

雌性棕色田鼠和昆明小鼠血象对 急性低氧应答的比较研究

刘 彬, 王振龙, 路纪琪, 杨艳艳

(郑州大学 生物工程系 生物多样性与生态学研究所 河南 郑州 450001)

摘要: 为探明雌性棕色田鼠在急性低氧处理下血象的变化, 确定急性低氧对地下鼠的生理学作用, 进而揭示地下鼠的血液系统对急性低氧的应答对策, 在 4 h 急性低氧处理条件下, 测定雌性棕色田鼠和昆明小鼠的血象指标并进行比较分析. 结果显示, 棕色田鼠和昆明小鼠的红细胞压积和红细胞体积在急性低氧处理下表现不同, 但红细胞数均不受急性低氧处理的影响; 棕色田鼠和昆明小鼠间血红蛋白含量相近且不受急性低氧处理的影响, 两种鼠间平均血红蛋白浓度差异极显著, 与红细胞体积变小有关; 棕色田鼠的血小板数量显著低于昆明小鼠. 研究结果表明, 两种鼠均通过减小红细胞体积, 增加血小板数量的方式应对急性低氧, 并且棕色田鼠对低氧的耐受能力强于昆明小鼠.

关键词: 棕色田鼠; 昆明小鼠; 急性低氧; 血液; 雌性; 适应

中图分类号: Q 461

文献标识码: A

文章编号: 1671- 6841(2010)04- 0106- 05

0 引言

低氧是指机体组织和细胞的氧供应不足或氧利用障碍, 进而导致动物代谢、功能和形态结构等产生异常变化的病理过程^[1]. 进入低氧环境后, 机体及细胞的生理将发生改变, 并产生诸多生理响应^[2,3]. 地下鼠是一类主要营地下穴居生活的啮齿动物, 栖息于地下构筑复杂的洞道系统. 与其他陆地环境相比, 地下洞道较为密闭, 氧含量相对较低. 对地下鼠来说, 低氧是一种特殊的环境因子, 也是一种刺激源^[3]. 研究表明, 地下洞道内 O₂ 和 CO₂ 含量随降雨和土质的不同而大幅度波动, 在降雨季节, 黏土洞道内最小氧含量只有正常值的 7. 2%^[4,5]. 由于长期的地下洞道生活, 地下鼠对低氧和高 CO₂ 条件具有了很好的耐受性, 形成了一系列应对低氧环境的生物学特征, 如肺泡气体扩散能力较强、血氧含量高、红细胞数量较多、血红蛋白含量较高、血液携氧能力强、动脉血血氧饱和度高而静脉血血氧饱和度低、血氧利用率高、骨骼肌毛细血管密度大、红细胞体积小等. 这些适应性特征提高了氧在血管中的运输及组织间的扩散能力. 因此, 常将地下鼠作为低氧适应相关研究的模型动物.

地下鼠的血液系统对地下洞道中的低氧环境具有良好的适应机制, 主要是通过增加红细胞数量和/或血红蛋白含量^[6], 以提高血液的携氧能力^[7,8]. 但是, 红细胞数量和/或血红蛋白含量的增加使血液黏稠度和血液循环阻力增加, 从而加大了心脏的负荷, 可能引起肺动脉高压及红细胞增多症. 因此, 地下鼠还通过减小红细胞体积、降低血液黏稠度及调整 2, 3-磷酸甘油酸和血红蛋白的比率等血液生理学特征以避免出现上述风险.

棕色田鼠(*Lasiopodomys mandarinus*) 是一种主要营地下洞道生活的小型啮齿动物, 隶属于啮齿目(Rodentia) 仓鼠科(Cricetidae) 田鼠亚科(Microtinae) 松田鼠属(*Lasiopodomys*). 棕色田鼠是重要的农田害鼠, 学者们已就其婚配制度、生活史特征、种群生态学、社会行为学和遗传学等进行过研究, 而有关其对地下生活的适应等方面则较少涉及^[9]. 昆明小鼠(*Mus musculus*) 身体大小与棕色田鼠相似, 以地面活动为主, 其生活环境与棕色田鼠的地下洞道环境有很大的区别. 本研究采用析因实验设计, 通过 4 h 急性低氧处理, 测

收稿日期: 2009- 11- 03

基金项目: 国家重点基础研究发展计划, 编号 2007CB109106; 郑州大学引进人才科研基金; 郑州大学研究生科学研究基金.

作者简介: 刘彬(1983-), 男, 硕士研究生, 主要从事动物生态学研究, E-mail: liubin27282@163.com; 通讯联系人: 路纪琪(1964-), 男, 教授, 博士, 主要从事动物生态学研究, E-mail: lujiq@zzu.edu.cn.

定不同的氧含量对棕色田鼠和昆明小鼠血液生理特征的影响,通过对棕色田鼠和昆明小鼠血象应答指标的比较,研究棕色田鼠在血象方面对急性低氧的应答特征,确定急性低氧处理对地下鼠的生理学作用,进而揭示地下鼠血液系统对急性低氧环境的应答途径,为探讨棕色田鼠的进化生物学以及低氧类疾病的治疗提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验所用棕色田鼠活捕于河南省新郑地区(34°52' N, 113°85' E)农田,用聚乙烯标准饲养笼(37.0 cm × 26.0 cm × 17.0 cm)喂养于室内,以免饲料和鼠饲料(河南省实验动物中心生产)为主要食物,辅以少量新鲜胡萝卜,提供充足饮水,以锯末为垫料,脱脂棉为巢材,饲养室温度控制在20~24℃,光周期控制为12L:12D(光照时间8:00-20:00)。

从室内种群中选择健康成年雌性棕色田鼠20只(体重30~45g)用于实验;实验用雌性昆明小鼠购自河南省实验动物中心(合格证号:0003433),3月龄,共20只。

1.2 实验方法

2009年4月,将实验动物置于实验动物氧舱(DS-II动物实验加压舱,中国潍坊华信锅炉氧舱制造有限公司)中,通过控制氧气和氮气流量模拟常压低氧环境,进行低氧处理。低氧处理分为4个水平,氧的体积分数分别为15.0%、10.0%、5.0%及20.9%(对照组)^[5],每组5只棕色田鼠和5只昆明小鼠。急性低氧处理为4h(8:00-12:00)。

低氧处理结束后,将实验动物移出氧舱,立即注射质量分数20%的氨基甲酸乙酯溶液麻醉动物(注射量为0.05 mL/g,腹腔注射),迅速摘取眼球取血,EDTA钾盐抗凝。

采用Sysmex XE-800i全自动血液分析仪(日本希森美康公司)测定血象,测定指标包括白细胞数、红细胞数和血小板密度,红细胞体积、红细胞压积及血红蛋白浓度。测定工作在河南省医药科学研究院进行。

1.3 数据分析

采用SPSS 13.0对数据进行统计分析,采用One Sample Kolmogorov-Smirnov检验所有数据的分布型。利用双因素方差分析方法,分析氧气含量和鼠种因素对实验动物血象指标的影响,用LSD进行多重比较。以 $\alpha=0.05$ 为显著性临界值,所有检验均为双尾,所有数据均以平均值±标准误差表示。

2 实验结果

2.1 急性低氧对红细胞参数的影响

急性低氧对棕色田鼠和昆明小鼠红细胞参数的影响不同(图1,表1)。双因素方差分析结果表明:低氧处理与鼠种间交互作用不显著;棕色田鼠和昆明小鼠间红细胞数量差异不显著,但红细胞压积($F_{(1,31)}=59.037, P<0.001$)和红细胞平均体积($F_{(1,31)}=118.943, P<0.001$)差异极显著;急性低氧处理对两种鼠红细胞数量作用不显著,但红细胞压积($F_{(3,31)}=3.875, P=0.018$)和红细胞平均体积($F_{(3,31)}=7.938, P<0.001$)差异极显著(表1)。用LSD对不同氧含量之间的多重比较结果表明:低氧强度对两种鼠红细胞数量的作用不显著(图1(a))。棕色田鼠的红细胞压积随氧气含量的降低而减小,但未达到显著水平;氧的含量显著影响昆明小鼠的红细胞压积,与对照组相比,当氧的体积分数为15.0%及10.0%时,昆明小鼠红细胞压积显著降低,而低至5.0%时则差异不显著(图1(b))。棕色田鼠红细胞平均体积随着氧含量的降低而减小,与对照组相比,氧的体积分数为10.0%和5.0%时差异达到显著性水平;昆明小鼠红细胞平均体积随氧气含量降低逐渐减小,各处理组与对照组相比均达到显著水平(图1(c))。说明棕色田鼠和昆明小鼠均采用减小红细胞体积的方式应对急性低氧,棕色田鼠对低氧的耐受能力强于昆明小鼠。

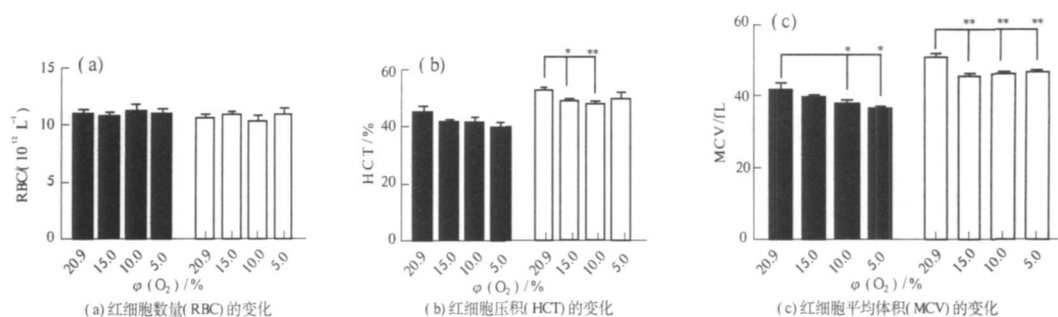


图1 4种氧含量下棕色田鼠(■)和昆明小鼠(□)红细胞数量、红细胞压积及红细胞平均体积的变化(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig.1 Values of red blood cell count (RBC), hematocrit (HCT) and mean corpuscular volume (MCV) in four oxygen concentrations between Mandarin vole(■) and KM mouse(□) (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

2.2 急性低氧对血红蛋白参数的影响

急性低氧对棕色田鼠和昆明小鼠血红蛋白参数的影响不同(图2,表1). 双因素方差分析结果表明: 低氧处理与鼠种间血红蛋白量交互作用显著($F_{(3,31)} = 3.006, P = 0.045$); 棕色田鼠和昆明小鼠间血红蛋白含量差异不显著, 但平均血红蛋白量($F_{(1,31)} = 20.407, P < 0.001$)和平均血红蛋白浓度($F_{(1,31)} = 212.901, P < 0.001$)差异极显著; 急性低氧处理对两种鼠血红蛋白含量和平均血红蛋白量作用不显著, 但平均血红蛋白浓度($F_{(3,31)} = 19.997, P < 0.001$)差异极显著(表1). 用LSD对不同氧含量之间的多重比较结果表明: 急性低氧促使棕色田鼠和昆明小鼠的平均血红蛋白浓度显著增加(图2(c)), 说明急性低氧未改变两种鼠的血液中血红蛋白含量, 平均血红蛋白量和平均血红蛋白浓度增加缘于红细胞体积的减小.

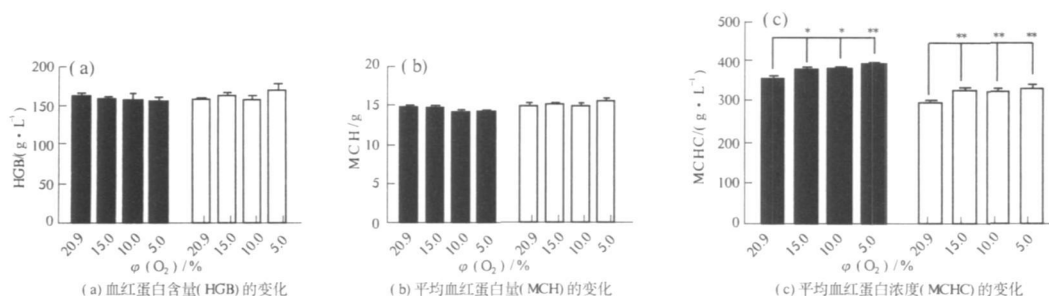


图2 4种氧含量下棕色田鼠(■)和昆明小鼠(□)血红蛋白含量、平均血红蛋白量及平均血红蛋白浓度的变化(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig.2 Values of hemoglobin(HGB), mean corpuscular hemoglobin(MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in four oxygen concentrations between Mandarin vole(■) and KM mouse(□) (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

2.3 急性低氧对白细胞和血小板的影响

急性低氧对棕色田鼠和昆明小鼠白细胞和血小板的影响不同(图3,表1). 双因素方差分析结果表明: 低氧处理和鼠种对白细胞具有极显著交互作用($F_{(3,31)} = 7.352, P < 0.001$); 急性低氧对棕色田鼠和昆明小鼠白细胞($F_{(1,31)} = 16.599, P < 0.001$)和血小板($F_{(1,31)} = 164.769, P < 0.001$)作用差异极显著; 低氧处理对两种鼠的白细胞($F_{(3,31)} = 4.561, P < 0.001$)和血小板($F_{(3,31)} = 3.723, P = 0.021$)作用显著(表1). 用LSD对不同氧含量之间的多重比较结果表明: 低氧处理可显著改变昆明小鼠白细胞数量, 呈现出先升后降的模式(图3(a)); 棕色田鼠和昆明小鼠血小板数量在氧的体积分数为15.0%时均有所上升, 随后降低, 而昆明小鼠则在氧的体积分数为15.0%和5.0%时达到显著性差异(图3(b)). 棕色田鼠的白细胞数量和血小板数量显著少于昆明小鼠, 说明其在机体损伤治愈、抗御病原入侵和对疾病的免疫等方面弱于昆明小鼠; 急性低氧导致棕色田鼠和昆明小鼠的血小板数量先升后降, 说明两种鼠均采用血小板数量调节其血液循环.

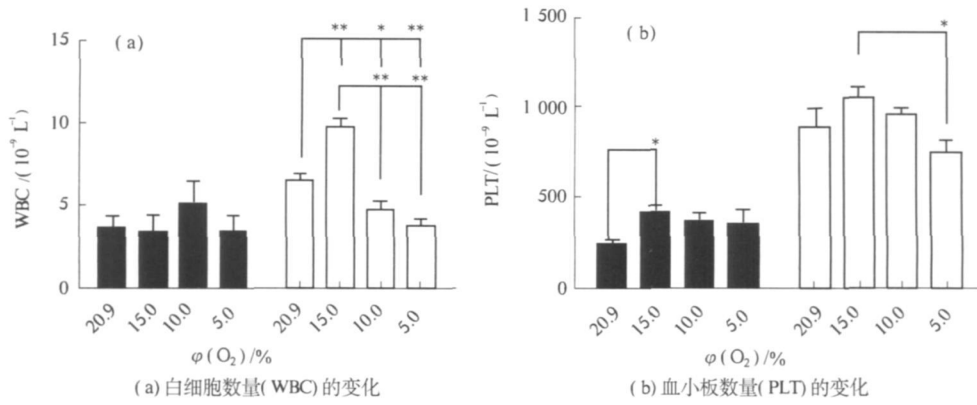


图3 棕色田鼠(■)和昆明小鼠(□)白细胞及血小板数量的变化(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig. 3 Values of white blood cell count (WBC) and platelet (PLT) in four oxygen concentrations between Mandarin vole(■) and KM mouse(□) (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

表1 低氧处理条件下棕色田鼠和昆明小鼠血液生理指标的双因素方差分析结果

Tab. 1 Two way ANOVA on blood physiological parameters in Mandarin vole and KM mouse under hypoxia treatments

变异来源	RBC	HCT	MCV	HGB	MCH	MCHC	WBC	PLT
物种	0.337	< 0.001	< 0.001	0.266	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
氧浓度	0.948	0.018	< 0.001	0.820	0.418	< 0.001	< 0.001	0.021
物种* 氧浓度	0.654	0.617	0.422	0.462	0.045	0.741	< 0.001	0.181

3 讨论

低氧或缺氧会严重影响哺乳动物的生长发育和生理过程,引起机体的代谢紊乱及各种系统、器官和组织的损伤^[10-11].哺乳动物是动物进化系统中最为高等的类群,对环境条件的变化有着较强的适应能力,可通过多级水平对低氧环境做出响应,组织水平上的适应是机体对低氧适应的重要环节,机体依靠自身的生理调节,产生一系列代偿性生理改变,使机体能够最大限度地摄取和利用有限的氧.而在血液系统的具体表现为通过增加红细胞数量及血红蛋白浓度、减小红细胞平均体积,使血液黏稠度降低,从而减小血液运行时的阻力,最终有利于氧气的运输,增强低氧耐受能力^[12].

本研究结果表明,在急性低氧条件下,棕色田鼠的红细胞数量不随氧含量降低而改变,血红蛋白量的变化也不明显.但平均血红蛋白浓度有所增加,其原因可能在于红细胞体积减小.昆明小鼠的上述指标均略低于棕色田鼠,反映了其对低氧耐受能力较弱.随着氧含量的降低,棕色田鼠和昆明小鼠的红细胞平均体积均表现出减小趋势,可有效降低血液黏稠度和血液运行阻力,提高血氧的运送效率.在实验室内,作者测得棕色田鼠在氧的体积分数为3%左右的条件下仍可存活,而昆明小鼠在氧体积分数为5%以下时即出现不良反应甚至死亡(未发表数据).据此认为,在急性低氧条件下,减小红细胞体积,增加循环速度是棕色田鼠应对急性低氧的重要途径.这一结果反映了棕色田鼠对地下生活环境经历了长期的适应,可对实验性低氧产生及时而迅速的响应;同时,其对低氧环境的耐受能力明显高于起源于地面鼠的昆明小鼠,提示不同物种对低氧环境表现出不同的应答方式.

棕色田鼠的白细胞数量明显少于昆明小鼠,原因可能在于地下洞道环境相对单一,空气中杂菌少,使动物白细胞数量较低,其免疫应答亦较弱^[13].在哺乳动物血液系统中,血小板的主要功能是凝血和止血、修补破损的血管.棕色田鼠的血小板数量低于昆明小鼠,反映出在低氧环境中,前者仍然可以保持较好的血液流动性,这也是其对地下低氧环境长期适应的结果.

地下洞道是一种特殊的低氧环境,在冰雪覆盖、降水等气候条件下,洞道中的氧含量可能更低^[8].不同种系生物体对低氧或缺氧环境的适应能力和耐受性有差异,这是进化发展的客观自然规律.分类地位接近的小型哺乳动物对低氧外环境有类似的反应^[14].地下鼠对低氧环境经历了漫长的适应过程,作为体内气体、营养物质运输的重要途径,其心血管系统、血液系统在形态构造、生理功能等方面均产生了显著的变化.有关棕色

田鼠心血管系统对低氧的适应特征及其分子生物学机制,尚待进一步的研究.

参考文献:

- [1] 陈主初. 病理生理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005: 152-158.
- [2] 钱令嘉. 低氧适应相关基因及其研究策略的思考[J]. 中国基础科学, 2001(9): 8-13.
- [3] Gibbs D M. Measurement of hypothalamic corticotropin releasing factors in hypophyseal portal blood[J]. Fed Proc, 1985, 41(1): 203-206.
- [4] Kuhnen G. O₂ and CO₂ concentrations in burrows of euthermic and hibernating golden hamsters[J]. Comp Biochem Physiol A: Physiol, 1986, 84(3): 517-522.
- [5] Shams I, Avivi A, Nevo E. Hypoxic stress tolerance of the blind subterranean mole rat: expression of erythropoietin and hypoxia inducible factor-1α[J]. Proc Natl Acad Sci, 2004, 101(26): 9698-9703.
- [6] Arieli R. Adaptation of the mammalian gas transport system to subterranean life[J]. Prog Clin Biol Res, 1990, 335: 251-268.
- [7] Lacey E A, Patton J L, Cameron G N. Life Underground: the Biology of Subterranean Rodents[M]. Chicago: University of Chicago Press, 2000: 257-293.
- [8] Shams I, Avivi A, Nevo E. Oxygen and carbon dioxide fluctuations in burrows of subterranean blind mole rats indicate tolerance to hypoxia hypercapnic stresses[J]. Comp Biochem Physiol A, 2005, 142(3): 376-382.
- [9] 何建平, 李金钢, 王智, 等. 棕色田鼠血液生理生化指标的测定[J]. 动物学杂志, 2001, 36(6): 50-53.
- [10] 倪永兵. 低氧诱导因子1和血管内皮生长因子与血管新生[J]. 国外医学: 生理病理科学与临床分册, 2002, 22(3): 266-269.
- [11] 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[J]. 中国危重病急救医学, 1998, 10(8): 473-475.
- [12] Barer G R, Bee D, Wach R A. Contribution of polycythaemia to pulmonary hypertension in simulated high altitude in rats[J]. J Physiol, 1983, 336(1): 27-38.
- [13] 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[J]. 中国实验动物学报, 1994, 2(2): 115-120.
- [14] 李庆芬, 陈晓光, 尤治秉, 等. 急性高原性低氧对三种小哺乳动物肝脏作用的比较[J]. 兽类学报, 1987, 7(1): 51-57.

Comparison on Responses to Acute Hypoxia in Blood Physiological Indices of *Lasiopodomys mandarinus* and *Mus musculus*

LIU Bin, WANG Zhenlong, LU Jiqi, YANG Yanyan
(Institute of Biodiversity and Ecology, Department of Bioengineering,
Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The blood physiological indices between Mandarin vole (*Lasiopodomys mandarinus*) and KM mouse (*Mus musculus*) are examined and compared under acute hypoxic treatment. Functional responses of blood system to acute hypoxia in subterranean and ground rodent species are determined. The results show that there are significant differences in HCT and MCV between Mandarin voles and KM mice under acute hypoxic treatment, while the difference in RBC is insignificant. Both in Mandarin voles and KM mice, the number of HGB is not influenced by hypoxia treatment, but significant difference is exhibited in MCHC, and the number of PLT in Mandarin voles is significantly less than that in KM mice. In general, the blood system of the two animals has similar responding patterns under acute hypoxic conditions, and Mandarin voles, compared to KM mice which derived from ground-lived ancestor, could effectively decrease the impact from hypoxic stress.

Key words: *Lasiopodomys mandarinus*; *Mus musculus*; acute hypoxia; blood; female; adaptation