

## 乌龟肝和脾受X射线辐射后的 组织病理学变化

李贵生<sup>1</sup>, 刘加根<sup>1</sup>, 张秀萍<sup>2</sup>, 梁宠荣<sup>1</sup>

(1. 暨南大学生物工程学系, 广东广州 510632; 2. 广州市肿瘤医院, 广东广州 510095)

**[摘要]** 研究了乌龟肝和脾受X射线辐射后的组织病理学变化,结果表明,乌龟的肝脏由3叶构成,肝实质内结缔组织极少,肝小叶间分界不清。X线照射后第1天,肝细胞出现以细胞核固缩为特征的细胞凋亡现象,中央静脉有淤血现象。照射后第8天,凋亡肝细胞增多,细胞核固缩更明显,中央静脉血管阻塞症加重。照射后第16天,中央静脉血管阻塞症状仍存在,肝内色素细胞增多。乌龟的脾脏分为被膜和实质两部分,其中实质可分为白髓和红髓两部分。白髓由大量密集的淋巴细胞围绕1~2条小动脉构成,未见淋巴小结;红髓由脾索和脾窦组成。X线照射后第1天,淋巴细胞出现凋亡现象,红髓与白髓的边界开始模糊。照射后第8天,中央动脉出现阻塞现象,白髓与红髓分界不清。照射后第16天,白髓的小动脉内的阻塞现象进一步加重,白髓与红髓基本融合在一起。

**[关键词]** X射线; 辐射; 乌龟; 肝; 脾

**[中图分类号]** Q691.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2008)05-0528-05

## Tissue pathologic changes of liver and spleen of *Chinemys reevesii* after irradiated by X-ray

LI Gui-sheng<sup>1</sup>, LIU Jia-gen<sup>1</sup>, ZHANG Xiu-ping<sup>2</sup>, LIANG Chong-rong<sup>1</sup>

(1. Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. Guangzhou Tumour Hospital, Guangzhou 510095, China)

**[Abstract]** The changes of pathology of liver and spleen of *Chinemys reevesii* after irradiated by X-ray were studied. The results showed that the liver of tortoise was composed of three parts, the connective tissue was very few in liver parenchyma and the dividing line was blurry between hepatic lobules. The apoptosis characterized by karyopyknosis and the congestion of central vein appeared in the first day after irradiation. The apoptosis was more prominence and the karyopyknosis was more obvious as well as the obstruction of blood vessel was more serious in the eighth day after irradiation. The obstruction of blood vessel was existed and pigment cells were increased in the sixteenth day after irradiation. The spleen of tortoise was divided into splenic capsule and splenic parenchyma. The splenic parenchyma was divided into white pulp and red pulp. The white pulp was composed of 1 or 2 small arteries surrounded by plentiful and denseness lymphocytes. No lymph nodule was found. The red pulp was composed of splenic cords and splenic sinus. The apoptosis of lymphocyte was found and the dividing line began blurry between white pulp and red pulp in the first day after irradiation. The central artery was obstructed and the divid-

ing line was blurry between white pulp and red pulp in the eighth day after irradiation. The obstruction of blood vessel was more serious, the white pulp and red pulp fused in the sixteenth day after irradiation.

[Key words] X-ray; irradiation; *Chinemys reevesii*; liver; spleen

爬行动物在进化上扮演着承上启下的作用,保留了很多原始特征和特殊的代谢机制,是值得深入研究的一类动物。龟起源于二叠纪的杯龙类,在分类地位上隶属于动物界、脊索动物门、爬行纲、龟鳖目,是古老的爬行动物。国内有人简要地报道了乌龟的抗辐射作用<sup>[1]</sup>。但未见其他爬行动物抗辐射作用的研究。国外在20世纪60年代至90年代对龟类的抗辐射作用进行了研究<sup>[2-6]</sup>,并将龟制品用于抗辐射保护研究,认为具有一定的抗辐射保护作用。对于龟类在辐射后的组织病理学变化则未见报道。为了增加此方面的资料,选用乌龟(*Chinemys reevesii*)进行了本研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料来源

实验所用的乌龟由暨南大学生物工程学系的爬行动物养殖场提供,为2~3龄。

### 1.2 实验方法

称取质量相差不大的乌龟5只,1只作对照,其余4只于广州市肿瘤医院照射,吸收剂量为15 Gy。照射源为SIMENS PRIMART调强放疗X射线电子直线加速器,源皮距96 cm,照射野40 cm × 40 cm,剂量率为300 cGy/min。

照射后分别于第1天、第8天和第16天取材。取材时,用锯锯开龟壳后,立即剪取肝脏和脾脏组织,将剪取的组织立即投入到Bouin's液中固定,固定时间为12~24 h。在固定几小时后,对组织块稍做修剪,使组织块的大小适当,以厚度小于5 mm,长宽小于15 mm × 15 mm为宜,固定液的量以组织块大小的20倍为宜。固定后以体积分数70%酒精洗脱苦味酸的黄色。然后经酒精脱水、二甲苯透明等步骤,用石蜡包埋,切片厚5~7 μm,苏木精-伊红(H-E)染色。制好的切片置于NIKON TE300倒置显微镜下,放大倍数为50 × 10,通过摄像系统摄录所需图像,进行结果分析。

## 2 结果

### 2.1 肝脏

肝脏位于胸腹腔的前端、心脏的两侧,呈褐色或灰褐色,体积很大,是乌龟体内最大的脏器,覆盖胃和十二指肠。乌龟肝脏可分为三叶,即左叶、右叶及左叶靠背甲侧分出的中间小叶(图1),左右两叶间的狭隘处为围心腔。右叶前端肥厚,比左叶大,其腹面中间埋着一暗绿色椭圆形的胆囊;后端薄而狭长。



(→ 示中间小叶)

图1 乌龟的肝脏

在镜下观察,乌龟肝脏表面的被膜由较致密的结缔组织外覆以间皮构成。肝实质内结缔组织极少,肝小叶间几乎无结缔组织存在,所以相邻肝小叶常互相连成一片,分界不清晰(图2 A)。肝小叶是肝脏的结构和功能单位,乌龟肝小叶排列不规则,中央有一条中央静脉(图2 B)。中央静脉的管腔大小不等,管壁较薄,内皮外面无平滑肌,仅有少量结缔组织。在中央静脉周围,主要有肝细胞和肝血窦分布。肝细胞排列不规则,呈索状排列,构成肝细胞索(图2 C)。肝细胞索由双行肝细胞组成,有分支并互相连接成网。肝细胞索之间即肝血窦。肝细胞较大,呈多面体,绝大部分为单核细胞,偶见双核细胞。

X线照射后第1天,肝细胞出现以细胞核固缩为特征的细胞凋亡现象(图3 A),中央静脉有淤血

现象(图 3 B). 照射后第 8 天, 凋亡肝细胞增多, 细胞核固缩更明显, 中央静脉血管阻塞加重(图 4).

照射后第 16 天, 中央静脉血管阻塞症状仍存在, 肝内色素细胞增多(图 5).

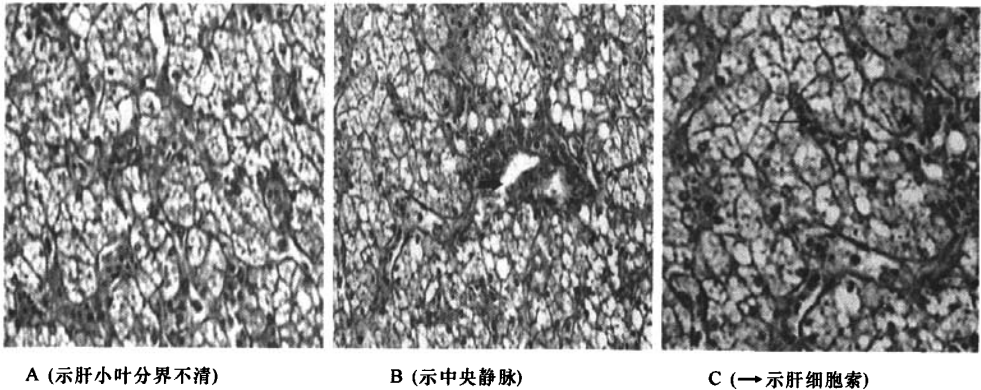


图 2 乌龟肝脏的组织结构

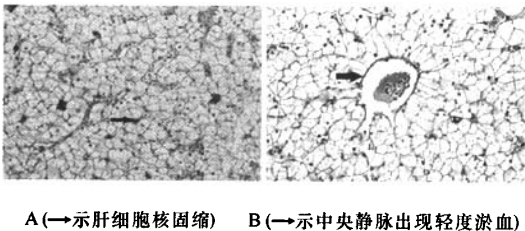


图 3 照射后第 1 天肝脏的组织病理变化

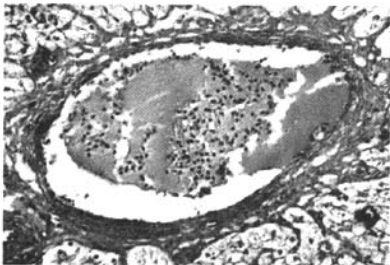


图 4 照射后第 8 天肝脏的组织病理变化

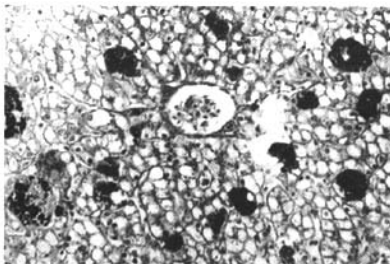


图 5 照射后第 16 天肝脏的组织病理变化

2.2 脾脏

脾脏是乌龟体内最大的淋巴器官, 位于胃的下

方, 与大肠紧靠在一起, 为一暗红色的豆状小体, 分为被膜和实质两部分, 其中实质可分为白髓和红髓两部分. 脾脏的被膜较薄, 由致密结缔组织组成, 表面覆盖单层扁平上皮(图 6 A). 被膜和脾门的结缔组织伸向脾实质形成一些细小的小梁, 小梁互相连接成网, 构成了脾的支架. 白髓由大量密集的淋巴细胞围绕 1 ~ 2 条小动脉构成, 为大小不等的球形、椭圆形或长筒状的结构(图 6 B), 即动脉周围淋巴鞘(PALS). 在白髓中未见淋巴小结. 红髓充满于被膜、小梁和白髓之间, 由脾索和脾窦组成(图 6 C). 脾索是由索状淋巴组织构成, 相互连接成网, 与脾窦相间分布. 与白髓相比, 脾索淋巴细胞较为稀疏, 而网状细胞和网状纤维构成的支架清晰可见. 脾窦不发达, 大小形态不一, 有分支, 为相互连通的不规则的血窦, 内有血细胞(图 6 D).

X 线照射后第 1 天, 淋巴细胞出现凋亡现象, 红髓与白髓的边界开始模糊(图 7). 照射后第 8 天, 脾小梁动脉和中央动脉内出现阻塞现象(图 8), 白髓与红髓分界不清. 照射后第 16 天, 血管阻塞现象进一步加重, 白髓与红髓基本融合在一起.

3 讨论

3.1 肝脏的结构特点及照射后的组织病理变化

不同的动物, 其肝脏的结构不同. 在无脊椎动物的甲壳类, 肝脏和胰腺连在一起, 合称为肝胰腺. 在鱼类等较原始的脊椎动物中, 肝脏组织内仍可见游离的胰腺组织. 在两栖爬行类中, 肝脏和胰腺完

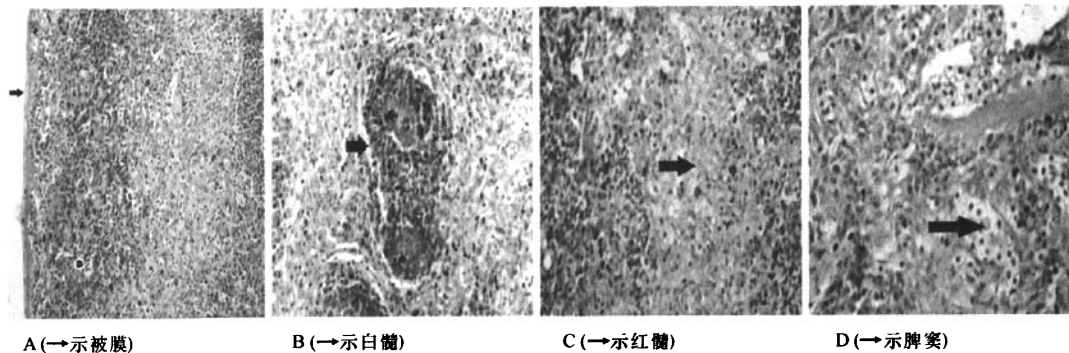
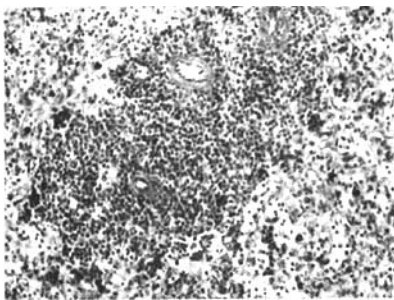
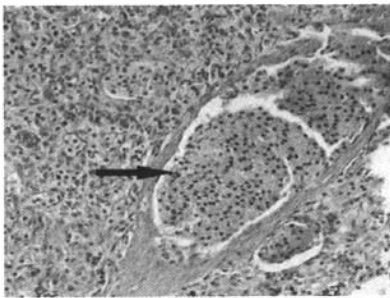


图 6 乌龟脾脏的组织结构



示淋巴细胞出现凋亡现象  
图 7 照射后第 1 天脾脏的组织病理变化



(→示血管阻塞)  
图 8 照射后第 8 天脾脏的组织病理变化

全分离,形成两个独立的器官。据报道,中华鳖的肝脏分为 2 叶<sup>[7]</sup>,而四爪陆龟<sup>[8]</sup>和四眼斑龟<sup>[9]</sup>的肝脏分为 3 叶。我们的观察也证实乌龟的肝脏分为 3 叶。

肝小叶的界限依肝实质内结缔组织的多少而定。即使在同类动物中,有的清楚,有的不清楚,很难从进化上解释。中华鳖肝实质内结缔组织很少,所以肝小叶分界极不清楚<sup>[7]</sup>。人肝小叶之间结缔组织也不发达,肝小叶之间的界限也不清楚<sup>[10]</sup>。本研究发现,乌龟的肝实质内结缔组织极少,肝小叶间几

乎无结缔组织存在,所以相邻肝小叶常互相连成一片,分界不明晰,这与中华鳖肝脏的结构很相似。

肝脏对辐射是敏感的,据报道,肝脏辐射损伤效应取决于照射剂量和肝脏受照体积,其产生的病理变化还涉及时间因素<sup>[11]</sup>。本研究表明,在 X 线照射后的第 1 天即出现以细胞核固缩为特征的细胞凋亡现象,并出现中央静脉淤血现象,随着时间的推移,上述症状逐渐加重。至照射后的第 16 天,除了中央静脉淤血现象仍存在外,还可见肝细胞内出现很多色素细胞,这些色素细胞内含的黄褐色颗粒状色素是脂色素。脂色素是细胞受照射损伤后细胞内碎片被吞噬的结果。X 线照射后肝细胞中线粒体、内质网及其他细胞器的病理变化有待电镜揭示。

### 3.2 脾脏的结构特点及照射后的组织病理变化

脾脏的形态结构因不同种类而异。鱼类和两栖类脾脏中不存在淋巴小结,其白髓发育也不完善。鼠和兔脾脏中的白髓主要由动脉周围弥散的淋巴鞘构成,很少有淋巴小结;而猫脾脏中的白髓常含有大量的淋巴小结。脾窦在狗、兔及人均较发达,而猫与鼠则不发达<sup>[12]</sup>。中华鳖的脾脏由白髓和红髓相间排列而成,在正常生理状态下或免疫过程中均不出现淋巴小结和生发中心<sup>[13]</sup>。本研究结果表明,乌龟脾脏的结构与中华鳖类似,在白髓中无淋巴小结,脾窦也不发达,为相互连通的不规则的鼻窦。

在 X 线照射后脾脏出现的组织病理变化主要是淋巴细胞受损,出现以细胞核固缩为特征的细胞凋亡现象,并出现中央静脉淤血且逐渐加重的现象。由于淋巴细胞出现凋亡和小动脉受损,PALS 的特征逐渐消失,而且脾索和脾窦也受到不同程度的损伤,致使 X 线照射后红髓与白髓的边界开始模糊不清,

逐渐发展为白髓与红髓基本融合在一起. 表明脾脏对辐射很敏感, 在 X 线照射后出现明显的组织病理变化.

### [参考文献]

- [1] 喻传赞, 李杰森, 刘刚. 乌龟抗辐射研究[J]. 自然杂志, 1998, 1: 60 - 61.
- [2] Krebs A T. Immediate reaction of the red - eared turtle (*Pseudemys scripta elegans*) to x - irradiation[J]. *Radiat Res*, 1961, 15: 372 - 377.
- [3] Turdyev A A, Bogdanova - Berezovskaia I G, Vasil'ev A N. Radiosensitivity of the peripheral blood CFUf in the Central Asian tortoise (*Testudo horsfieldi*) [J]. *Radiobiologia*, 1979, 19(6): 907 - 909.
- [4] Turdyev A A, Bogdanova - Berezovskaia I G, Dvornikova L I. Criteria for assessing the radioresistance of the Central Asiatic turtle [J]. *Radiobiologia*, 1985, 25(1): 92 - 94.
- [5] Prus E K, Turdyev A A, Trifonov Iu A, et al. The radiotherapeutic effect of the CM - 5 fraction of turtle spleen extract [J]. *Radiats Biol Radioecol*, 1994, 34(1): 138 - 142.
- [6] Turdyev A A, Aleksandrov V V, Usmanov R B, et al. Hemo - and immunostimulating effect of an extract from blood cells of the Central Asian tortoise [J]. *Radiats Biol Radioecol*, 1998, 38(2): 207 - 214.
- [7] 赵万鹏, 鞠长增, 程天印, 等. 中华鳖组织学研究 II. 肝和胰[J]. 信阳师范学院学报: 自然科学版, 1994, 7(4): 421 - 423.
- [8] 许设科, 刘志霄. 四爪陆龟消化、呼吸系统的解剖[J]. 动物学杂志, 1996, 31(3): 36 - 39.
- [9] 洪美玲, 傅丽容, 史海涛, 等. 四眼斑龟消化、呼吸系统的解剖[J]. 动物学杂志, 2004, 39(1): 68 - 71.
- [10] 成令忠. 组织学与胚胎学[M]. 第3版, 北京: 人民卫生出版社, 1991: 155 - 189.
- [11] 黄文才, 沈钧康, 陈胜平, 等. 早期肝脏放射性损伤病理组织学实验研究[J]. 苏州大学学报: 医学版, 2005, 25(4): 571 - 573.
- [12] 上海第一医学院. 组织学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 590 - 596.
- [13] 陈秋生, 聂其灼. 中华鳖脾脏的显微与亚显微结构研究[J]. 南京农业大学学报, 1995, 18(4): 91 - 97.

[责任编辑: 黄建军]