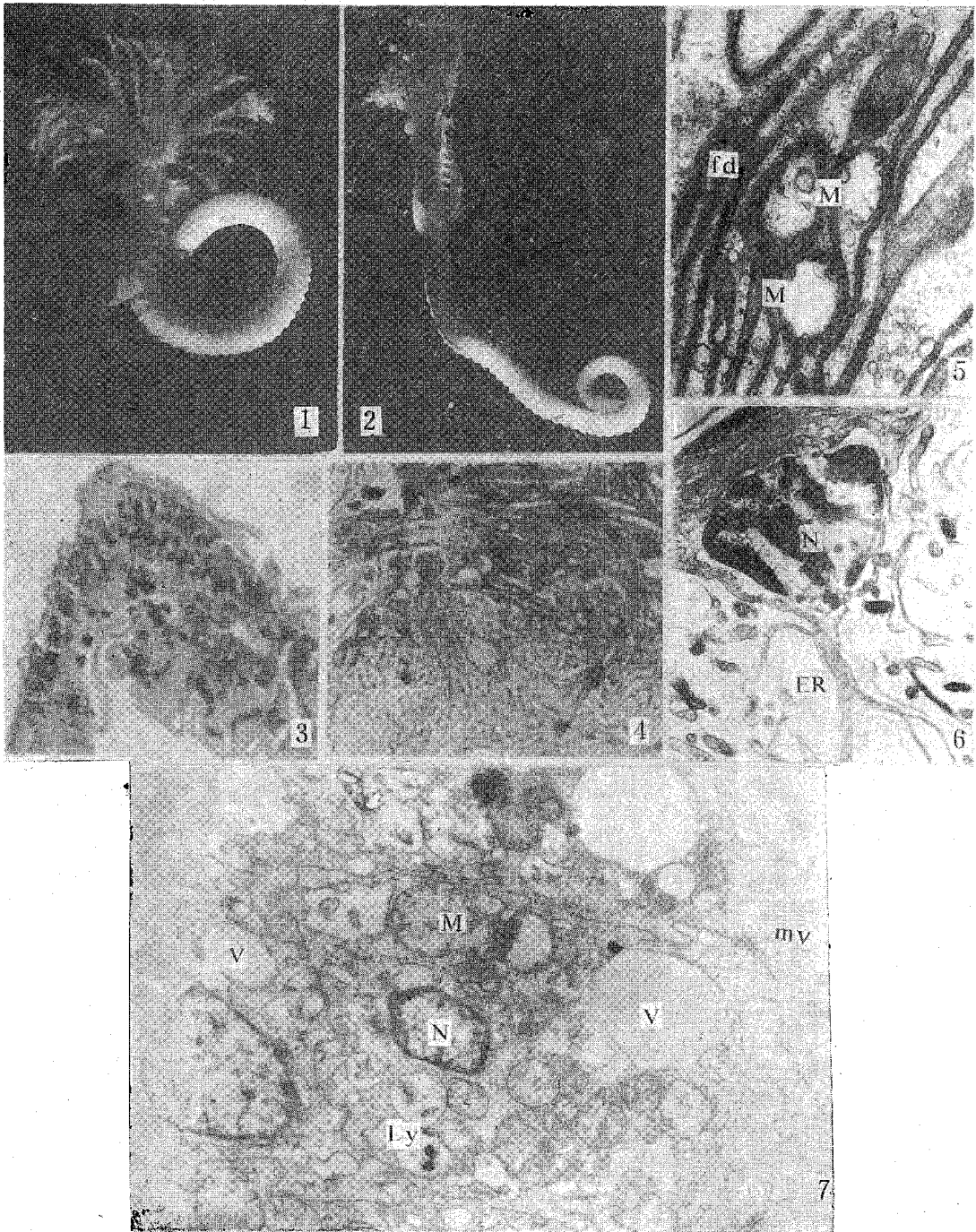
Song Yuchang, Xu Meiching and Xie Jialin

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

ABSTRACT

The effects of tributyltin fluoride in the sea water on the *Hydroides ezoensis* have been studied. The observation with light and electron microscopies showed that the toxicant diffused from the body surface through the blood sinus into the brain neuroganglion could lead to serious swelling of the central nervous system and set off a chain pathological reaction. There may be two possibilities about the toxic mechanism of tributyltin fluoride. One is the change of the membrane permeability, the other is the inhibition of oxidative phosphorylation, but the former is more strongly suggested.

* Contribution No. 1259 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.



内刺盘管虫 *Hydroides exoensis*:

1. 剥壳后的外形,箭头示襟部腹面钙腺开口处分泌的白色钙沉淀;
2. 中毒后的外形,触手卷曲,躯体僵直;
3. 襟中毒后的纵切面(光镜照相);
4. 脑中毒的光镜照相,显示空泡化的神经细胞;
5. 襟中毒后的上皮细胞的横切面,电镜显示线粒体(M)的肿胀和原生质褶曲(fd)的溶解;
6. 襟上皮细胞中毒的电镜照相,显示细胞核(N)周隙的扩大,内质网(ER)的膨胀和细胞质的基质变稀;
7. 襟基部上皮细胞中毒的纵切面,电镜显示细胞内核(N)周隙的扩大、线粒体(M)肿胀、溶酶体(Ly)的增多和细胞内具大液泡(V),mv 为微绒毛。