

山羊胚胎心肌细胞分化发育的超微结构研究^{*}

张涌, 侯玲玲

(西北农林科技大学 畜牧兽医学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 利用透射电镜观察了山羊胚胎心肌细胞分化发育过程中超微结构的变化。结果表明: 26日龄的山羊胚胎心肌细胞内肌节初步形成。随着胚胎发育, 心肌细胞的肌节逐步完善, 心肌细胞内的线粒体数量逐渐增多, 排列规则, 线粒体嵴逐渐变密, 心肌细胞之间的连接也随着胚胎的生长发育逐渐形成和加强; 26日龄山羊胚胎心肌内可见粗面内质网; 34日龄的山羊胚胎心肌细胞胞浆内可见肌浆网、肌膜下池、横小管和二联管已形成; 山羊胚胎心肌细胞内糖原颗粒丰富, 随着胚胎日龄的增长, 胞质内散布的糖原颗粒呈减少的趋势, 而肌丝之间的糖原颗粒呈增加趋势; 26日龄的山羊胚胎心房肌内出现少量特殊颗粒。

[关键词] 山羊胚胎; 心肌细胞; 超微结构; 细胞分化; 细胞发育

[中图分类号] S814.8; S827.3⁺6

[文献标识码] A **[文章编号]** 1000-2782(2001)02-021-04

心肌是体内最早分化的组织之一。随着胚胎的生长发育, 由胞体短小而核较大的成心肌细胞逐渐发育为柱状分支的成熟心肌细胞。Unvorfert^[1]等报道^[1], 成熟心肌细胞的直径、细胞核的位置仍然随年龄的增长而发生变化。为了深入了解心肌细胞的分化发育特征, 国内外的研究均已进入超微结构的领域。自第一次报告了鸡胚心肌发育的电子显微镜研究以来, 其他学者对小白鼠^[2]、大鼠^[3]和人^[4]胚胎心肌分化发育进行了透射电镜观察, 分别从不同角度描述了心肌细胞分化发育过程中的超微结构变化。Okabe等用扫描电镜研究了人的心肌细胞及其分支的结构^[5]。但关于家畜胚胎心肌分化发育的超微结构目前尚未见到系统报道。为此, 本研究对山羊胚胎心肌的一些重要结构的分化发育进行了透射电镜观察。

1 材料和方法

从西安屠宰场与西北农林科技大学动物房采集交配后26, 29, 34, 49, 78, 105日龄关中奶山羊的胚胎。切取新鲜心房、心室组织块(体积<1mm³), 作透射电镜制样: 用体积分数3%的戊二醛固定4h, PBS冲洗后, 用体积分数1%锇酸固定2h, 梯度丙酮脱水, 用Epon812包埋, 做电镜厚片定位, 最后做电镜超薄切片。

2 结果

2.1 肌原纤维

心肌细胞内肌原纤维出现较早, 26日龄(体长0.9cm)的胚胎心肌细胞内肌原纤维多分布于细胞周边, 肌丝排列疏松, 粗细肌丝交织; 肌节初步形成, 可见Z线, 但明带、暗带、H带和M线均不明显(见图1)。34日龄(体长2.0cm)的胚胎心肌细胞内肌原纤维增多、变长, 可见粗丝与细丝密集整齐排列, 肌节明显, 可以看到Z线、明带、暗带及H带(见图2)。随着胚胎的发育, 心肌细胞进一步趋于成熟, 105日龄(体长25cm)的胚胎肌原纤维增多, 在核附近也有肌原纤维分布, 肌浆减少, 肌节清晰, 但M线仍不清楚。

2.2 线粒体

26日龄(体长0.9cm)的胚胎心肌细胞内线粒体较少, 分布无规律, 线粒体嵴稀疏, 基质较多(见图1)。随着胚胎的生长, 线粒体逐渐增多、变大, 排列趋于规则, 嵴变密。78日龄(体长15cm)的胚胎心肌细胞内线粒体密集于胞质内, 形状大小不一, 大多呈圆形和椭圆形, 有时可见环形线粒体, 有的线粒体已沿肌原纤维纵行排列, 在切面上线粒体嵴呈泡状和管状, 嵴基本呈平行排列(见图3)。

2.3 心肌间连接(闰盘)

心肌细胞之间的连接也是随着胚胎的生长发育

^{*} [收稿日期] 2000-06-16

[基金项目] 农业部生物技术重点项目(9507-01)

[作者简介] 张涌(1956-), 男, 内蒙古和林格尔人, 教授, 博士生导师, 主要从事胚胎学与胚胎工程研究。

逐渐形成和加强的。26 日龄(体长 0.9 cm)的胚胎心肌细胞之间连接较简单,可见桥粒样结构,细胞膜的肌浆面增厚,电子密度较高,隐约可见少量张力微丝(见图 4)。34 日龄(体长 2.0 cm)的胚胎心肌细胞之间的连接增多,而且变得复杂,有粘合小带(也叫中间连接)、桥粒和缝隙连接。粘合小带和桥粒在连接的横位部分,缝隙连接在连接的纵位部分,形成了闰盘的雏形(见图 5)。随着心肌细胞的进一步成熟,相邻心肌细胞之间出现交错相嵌的突起,突起之间形成连接,趋于形成较成熟的闰盘,闰盘出现于肌节的 Z 线水平(见图 6)。

2.4 肌膜、肌质网和横小管系统

26 日龄(体长 0.9 cm)的胚胎心肌细胞内已可见粗面内质网。34 日龄(体长 2.0 cm)的胚胎心肌细胞胞浆内可见散在分布的肌浆网,较稀疏,切面呈管状和泡状,有的肌浆网分布于肌膜下,形成肌膜下池(见图 7)。在心肌细胞肌节的 Z 线处可见横小管,肌浆网末端近横小管处略膨大,与横小管紧贴形成二联管(见图 2)。随着胚胎生长发育,上述诸结构逐渐趋向完善。78 日龄(体长 1.5 cm)和 105 日龄(体长 2.5 cm)的胚胎心肌细胞内均可见肌浆网、横小管及二联管。

2.5 心肌糖原

胚胎心肌细胞内有丰富的糖原颗粒,常为单个散布的高密度颗粒。常分布于肌原纤维束之间及核旁胞浆中,偶见许多颗粒聚集分布,肌丝之间也可见到,常在 H 带附近。随着胚胎日龄增加,胞浆内的糖原有减少的趋势。26 日龄(体长 0.9 cm)的胚胎心肌细胞胞质内散布糖原颗粒,但肌丝间很少(见图 1, 8)。34 日龄(体长 2.0 cm)的胚胎心肌细胞胞质内糖原颗粒较 26 日龄(体长 0.9 cm)的胚胎少,肌丝间糖原颗粒增多,尤其在 H 带附近肌丝间较多(见图 2)。在更大日龄如 78 日龄的胚胎心肌细胞内,也可见到 H 带两侧肌丝间糖原分布较密的现象(见图 9)。

2.6 心房特殊颗粒

心房特殊颗粒一般呈圆球形,大小不一,外面包有单位膜,内含细粒状物,均匀分布。26 日龄(体长 0.9 cm)的胚胎心房肌细胞出现少数特殊颗粒,仅有几个,散在分布于肌原纤维之间和胞核一端(见图 10)。随着胚胎的生长发育,心房特殊颗粒数量增加。78 日龄(体长 1.5 cm)的胚胎心房肌细胞内,可见有的特殊颗粒聚集分布于高尔基体附近。颗粒膜有的比较完整,有的呈断裂状,模糊不清,也有的没有膜

而只有一堆内含物(见图 9, 11)。

3 讨论

3.1 心肌细胞的发育

王士平认为,胚胎分化有阶段性,首先是生长和组织分化,随后是机能分化阶段和成熟分化阶段^[6]。本试验观察结果表明:山羊胚胎心肌细胞的分化发育也支持这一观点。在心肌细胞具备成熟心肌的基本形态特征以前是分化和生长阶段,26 日龄(体长 0.9 cm)的胚胎心肌细胞在电镜下虽然可以看到少量肌原纤维、不成熟的肌节、少量而稀疏的线粒体,但在光镜下仍不具备成熟心肌的基本形态,绝大多数胞体不呈柱状,细胞无规则排列。29 日龄(体长 1.6~1.7 cm)的胚胎心肌细胞呈柱状分支,从此时开始胚胎进入机能分化阶段,心肌细胞内的各种功能性结构逐渐形成并开始执行功能。34 日龄(体长 2.0 cm)的胚胎心肌细胞内肌节已基本形成,可以看到 Z 线、明带、暗带和 H 带;肌浆网和横小管系统也形成。

有的学者认为^[7]:桥粒连接发生于胚胎晚期。本试验观察发现:心肌细胞之间的连接也是由简单变复杂的,但桥粒连接发生时间并不晚。26 日龄(体长 0.9 cm)的胚胎心肌细胞之间的连接少而简单,可见桥粒样连接;34 日龄(体长 2.0 cm)的胚胎心肌细胞之间出现粘合小带、桥粒和缝隙连接,形成闰盘雏形;随着胚胎日龄的增长,闰盘结构进一步发育。到 105 日龄(体长 2.5 cm)时,闰盘结构已接近于成体,但要到出生后才能完全成熟。

电镜观察结果表明:心肌细胞内的糖原颗粒随胚胎日龄的增长有一定的变化规律,胞质内散布的糖原颗粒呈减少的趋势,而肌丝之间的糖原颗粒呈增加趋势,这与心肌细胞的机能逐步完善有关。

总之,心肌的特化结构是逐渐趋于成熟,许多结构在出生后才完善。

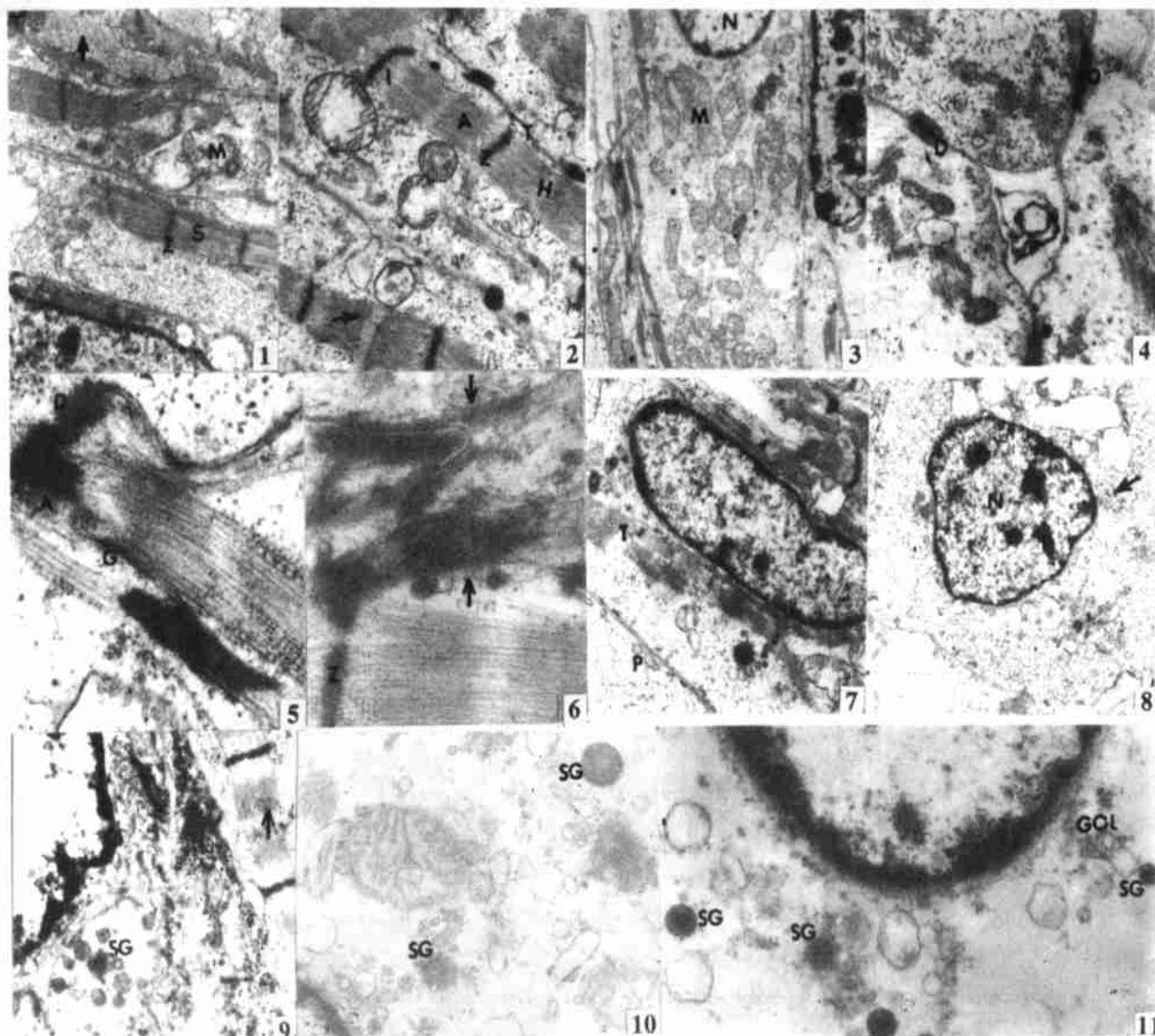
3.2 心房特殊颗粒

本实验观察发现,在 26 日龄(体长 0.9 cm)的山羊胚胎心脏心房肌内产生少量特殊颗粒。而大鼠胚心房特殊颗粒在 11~14 日龄出现(相当于妊娠 35 d 的人胚),人胚心房特殊颗粒在妊娠第 7 周出现^[8]。故山羊胚心房特殊颗粒比大鼠胚出现稍晚而比人胚较早。

关于心房特殊颗粒的产生,Jameson^[8]、Theron^[9]、纪中生^[3]和于天文^[11]等人认为是高尔基体产生的。本试验观察到心房特殊颗粒多聚集分布

于高尔基体附近, 有的紧靠高尔基体的扁囊或囊泡, 这就为心房特殊颗粒是高尔基复合体产生的推测提供了又一依据。同时, 电镜下也观察到颗粒膜有完

整、模糊甚至缺如的现象, 这一现象可为颗粒内含物可能是通过膜溶解的形式排放到胞浆里的推测提供了形态学依据^[3]。



图版 1~ 11 山羊胚胎心肌细胞分化发育的超微结构

1 26 日龄胚胎心肌细胞, S 示粗细丝交替排列形成的肌节雏形, Z 示 Z 线, ↑ 示糖原颗粒, M 示线粒体。×6 750; 2 34 日龄胚胎心肌细胞, Z 示 Z 线, I 示明带, A 示暗带, H 示 H 带, T 示二联管, ↑ 示糖原颗粒。×10 800; 3 78 日龄胚胎心肌细胞, M 示线粒体, N 示细胞核。×5 220; 4 26 日龄胚胎心肌细胞, D 示桥粒样连接。×10 800; 5 34 日龄胚胎心肌细胞, G 示缝隙连接, A 示粘合小带, D 示桥粒连接。×27 000; 6 105 日龄胚胎心肌细胞, Z 示 Z 线, ↑ 示心肌细胞连接(闰盘)。×26 100; 7 34 日龄胚胎心肌细胞, P 示肌膜下池, T 示横小管。×6 750; 8 26 日龄胚胎心肌细胞, N 示细胞核, ↑ 示糖原颗粒。×5 400; 9 78 日龄胚胎心肌细胞, SG 示心房特殊颗粒, ↑ 示糖原颗粒。×9 000; 10 26 日龄胚胎心肌细胞, SG 示心房特殊颗粒。×17 100; 11 78 日龄胚胎心肌细胞, GOL 示高尔基体, SG 示心房特殊颗粒。×34 200

Fig 1- 11 Ultrastructural differentiation and development of myocardial cells of goat embryo

1 The myocardial cell of 26-day-old embryo: sarcomere (S), Z band (Z), glycogen granule (↑), mitochondria (M). ×6 750; 2 The myocardial cell of 34-day-old embryo: Z band (Z), light band (I), dark band (A), H band (H), two-tube junction (T), glycogen granule (↑). ×10 800; 3 The myocardial cell of 78-day-old embryo: mitochondria (M), cell nucleus (N). ×5 220; 4 The myocardial cell of 26-day-old embryo: desmosome-like junction (↑). ×10 800; 5 The myocardial cell of 34-day-old embryo: gap junction (G), adhesion belt (A), desmosome junction (D). ×27 000; 6 The myocardial cell of 105-day-old embryo: Z band (Z), myocardial junction (↑). ×26 100; 7 The myocardial cell of 34-day-old embryo: pool under sarcolemma (P), transverse tube (T). ×6 750; 8 The myocardial cell of 26-day-old embryo: cell nucleus (N), glycogen granule (↑). ×5 400; 9 The myocardial cell of 78-day-old embryo: atrial special granule (SG), glycogen granule (↑). ×9 000; 10 The myocardial cell of 26-day-old embryo: atrial special granule (SG). ×17 100; 11 The myocardial cell of 78-day-old embryo: Golgi complex (GOL), atrial special granule (SG). ×34 200

[参考文献]

- [1] Unvorferth D V, Baker P B, Arn A R, et al Aging of human myocardium: a histologic study based upon endomyocardial biopsy[J]. Gerontology, 1986, 32(5): 241- 251.
- [2] 黄中新, 王士平. 小白鼠心肌发育分化的组织学和组织化学观察[J]. 解剖学报, 1985, 16(4): 417- 423
- [3] 纪中生, 李肇特. 大鼠心房肌细胞分化发育[J]. 解剖学报, 1988, 19(1): 59- 63
- [4] 王治荣, 王孝铭, 吴振铎, 等. 人胚心肌细胞超微结构[J]. 细胞生物学杂志, 1986, 8(1): 37- 38
- [5] Okabe M, Kanzaki Y, Shimomura H, et al Backscattered electron imaging: a new method for the study of cardiomyocyte architecture using scanning electron microscopy[J]. Cardiovasc Pathol, 2000, 9(2): 103- 109
- [6] 王士平. 小白鼠胚胎及生后肝脏发育的组织学及组织化学观察[J]. 动物学报, 1977, 23: 255- 258
- [7] 帕里斯·康斯坦丁尼德斯. 机电电镜组织学[M]. 北京: 科学出版社, 1980
- [8] 贺丽萍, 盛昆岚, 曾腊初, 等. 人体心脏钠素的胚胎发生[J]. 解剖学杂志, 1993, 16(2): 110- 112
- [9] Jamieson J D, Palade G E. Specific granules of the rat atria muscle cells[J]. J Cell Biol, 1964, 23: 151- 156
- [10] Theron J J. Ultrastructural observation on the maturation and secretion of granules in atrial myocardium[J]. J Mol Cell Cardiol, 1978, 10: 567- 571.
- [11] 于天文, 王孝铭, 杨春钺, 等. 心房特殊颗粒的超微结构研究[J]. 解剖学杂志, 1989, 12(3): 170- 172

Ultrastructural study of the differentiation and development of myocardial cells of goat embryo

ZHANG Yong, HOU Ling-ling

(College of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The ultrastructural changes of myocardial cells of goat embryo during the differentiation and development are observed by electron microscope in this paper. The results show: the sarcomeres of myocardial cells are formed basically at the stage of 26 days. With the development of goat embryo, the sarcomeres complete gradually, the mitochondria of the myocardial cells increase and arrange regularly, the mitochondrion cristae become concentrated, the junctions between myocardial cells form and strengthen (enhance) gradually; The myocardial cells of 26-day-old embryos develop rough endoplasmic reticulum; Sarcoplasmic reticulum, pool under sarcolemma, transverse tubule system are seen at the stage of 34 days; Glycogen granules of myocardial cells are abundant with the embryonic development, and glycogen granules decrease gradually in the cytoplasm and increase between the myofilaments of the myofibril. Atrial special granules are observed in atrial muscular cells of 26-day-old embryos. The study suggests that the development and differentiation of myocardial cells are gradually completed, and that each developmental period showed their individualities, which confirmed the evidence that the myocardial cells develop not only successively but also by stages.

Key words: goat embryo; myocardial cell; ultrastructure; cell differentiation; cell development