

乌梢蛇夏冬两季部分生化免疫指标动态观察*

陈 海 啸

(浙江台州地区人民医院)

陈 一 奇

(浙江丽水职工中等卫生学校)

冬眠是动物界中常见的一种生命现象。动物通过降低机体新陈代谢等一系列改变,渡过逆境,待外界条件有利时再次苏醒活动的过程,是动物有机体对不良环境的一种适应现象。有关冬眠机制至今尚未得出普遍性的结论,一般认为是动物内部和复杂的外界因素综合作用的结果。但对这一生命现象过程动物机体发生的一系列生理生化变化,却有相当多的研究。早期注重于新陈代谢水平、营养素的来源和动物机体内部循环、血液、呼吸、消化系统的改变;近十几年来,更多地从细胞水平,分子水平去探讨;也有从医学角度研究冬眠过程中的抗损伤问题。但由于研究的对象和气候、地理环境的不同,结果各异。本实验选用十项常用的营养物质代谢,酶类、免疫球蛋白三方面的指标。对冬眠动物乌梢蛇建立夏冬两季的自身对照,测定它们分别处于冬眠和活动期的相应变化,以图从新的角度去了解冬眠动物机体对外环境变化的适应性调节。

实验动物和方法

(一) 动物 乌梢蛇 (*Zaocys dhumnadus*) 捕自浙江省平阳县境内。选择身长(从吻鳞到肛鳞)为 136—202 厘米,体重 471—1042 克之间的健康成体,年龄 2—3 岁,1 号蛇为雌性,其余均为雄性,在模拟自然生态环境的蛇室内饲养。

(二) 方法

1. 每一条蛇都分别于夏季(1982 年 7 月中

旬,气温 28—34℃) 和冬季(1983 年 1 月下旬,气温 0—8℃) 取血,测定有关指标,建立自身对照。

2. 乌梢蛇血清制备 不全断尾取全血,置 4℃ 冰箱,自行凝血后,分离血清。夏季取血前禁食 2 天。

3. 各项指标的测定方法 胆固醇用硫酸高铁铵显色法;甘油三酯用乙酰丙酮显色法;尿素氮用二乙酰显色法;肌酐用苦味酸显色法;血清谷丙转氨酶用改良赖氏法;血清碱性磷酸酶用 King-Armstrong 氏法。免疫球蛋白(Ig)用单向扩散法(标准抗血清由上海生物制品研究所提供)。醋酸纤维薄膜血清蛋白电泳(巴比妥缓冲液:离子强度 0.05 u, pH 8.6): 电泳时间 1 小时,电压 110V

结 果

(一) 乌梢蛇血清营养物质代谢部分指标测定(见表 1)

冬季组尿素氮明显高于夏季组,夏季组肌酐明显高于冬季组, p 值小于

$$0.01 (t \geq t_{0.01} \quad p < 0.01).$$

以每条实验蛇二季自身对照分析,无一单体与总体结果相反。但胆固醇和甘油三酯则变化不明显 ($t < t_{0.05} \quad p > 0.05$)。

(二) 乌梢蛇血清部分酶类和免疫球蛋白

* 在本实验中,曾得到温州医学院朱金昌副教授、严乃昌、严哲老师的指导和支持,方莉萍、王向云、宋烈同学参与本实验的部分工作,特致谢意。

表1 乌梢蛇血清营养物质代谢指示测定

项目	季节	标本编号						均值±标准差	P 值
		1	2	3	4	5	6		
胆固醇 (mmol/L)	夏季	3.62	2.85	7.22	5.18	4.77	6.63	5.05±1.68	>0.05
	冬季	3.29	6.01	4.12	8.00	4.24	4.36	5.00±1.71	
甘油三酯 (mmol/L)	夏季	0.36	—	0.64	0.36	0.61	0.61	0.52±0.14	>0.05
	冬季	0.41	0.44	0.28	0.38	0.38	—	0.38±0.06	
尿酸氮 (mmol/L)	夏季	—	0.38	0.12	—	—	0.38	0.29±0.15	<0.01
	冬季	0.78	0.78	0.83	0.83	0.83	0.64	0.78±0.07	
肌酐 (mmol/L)	夏季	100.78	105.20	97.24	84.87	92.82	97.24	96.36±6.98	<0.01
	冬季	*	*	*	*	*	*		

*表示该数据按本实验采用的测定方法无得到结果(亦适用表2)。

表2 乌梢蛇血清酶类和免疫球蛋白测定

项目	季节	标本编号						均值±标准差	P 值
		1	2	3	4	5	6		
碱性磷酸酶 (金氏单位)	夏季	1.30	2.90	2.30	2.70	2.90	3.30	2.57±0.70	>0.01
	冬季	1.10	1.50	1.25	1.20	1.20	1.25	1.25±0.13	<0.05
谷丙转氨酶 (赖氏单位)	夏季	11.00	4.00	6.00	2.00	10.00	1.00	5.67±4.13	<0.01
	冬季	—	0.50	0.50	1.00	—	1.00	0.75±0.29	
免疫球蛋白A (g/L)	夏季	0.08	0.092	0.08	0.09	0.08	0.07	0.08±7.53×10 ⁻³	<0.01
	冬季	*	*	*	*	*	*		
免疫球蛋白M (g/L)	夏季	—	—	0.21	0.39	0.09	0.21	0.27±0.10	<0.01
	冬季	0.31	0.58	0.31	0.33	0.31	0.29	0.36±0.11	
免疫球蛋白G (g/L)	夏季	—	0.19	0.19	0.18	0.15	0.15	0.17±0.02	<0.01
	冬季	*	*	*	*	*	*		

表3 乌梢蛇血清醋酸纤维薄膜蛋白电泳测定

项目	季节	标本编号						均值±标准差	P 值
		1	2	3	4	5	6		
A (%)	夏季	29.01	57.26	51.48	47.50	53.94	53.03	48.70±10.17	>0.01
	冬季	24.05	44.76	41.49	42.83	41.45	47.53	40.35±8.31	<0.05
B (%)	夏季	15.74	7.18	7.96	5.97	5.60	8.03	8.41±3.73	>0.01
	冬季	7.28	5.59	6.03	3.29	6.67	6.31	5.86±1.38	<0.05
C (%)	夏季	15.07	4.02	4.37	3.53	4.41	3.64	5.84±4.54	>0.01
	冬季	6.34	4.90	4.79	3.73	2.23	4.54	4.42±1.37	<0.05
D (%)	夏季	8.54	9.91	6.86	6.33	10.29	10.91	8.81±1.89	>0.01
	冬季	6.42	9.09	10.28	5.93	5.00	5.72	7.07±2.11	<0.05
E (%)	夏季	14.84	13.85	13.73	21.38	23.54	19.85	17.87±4.26	<0.01
	冬季	30.14	27.97	27.57	35.69	31.25	30.97	30.60±2.92	
F (%)	夏季	16.78	7.78	15.60	15.29	2.51	4.55	10.42±6.24	>0.01
	冬季	8.65	7.60	9.84	8.51	13.33	4.93	8.83±2.75	<0.05

注:表中A、B、C、D、E、F表示在电泳膜上从远端到点样端的区带,因无法对其中的蛋白作定性,以此表示。

测定(见表2)

处于夏冬二季的乌梢蛇血清中谷丙转氨酶、免疫球蛋白A(IgA)、G(IgG)、M(IgM)含量存在高度的差异

($p < 0.01$),

碱性磷酸酶存在差异($0.05 > p > 0.01$)。每条实验蛇自身对照除4号免疫球蛋白M的测定结果外,均与总体结果相一致。

(三) 乌梢蛇血清醋酸纤维薄膜蛋白电泳测定(见表3)

通过醋酸纤维薄膜电泳分离测得“A”、“B”、“C”、“D”、“F”蛋白的含量,夏季均较冬季含量为高($0.05 > p > 0.01$),“E”蛋白则相反,冬季较夏季明显增高($p < 0.01, t > t_{0.01}$)。每条乌梢蛇的变化与总体相一致。

讨 论

蛇类在夏冬两季血液学方面的变化,国内吴瑞敏等和国外许多学者,曾分别对数种蛇类的血液电解质、血糖和尿酸的含量以及血细胞的形态、计数进行了比较,但结果差异较大。为了避免因应用随机配对或非配对实验设计而造成的误差,本实验特选用成体乌梢蛇为实验对象,在模拟自然生态环境中饲养,动态观察夏(活动期)、冬(冬眠期)二期乌梢蛇血清的部分生化、免疫指标的变化,建立自身对照的方法,提高了实验结果的科学性和可靠性。可认为以时间为变量,自身对照的实验设计,有助于事先将影响实验的因素和条件加以控制,能提高统计效率,减少样本含量,是研究部分动物生理、生态变化比较理想的方法。

在体液免疫系统方面,前人对低等脊椎动物研究的不多,很难与高等脊椎动物作比较。Leslie^[7,10,11]等在对三种龟、鳄蜥、蜥蜴和蛙等低等脊椎动物的研究中,仅发现有高低二种分子量的免疫球蛋白。经鉴定前者类似IgM的巨球蛋白,后者属IgN、IgY、IgG(?)^[7-11]。另外在对产婆鲨,八月鳗等的研究中,还发现了数种对常见抗原[如:红血球H(O)抗原,果聚糖]有相当强结合能力的高分子物质。但属非免疫

球蛋白“抗体”。还发现乌梢蛇血清中有类似IgM、IgG免疫原性的物质,符合前人的研究,并是首次报道乌梢蛇血清中存在具有类似IgA免疫原性物质。限于条件目前未能确定这类免疫原性的血清成份,如属真正的免疫球蛋白抗体,则IgA在爬行纲中的出现是体液免疫进化史的提前。“IgA”、“IgG”、“IgM”三种类似免疫原性物质的同时存在,提示了乌梢蛇已具备比较完善的体液免疫能力。

从表3自身对照看出,夏季“IgG”、“IgA”的含量显著地高于冬季,而“IgM”的变化却相反。说明其在活动期向冬眠期过渡时,体液免疫系统的变化有选择性。夏季活动期“IgG”、“IgA”含量较高,由于外界病原体增殖快,接触机会多,易损伤,机体需量增高之故;冬季则反之。前人在对腹蛇冬眠前期和深眠期的血中白细胞观察中,也发现类似的情况,但“IgM”的变化,却是冬季明显地高于夏季($p < 0.01$)。目前尚不知体液免疫在乌梢蛇整个免疫系统中的地位。但从实验结果和上述分析看,其在自然冬眠期以抗菌效价高,产生周期短的IgM量的大幅度增高,对增强动物机体的抗感染能力有特殊意义。表3中“E”蛋白在冬季的增高从分子量推算与IgM的增高是相对应的,但有待进一步分离鉴定。

在营养物质代谢方面,胆固醇和甘油三酯水平的基本稳定,谷丙转氨酶和碱性磷酸酶活性的降低,以及血清中数种蛋白构成比例的减少,基本符合前人对冬眠动物的观察。但在代谢产物的转化上,冬眠期尿素氮血清含量的增高,可以认为是代谢产物的堆积。可是肌酐的降低,则是值得深思的问题。乌梢蛇在本实验饲养条件下,冬眠程度较浅,时而惊醒活动。整个冬眠期无显性排泄的情况下,肌酐含量下降,表明其体内有另一条与一般冬眠动物不同的处理肌酐途径。

综上所述,冬眠动物为了渡过漫长的逆境,而保持生命过程的协调性和有序性,说明机体内生理生化过程的一系列变化是严格选择的,并非是整个正常生命过程的抑制。冬眠动物耐

受外界不良环境能力的提高是有一定相应物质基础的。冬眠应理解为动物对不良环境的一种积极适应。

参 考 文 献

- [1] 连实安等 1982 中华大蟾蜍和蝮蛇血清的抗菌作用初报 温州医学院学报 5: 83—85。
- [2] 曲韵芳等 1985 蛇类血液的研究 I. 血液的组成成分和形态学的观察 两栖爬行动物学报 4(4): 353—354。
- [3] 吴瑞敏等 1985 福州地区眼镜蛇冬眠前和深浅期血液某些成分浓度的比较 两栖爬行动物学报 4(4): 300—304。
- [4] Acton, R. T., et al 1972 Phylogeny of immunoglobulins Purification and physicochemical characteri-

zation of the immune macroglobulin from the turtle, *Pseudemus scripta*. *Immunochimistry* 9, 421.

- [5] Bezkorovainy, A. et al., 1971 Physicochemical properties of the e11 anti-human blood group H(o) antibody. *Biochimistry* 10, 3761.
- [6] Chartrand, S. L. et al 1971. The evolution of the immune response. XII. The immunoglobulins of the turtle. Molecular requirements for biologic activity of 5.7s immunoglobulin. *J. Immunol.* 107, 2.
- [7] Leslie, G. A. and L. W. Clem 1972 Phylogeny of immunoglobulin structure and function. VI. 17s 7. 5s anti-DNP of the turtle *Pseudamys scripta*. *J. Immunol.* 108. 1656.
- [8] Marchalonis, J. J. and J. M. Edelman, 1966 II. Immunoglobulins in the primary immune response of the bull frog. "*Ranaccatesbiana*." *J. Exp. med.* 124. 901.