

文章编号:1671-8747(2003)03-0068-06

龟鳖类血细胞研究的进展

傅丽容,洪美玲,史海涛

(海南师范学院 生物系,海南海口 571158)

摘要:文章概述了龟鳖类血细胞——红细胞、有粒细胞(包括嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜天青粒细胞和嗜中性粒细胞)、淋巴细胞、单核细胞、血栓细胞的特性,显微和超微结构特点,血细胞发生及功能等方面的研究进展。

关键词:龟鳖;血细胞;功能

中图分类号:Q954

文献标识码:A

血细胞是动物体对自身生理状态变化和对外界环境因子刺激非常敏感的细胞,在气体运输、机体免疫和凝血中起着重要的作用。对于血细胞的研究,既有助于从比较血液学和比较免疫学的角度认识它们的正常和病理功能与动物生长发育、成熟繁殖、生存环境等因素的关系,又能从系统演化上探讨它们的进化趋势和特点。爬行动物血细胞的研究最早可追溯到19世纪40年代,早期主要是对血细胞的显微结构、数量、大小及其影响因素的研究;近年来,随着龟鳖养殖、生态学、病理学和病毒学的进展,龟鳖血细胞在超微结构、细胞功能、血细胞发育等方面的研究都有不同的发展。为了进一步了解此方面的研究,为教学科研和实际工作提供参考资料,本文就龟鳖血细胞的研究和进展作一回顾性综述。

1 龟鳖类血细胞的分类

有关龟鳖类血细胞的分类,不同的学者有不同的看法。Gironss将爬行动物血液中成熟的血细胞分为红细胞、粒细胞(包括嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜天青粒细胞和嗜中性粒细胞)、淋巴细胞、单核细胞、浆细胞和血栓细胞^[1]。Cooper等^[2]认为嗜天青粒细胞和嗜中性粒细胞属同一种细胞,它们是同一种细胞发育分化的两个不同阶段,因为实验表明多叶核细胞(即中性粒细胞)有时含嗜天青颗粒。我国学者多采用Cooper的分类方法。

2 血细胞的形态、数量及影响因素

2.1 红细胞

龟鳖类的红细胞呈椭圆形、有核,与鱼类、两栖类和鸟类相似。成熟红细胞除质膜下有微管外,没有其他细胞器。在正常情况下,血液中有少数幼稚型红细胞,含有少量线粒体,粗面内

收稿日期:2002-04-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30260019)

作者简介:傅丽容(1964-),女,广东惠州人,高级实验师,主要从事动物解剖生物学研究。

质网和溶酶体样小体等细胞器^[3]。

龟鳖类红细胞的数量为 154 166 ~ 980 000 cell/mm³, 大小为 16.9 ~ 21.5 μm × 10.2 ~ 13.2 μm^[4], 在爬行动物中龟鳖类红细胞的数量最少、体积最大, 因此红细胞的大小和红细胞数之间可能存在一定的负相关关系^[5]。通常红细胞的大小与它们所处的进化位置和生理功能状态有一定关系, 低等动物的红细胞大于高等动物, 行动迟钝动物其红细胞比行动敏捷动物的大。

红细胞数量受性别、年龄、季节的影响^[6]。卡若来那箱龟 (*Terrapene carolina*)、欧洲龟 (*Emys orbicularis*)、中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 的红细胞均是雄性高于雌性^[7,8], 但有些动物这种性别差异不明显, 如绿海龟 (*Chelonia mydas*)^[9]。红细胞数有随季节温度变化而变化的趋势, 如中华鳖^[8]冬季温度低红细胞数少, 温度升高红细胞数量增加, 这可能与鳖的活动量、代谢快慢对 O₂ 的需要量和 CO₂ 排出量的差异相关联。另外其他因素如一些病理因素、营养状态、气候变化和海拔高度都影响红细胞的数量^[5,10-12]。幼年动物的红细胞数比成年动物者少^[13], 但有待进一步探讨。

2.2 白细胞

2.2.1 白细胞比例存在种间差异

中华鳖中性粒细胞数量(47.1%) > 淋巴细胞(29.4%) > 嗜天青粒细胞(15.0%) > 嗜碱性粒细胞(7.8%) > 单核细胞(0.67%) > 嗜酸性粒细胞(0.15%)^[13,14]。但在乌龟 (*Chinemys reevesii*) 和黄喉拟水龟的白细胞中, 嗜碱性粒细胞数量最多占 46%, 而且颗粒大, 结构特殊^[15,16]。吴孝兵^[4]等发现平胸龟 (*Platysternon megacephalum*)、黄喉拟水龟 (*Mauremys mutica*)、黄缘闭壳龟 (*Cistoclemmys flavomarginata*)、乌龟中的嗜中性、嗜酸性粒细胞比例高(40% - 50%), 淋巴细胞比例很低(12%), 甚至没有。一方面可能是种间差异, 另一方面可能是受动物年龄的影响, 实验表明幼鳖白细胞数量少于成年鳖^[13]。

2.2.2 白细胞的数量变化很大, 受许多因素影响, 除种间差别外还有季节、性别、营养和健康状况等

1) 季节变化: 绿海龟、中华鳖白细胞数目在夏季高于冬季, 鳖白细胞以春季最多, 约为冬眠期的两倍, 以防御因气温升高而日益增加的微生物的侵袭^[8,17]。

2) 性别变化: 一般雄性白细胞(34 130 个/mm³)高于雌性(20 350 个/mm³)^[14,18], 这种变化是适应雌雄个体其不同的生理和生态的需要。

3) 营养状况: 在养殖条件下, 由于胁迫或营养的关系, 可能会引起白细胞数量的提高^[9]。

4) 健康状况: 健康鳖的嗜中性粒细胞在白细胞中所占的比例为 48%, 而在发生炎症时嗜中性粒细胞和单核细胞数量剧增达 60%, 并发挥较强的吞噬作用。

2.2.3 白细胞的显微和超微结构

国内外学者对龟鳖的显微和超微结构进行过深入的研究, 同种间白细胞大小差别不大^[8,14-16], 而不同种类间主要是在细胞染色、颗粒形态、核形态、细胞器等方面有明显的分类特征。

嗜中性粒细胞: 通常呈圆形, 胞质中含有嗜伊红或嗜天青的特殊颗粒, 胞核不分叶多偏位; Wright - Giemsa 混合染液染色, 颗粒呈品红色, 颗粒呈杆状或纺锤体, 长短不一, 紊乱堆放。电镜观察表明中性粒细胞含有三种类型的圆形颗粒, 大小为 0.4 ~ 0.6 μm, 一种颗粒电子密度高而

均匀,另一种则电子密度低细小颗粒状.另外,还有少量较小的颗粒,含有淡染的粒芯或致密的内含物^[15,16,19].

嗜酸性粒细胞:细胞呈圆形,Wright-Giemsa 混合染液染色,胞质中充满红色粗大特殊颗粒,胞核稍大,卵圆形,偏位,极少分叶.电镜观察表明胞核分叶,染色质凝集在核周边,胞质中含有少量线粒体、粗面内质网和许多小泡;颗粒呈圆形或卵圆形,均匀致密而无内部结构或局部溶解成空泡状^[15,16,19-21].

嗜碱性粒细胞:呈长圆形,胞质中充满嗜碱性圆形颗粒,由于颗粒数量大,染色深常将胞核覆盖住.电镜观察表明不同种类嗜碱性粒细胞的形态结构基本相同,不同之处主要在嗜碱性颗粒的大小和内部结构方面.颗粒外被一层单位膜,一种颗粒内含数层髓磷脂鞘样结构,另一种颗粒均匀致密而无特殊的内部结构;第三种颗粒内含蜂窝样结构^[19,22].因为某些动物这种细胞内的颗粒都含有一定的内部结构,并且各具特殊性,所以嗜碱性粒细胞的差异大小与其进化位置可能有关,亲缘关系越远,差异越大.

嗜天青粒细胞:细胞以卵圆形居多,Wright 染色胞质呈蓝色,含有汇集成块的嗜天青细小颗粒,颗粒呈暗紫红色^[14,15].嗜天青粒细胞与中性粒细胞的不同之处仅在于胞质颗粒的嗜染性方面.

单核细胞:胞质丰富,Wright 染色胞质呈淡蓝灰色,胞核形态多样,有呈马蹄形、卵圆形、哑铃形,多偏位.电镜观察表明胞质内含大量细胞器如线粒体、粗面内质网、核糖体、Golgi 复合体、吞噬物小泡^[8,13,15,16].

淋巴细胞:细胞呈圆形,胞质稀少,胞核大而圆,可分为大、中、小淋巴细胞三类.Wright 染色,细胞被染成紫黑色.电镜观察表明胞质稀少,含有少量线粒体、粗面内质网、小泡及大量游离核糖体、细小颗粒^[16,19,22,23].

2.3 血栓细胞

显微和超微结构:血栓细胞小,卵圆形,核较长,中位,血栓细胞常三五成群聚集,电镜观察表明质膜下有环状微管,胞质中含有管道系统、线粒体、核糖体、粗面内质网、糖原颗粒和致密颗粒^[8,9,20,23].

3 血细胞的发生

细胞发生是指血细胞起源、增生、分化及发育成熟的过程.众所周知,哺乳动物血细胞的发生器官是骨髓、胸腺、脾脏、淋巴结.低等脊椎动物造血部位是肾脏和脾脏,其次是肠黏膜下组织、肝脏、胰脏等.爬行动物的骨髓已成为成体动物的一种主要造血器官^[24,25].

龟鳖类不同血细胞分别由相同或不同的造血器官产生.乌龟红细胞发育场所在骨髓^[26],脾脏可能是红血细胞成熟的场所之一,因为在脾脏的涂片上能见到晚幼红细胞和成熟红细胞;有少数细胞在外周血液中成熟.

粒细胞主要发育场所在骨髓,淋巴细胞和单核细胞的主要发育场所在脾脏^[27],这一点与哺乳动物不同,哺乳动物的单核细胞主要在骨髓发育.龟鳖类血细胞发育的一般规律与哺乳动物相似,即在造血器官内,在一定的微环境和某些因素的作用下,经历一个连续的过程,定向地发育成红细胞和各种粒白细胞.红细胞的发育从原红细胞经幼红细胞发育至成熟的红细胞,与

哺乳动物不同的是细胞核始终存在.在龟鳖的血涂片观察中都可见红细胞的有丝分裂^[26],说明红细胞的生成途径除造血器官中产生外,另一条途径即通过外周血细胞有丝分裂而来.

4 血细胞的功能

血细胞的功能与维持体内各种生理环境的稳定性有密切关系.

红细胞的主要功能是由血红蛋白携带运输氧气.在鱼类、两栖类和人类中,红细胞还具有吞噬作用,对于龟鳖类红细胞是否有吞噬作用有不同的看法.张奇亚认为爬行类、两栖类和鱼类的红细胞均具有一定的吞噬能力^[27];潘连德实验表明中华鳖红细胞的吞噬作用是一种假象,有关红细胞的免疫功能有待于进一步的研究^[28].

有粒白细胞具有运动和吞噬能力,Carcia等^[29]研究黑海拟水龟外周血有粒白细胞吞噬反应能力,组织吸附能力,自发运动和趋化性,附着和摄取外来细胞或惰性颗粒,消化吞噬物的能力,除了自发运动不受季节影响外,其它各种能力有季节性的变化.通过与人血有粒白细胞的比较,表明这些动物的细胞有足够的吞噬反应能力.

单核细胞在结构和功能上与哺乳动物相似,与哺乳动物不同的是龟鳖类外周血中的单核细胞在血管内就可变成巨噬细胞,细胞表面常有球状突起,伸出伪足包围其他外来异源细胞,有活跃的变形运动,明显的趋化性和一定的吞噬功能,特别在发生炎症时,数量剧增和嗜中性粒细胞一起发挥较强的吞噬作用^[30].

血栓细胞具有凝血作用,类似于哺乳动物的血小板,但形态和来源迥然不同^[31].有些学者在实验中未见血栓细胞,认为可能存在另一种凝血机制.我们在进行龟的血液病理实验中发现,血栓细胞数量变化不大,可是凝血时间延长1~2h,可能是凝血机制受到影响的缘故.

5 存在问题与展望

国内外学者从显微和超微结构特点、组织化学反应特性、细胞的生理功能等多方面对血细胞进行研究,积累了一些资料.和鱼类、鸟类、哺乳类(包括人类)相比,还很不够.我们认为还要在以下方面进行更深入的研究.

1) 深入探讨

①龟鳖血细胞分类问题,即嗜中性粒细胞和嗜天青粒细胞的关系问题;②血细胞的发生和功能,如红细胞的吞噬功能,血栓细胞的吞噬功能问题;③血细胞的生理功能与内外因素的作用规律.

2) 实验方法的改进

①采血方法的改进,现在龟鳖的采血一般用断颈或剖胸从心脏采血,这样一是限制了材料的重复利用,也不利于濒危动物的保护;二是无法进行跟踪实验,影响实验的准确性.②血细胞的计数方法,按照医疗检验手册不能对白细胞进行直接计数,因为红细胞是有核的,白细胞稀释液无法溶解红细胞,只能通过间接的方法得出白细胞的数量,这样必然影响计数的准确度.所以研究血细胞的关键在于:血细胞分类的标准和技术的规范化.

3) 加强与其他学科的联系

目前龟鳖养殖业迅速发展,相应也出现一系列的问题,病原体侵袭常常给养殖户带来很大

的损失.所以加强与免疫学和生物化学及物理学的联系,采用这些学科的新技术、新方法深入研究血液免疫学机制,建立健全的检验机制,为珍稀动物保护和药用经济动物的人工养殖和疾病防治奠定基础.

参考文献

- [1] Girons M C S. Morphology of the circulating blood cells[J]. In: Gans C, Parson T S eds. *Biology of the Reptilia*. London: Academic Press, 1970,3:73 - 92.
- [2] Cooper E L, et al. Reptilian immunity[J]. In *Biology of the Reptilia*(C. Gans, et al., eds), John Wiley & Sons, New York, 1985,13:599 - 678.
- [3] 李丕鹏. 龟和鳖血液及其发生的细胞学研究[D]. 南京: 南京大学研究生院, 1986.
- [4] 吴孝兵, 张盛周, 吴海龙, 等. 16种爬行动物血细胞形态参数研究[J]. *动物学杂志*, 1999,33(1):29 - 314.
- [5] Duguay R. Numbers of blood cells and their variation[J]. In C. Gans, T. S. Parsons eds. *Biology of the Reptilia*. New York: Academic Press, 1970,3:93 - 109.
- [6] Frari W. Turtle red blood cell packed volumes, sizes and numbers[J]. *Herpetologica*, 1997,33:167 - 190.
- [7] Altland P D, Thompson E G. Some factors affecting blood formation in turtles[J]. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1958,99:456 - 459.
- [8] 程备久, 蒋立科, 宋祥芳, 等. 鳖血细胞数量的季节变化及形态结构研究[J]. *应用生态学报*, 1996,7(4):411 - 416.
- [9] Fern E W, Ebanks G K. Blood cytology and hematology of the green sea turtle[J]. *Calotes mydas Herpetologica*, 1984,40(3):331 - 336.
- [10] Choubey B J. Seasonal changes in the blood of Indian garden lizard[J]. (*Calotes versicolor*). *Zool Anz Jena*, 1975, 194:35 - 41.
- [11] Frair W. Sea turtle red blood cell parameters correlated with carapace lengths[J]. *Comp Bioch Physiol*, 1977,56B:467 - 472.
- [12] Weathers W W, White F N. Hematological observations on populations of the lizard *sceloporus occidentalis* from sea level and altitude[J]. *Herpetologica*, 1972,28:172 - 175.
- [13] 王军萍. 中华鳖血象的研究[J]. *水产养殖*, 1999,(3):18 - 20.
- [14] 喻维新. 乌龟血液成分的初步检测[J]. *动物学报*, 1983,29(2):193 - 194.
- [15] 王军萍, 郭明中, 韩希福. 中华鳖血细胞显微和超显微结构的观察[J]. *中国水产科学*, 1999,6(4):106 - 108.
- [16] 李丕鹏. 黄喉拟水龟血液白细胞电镜观察[A]. 中国黄山国际两栖爬行动物学学术会议论文集(蛇蛙研究丛书)[C]. 北京: 中国林业出版社, 1993.
- [17] Bolten A B, Bjorndal K A. Blood profiles for wild population of green sea turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahama: Size-specific and sex-specific relationships[J]. *Journal of Wildlife Diseases*, 1992,28(3):407 - 413.
- [18] 王石泉. 鳖外周血细胞显微形态及细胞化学[J]. *动物学杂志*, 1995,30(1):16 - 18.
- [19] 罗 曼, 蒋立科, 甘雅玲. 黄缘盒龟血细胞亚显微结构的电镜观察分析[J]. *动物学杂志*, 2001,36(5):9 - 13.
- [20] Desser S S, Weller I. Ultrastructural observations on the granular leucocytes of the tuatara[J]. *Tissue and Cell*, 1979,11:703 - 715.
- [21] Taylor K, et al. Electron microscopic studies of turtle blood cells[J]. *Cytologia*, 1963,28:243 - 256.

- [22] 李丕鹏,朱洪文.龟鳖嗜碱性粒细胞的显微和超微结构[J].动物学报,1990,36(2):210-211.
- [23] 曹伏君,李长玲,刘楚吾,等.乌龟外周血细胞在光镜和扫描电镜下的结构[J].湛江师范学院学报,2000,21(1):51-53.
- [24] Tavassoli M, Yoffoy J.M 1983 Bone Marrow. Alan R. Liss Inc[M]. New York. 17-28:139-254.
- [25] 陆宇燕,李丕鹏.鳖骨髓造血作用的研究[A].姚远.跨世纪论文集[C].西安:陕西科学技术出版社,1996,346-348.
- [26] 李长玲,曹伏君,刘楚吾,等.乌龟红血细胞发生研究[J].湛江海洋大学学报,2000,20(1):1-4.
- [27] 张奇亚,李正秋,罗晓春.鳖、蛙、鱼细胞的显微观察与比较[J].水利渔业,1999,19(3):1-3.
- [28] 潘连德,邹玉蓉.中华鳖嗜中性粒细胞吞噬功能的研究[J].中国水产科学,2000,7(2):32-35.
- [29] Carai S, Fuente M D L. Seasonal variation in the activity in vitro of peripheral blood granulocytes in the turtle *Mauremys caspica*[J]. Comp. Biochem. Physiol,1991,100A(3):47-52.
- [30] 潘连德.中华鳖肝组织炎性细胞的浸润及其结构观察[J].中国水产科学,1998,5(3):47-52.
- [31] 朱洪文.鲫鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察[J].动物学研究,1985,6:147-153.

Progress in the research of chelonian blood cells

FU Li-rong, HONG Mei-ling, SHI Hai-tao

(Department of Biology, Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

Abstract: In this paper, the morphology, microscopic structure, submicroscopic structure, physiological function and development of chelonian blood cells were summarized.

Key words: chelonia; blood cells; physiological function