

急性低氧应激下甘肃鼯鼠与 SD 大鼠血清 儿茶酚胺类激素含量比较

谢惠春^{①②} 陈志^② 何建平^{①*} 庞一阳^②

^① 陕西师范大学生命科学学院 西安 710062;

^② 青海师范大学 青藏高原环境与资源教育部重点实验室 西宁 810008

摘要:利用酶标记技术,测定了人工模拟急性低氧状态下,不同时程低氧暴露组的甘肃鼯鼠(*Myospalax cansus*)与 SD 大鼠(*Rattus norvegicus*)血清儿茶酚胺类激素含量。结果表明,常氧状态下 SD 大鼠血清儿茶酚胺含量显著高于甘肃鼯鼠($P < 0.05$),甘肃鼯鼠及 SD 大鼠血清儿茶酚胺和去甲肾上腺素含量在急性低氧初始阶段(0.5 ~ 4.0 h)均呈上升趋势,其他时程组二者无显著差异($P > 0.05$)。SD 大鼠在低氧应激 6.0 h 后血清儿茶酚胺和去甲肾上腺素含量急剧下降,并在低氧 6.5 ~ 7.0 h 死亡,甘肃鼯鼠血清内 2 种激素的含量随低氧时程加大而呈现增高趋势,未出现死亡现象,说明甘肃鼯鼠对低氧环境有较强的适应性。

关键词:低氧;甘肃鼯鼠;儿茶酚胺;去甲肾上腺素

中图分类号:Q958.1 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2012)04-130-05

Comparison of Catecholamine Hormone Content in Serum between *Myospalax cansus* and SD Rat under Acute Hypoxia

XIE Hui-Chun^{①②} CHEN Zhi^② HE Jian-Ping^{①*} PANG Yi-Yang

^① College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062;

^② Qinghai Normal University, The Qinghai-Tibet Plateau Key Laboratory of Environment and Resource, Xining 810008, China

Abstract: The effects of hypoxia exposure on contents of catecholamine and norepinephrine in serum between *Myospalax cansus* and SD rat (*Rattus norvegicus*) were comparatively studied. Results showed that both catecholamine and norepinephrine in serum were increased at the initial phase of acute hypoxia (0.5 - 4.0 h). The catecholamine content in SD rat serum was significantly higher than that of *M. cansus* ($P < 0.05$) under normoxic condition. After exposed to hypoxia for 6 hours, the contents of catecholamine and norepinephrine in SD rats were decreased sharply, and individuals died at 6.5 to 7.0 hours. But the contents of the two hormones in *M. cansus* serum were decreased with the increase of hypoxic duration. *M. cansus* showed strong adaptability in hypoxic environment.

Key words: Hypoxia; *Myospalax cansus*; Catecholamine hormone; Norepinephrine

低氧对哺乳动物的生长发育和生理过程影响重大,急性低氧可引起机体代谢紊乱、组织损伤,慢性低氧或低氧习服可增强机体的低氧适应能力^[1]。低氧作为一种应急因素,对机体的调节是多方面的,就神经内分泌调节而言,低氧

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30670360),“973”前期项目(No. 2007CB116214);

* 通讯作者, E-mail: hejianping@snnu.edu.cn;

第一作者介绍 谢惠春,男,讲师;研究方向:动物学; E-mail: yezino.1@163.com。

收稿日期:2011-11-23,修回日期:2012-02-28

可激活下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA),使下丘脑室旁核(hypothalamic paraventricular nucleus, PVN)释放促肾上腺皮质激素(corticotropin releasing hormone, CRH)到垂体门脉系统,进而刺激垂体前叶分泌促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH),反馈诱发肾上腺皮质激素的释放^[2]。此外,低氧可激活去甲肾上腺素系统^[3],应激性释放去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)在大脑许多区域中起着重要的调节功能,并通过应激诱发突触传递,从而促进、介导或调节特定的生理反应^[4]。

世居高原^[5-6]、水下^[7]及营地下生活的哺乳动物^[8-10],由于长期适应低氧环境,在器官、组织、细胞及亚细胞水平都具有较强低氧适应能力。与地面活动动物相比,地下哺乳类尤其是地下啮齿类,终生营地下洞穴生活,只能被动适应低氧环境,阐明其机体或细胞对低氧的适应机制,可对特殊环境下小型哺乳动物的生理生态研究提供帮助,也有助于人类探寻更快、更好地适应低氧的新方法^[6]。

甘肃鼯鼠(*Myospalax cansus*)属啮齿目仓鼠科。分布于甘肃、宁夏、陕西、湖北、四川等地^[11]。主要栖息于高原与山地的森林、灌丛、草甸和农田,终生生活于地下高 CO₂、低 O₂的洞穴环境中,其独特的生活习性使其对低氧环境的适应性与地面活动啮齿类及实验大鼠(*Rattus norvegicus*)有很大不同^[8,12],是研究低氧适应生理机制的理想模式动物^[13]。本研究以甘肃鼯鼠和 SD 大鼠为对象,在人工模拟急性低氧状态下,分别对甘肃鼯鼠、SD 大鼠进行不同时程急性低氧应激,分析比较 2 种动物血清中儿茶酚胺类激素含量变化。旨在探究野生地下啮齿类与实验大鼠低氧耐受机制的不同。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 实验用成年甘肃鼯鼠 42 只(21 ♀, 21 ♂),体重(240 ± 20) g,2010 年 7 月捕自陕西延安,饲以胡萝卜;SD 大鼠 42 只(21

♀, 21 ♂),体重(240 ± 20) g,购于陕西省中医研究所,饲以鼠粮(购于陕西省中医研究所)、供水。2 种动物均置于动物饲养箱内(规格:475 mm × 350 mm × 200 mm),以锯末作笼垫,棉花作巢材,室温(21 ± 1) °C,光周期 14L:10D 条件下饲养,适应一周后开始实验。

1.2 仪器及试剂 JRC-1020 型热磁氧分析仪(北京均方理化科技研究所),儿茶酚胺、去甲肾上腺素 Elisa 试剂盒购于德国 ADL 公司,酶标仪型号 BIO-BAD xMark™。

1.3 低氧模拟 甘肃鼯鼠和 SD 大鼠各分为 7 组,每组 6 只,雌雄各半。常氧对照组,呼吸室内空气;急性低氧 0.5 h 组、1.0 h 组、2.0 h 组、4.0 h 组、6.0 h 组和 8.0 h 组,动物置于低氧舱内,JRC-1020 型热磁氧分析仪监控舱内氧浓度,氧气浓度设为 6.5% 高度缺氧^[14]。

1.4 取材及测定 甘肃鼯鼠和 SD 大鼠低氧应激结束后,乙醚麻醉,开胸心采血(采血管无抗凝剂),水浴锅内静置 10 ~ 30 min (25 ~ 37 °C),待析出血清后,即刻离心(3 000 r/min 5 min 或 4 000 r/min 4 min),分离血清。酶标仪于波长 450 nm(敏感度:1.0 ng/ml;正常值:< 160 ng/ml)测定血清儿茶酚胺及去甲肾上腺素含量。

1.5 数据统计及分析 测定数据用 SPSS 17.0 统计软件处理,结果以平均值 ± 标准差(Mean ± SD)表示,对不同实验组间血清激素含量进行显著性检验,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结 果

2.1 低氧对甘肃鼯鼠和 SD 大鼠血清中儿茶酚胺及去甲肾上腺素的影响

2.1.1 甘肃鼯鼠和 SD 大鼠血清儿茶酚胺含量变化 不同时程急性低氧应激后,甘肃鼯鼠血清儿茶酚胺含量除低氧 8.0 h 组与常氧组存在显著性差异外($P < 0.05$),其他各时程组与常氧组均无显著性差异($P > 0.05$)(表 1)。SD 大鼠血清中儿茶酚胺含量在低氧应激 4.0 h 达到最大,随后在低氧 6.0 h 下降,且低于常氧组含量,但不存在显著性差异($P > 0.05$),并在低氧 6.5 ~ 7.0 h 死亡(表 1)。

表 1 常氧与低氧应激组甘肃鼯鼠与 SD 大鼠血清中儿茶酚胺和去甲肾上腺素比较 (平均值 ± 标准差)

Table 1 The comparison of catecholamine and norepinephrine contents in serum between *Myospalax cansus* and SD rat (Mean ± SD)

组别 Group	儿茶酚胺 Catecholamine (ng/ml)			去甲肾上腺素 Norepinephrine (ng/ml)			
	甘肃鼯鼠 Gansu Zokor	SD 大鼠 SD rat	<i>P</i>	甘肃鼯鼠 Gansu Zokor	SD 大鼠 SD rat	<i>P</i>	
常氧 Normoxia	301.66 ± 85.02 ^a	428.75 ± 136.53 ^a	0.035	226.53 ± 78.19 ^a	205.33 ± 25.61 ^a	0.656	
低氧 Hypoxia (h)	0.5	311.67 ± 114.43 ^{ab}	437.17 ± 40.15 ^a	0.091	239.83 ± 75.06 ^a	239.83 ± 75.06 ^a	0.938
	1.0	345.67 ± 103.10 ^{ab}	404.50 ± 93.99 ^a	0.425	256.18 ± 80.68 ^a	262.00 ± 205.01 ^{ab}	0.922
	2.0	361.00 ± 108.66 ^{ab}	461.00 ± 132.94 ^a	0.177	260.33 ± 104.73 ^a	239.03 ± 86.23 ^{ab}	0.581
	4.0	406.00 ± 198.26 ^{ab}	543.33 ± 78.39 ^a	0.065	278.98 ± 180.64 ^a	321.72 ± 93.01 ^{bc}	0.471
	6.0	420.17 ± 141.07 ^{ab}	352.60 ± 85.01 ^a	0.382	294.35 ± 122.68 ^a	196.12 ± 37.05 ^{ab}	0.210
	8.0	438.48 ± 58.92 ^{bc}	—	—	290.91 ± 40.61 ^a	—	—

每列中具有相同字母的数据间无显著性差异, *F*-检验, *P* > 0.05。

Value with the same subscripts within columns are not significantly different, *F*-test, *P* > 0.05.

2.1.2 甘肃鼯鼠和 SD 大鼠血清去甲肾上腺素含量变化 不同时程急性低氧应激后, 甘肃鼯鼠去甲肾上腺素含量较常氧组均不存在显著性差异 (*P* > 0.05) (表 1)。SD 大鼠血清中去甲肾上腺素含量变化与血清儿茶酚胺含量变化一致, 在低氧 4.0 h 达到最大, 随后在低氧 6.0 h 下降, 且低于常氧组含量, 除低氧 4.0 h 阶段与常氧组存在显著性差异外 (*P* < 0.05), 其他各时程组与常氧组均无显著性差异 (*P* > 0.05), 并在低氧 6.5 ~ 7.0 h 死亡 (表 1)。

2.2 儿茶酚胺和去甲肾上腺素含量的种间比较 甘肃鼯鼠和 SD 大鼠在急性低氧初始阶段 (0.5 ~ 4.0 h) 血清儿茶酚胺及去甲肾上腺素含量均呈上升趋势, 除在常氧 SD 大鼠儿茶酚胺的含量显著高于甘肃鼯鼠外 (*P* < 0.05), 其他时程两种动物间无显著性差异 (*P* > 0.05)。SD 大鼠在低氧应激 6.0 h 后儿茶酚胺和去甲肾上腺素急剧下降, 并在低氧 6.5 ~ 7.0 h 死亡, 而甘肃鼯鼠血清内 2 种激素的含量随低氧时程延长而呈现增高趋势, 未出现死亡现象 (表 1)。

3 讨论

低氧应激是指机体受到体内外低氧因素刺激后, 依靠自身的调节作用, 发生的全身非特异性防御反应^[15]。对于人及实验动物, 以往研究发现急性或慢性低氧应激都能够有效激活 HPA 轴^[16], 导致包括去甲肾上腺素在内的儿茶酚胺物质分泌增多, 进而引起一系列代谢改

变, 如心率增快、心肌供氧/耗氧失常、血压升高、各脏器血流灌注减少等^[17]。甘肃鼯鼠长期居住在地下洞穴环境, 行动迟缓, 作为一种保护性代偿机制, 其血清儿茶酚胺类物质维持在一个较低水平, 以适应波动较小的地下低氧环境, 因此在常氧状态下血清儿茶酚胺含量显著低于 SD 大鼠, 这与常氧下甘肃鼯鼠心功能指标低于 SD 大鼠的研究结果相一致^[13]。

有研究表明, 对于低氧引起的应激, 动物边缘前脑, 包括横向的终纹床核 (bed nucleus of stria terminalis, BSTL)、中央和内侧杏仁核 (central amygdala, CEA 和 medial amygdala, MEA) 及下丘脑外侧 (lateral hypothalamus, LH) 等区域可通过应激诱导 NE 释放, 促进 HPA 轴的激活^[18], 继而引起动物血液中儿茶酚胺大量增加^[19-20]。本研究发现, 甘肃鼯鼠在急性低氧过程中血清儿茶酚胺含量呈上升趋势, 除低氧 8.0 h 组, 其他各组间无显著性差异 (*P* > 0.05)。与甘肃鼯鼠不同, SD 大鼠血清儿茶酚胺含量虽在不同低氧时程组间无显著差异, 但在低氧应激 4.0 h 达到极值而后下降, 至 6.5 ~ 7.0 h 死亡, 说明在 6.5% 氧浓度环境引起的低氧应激过程中, 对于儿茶酚胺类物质在血液中的承受极限, 甘肃鼯鼠要高于 SD 大鼠。这与 SD 大鼠心功能在低氧应激初期以代偿性增强来应对低氧, 而在低氧终末阶段代偿失稳的研究结果相一致^[13]。

在由儿茶酚胺类物质介导的体液调节过程

中,去甲肾上腺素的作用十分重要。有资料显示,静脉注射去甲肾上腺素,可使全身血管广泛收缩,动脉血压升高,进而通过负反馈调节使压力感受性反射活动加强,引起心率减慢^[21],当机体去甲肾上腺素达到一定耐受极限后,其含量的急剧下降,会导致心 β 受体减少,产生正性变相和变力作用紊乱,使心输出量减小^[22-24]。本研究中,甘肃鼯鼠与 SD 大鼠血清去甲肾上腺素含量变化与各自血清儿茶酚胺含量变化一致。SD 大鼠血清去甲肾上腺素含量在低氧应激 4.0 h 达到极值而后急剧下降,这种变化也是引起 SD 大鼠在随后低氧过程中死亡的主要原因。甘肃鼯鼠血清去甲肾上腺素含量在不同时程低氧组间未见显著差异,且在低氧 8.0 h 后才开始下降,除说明在本研究的条件下,甘肃鼯鼠对于去甲肾上腺素在血液中的耐受极限要高于 SD 大鼠,还提示了在甘肃鼯鼠体内,由儿茶酚胺类物质介导的体液调节过程,去甲肾上腺素的参与可能非主要调节因素。

综上所述,在急性低氧过程中,随着低氧时程的增加,SD 大鼠的代偿机制被破坏,而甘肃鼯鼠在 8.0 h 才开始调动激素调节机制,应对由于低氧应激产生的血清儿茶酚胺、去甲肾上腺素含量的增高,以此来代偿性地保护去甲肾上腺素对心功能的直接影响,说明甘肃鼯鼠较之 SD 大鼠有更强的低氧应激能力。而甘肃鼯鼠在低氧应激过程中其他激素调节及更高层的神经调节机制,还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 蒋礼先,付小兵,孙同柱,等. 缺血-再灌注肌肉损伤中程序性细胞死亡的研究. 中国危重病急救医学, 1998, 10(8): 473-475.
- [2] Herman J P, Cullinan W E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Trends Neurosci, 1997, 20(2): 78-84.
- [3] McDonald T J, Le W W, Hoffman G E. Brainstem catecholaminergic neurons activated by hypoxemia expresses GR and are coordinately activated with fetal sheep hypothalamic paraventricular CRH neurons. Brain Research, 2000, 885(1): 70-78.
- [4] Berridge C W, Waterhouse B D. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. Brain Research Reviews, 2003, 42(1): 33-84.
- [5] Wei D B, Wei L, Zhang J M, et al. Blood-gas properties of Plateau Zokor (*Myospalax baileyi*). Comparative Biochemistry and Physiology: Part A: Molecular and Integrative Physiology, 2006, 145(3): 372-375.
- [6] 陈秋红,刘凤云. 高原鼠兔低氧适应机制的研究概况. 动物学杂志, 2003, 38(5): 109-113.
- [7] McIntyre I W, Campbell K L, MacArthur R A. Body oxygen stores, aerobic dive limits and diving behaviour of the star-nosed mole (*Condylura cristata*) and comparisons with non-aquatic talpids. The Journal of Experimental Biology, 2002, 205(1): 45-54.
- [8] Shams I, Avivi A, Nevo E. Oxygen and carbon dioxide fluctuations in burrows of subterranean blind mole rats indicate tolerance to hypoxic-hypercapnic stresses. Comparative Biochemistry and Physiology: Part A: Molecular and Integrative Physiology, 2005, 142(3): 376-382.
- [9] Avivi A, Resnick M B, Nevo E, et al. Adaptive hypoxic tolerance in the subterranean mole rat *Spalax ehrenbergi*: the role of vascular endothelial growth factor. FEBS Lett, 1999, 452(3): 133-140.
- [10] 李金钢,王廷正,赵新全. 甘肃鼯鼠粪尿气味对侵占行为的影响. 动物学报, 2003, 49(5): 682-686.
- [11] 王廷正,许文贤. 陕西啮齿动物志. 西安: 陕西师范大学出版社, 1993: 114-115.
- [12] Lacey E A, Patton J L, Cameron G N. Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents. Chicago: University of Chicago Press, 2000: 1-415.
- [13] 杨静,李金钢,何建平,等. 甘肃鼯鼠血象及其与低氧适应的关系. 动物学杂志, 2006, 41(2): 112-115.
- [14] 吴雁,杜继曾. 低氧暴露条件下高原鼠兔和大鼠 HPA 轴活动的比较. 兽类学报, 2001, 21(3): 195-198.
- [15] 钱令嘉. 低氧适应相关基因及其研究策略的思考. 中国基础科学, 2001, (9): 8-13.
- [16] Mueller N K, Dolgas C M, Herman J P. Stressor-selective role of the ventral subiculum in regulation of neuroendocrine stress responses. Endocrinology, 2004, 145(8): 3763-3768.
- [17] Segawa H, Mori K, Kasai K, et al. The role of the phrenic nerves in stress response in upper abdominal surgery. Anesth Analg, 1996, 82(6): 1215-1224.
- [18] Ma S, Morilak D A. Norepinephrine release in medial amygdala facilitates activation of the HPA axis in response to acute immobilisation stress. J Neuroendocrinol, 2005, 17

(1): 22 - 28.

[19] 李新波,郭学勤. 急性低氧对大鼠血液中儿茶酚胺及血小板聚集性的影响. 生理学报,1996,48(5):457-463.

[20] 杨宇,蒋文跃,钱瑞琴. 应激对血液流变性的影响及其机制. 中国血液流变学杂志,2000,10(2): 72-74.

[21] Ma S, Mifflin S W, Cunningham J T, et al. Chronic intermittent hypoxia sensitizes acute hypothalamic-pituitary-adrenal stress reactivity and Fos induction in the rat locus coeruleus in response to subsequent immobilization stress. Neuroscience,2008,154(4): 1639-1647.

[22] Voelkel N F, Hegstrand L, Reeves J T, et al. Effects of hypoxia on density of B-adrenergic receptors. J Appl Physiol,1981,50(2): 363-366.

[23] 郭恒怡,刘探娥,曹青,等. 缺氧敏感性不同的两种大鼠心、肺组织肾上腺素类受体的比较. 生理科学,1986,6(5): 398-340.

[24] 谢剑鸣,薛全福,王立荣. 常压缺氧对大鼠肺组织 β 和 α 肾上腺能受体数目的影响. 中国病理生理学报,1989,(5): 216-218.

“全国生物遗传多样性高峰论坛”将在昆明召开

“全国生物遗传多样性高峰论坛”将于2012年11月29日-12月2日在昆明“云安会都”召开,会议主题是:“基因资源的保护与利用”。

1 组织机构

主办单位:中国遗传学会、中国动物学会、中国植物学会、中国微生物学会

协办单位:云南省科学技术协会、中国科学院遗传与发育生物学研究所、中国科学院昆明动物研究所、中国科学院昆明植物研究所、中国医学科学院医学生物学研究所、云南省农业科学院、云南大学、云南农业大学、云南师范大学、昆明理工大学、昆明医学院、成都军区疾病预防控制中心、云南省第一人民医院

承办单位:《遗传》编辑部、云南省遗传学会

大会主席:张亚平 大会共同主席:薛勇彪

大会组委会:褚嘉祐、张永清、安锡培、王长城、李绍武、张克勤、李德铎、范泉水、朱有勇、戴陆园、李成云、朱宝生、张炳炎、杨昭庆、施鹏、陈晓芳

2 会议征文

大会征文范围包括人类、动物、植物、微生物遗传多样性研究方面的学术论文、技术方法和综述等,经审查录用的征文稿件在2012年第11期《遗传》杂志正式出版“遗传多样性研究专刊”,并邀请作者参会作报告。参加征文者请将征文全文在《遗传》杂志期刊网站 http://www.chinagene.cn/Jwk_yc/CN/volumn/current.shtml 的“作者投稿查稿系统”注册投稿,留言处请注明“遗传多样性征文”。征文截止日期:2012年8月31日。免收审稿费和版面费。

3 参会费用

注册、交费时间	会员(凭会员证)	非会员	研究生(凭学生证)
10月1日前交费	900元	1000元	800元
现场交费	1000元	1100元	900元

提前交费方式:

邮局汇款:邮编650091 地址:昆明云南大学科学馆 单位:云南省遗传学会 收款人:张炳炎

银行汇款:云南省遗传学会,开户银行:工行昆明正义支行 账号:2502012009024919155

住宿费:清华池标准间:360元/间/天;清莲池标准间:300元/间/天。

4 会议回执与摘要提交

报名回执和摘要请发给陈晓芳:yczz@genetics.ac.cn,电话:010-64807669;参展联系人:王长城:ccwang@genetics.ac.cn,电话:010-64806635

5 会议网站

<http://www.chinagene.cn/CN/news/news903.shtml>