

禁食对东方蝾螈胃肠道嗜银细胞形态 和分布密度的影响

付雪枫 张志强*

安徽农业大学动物科技学院 合肥 230036

摘要:以改良的龙桂开浸银法,比较了喂食和禁食 15 d 后的东方蝾螈 (*Cynops orientalis*) 胃肠道的长度与重量、嗜银细胞的形态及分布密度的变化。结果表明,禁食后动物的肠鲜重下降,胃长度缩短。禁食处理对嗜银细胞的形态无明显影响,呈圆形、椭圆形、楔形、锥体形、毛笔头状和蝌蚪形等。喂食组的分布密度高峰为幽门,低谷为十二指肠;禁食组的分布密度高峰为贲门,低谷为十二指肠、回肠和直肠。除幽门和十二指肠外,禁食组其余胃肠道各部位的密度都高于喂食组。禁食使东方蝾螈胃肠道前、后端嗜银细胞的密度增加,这可能与东方蝾螈的摄食习性和能较长时间耐受饥饿的生理特性有关。

关键词:东方蝾螈;禁食;胃肠道;嗜银细胞

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2011)02-114-06

Effects of Fasting on the Morphology and Distributive Density of Argyrophilic Cells along the Gastrointestine of *Cynops orientalis*

FU Xue-Feng ZHANG Zhi-Qiang*

School of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

Abstract: Comparisons on the length and mass of digestive organ, morphological feature and distributive density of argyrophilic cells along the gastrointestinal of *Cynops orientalis* were performed between feeding and fasting groups (15 days) by means of Longguikai's silver staining method. As compared with feeding group, fasting individuals showed reduced intestine mass and shorter stomach length. Argyrophilic cells showed various morphological features in both feeding and fasting groups, and they were round, oval, wedge-like, cone-like, inkbrush-like, and tadpole-like in shape. Distributive density of argyrophilic cells along the gastrointestinal in feeding group showed the highest in the pylorus, and the lowest in the duodenum; Distributive density of argyrophilic cells along the gastrointestinal in fasting group showed the highest in the cardia, and the lowest in the duodenum, ileum and rectum. The distributive density of cells in any other segment of gastrointestinal except for the pylorus and duodenum in fasting group was higher than that in feeding group. The results show that fasting treatment can increase the density of argyrophilic cells in the front and post portions of the gastrointestinal, which may be related to the feeding habit and capacity of enduring starvation for a longer phase in *C. orientalis*.

Key words: *Cynops orientalis*; Fasting; Gastrointestine; Argyrophilic cells

基金项目 安徽农业大学稳定人才基金项目(No. wd-2010-02);

* 通讯作者, E-mail: zzq-003@163.com;

第一作者介绍 付雪枫,男,学士;研究方向:水产养殖学;E-mail: fuxuef@163.com。

收稿日期:2010-10-28,修回日期:2011-01-14

胃肠道代表了动物能量摄入和能量分配两者之间功能性的联结,在器官进化过程中,可能经历许多选择性的压力^[1]。大多数两栖动物有耐受饥饿的能力^[2],与每年的取食周期相适应,消化道的生长和消化酶活力^[3]存在明显的季节性变化。然而,关于食物是如何调节消化特性的,其组织学基础尚不清楚^[4]。嗜银细胞属于内分泌细胞类,是消化道所含各类内分泌细胞的总称^[5-6],在多种脊椎动物中均有发现^[7-10]。两栖动物中,无尾类消化道嗜银细胞的分布密度具有物种特异性^[11-16],且与生活史的不同阶段有关。例如,冬眠期和非冬眠期的中华大蟾蜍(*Bufo bufo gargarizans*)消化道嗜银细胞的密度高峰都为幽门,但冬眠期大肠末段密度最低,非冬眠期大肠末段和食道的密度均较低^[16];冬眠期黑斑蛙(*Pelophylax nigromaculata*)消化道嗜银细胞的密度高峰为幽门,低谷为胃体,非冬眠期的密度高峰为小肠末端,低谷则为食道末段^[16]。然而,在有尾类中,除通过免疫组织化学方法对几种蝾螈消化道5-羟色胺细胞有过定位研究外^[17-18],尚未见关于嗜银细胞的报道,尤其是关于禁食对嗜银细胞的形态和分布密度的影响,尚无实验研究。

东方蝾螈(*Cynops orientalis*)隶两栖纲有尾目蝾螈科,以各类昆虫、小鱼或蝌蚪为食,分布于我国中部及东部地区。目前,除报道过东方蝾螈消化道的解剖结构外^[19],尚未见组织学方面的研究。本文采用改良的龙桂开浸银法,对喂食组和禁食组东方蝾螈胃肠道嗜银细胞的形态、分布范围和分布密度进行了比较,旨在了解禁食对东方蝾螈胃肠道组织学结构的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 实验用30尾东方蝾螈于2010年3月购于合肥市裕丰花市,养于60 cm × 30 cm × 40 cm的水族箱内。每天定时投喂新鲜猪肉和摇蚊科(Chironomidae)幼虫(孑孓),每3 d换水一次。正常喂食15 d后,随机取6尾(3♀,3♂)作为喂食组,其余24尾行禁食处理,除停止投喂食物外,其他条件同喂食

组。禁食15 d后,随机取6尾(5♀,1♂)作为禁食组。喂食组和禁食组的饲养水温均为15~19℃。

对喂食组和禁食组东方蝾螈体重及体全长称量后,用双毁髓法处死并取胃肠道,分别测胃、肠道和胃肠道长,用PBS缓冲液(pH=7.2~7.4)冲洗胃肠道内容物,分别称胃肠道、胃、肠鲜重,切取贲门、胃体、幽门、十二指肠、空肠、回肠和直肠组织块(0.5~1.0 cm),置于15%~20%的福尔马林溶液固定3~5 d。组织块用改良的龙桂开浸银法^[8,20]进行染色,每隔0.5 h蒸馏水换洗组织块一次(换洗3 h),经25%的硝酸银水溶液在37℃的恒温箱中处理30 h后,浸入银氨溶液4 h,蒸馏水略洗后浸入15%~20%的福尔马林溶液中还原10~15 h,常规石蜡切片(厚6 μm)。

1.2 观察、计数和拍照 取相距至少5张且组织结构完整的切片置于光学显微镜下进行观察,计数每一400倍视野中嗜银细胞的总数。每张切片计数5~10个视野,取其平均值表示每个视野嗜银细胞的数量;每只动物的胃肠道各段共计数5张切片,以其平均值表示该只动物每个部位嗜银细胞的数量,以6只动物的平均值表示胃肠道各段嗜银细胞的分布密度。在400倍视野下,用Motic-BA210型显微镜进行拍照。

1.3 统计分析 用SPSS 11.5 for Windows进行数据处理。统计分析之前,用Kolmogorov-Smirnov test检验数据是否呈正态分布。对不呈正态分布的数据,用平方根进行数据转换。用独立样本t-检验(independent-samples t-test)比较正常喂食组与禁食组的体重、体长和消化器官的形态学参数,以及胃肠道各段嗜银细胞的分布密度。以单因素方差分析(One-way ANOVA)及多重比较(Multiple comparisons) post hoc test比较正常喂食组与禁食组各组内胃肠道各部位嗜银细胞的分布密度。文中数据均以平均值±标准误(Mean ± SE)表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

采用改良的龙桂开浸银法染色后,胃肠道嗜银细胞的嗜银颗粒被染成黑色或棕黑色,细胞核呈淡黄色,背景呈浅黄色,对比鲜明,易于辨认。

2.1 禁食对东方蝾螈体重、体长、胃肠道长度和重量的影响

独立样本 *t*-检验分析表明,禁食组动物的肠鲜重下降,胃长度缩短,但体重、胴体重和体长,以及其他消化器官的长度和重量等参数与喂食组无差异(表1)。

表1 东方蝾螈喂食组与禁食组体重、体长和消化器官形态学参数的比较

Table 1 Comparisons on body weight, body length and morphological parameters of digestive organs between feeding and fasting groups of *Cynops orientalis* (Mean ± SE)

	喂食组 Feeding group	禁食组 Fasting group	<i>t</i> 值 <i>t</i> value	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
样本数 Sample size	66			
体重 Body weight (g)	2.095 ± 0.381	2.131 ± 0.077	-0.09	ns
体长 Body length (mm)	67.9 ± 3.5	72.2 ± 1.4	-1.17	ns
胴体重 Carcass weight (g)	1.255 ± 0.157	1.271 ± 0.027	-0.10	ns
胃鲜重 Stomach net weight (g)	0.047 ± 0.010	0.045 ± 0.004	0.23	ns
肠鲜重 Intestine net weight (g)	0.081 ± 0.022 ^a	0.043 ± 0.006 ^b	2.79	<0.05
胃肠道鲜重 Gastrointestinal net weight (g)	0.128 ± 0.022	0.087 ± 0.010	1.73	ns
胃长度 Stomach length (mm)	17.4 ± 1.2 ^a	12.6 ± 0.8 ^b	3.49	<0.05
肠长度 Intestine length (mm)	99.3 ± 13.7	75.3 ± 3.3	1.70	ns
胃肠道长度 Gastrointestinal length (mm)	116.6 ± 14.7	87.9 ± 3.8	1.89	ns

同一行中上标字母不同表示差异显著, a > b, ns = 差异不显著。

Different superscript letters in the same line mean significant difference, a > b, ns = not significant.

2.2 喂食组和禁食组胃肠道嗜银细胞的形态学特征

禁食组与喂食组从贲门至直肠各段均有嗜银细胞分布。胃部主要分布于贲门腺、胃底腺和幽门腺的浅层细胞,也见于胃黏膜上皮细胞基部;肠道段,嗜银细胞主要分布于黏膜上皮细胞之间。胃腺中的嗜银细胞多为圆形(图版 I:1、2)和椭圆形(图版 I:1、3),胃黏膜层中呈椭圆形,或毛笔头状、刷状、锥体形、长棒状和长梭形,有较长的细胞质突起伸向消化腔或固有膜(图版 I:4~7)。小肠中,呈圆形、椭圆形、锥体形、长棒状、梭形、哑铃形或毛笔头状(图

版 I:8~11)。直肠中呈圆形、椭圆形、长锥体形或蝌蚪形(图版 I:12~15)。

2.3 喂食组和禁食组胃肠道嗜银细胞的分布密度

喂食组东方蝾螈胃肠道嗜银细胞的分布密度高峰为幽门,胃体其次,十二指肠最低($F_{6,35} = 7.966, P < 0.01$);禁食组嗜银细胞在贲门密度最高,胃体、幽门和空肠其次,十二指肠、回肠和直肠最低($F_{6,35} = 3.934, P < 0.01$)。两组之间除幽门和十二指肠无差异外,其余各部位禁食组嗜银细胞的密度都显著高于喂食组(表2)。

表2 东方蝾螈喂食组与禁食组胃肠道各部位嗜银细胞密度的比较(单位:个/400 × 视野)

Table 2 Comparisons on the distributive density of argyrophilic cells along the gastrointestinal between feeding and fasting groups of *Cynops orientalis* (Mean ± SE, Unit: number of cells/400 times field)

	贲门 Cardia	胃体 Fundus	幽门 Pylorus	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum	直肠 Rectum
喂食组 Feeding group	114 ± 10 ^{abc}	124 ± 6 ^{ab}	154 ± 9 ^a	78 ± 7 ^c	95 ± 10 ^{bc}	85 ± 13 ^{bc}	103 ± 6 ^{bc}
禁食组 Fasting group	217 ± 31 ^a	164 ± 11 ^{ab}	145 ± 6 ^{ab}	123 ± 31 ^b	167 ± 8 ^{ab}	115 ± 5 ^b	129 ± 8 ^b
<i>t</i> 值 <i>t</i> value	-3.20	-3.28	0.81	-1.40	-5.57	-2.23	-2.67
<i>P</i> 值 <i>P</i> value	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	<0.01	<0.05	<0.05

同一行中上标字母不同表示差异显著, a > b > c。Different superscript letters for the same line mean significant differences, a > b > c.

3 讨 论

禁食后东方蝾螈的肠鲜重下降、胃长度缩短,胃肠道前段和后段嗜银细胞的密度增加,这可能与其摄食习性及能较长时间耐受饥饿的生理特性有关。

禁食 15 d 后,东方蝾螈的体重和体长与喂食组无显著差异,这可能与禁食时间较短有关。费梁等^[2]对蓝尾蝾螈(*Cynops cyanurus*)进行长时间饥饿处理后发现,它能耐受饥饿达数百天,体重可降低 33%~46%。研究表明,两栖类消化道的大小和质量具有可塑性,会随着食物等环境条件的改变而发生适应性变化^[1,3-4]。经 15 d 的短期禁食处理,东方蝾螈体重变化不明显,但肠鲜重下降、胃长度缩短。东方蝾螈的胃为纺锤形的长囊,肌层发达,直肠较为粗大^[19],这些解剖结构特点可能与其耐饥饿的习性有关,有利于适应食物资源的短期缺乏。嗜银细胞为消化道内各种内分泌细胞的总称,有局部分泌激素的作用,这些细胞内含有胺或能摄取胺的前体进行脱羧反应使胺前体变为活性胺,有调节消化管的运动、消化腺分泌与黏膜层上皮生长的作用^[21]。在形态学上,尽管禁食处理对东方蝾螈嗜银细胞的形状无明显的影响,但仍有一些嗜银细胞处于分泌状态。饥饿状态下,到底哪一种内分泌细胞的形状会发生改变,尚需采用免疫组织化学技术来进行定位研究。我们推测,饥饿状态下东方蝾螈保有一定数量处于分泌状态的内分泌细胞,可能有利于环境好转时提高捕食的机率。

喂食组东方蝾螈胃肠道嗜银细胞的分布密度高峰为幽门,十二指肠最低,这与黑斑蛙相似^[16];泽蛙(*Rana limnocharis*)^[15]、花背蟾蜍(*B. raddei*)^[12]和中华大蟾蜍^[14]也在幽门密度最高,但分别在食管、贲门和直肠最低。黑龙江林蛙(*R. amurensis*)^[13]的密度高峰为贲门和胃体,低谷为空肠和回肠,而中国林蛙(*R. chensinensis*)^[11]则在胃体和回肠最高,食道、十二指肠和直肠最低。这些结果说明,两栖类消化道嗜银细胞的分布密度具有物种特异性。东

方蝾螈喜栖于水质清澈的溪流中,常以各类昆虫、小鱼或蝌蚪类为食,其生活环境和食性与无尾两栖类不同,这可能是嗜银细胞分布密度产生差异的主要原因。禁食后,东方蝾螈胃肠道嗜银细胞的密度高峰和低谷发生了漂移,在贲门最高,十二指肠、回肠和直肠最低,且除幽门和十二指肠外,禁食组其余各部位嗜银细胞的密度都高于喂食组。有研究表明,冬眠期中华大蟾蜍和黑斑蛙消化道嗜银细胞的密度均高于非冬眠期,这可能与冬眠期动物消化道的活动明显减弱,但内分泌功能储备明显增加有关^[16]。禁食期东方蝾螈嗜银细胞数量的增多可能与饥饿状态下内分泌细胞的分泌机能增强有关,也可能作为一种机能性储备,当摄食时起促进食物消化和吸收的作用。

总之,东方蝾螈胃肠道嗜银细胞的形态学特征与其他两栖动物相似,但分布密度具有自身的特点。禁食可影响东方蝾螈胃肠道嗜银细胞的分布密度,胃肠道前后端嗜银细胞分布密度的增加可能是东方蝾螈适应短期饥饿的一种策略,也可能作为一种机能性储备,待环境好转时提高重新捕食的效率和机率。

参 考 文 献

- [1] Secor S M. Regulation of digestive performance: a proposed adaptive response. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 2001, 128(3): 565-577.
- [2] 费梁,叶昌媛,夏颐. 蓝尾蝾螈的食性和食量及耐饥时间的观察. *动物学杂志*, 1990, 25(2): 26-29.
- [3] Naya D E, Veloso C, Sabat P, et al. The effect of long- and short-term fasting on phenotypic flexibility and integration in the Andean toad, *Bufo spinulosus*. *The Journal of Experimental Biology*, 2009, 212: 2167-2175.
- [4] Naya D E, Bozinovic F. Digestive phenotypic flexibility in postmetamorphic amphibians: studies on a model organism. *Biological Research*, 2004, 37: 365-370.
- [5] 邓孔昭. 胃肠道内分泌细胞及其激素. *生理科学进展*, 1980, 11(2): 113-119.
- [6] Singh I. On argyrophile and argentaffin reactions in individual granules of enterochromaffin cells of the human gastro-intestinal tract. *Journal of Anatomy*, 1964, 98(4): 497-500.

- [7] 潘黔生, 方之平. 三种鲤科鱼类肠道内分泌细胞的初探. *水生生物学报*, 1989, 13(4): 348-352.
- [8] 张志强, 王洋, 单玉喜, 等. 竹叶青消化道嗜银细胞的分布及形态学观察//中国动物学会两栖爬行动物学分会. *两栖爬行动物学研究*: 第八辑. 贵阳: 贵州科学技术出版社, 2000: 18-22.
- [9] Wang J X, Peng K M, Liu H Z, et al. Distribution and morphology of argyrophilic cells in the digestive tract of the African ostrich. *Tissue and Cell*, 2010, 42: 65-68.
- [10] 黄威权, 黄荫乔, 王文超, 等. 大鼠小肠嗜银、亲银细胞的分布及形态学观察. *解剖学报*, 1985, 16(4): 412-416.
- [11] 高欣, 李淑兰. 中国林蛙(*Rana chensinensis*)消化道嗜银细胞的研究. *哈尔滨师范大学自然科学学报*, 2005, 21(6): 75-78.
- [12] 韩昭雪. 花背蟾蜍胃、肠嗜银细胞和亲银细胞的分布及形态观察. *兰州大学学报: 自然科学版*, 1990, 26(3): 114-116.
- [13] 陈霞, 于海波, 李淑兰. 黑龙江林蛙消化道嗜银细胞的分布及形态学观察. *哈尔滨学院学报*, 2002, 23(8): 62-63.
- [14] 楚德昌, 邓振旭. 中华大蟾蜍消化道嗜银细胞的形态与分布. *解剖学杂志*, 2002, 25(3): 289-292.
- [15] 楚德昌. 三种无尾两栖类动物消化道嗜银细胞的观察. *潍坊学院学报*, 2003, 3(4): 10-12.
- [16] 楚德昌, 邓振旭. 中华蟾蜍、黑斑蛙冬眠期与非冬眠期消化管嗜银细胞的比较. *动物学杂志*, 2004, 39(1): 21-24.
- [17] 张盛周, 陈冬生, 张志强, 等. 无斑肥螈消化道五色胺免疫活性细胞的分布与形态学观察. *动物学杂志*, 2001, 36(3): 13-16.
- [18] Trandaburu T, Trandaburu I. Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) immunoreactive endocrine and neural elements in the chromaffin enteropancreatic system of amphibians and reptiles. *Acta Histochemica*, 2007, 109: 237-247.
- [19] 李顺才, 刘晓丽, 郝晓. 东方蝾螈的形态观察和解剖学研究. *中国兽医科技*, 2005, 35(1): 60-63.
- [20] 芮菊生, 杜懋琴, 陈海明, 等. *组织切片技术*. 北京: 高等教育出版社, 1980: 132.
- [21] Solcia E, Rindi G, Buffa R, et al. Gastric endocrine cells: types, function and growth. *Regulatory Peptides*, 2000, 93(1/3): 31-35.

图 版 说 明

1. 喂食组贲门腺圆形和椭圆形的嗜银细胞; 2. 禁食组贲门腺圆形的嗜银细胞; 3. 禁食组幽门腺椭圆形的嗜银细胞; 4. 喂食组贲门毛笔头状的嗜银细胞; 5. 禁食组贲门刷状的嗜银细胞; 6. 喂食组胃体锥体形的嗜银细胞; 7. 禁食组胃体长梭形的嗜银细胞; 8. 喂食组十二指肠圆形的嗜银细胞; 9. 禁食组十二指肠圆形的嗜银细胞; 10. 喂食组空肠哑铃形的嗜银细胞; 11. 禁食组空肠蝌蚪状的嗜银细胞; 12. 喂食组直肠圆形的嗜银细胞; 13. 禁食组直肠椭圆形的嗜银细胞; 14. 喂食组直肠蝌蚪状的嗜银细胞; 15. 禁食组直肠长锥体形的嗜银细胞。×400, 标尺 = 10 μm; 箭头指嗜银细胞。

Explanation of Plate

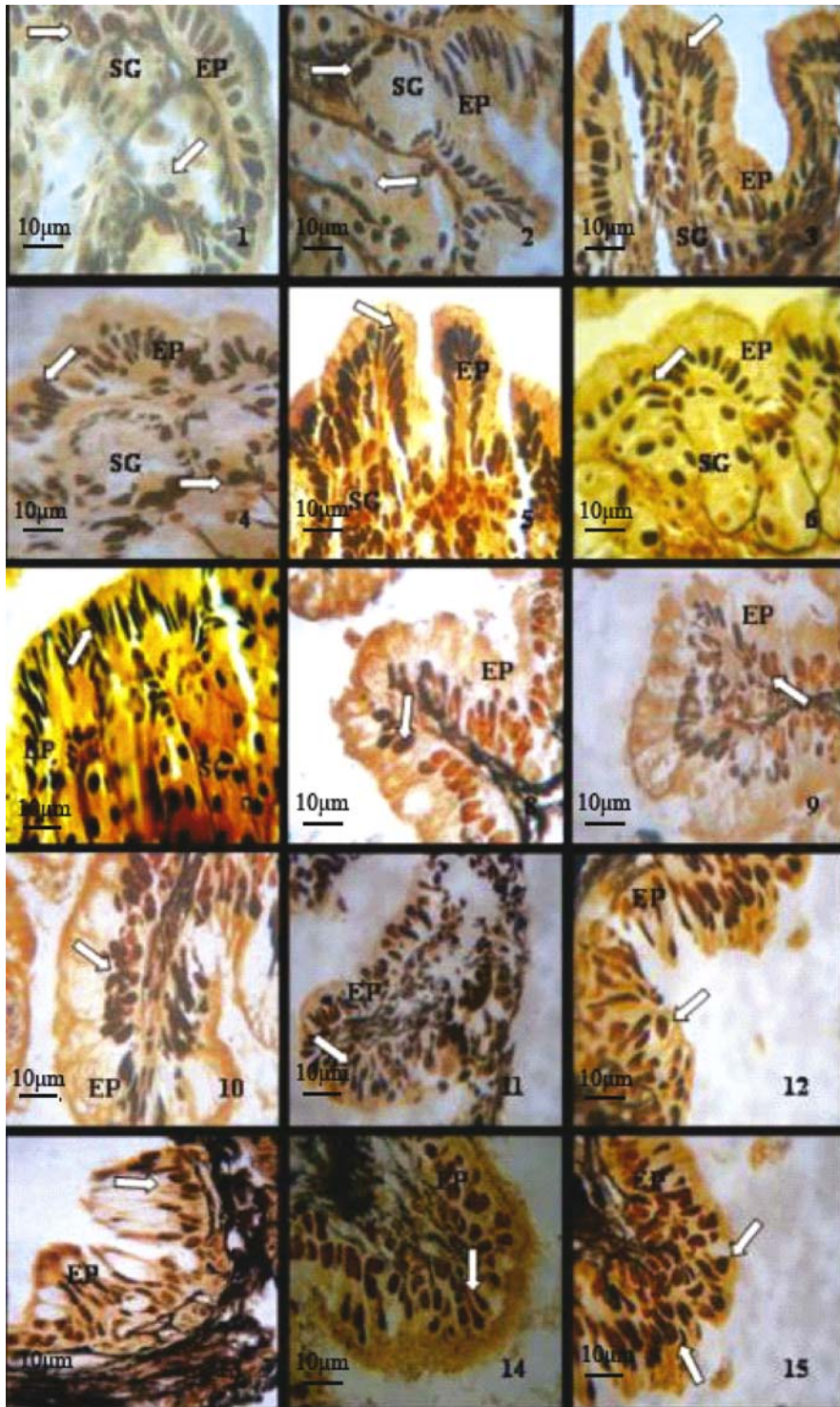
1. Round and ellipse argyrophilic cells in the cardia gland of feeding group; 2. Round argyrophilic cells in the cardia gland of fasting group; 3. Ellipse argyrophilic cells in the pylorus gland of fasting group; 4. Front end of inkbrush-like argyrophilic cells in the cardia gland of feeding group; 5. Brush-shaped argyrophilic cells in the cardia gland of fasting group; 6. Cone-shaped argyrophilic cells in the body of stomach of feeding group; 7. Long shuttle-shaped argyrophilic cells in the body of stomach of fasting group; 8. Round argyrophilic cells in the duodenum of feeding group; 9. Round argyrophilic cells in the duodenum of fasting group; 10. Dumbbell-shaped argyrophilic cells in the jejunum of feeding group; 11. Tadpole-shaped argyrophilic cells in the jejunum of fasting group; 12. Round argyrophilic cells in the rectum of feeding group; 13. Ellipse argyrophilic cells in the rectum of fasting group; 14. Tadpole-shaped argyrophilic cells in the rectum of feeding group; 15. Long cone-shaped argyrophilic cells in the rectum of fasting group. ×400, Bar = 10 μm; Arrow represents argyrophilic cell.

EP: 上皮; SG: 胃腺. EP: Epithelium; SG: Stomach gland.

付雪枫等:禁食对东方蝾螈胃肠道嗜银细胞形态和分布密度的影响

图版 I

FU Xue-Feng *et al.* : Effects of Fasting on the Morphology and Distributive Density of
Argyrophilic Cells along the Gastrointestine of *Cynops orientalis* Plate I



图版说明见文后