

# 荒漠沙蜥冬眼前与冬眠中期肝脏、胰腺、脂肪体超微结构的比较

康旭<sup>①</sup> 刘重斌<sup>①②</sup> 王子仁<sup>①</sup> 李仁德<sup>①\*</sup> 余秋生<sup>①</sup>

(<sup>①</sup>兰州大学生命科学学院 兰州 730000; <sup>②</sup>井冈山学院生命科学系 吉安 343009)

**摘要:**对荒漠沙蜥 (*Phrynocephalus przewalskii*) 冬眼前及冬眠中期的肝脏、胰腺和脂肪体的超微结构进行了比较观察。结果表明,荒漠沙蜥肝脏、胰腺和脂肪体中的糖原颗粒、脂滴、内质网、线粒体等细胞结构有明显变化。冬眠中期胰腺腺泡细胞线粒体中出现致密颗粒,核周间隙增宽,核中出现无定形体。文中对上述结果的生理意义进行了讨论。

**关键词:**荒漠沙蜥;肝脏;胰腺;脂肪体;超微结构;冬眠

中图分类号:Q955, Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)06-103-05

## Ultrastructure of the Liver, Pancreas and Fat Body in *Phrynocephalus przewalskii* during Pre-hibernation and Mid-hibernation Periods

KANG Xu<sup>①</sup> LIU Chong-Bin<sup>①②</sup> WANG Zi-Ren<sup>①</sup> LI Ren-De<sup>①</sup> SHE Qiu-Sheng<sup>①</sup>

(<sup>①</sup>School of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou 730000;

<sup>②</sup>Department of Life Science, Jinggangshan College, Ji'an 343009, China)

**Abstract:** Comparative observations on the ultrastructure of the liver, pancreas and fat body in *Phrynocephalus przewalskii* during the pre-hibernation and mid-hibernation periods were conducted. The results showed that evident changes in the cellular structures including glycogen particles, lipid droplets, endoplasmic reticulum, mitochondria occurred in the liver, pancreas and fat body during the transition of these two periods. During the mid-hibernation period, dense granular bodies appeared in the mitochondria, the perinuclear space increased, and the amorphous bodies appeared in the nucleus of the pancreatic acinar cells. This paper discusses the physiological significance of the above-mentioned results.

**Key words:** *Phrynocephalus przewalskii*; Liver; Pancreas; Fat body; Ultrastructure; Hibernation

冬眠是某些动物一个很重要的生物现象。在冬眠期,动物的生理活动和新陈代谢都发生显著变化,体温可降到零上几度<sup>[1-4]</sup>,代谢率也同时降低<sup>[5]</sup>。在冬眠的鱼类和哺乳类中,肝脏是主要的营养贮藏器官,而爬行类则主要贮存在脂肪体、躯干和尾中,其中脂肪体包含的营养物质占大多数<sup>[6,7]</sup>。许多学者对动物冬眠期间细胞结构的变化与能量的储存、消耗的关系进行了研究,但大多集中在哺乳类、鱼类和两栖

类<sup>[8-14]</sup>,对爬行类的研究非常有限<sup>[15,16]</sup>。本文选取分布于我国西北荒漠、半荒漠地区特有的蜥蜴种类——荒漠沙蜥 (*Phrynocephalus*

基金项目 国家自然科学基金(No. 30270194);

\* 通讯作者, E-mail: lird@lzu.edu.cn;

第一作者介绍 康旭,男,硕士研究生,研究方向:动物生理生化, E-mail: kangxulz@yahoo.com.cn

收稿日期 2005-04-06, 修回日期 2005-09-12

*przewalskii*)为实验对象,对其营养物质储存及能量代谢相关的3种组织器官(肝脏、胰腺和脂肪体)冬眠前及冬眠中期细胞的超微结构进行比较,探讨它们在冬眠中的形态学变化及其生物学意义,为进一步了解爬行类冬眠的生物学机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 荒漠沙蜥于2004年10月采自甘肃省民勤县的荒漠地区。动物捕获后置于模拟自然环境的人工越冬箱内,置室外环境下越冬。10月下旬从越冬箱内取还未进入冬眠期的荒漠沙蜥用于实验,代表冬眠前组;12月中旬从越冬箱的沙土中取荒漠沙蜥用于实验,代表冬眠中期组。

**1.2 实验方法** 每组取成年荒漠沙蜥4只<sup>[16,17]</sup>,雌雄不拘。经氯仿麻醉后,立即剖腹取出肝脏、胰腺和脂肪体,切成1 mm<sup>3</sup>的小块,用2.5%戊二醛固定30 min,后经1%锇酸在4℃固定1 h,两种固定液都是用0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.2)稀释,梯度乙醇脱水,Epon-812包埋,LKB-1型超薄切片机切片,枸橼酸铅和醋酸双氧铀双重电子染色,JEM-1230型透射电镜观察,Digital Micrograph 3.4图像采集系统采集并摄影。

## 2 结果

**2.1 肝脏** 冬眠前肝实质细胞中含有大量糖元颗粒和少量脂滴,粗面内质网明显,线粒体数目多(图版 I:1)。冬眠中期糖元颗粒较少,脂滴较明显,线粒体数目和粗面内质网较少,且一般集中分布于靠近胆小管的胞质一侧。肝组织中没有典型的明细胞和暗细胞之分(图版 I:2)。

**2.2 胰腺** 冬眠前,荒漠沙蜥胰腺腺泡细胞具典型的分泌细胞结构。锥形,位于基膜上,顶端较窄的部分与闰管相连,细胞内有丰富的脂滴,脂滴周围有大量糖元颗粒聚集(图版 I:3);细胞核位于细胞底部,形状不规则,具双层核膜,核仁不明显,线粒体位于细胞底部,圆形,脊不

明显,粗面内质网发达,且与胞浆网平行,滑面内质网几乎不可见,有少量高尔基复合体,胞质中有大量分泌性酶原颗粒,溶酶体很少见(图版 I:3,4)。

冬眠中期,胰腺腺泡细胞中几乎没有脂滴和糖元颗粒,细胞核呈圆形,核周间隙增宽,核仁明显,核质中散布少量无定形体,粗面内质网数量显著减少,胞质中出现许多圆泡形滑面内质网,线粒体形状无变化,基质中有少量电子致密颗粒,脊明显,胞质中仍有一些酶原颗粒(图版 I:5)。

**2.3 脂肪体** 冬眠前,脂肪体细胞几乎全部为脂滴所填充,脂滴旁聚集少量的糖原颗粒,有少量粗面内质网,细胞核较大,核仁明显(图版 I:6)。冬眠中期,脂肪体细胞中脂滴含量增加,几乎没有糖原颗粒,未见粗面内质网、线粒体等细胞器,细胞核体积明显变小,核仁消失(图版 I:7)。

## 3 讨论

**3.1 肝脏** 冬眠中期肝实质细胞内未见粗面内质网,表明此时肝实质细胞蛋白质合成能力低下,线粒体含量少,表明此时细胞的呼吸作用弱,有利于降低细胞的基础代谢率,在保证细胞生存的最低原则下最大限度地减少物质和能量的消耗。线粒体集中分布于细胞靠近胆小管的胞质区,提示冬眠中期肝实质细胞仍可能有较弱的分泌功能,且便于就近提供能量。入眠后,动物肝实质细胞由活跃状态转入休眠状态,各种执行特殊功能的细胞器不断解体,其组分或进入胞质贮存起来,或被用于物质和能量代谢,而那些维持细胞生存不可或缺的细胞器则被保留下来,从整体看,细胞器的种类和数量均减少。

肝脏是爬行类一种很重要的储能器官,所含有的脂类可占全部脂类的10%~48%<sup>[7]</sup>。一般认为,肝脏中贮存的能量主要以两种形式存在:脂滴和糖原颗粒。实验发现,冬眠前荒漠沙蜥肝实质细胞中脂滴和糖元的数量明显多于冬眠中期,提示肝实质细胞中脂滴和糖元颗粒为

冬眠中期动物的代谢活动提供了必需的能量；冬眠中期糖元颗粒稀少但仍有少量脂滴，表明爬行类在冬眠中优先消耗糖元维持生存。

**3.2 胰腺** 对冬眠前及冬眠中期荒漠沙蜥胰腺腺泡细胞的超微结构比较观察发现，冬眠中期几种细胞器发生了较明显的变化，粗面内质网减少，滑面内质网增多，线粒体中出现致密颗粒，脊更加明显，腺泡细胞及酶原颗粒的体积明显减小，细胞核形状及核仁发生明显变化，核中出现少量无定形体，细胞中脂滴和糖元颗粒数量显著减少。

一般认为，胰的外分泌腺与食物的加工有关。对胰腺腺泡细胞结构的形态学研究表明：冬眠中期细胞的代谢活性（主要是蛋白质的合成和分泌）显著降低。胰腺分泌活性的变化总是伴随着内质网的重组，这可能代表了一种与蛋白质合成急剧减少相应快速而有效的能量节约机制，这种机制在一些代谢过程中（如由正常状态进入冬眠）具有关键作用。冬眠中期线粒体基质中出现电子致密颗粒的现象已经在多种细胞中观察到<sup>[17]</sup>，其密度似乎与细胞的代谢状态有关。我们推测，冬眠动物线粒体基质颗粒中可能储存了线粒体进行呼吸作用所必需的物质。当荒漠沙蜥进入冬眠，胰腺腺泡细胞中的蛋白质合成和加工逐渐减慢，酶原颗粒的数量和体积都小于冬眠前，所含的酶浓度较低，导致分泌活性的降低。

冬眠中期核仁和核质之间具有复杂的联系，这可能与该时期的生理特异性有关。细胞核是一种异常灵活的动态结构，能迅速调节细胞活性，最终使其形态结构随着细胞代谢状态的改变而改变。一些学者发现：哺乳动物冬眠期细胞核的核质组成发生了显著变化，特别在对其胰腺细胞进行研究时，多次观察到细胞核内无定形体的存在<sup>[11, 18]</sup>，这些无定形体的作用可能是储存拼接因子，以便动物出蛰时快捷的利用。冬眠中期核周间隙增宽可能与细胞核代谢活性降低导致核体积的变化有关，而核仁发生变化的原因及生理学意义不详。

一些研究<sup>[19, 20]</sup>指出，不同动物的血糖在蛰

伏和冬眠中升高已是共同的特征。血糖是动物在寒冷环境中生活的重要能源物质，是动物抵抗寒冷环境的重要保护剂，糖酵解作用是动物蛰伏和冬眠过程中的重要供能方式。入眠前荒漠沙蜥胰腺腺泡细胞内堆积有大量糖元颗粒，进入冬眠后，细胞内的糖元颗粒迅速减少直至完全消失，而胰腺腺泡细胞中脂滴的数量和体积变化不大。以上结果说明荒漠沙蜥的胰腺虽然不是主要的供能器官，但也为冬眠提供了一定的能量。

**3.3 脂肪体** 脂肪体是爬行类最重要的储能器官，所包含的脂类占总量的66%~97%，且脂肪体中包含的不饱和脂肪酸越多，所能提供的能量就越多<sup>[7]</sup>。

当荒漠沙蜥进入冬眠后，脂肪体细胞脂滴含量增加，糖原颗粒含量减少，提示脂滴是脂肪体的主要贮能物质；冬眠中期脂肪体细胞优先依靠消耗糖原颗粒维持细胞生存。冬眠中期，脂肪体胞质中几乎没有粗面内质网和线粒体，细胞核中核仁解聚，细胞分裂活动停滞，这都有利于细胞降低代谢活动，减少物质和能量的消耗。

**致谢** 本文在电镜观察过程中得到景玉宏博士的大力帮助，在此表示感谢！

## 参 考 文 献

- [1] Hoffman R A. Terrestrial animals in the cold: hibernators. In: Dill D C, Adolph E F, Wilber C G eds. Handbook of Physiology Section 4. Washington: American Physiological Society, 1964, 379~403.
- [2] 蔡益鹏主译. 哺乳动物和鸟类的冬眠与蛰眠. 北京: 北京大学出版社, 1992, 146~166.
- [3] Wang L C H. Mammalian hibernation. In: Grout B W W, Morris G J eds. The Effects of Low Temperature on Biological Systems. London: Edward Arnold, 1987, 349~386.
- [4] Frech A R. The Patterns of Mammalian Hibernation. *Am Sci*, 1988, 76: 569~575.
- [5] Wang L C H, Lee T F. Perspectives on metabolic suppression during mammalian hibernation and daily torpor. In: Heldmaier G, Klaus S, Klingenspor M eds. Life in Cold: 11th International Hibernation Symposium. Berlin, Heidelberg,

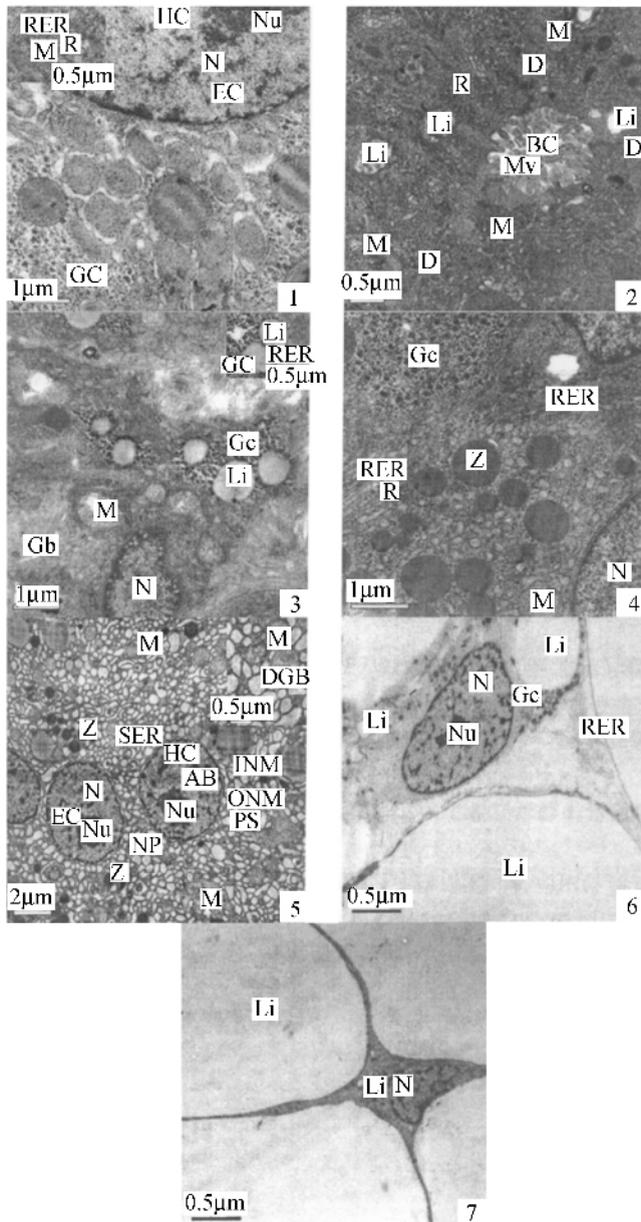
- New York : Springer , 2000 , 149 ~ 158 .
- [ 6 ] Avery R A . Utilization of caudal fat by hibernation common lizard , *Lacerta vivipara* . *Comp Biochem Physiol* , 1970 , **37** : 119 ~ 121 .
- [ 7 ] Brian B L F G , Gaffney L C , Fitzpatrick , *et al* . Fatty acid distribution of lipids from carcass , liver and fat bodies of the lizard , *Cnemidophorus tigris* , prior to hibernation . *Comp Biochem Physiol* , 1972 , **41**( B ) : 661 ~ 664 .
- [ 8 ] Berlin J D , Dean J M . Temperature-induced alternations in hepatocyte structure of Rainbow Trout . *J Exp Zool* , 1967 , **174** : 177 ~ 182 .
- [ 9 ] Braunbeck T , Gorgas K , Storch V . Ultrastructure of hepatocytes in *Golgen ide* during thermal adaptation . *Anat Embryol* , 1987 , **175** : 303 ~ 313 .
- [ 10 ] Kobayayasbi K . Electron microscopic studies of the langerhans islets in the toad pancreas . *Arch Histol Japan* , 1966 , **26** : 439 ~ 445 .
- [ 11 ] Manuela M , Carlo Z , Francesco M , *et al* . Ultrastructure , morphometrical and immunocytochemical analyses of the exocrine pancreas in hibernating dormouse . *Cell Tissue Res* , 1998 , **292** : 531 ~ 541 .
- [ 12 ] 嵇庆 . 金线蛙冬眠期与出眠初期肝脏比较细胞学研究 . *动物学杂志* , 1996 , **31**( 3 ) : 33 ~ 35 .
- [ 13 ] 米志平 , 苏学辉 , 代庆阳 . 中华大蟾蜍冬眠前与出眠初期肝细胞超微结构的观察 . *四川师范学院学报* , 2000 , **21**( 1 ) : 98 ~ 101 .
- [ 14 ] 敖竹君 , 王庆堂 , 包含飞 . 蟾蜍胰腺内分泌细胞的形态学和体视学研究 . *动物学研究* , 1992 , **13**( 4 ) : 299 ~ 304 .
- [ 15 ] de Brito-Gitirana L , Storch V . Temperature-induced alternations in the liver of Wall Lizard ( *Hemidactylus frenatus* ) : morphological and biochemical parameters . *Micron* , 2002 , **33** : 667 ~ 672 .
- [ 16 ] 嵇庆 . 无蹼壁虎冬眠期与出眠初期肝脏比较细胞学研究 . *解剖学报* , 1996 , **27**( 3 ) : 278 ~ 283 .
- [ 17 ] Malatesta M , Battistelli S , Rocchi M B L , *et al* . Fine structural modifications of liver , pancreas and brown adipose tissue mitochondria from hibernating , arousing and euthermic dormice . *Cell Biology International* , 2001 , **25**( 2 ) : 131 ~ 138 .
- [ 18 ] Tamburini M , Malatesta M , Zancanaro C , *et al* . Dense granular bodies : a novel nucleoplasmic structure in hibernating dormice . *Histochem Cell Biol* , 1996 , **106** : 581 ~ 586 .
- [ 19 ] 李仁德 , 沈剑敏 . 荒漠沙蜥血糖浓度的昼夜变动及季节性变化 . *动物学研究* , 1999 , **20**( 6 ) : 477 ~ 478 .
- [ 20 ] 李大筠 . 山蟾和黑斑蛙乳酸脱氢酶同工酶及血糖浓度的季节变化 . *生理学报* , 1994 , **46**( 3 ) : 267 ~ 272 .

康 旭等 荒漠沙蜥冬眠前与冬眠中期肝脏、胰腺和脂肪体超微结构的比较

图版 I

KANG Xu *et al.* :Ultrastructure of the Liver , Pancreas and Fat Body in *Phrynocephalus przewalskii* during Pre-hibernation and Mid-hibernation Periods

Plate I



1. 冬眠前肝实质细胞; 2. 冬眠中期肝实质细胞; 3, 4. 冬眠前胰腺腺泡细胞; 5. 冬眠中期胰腺腺泡细胞; 6. 冬眠前脂肪体细胞; 7. 冬眠中期脂肪体细胞。

AB 无定形体; BC 胆小管; D 桥粒; DGB 致密颗粒体; EC 常染色质; Gc 糖元颗粒; Gb 高尔基体; HC 异染色质; INM 内层核膜; Li 脂滴; M 线粒体; Mv 微绒毛; N 核; Nu 核仁; ONM 外层核膜; PS 核周间隙; R 核糖体; RER: 粗面内质网; SER 滑面内质网; Z 酶原颗粒; NP 核孔。