

低氧对甘肃鼯鼠体内 ACTH 及血液生理指标的影响

谢芬 李涛 何建平*

陕西师范大学生命科学学院 西安 710062

摘要:为研究低氧对甘肃鼯鼠(*Myospalax cansus*)血清促肾上腺皮质激素(ACTH)及血液生理指标的影响,采用 KX-21N 全自动血液分析仪对甘肃鼯鼠低氧处理前后血液中红细胞数(RBC)、血红蛋白浓度(HGB)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、平均血红蛋白含量(MCH)及平均血红蛋白浓度(MCHC)进行测定,并采用 SN-695A 型智能放免 γ 测量仪测定血清中 ACTH 浓度。结果表明,氧浓度分别为 14.1%、10.5% 和 6.5% 条件下,甘肃鼯鼠 RBC、HGB 和 HCT 均显著升高,MCV 变化不明显,MCH 和 MCHC 下降,血清 ACTH 含量显著升高;腹腔注射 ACTH 后甘肃鼯鼠 RBC、HGB、HCT 均显著升高。说明低氧激活了甘肃鼯鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPA),导致 ACTH 分泌增加,刺激皮质酮分泌,致 RBC、HGB、HCT 含量增加,从而提高血液中红细胞的携氧能力以适应低氧生活环境。

关键词:低氧;甘肃鼯鼠;促肾上腺皮质激素;血液生理指标

中图分类号:Q494 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2012)05-119-05

Effect of Hypoxia on ACTH and Blood Parameters in Gansu Zokor

XIE Fen LI Tao HE Jian-Ping*

College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

Abstract: To study the effects of hypoxia on adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and blood parameters in Gansu Zokor (*Myospalax cansus*), we measured the number of red blood cell (RBC), hemoglobin concentration (HGB), hematocrit (HCT), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) contents by using Sysmex KX-21N hematology analyzer before and after the hypoxia treatment, and also measured the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) contents by SN-695A RIA γ measuring instrument before and after hypoxia. The value of RBC, HGB, HCT, and ACTH were significantly higher in the condition that oxygen concentration was 14.1%, 10.5%, and 6.5%, while the measurement of MCV did not change significantly, MCH and MCHC decreased after hypoxia adaptation. After intraperitoneal injection of ACTH, the RBC, HGB, and HCT contents all increased evidently. Hypoxia activated hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) and increased ACTH contents in serum, further increased corticosterone (CORT). Those change resulted in the higher value of RBC, HGB, and HCT that would improve the oxygen carrying capacity of blood and adaptation ability of Gansu Zokor to hypoxia.

Key words: Hypoxia; Gansu Zokor (*Myospalax cansus*); Adrenocorticotrophic hormone; Blood parameters

地下鼠(subterranean rodents)是一类小型哺乳动物,终生营地下生活,植食性,多生活于亚洲、非洲大陆的热带草原、山地和森林等地^[1-3]。地下鼠具有基本相似的生存方式,在进化及低氧适应对策上表现出高度趋同现象^[4]。

营地下生活的鼯形鼠(*Spalax ehrenborgi*)低氧下

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30670360);

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

第一作者介绍 谢芬,女,硕士研究生;研究方向:比较神经生理学; E-mail: xiefen551@163.com。

收稿日期:2012-02-10, 修回日期:2012-04-26

通过提高心肌最大耗氧量^[5-6]、提高肌红蛋白含量^[7-8]和增加红细胞数(red blood cell, RBC),减少平均红细胞体积(mean corpuscular volume, MCV)以及改变 2,3-磷酸甘油酸和血红蛋白比率等血液特征改变氧传输能力,适应低氧生活^[7-9]。高原鼯鼠(*Myospalax baileyi*)和高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)具有高 RBC、低红细胞压积(hematocrit, HCT)及低 MCV 的红细胞特征,应对低氧环境。高 RBC、低 HCT 和低 MCV 意味着高原鼯鼠及高原鼠兔血液在肺部进行气体交换的红细胞表面积大,有利于氧弥散^[10-11]。

朱海宏等^[12]实验表明,在海拔 4.05 km 室温生活 12 d 的 Wistar 大鼠(*Rattus norvegicus*)外周血促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)含量与常氧组相比明显升高,提示高海拔低氧对大鼠垂体促肾上腺皮质激素分泌有一定影响。吴雁等^[13]实验表明,海拔 7 km 低氧暴露 24 h,大鼠下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin-releasing factor, CRF)和肾上腺皮质激素皮质酮分泌显著增加,大鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(hypothalamo-pituitary-adrenal cortex, HPA)被激活,而低氧暴露对高原鼠兔 HPA 轴无明显影响,由此看出高原鼠兔表现出较强的低氧耐受性。低氧条件下,根田鼠(*Microtus oeconomus*)、高原鼯鼠及高原鼠兔正中隆起(median eminence, ME)处 CRF 和腺垂体环腺苷酸(pituitary cyclic AMP, cAMP)水平,在 8.0% 的 O₂ 时有显著性变化,根田鼠血浆中皮质酮含量显著升高,高原鼯鼠和高原鼠兔血浆皮质醇含量在低氧程度增加时显著升高,说明低氧刺激对 3 种高原动物体内激素分泌产生不同的影响^[14]。

Crafts 将动物垂体切除后导致动物贫血,表现为代谢率、红细胞生成率、红细胞量及促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)活性均降低,投用 ACTH 和皮质醇后,贫血得以纠正,说明垂体及靶腺激素对红细胞生成具有重要的中介调控作用^[15]。甘肃鼯鼠(*Myospalax cansus*)作为地下鼠的一种,隶属啮齿目(Rodentia)仓鼠科

(Cricetidae)鼯鼠亚科(Myospalacinae)鼯鼠属,分布于黄土高原,终生营严格地下洞道生活^[16]。有关甘肃鼯鼠生态学、行为学已积累了丰富资料^[17-20]。但甘肃鼯鼠低氧条件下外周血中 ACTH 浓度如何变化以及 ACTH 是否对血液生理指标有影响尚未见报道,本实验旨在探讨不同程度低氧条件下甘肃鼯鼠外周血 ACTH 变化及其对血液生理指标的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 实验用甘肃鼯鼠 30 只(15 ♀, 15 ♂, 体重 220 ~ 300 g)采自陕西省延安市。室内单笼饲养,以锯末作笼垫,棉花作巢材,饲以胡萝卜。室温(21 ± 1)℃ 适应 2 周后开始实验。

1.2 实验仪器

1.2.1 自制低氧箱 长 880 mm,宽 680 mm,高 430 mm,箱底与箱身为聚酯材料,箱盖为有机玻璃,箱共有 3 个通气口,一通气口在箱盖,其余 2 个在箱身,箱身后通气口连接高纯氮气罐,另一通气口和箱盖通气口连接 GXH-3051H 型 CO₂ 分析器(由北京均方理化科技研究所)传感器线,箱内置风扇,以保证箱内气体分布均匀。

1.2.2 GXH-3051H 型 CO₂ 分析器 仪器接电源,先进行调零校准和跨度校准,然后进行测量。测量时将切换阀旋转到测量位置,连接两传感器探头的一条管子接到低氧箱盖通气口,另一条接到箱身通气口;箱身后通气口连接高纯氮气罐,低氧箱内持续充入高纯氮以保持箱内低氧环境。

1.3 实验动物模型制备 甘肃鼯鼠随机分为 5 组,每组 5 只。常氧对照组($n=5$),自由呼吸室内空气,正常饲养;低氧 14.1% 组($n=5$),动物置于低氧箱内,氧气浓度 14.1%,每日低氧 6 h,剩余时间常氧饲养,连续低氧适应 7 d;低氧 10.5% 组($n=5$),氧气浓度 10.5%,每日低氧 6 h,剩余时间常氧饲养,连续低氧适应 7 d;低氧 6.5% 组($n=5$),氧气浓度 6.5%,每日低氧 6 h,剩余时间常氧饲养,连续低氧适应 7 d。

低氧时正常供食,供水。腹腔注射 ACTH 组 ($n=5$),每天固定时间腹腔注射 ACTH(上海第一生化药业有限公司,规格 25 u)剂量 $2.5 \text{ u/d}^{[21]}$,连续注射 7 d。

1.4 采血 低氧适应完成后,用 20% 氨基甲酸乙酯($0.05 \sim 0.06 \text{ ml/g}$,腹腔注射)麻醉动物,右心室处针刺取血 5 ml,EDTA 抗凝。

1.5 血象及 ACTH 测定

1.5.1 激素测定 采用 SN-695A 型智能放射 r 测量仪(上海原子核研究所日环仪器一厂)测定血清中促肾上腺皮质激素浓度。ACTH (ELISA)定量试剂盒为 Lifekey 公司产品。由北京华美公司提供,批号:HR060。

1.5.2 血液参数测定 KX-21N 全自动血液分析仪(日本东亚株式会社)测定红细胞数、血红蛋白浓度(hemoglobin concentration,HGB)、红细胞压积、平均红细胞体积、平均血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin,MCH)和平均血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration,MCHC)等指标。

1.6 数据处理 数据均以平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD)表示,均数差异显著性用 t -检验进行分析,显著性水平 $P < 0.05$ 。

2 结 果

甘肃鼯鼠对照组、低氧组和 ACTH 注射组血液红细胞数、血红蛋白浓度、红细胞压积、平均红细胞体积、平均血红蛋白含量、平均血红蛋白浓度这些血液生理指标及 ACTH 的含量测定结果见表 1。

甘肃鼯鼠低氧适应后 HGB 显著增加,且低氧程度愈大,增加愈多, O_2 浓度 14.1%、10.5% 和 6.5% 时 HGB 比常氧组有极显著升高 ($P < 0.01$), O_2 14.1% 组与 6.5% 组有显著性差异 ($P < 0.05$);RBC 和 HCT 也随氧浓度降低而不断增加,各氧浓度组与常氧组相比均有极显著性差异 ($P < 0.01$), O_2 14.1% 组与 10.5% 组 RBC 和 HCT 均有显著性差异 ($P < 0.05$),与 6.5% 组有极显著性差异 ($P < 0.01$);MCV 在 O_2 14.1% 和 10.5% 时升高,在 6.5% 时稍降低,各组间无显著性差异;MCH 和 MCHC 随氧浓度降低出现了下降,MCH 除 O_2 6.5% 组与常氧有显著性差异外,其余各组间无显著性差异;MCHC 在 O_2 14.1%、10.5% 和 6.5% 时与常氧组有极显著性差异 ($P < 0.01$),10.5% 组与 6.5% 组有极显著性差异 ($P < 0.01$),14.1% 组与 6.5% 组有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 1 不同实验组甘肃鼯鼠血液生理指标和 ACTH 的比较($n=5$)

Table 1 The comparison of blood physiological index and ACTH between different experimental groups of Gansu Zokor

	正常对照 Control	ACTH 注射组 ACTH	低氧组 Hypoxia (%)		
			14.1	10.5	6.5
HCT (%)	32.43 \pm 0.90 ^A	42.90 \pm 1.95 ^{a,d}	40.03 \pm 1.68 ^{a,b}	44.53 \pm 2.27 ^{a,b}	45.10 \pm 1.13 ^{a,B,d}
RBC ($10^{12}/\text{L}$)	6.07 \pm 0.30 ^A	7.52 \pm 0.21 ^{a,d}	7.26 \pm 0.54 ^{a,b}	8.01 \pm 0.36 ^{a,b}	8.26 \pm 0.32 ^{a,B,d}
HGB (g/L)	122.33 \pm 9.29 ^A	140.00 \pm 8.54 ^a	138.45 \pm 0.00 ^{a,b}	148.00 \pm 4.00 ^a	151.33 \pm 7.76 ^{a,b}
MCV (fl)	54.37 \pm 2.21	57.00 \pm 1.57	55.20 \pm 2.36	55.60 \pm 0.40	54.03 \pm 0.86
MCH (pg)	19.17 \pm 0.89 ^a	18.57 \pm 0.08	18.20 \pm 0.20	18.87 \pm 0.12	17.90 \pm 0.10 ^a
MCHC (g/L)	365.67 \pm 5.77 ^A	326.33 \pm 5.13 ^{a,B,C}	335.73 \pm 5.44 ^{a,b}	340.00 \pm 1.00 ^{a,c}	328.33 \pm 4.04 ^{a,B,c}
ACTH (pg/ml)	146.00 \pm 22.52 ^A		375.37 \pm 40.45 ^{a,b}	639.93 \pm 176.16 ^{a,B}	683.80 \pm 131.63 ^{a,B}

HCT:红细胞压积;RBC:红细胞数;HGB:血红蛋白浓度;MCV:平均红细胞体积;MCH:平均血红蛋白含量;MCHC:平均血红蛋白浓度。a. 甘肃鼯鼠正常对照组与各低氧组以及 ACTH 组比较;b. 甘肃鼯鼠 14.1% O_2 组与 10.5% O_2 、6.5% O_2 和 ACTH 组比较;c. 甘肃鼯鼠 10.5% O_2 与 6.5% O_2 和 ACTH 组比较;d. 甘肃鼯鼠 6.5% O_2 和 ACTH 组比较。组间比较(同行),a、b、c、d. $P < 0.05$;A、B、C、D. $P < 0.01$ 。

HCT: Hematocrit; RBC: red blood cell; HGB: Hemoglobin concentration; MCV: Mean corpuscular volume; MCH: Mean corpuscular hemoglobin; MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration。a. Comparison of control with hypoxia and ACTH; b. Comparison of 14.1% with 10.5%、6.5% and ACTH; c. Comparison of 10.5% with 6.5% and ACTH; d. Comparison of 6.5% with ACTH. a, b, c, d. $P < 0.05$; A, B, C, D. $P < 0.01$ 。

血清 ACTH 浓度随低氧程度加剧明显升高,与对照组相比有极显著性差异($P < 0.01$)。甘肃鼯鼠腹腔注射 ACTH 后,RBC、HGB 和 HCT 与对照组相比极显著升高($P < 0.01$)。MCV 轻微升高,但无显著性差异,MCH 和 MCHC 与对照组相比均降低,MCH 无显著性差异,而 MCHC 呈极显著性差异($P < 0.01$)。注射 ACTH 后甘肃鼯鼠的 HGB、RBC、HCT、MCV、MCH 和 MCHC 血液指标值与低氧 14.1%、10.5% 和 6.5% 组相比,ACTH 组与 O₂ 6.5% 组 HGB 和 RBC 有显著性差异($P < 0.05$),与 14.1% 和 10.5% 组 MCHC 有显著性差异($P < 0.05$),其余各血液指标值接近,无显著性差异($P > 0.05$)。

3 讨 论

本实验结果表明,不同程度低氧后,甘肃鼯鼠红细胞数(RBC)、红细胞压积(HCT)与血红蛋白浓度(HGB)较常氧组均有显著升高,平均红细胞体积(MCV)在 O₂ 浓度 14.1% 和 10.5% 时较常氧组升高,在 6.5% 时较常氧略降低,平均血红蛋白含量(MCH)较常氧组降低、平均血红蛋白浓度(MCHC)较常氧组显著降低。本实验的 3 种低氧后血液各生理指标值与杨静等对甘肃鼯鼠间歇性低氧处理后血液各指标值变化趋势一致^[22]。血氧容量是影响氧在体内运输的主要因素之一,红细胞运氧功能主要通过血红蛋白(hemoglobin, Hb)来实现,Hb 浓度决定血液携氧能力。因此,RBC 和 Hb 增加将使血氧容量增加,从而提高机体运氧能力^[23-24]。但当 RBC、HCT 及 HGB 量超过正常范围后,就会增加血液循环阻力和血液黏稠度,增加心负担。甘肃鼯鼠三种低氧后 RBC、HGB 和 HCT 均显著性增加,说明甘肃鼯鼠通过刺激红细胞增殖及血红蛋白合成来提高血液载氧能力,应对隧道低氧环境。MCV 在 O₂ 浓度 14.1% 和 10.5% 时升高,在 6.5% 时稍降低,各组间无显著性差异;MCH 值下降,各组间均无显著性变化。由此可见,甘肃鼯鼠不同程度低氧下 MCV、MCH 值较稳定。而高原鼯鼠和高原鼠兔低氧条件下

RBC 升高、HCT 及 MCV 降低,血液 HCT 和 MCV 降低,有利于减少血液循环阻力,提高血液运输氧的能力^[10-11]。这说明高海拔动物(如高原鼯鼠和高原鼠兔)与甘肃鼯鼠等地下鼠红细胞应对低氧胁迫可能存在不同机制。甘肃鼯鼠与大鼠相比其 RBC 多而 MCV 小,使其红细胞总表面积增大,O₂ 和 CO₂ 等脂溶性气体通过 RBC 交换数量增多,同时较小体积红细胞促使血流加速,红细胞内血红蛋白与气体交换速度提高,从而增强血红蛋白利用率,这一优势使得甘肃鼯鼠比 SD 大鼠能更好的适应低氧生活^[25]。

缺氧使机体产生强烈应激反应,促肾上腺皮质激素合成增加,促使肾上腺皮脂分泌皮质酮,皮质酮是体内重要的应激激素之一,可促进糖异生,增强蛋白质分解作用,还能引起血红蛋白及红细胞数目增多^[26]。本实验结果表明,随着低氧程度增加,甘肃鼯鼠外周血 ACTH 水平显著升高,说明低氧激活了甘肃鼯鼠 HPA 轴,刺激腺垂体分泌 ACTH,ACTH 促使肾上腺皮质分泌皮质酮使机体保持内环境稳定。腹腔注射 ACTH 后,RBC、HGB 和 HCT 与对照组相比显著升高,说明甘肃鼯鼠通过 ACTH 等应激激素来调节 RBC 和 HGB,从而提高血液红细胞携氧能力。腹腔注射 ACTH 后,与 O₂ 6.5% 组相比 HGB、RBC 有显著性增加,与 O₂ 14.1% 和 10.5% 组相比 MCHC 有显著增加,说明 ACTH 影响低氧刺激后血液中 RBC、HGB 及 HCT 生理指标的增加,ACTH 在红细胞数目及血红蛋白含量增加方面起着重要的作用,但低氧下 RBC、HGB 及 HCT 的增加并不完全由 ACTH 所引起,随着低氧程度的加剧,甘肃鼯鼠逐步调动体内其他机制来进一步增加 RBC 和 HGB 的量以应对低氧。

由以上结果可以看出,甘肃鼯鼠可通过增加 ACTH 含量进一步提高 HGB、RBC 这一途径来适应低氧生活,但这只是其低氧适应机制中的一种,其还可能改善 Hb 结构与功能,以提高对氧的亲合力来适应低氧生活。对于甘肃鼯鼠适应低氧生活的其他机制有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Nevo E. Adaptive convergence and divergence of subterranean mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1979, 10(1): 269 - 308.
- [2] Andersen D C. Below-ground herbivory in natural communities; a review emphasizing fossorial animals. *Quarterly Review of Biology*, 1987, 62(3): 261 - 286.
- [3] Ellerman J R. The subterranean mammals of the world. *Transactions of the Royal Society of South Africa*, 1956, 35(1): 11 - 20.
- [4] 张堰铭, 刘季科. 地下鼠生物学特征及其在生态系统中的作用. *兽类学报*, 2002, 22(2): 144 - 154.
- [5] Edoute Y, Arieli R, Nevo E. Evidence for improved myocardial oxygen delivery and function during hypoxia in the mole rat. *Journal of Comparative Physiology: B*, 1988, 158(5): 575 - 582.
- [6] Widmer H P, Hoppeler H, Nevo E, et al. Working underground: Respiratory adaptations in the blind mole rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(5): 2062 - 2067.
- [7] Arieli R. Adaptation of the mammalian gas transport system to subterranean life // Nevo E, Reig O A. *Evolution of Subterranean Mammals at the Organismal and Molecular Levels*. New York: Wiley-Liss, 1990: 251 - 268.
- [8] Arieli R, Heth G, Nevo E, et al. Hematocrit and hemoglobin concentration in four chromosomal species and some isolated populations of actively speciating subterranean mole rats in Israel. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1986, 42(4): 441 - 443.
- [9] Ar A, Arieli R, Shkolnik A. Blood-gas properties and function in the fossorial mole rat under normal and hypoxic-hypercapnic atmospheric conditions. *Respiration Physiology*, 1977, 30(1/2): 210 - 218.
- [10] 叶润蓉, 曹伊凡, 白琴华. 高原鼠兔的血象及其与低氧适应的关系. *中国实验动物学报*, 1994, 2(2): 115 - 120.
- [11] 魏登邦, 张建梅, 魏莲, 等. 高原鼯鼠对低氧高二氧化碳环境适应的相关血液生理指标的季节变化. *动物学报*, 2006, 52(5): 871 - 877.
- [12] 朱海宏, 赵明, 耿排力, 等. 低氧应激对大鼠体内 ACTH 含量的影响. *中国应用生理学杂志*, 2005, 21(1): 72 - 73.
- [13] 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.
- [14] Jin H. Effects of Hypoxia HPA Axis Activities of Three Plateau Animals. 浙江大学紫金港校区国际会议中心: 2007 年国际比较生理生化及毒理学大学暨第六届中国比较生理学会会议, 2007.
- [15] Crafts R C, Meineke H A. The anemia of hypophysectomized animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1959, 77: 501 - 517.
- [16] 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.
- [17] 李金钢, 王廷正, 李金铭, 等. 甘肃鼯鼠种群动态及其影响因素的初步分析. *兽类学报*, 1999, 19(2): 158 - 159, 131.
- [18] 李金钢, 何建平, 王廷正, 等. 甘肃鼯鼠鸣声声谱分析. *动物学研究*, 2000, 21(6): 458 - 462.
- [19] 李金钢, 何建平, 王廷正. 甘肃鼯鼠的求偶和交配行为. *兽类学报*, 2001, 21(3): 233 - 235.
- [20] 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.
- [21] 孟庆瑜, 曲立文, 孟宪法. ACTH 及睾酮对低氧小鼠红细胞生成的诱导效应. *中国公共卫生*, 2001, 17(5): 400 - 401.
- [22] 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.
- [23] Lan C, Chen S Y, Lai J S. Changes of aerobic capacity, fat ratio and flexibility in older TCC practitioners; a five-year follow-up. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2008, 36(6): 1041 - 1050.
- [24] Sawvel R A, Kin B, Alvarez P J. Removal of volatile organic compounds at extreme shock-loading using a scaled-up pilot rotating drum biofilter. *Air and Waste Management Association*, 2008, 58(11): 1407 - 1414.
- [25] 杨静. 甘肃鼯鼠心血管系统对低氧的适应. 西安: 陕西师范大学硕士学位论文, 2006.
- [26] 沈迪. *临床血液学*. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 64.