

模拟高原低氧对新生大鼠肾上腺皮质功能发育的影响*

杜继曾 杨生妹¹ 李良成¹

(浙江大学生物科学与技术系, 杭州 310027; ¹中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘要 本文探讨新生大鼠肾上腺皮质对高原低氧的应答及模拟高原低氧对其功能发育的影响。结果表明, 当不同日龄大鼠暴露于 5 km 及 7 km 海拔 24 h, 7 d、14 d 龄大鼠肾上腺皮质无明显应答反应。21 d 及 28 d 龄大鼠肾上腺皮质酮水平随海拔增高而增加, 血浆皮质酮表现为抑制作用。当 1 d 龄新生大鼠在 5 km 海拔高度发育 3 d 和 7 d, 其肾上腺皮质功能无异于正常发育大鼠; 但发育 14 d、21 d 及 28 d, 其血液及肾上腺中皮质酮含量均明显低于对照组, 肾上腺皮质功能发育严重受抑。

关键词 低氧发育 大鼠 肾上腺皮质酮

应激对下丘脑-腺垂体-肾上腺皮质轴功能的影响已有较为系统的研究^[1]。本室曾证明: 新生大鼠在模拟高原低氧环境中发育时, 该轴系下丘脑 CRF 神经元的发育明显受抑制^[2]。本文观察相同模拟高原缺氧条件下新生大鼠肾上腺皮质的功能发育, 及不同日龄新生大鼠对模拟高原低氧的应答, 进一步探讨该轴系在高原低氧环境中的发育规律及其对高原低氧环境的应答规律。

1 材料与方法

1.1 实验动物

出生 1d 的新生大鼠及母鼠, 由本所实验动物室提供。

1.2 主要试剂

³H-皮质酮药盒购自上海内分泌研究所。皮质酮标准品购自美国 Sigma 公司。

1.3 低氧模拟

本室沿用已久的低气压舱方法进行^[3]。

新生大鼠育至 7 d、14 d、21 d 及 28 d 后, 暴露于 5 及 7 km 高度 24 小时后出舱, 取血浆、肾上腺, 测皮质酮含量。

新生大鼠与母鼠一道放入低压舱, 由母鼠哺乳, 在 5 km 高度发育 3 d、7 d、14 d、21 d 及 28 d, 出舱, 取血浆、肾上腺, 测皮质酮含量。

1.4 皮质酮测定

血浆中皮质酮含量用放射免疫法测定。肾上腺中皮质酮用荧光法测定^[4]。

1.5 数据处理

实验结果用均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间差异采用 *student t* test。

2 结果

2.1 不同发育日龄新生大鼠肾上腺皮质对模拟急性高原低氧的应答

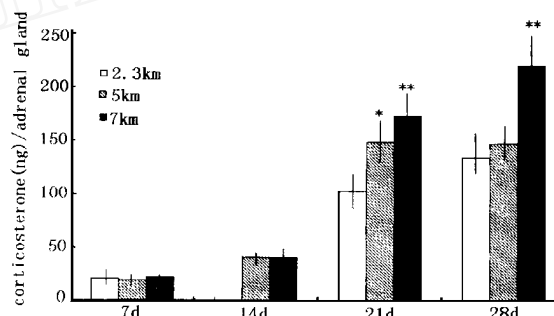


Fig 1 The response of adrenal gland corticosterone in neonatal rat to acute hypoxia for 24 h ($n = 5 \sim 13$), * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ vs 2.3 km control

新生大鼠对急性低氧的应答反应随日龄增长而不同(图 1, 图 2)。7 d 龄大鼠对 5 km 及 7 km 高原低氧应答无明显区别, 其血浆及肾上腺皮质酮均无明显变化。14 d 龄动物对 5 km 低氧仍无反应, 但 7 km 海拔时, 其血浆中皮质酮含量明显低于对照组, 仅为 2.3 km 对照组的 20.33% ($P < 0.05$)。21 d 龄大鼠对 5 km 及 7 km 低氧产生明显应激反应。5 km、7 km 时, 其肾上腺中皮质酮含量分别为 2.3 km 对照组的 144% ($P < 0.05$) 和 167.7% ($P < 0.01$)。至 28 d 龄时, 在 5 km 海拔高度, 肾上腺中皮质酮与对照组比无明显差异。7 km 时, 肾上腺皮质酮增加为对照组的 164.00% ($P < 0.01$), 血浆皮质酮

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39170332)

1997-06-23 收稿 1997-12-05 修回

含量低于对照值,但统计学上不显著。

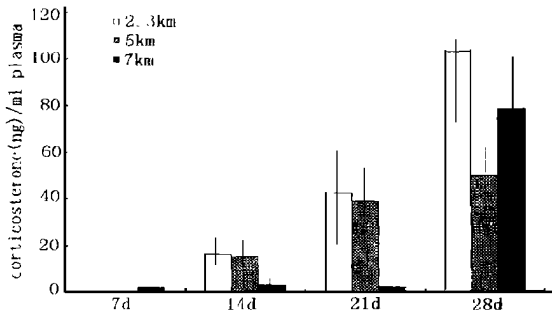


Fig 2 The response of plasma corticosterone in neonatal rat to acute hypoxia for 24h

(n= 5~ 7), * P < 0.05; ** P < 0.01 vs 2.3km control

2.2 对照组新生大鼠肾上腺皮质功能的发育

在 2.3 km 海拔高度, 新生大鼠肾上腺和血浆中皮质酮含量随日龄增长而增加(见表 1)。与生后 3 d 鼠比较, 肾上腺中皮质酮含量除 7 d 外, 在 28 d 之内是成倍增加, 高于血浆皮质酮增加率。可见生后一个月内, 肾上腺皮质功能发育是极为迅速的。

2.3 5 km 高原低氧对新生大鼠肾上腺皮质功能发育的影响

当大鼠在 5 km 模拟高原低氧条件下发育至 3 d 和 7 d 龄时, 血浆及肾上腺皮质酮与同龄对照组比无明显差别, 仍处于正常发育状态。但 14 d 始, 肾上腺皮质的功能发育开始受到抑制, 直到观察的截止日期 28 d。14 d、21 d 和 28 d 时血浆和肾上腺皮

质酮含量分别为对照值的 51.27% (P < 0.01) 和 43.16% (P < 0.05); 39.83% (P < 0.05) 和 42.15% (P < 0.05); 44.83% (P < 0.05) 和 40.36% (P < 0.05) (图 3、图 4)。

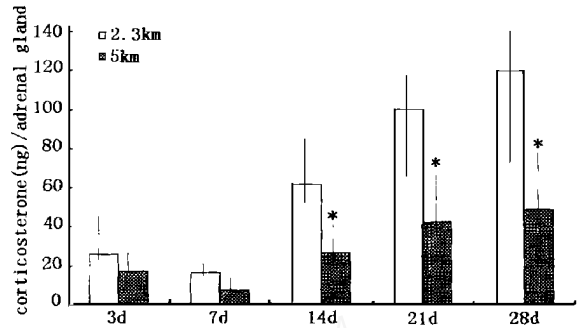


Fig 3 The effect of hypoxia on the development of adrenal gland corticosterone of neonatal rat ($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 9$), * P < 0.05 vs 2.3km control

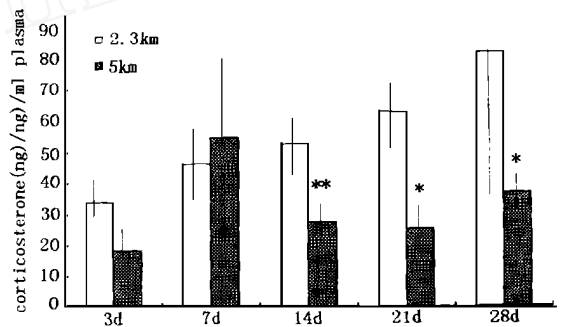


Fig 4 The effect of hypoxia on the development of the plasma corticosterone of neonatal rat ($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 7$), * P < 0.05, ** P < 0.01 vs 2.3km control

Tab 1 The development of corticosteron in neonatal rats at altitude of 2.3km ($\bar{x} \pm s$)

| | Hypoxia time (d) | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---------------|----------------|----------------|------------------|
| | 3 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| Corticosterone (ng)/adrenal gland | 25.72 ± 21.82 | 16.73 ± 2.53 | 61.68 ± 23.12* | 99.98 ± 35.58* | 119.29 ± 51.71** |
| Corticosterone (ng)/ml plasma | 33.76 ± 12.8 | 46.25 ± 26.77 | 52.48 ± 18.79 | 62.76 ± 26.10 | 81.64 ± 46.73 |

* P < 0.05; ** P < 0.01 vs 3d content

3 讨论

新生动物下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴对各种刺激的应激能力, 是颇有争议的问题。有人认为这种能力一出生即已具备^[5]。更多的学者则倾向于这种能力在生命诞生后的最初二周内比较低, 直至 14 d

时才开始发挥作用^[6]。本文结果表明, 高原低氧作为一种应激刺激, 新生大鼠在 14 d 龄时, 还不具备明显的应答能力。到 21 d 时, 对 5 km 及 7 km 均可作出明显的反应。此时, 血液及肾上腺皮质酮的应答水平显示, 大鼠对低氧应激的反应能力明显增加, 表现出应激能力充分发育起来。28 d 时, 肾上腺皮质功

能发育更加充分。但到什么日龄肾上腺皮质功能发育完成与成熟,尚需进一步观察。本室原先工作表明,成年大鼠 5 km 低氧应激后,肾上腺中皮质酮增加,血液中不变。7 km 应激后,肾上腺及血液中含量均增加^[7],进一步说明大鼠肾上腺皮质对高原低氧的应激能力 经历一个生后发育的过程,而不是出生前就发育好的。

在模拟高原低氧条件下,新生大鼠肾上腺皮质功能的发育从 14 d 起受到抑制。本室原先曾探讨高原低氧对新生大鼠下丘脑 CRF 神经元发育的影响,结果在低氧下发育至 25 d 及 30 d 时,其发育程度才明显受到抑制。而曾观察过的体重发育又表明,体重的发育抑制在低氧 5 d 后就已出现^[2]。相比之下,可以看出,大鼠在恶劣的低氧环境下发育时,首先保证脑的发育,使其发育较晚者受到抑制。外周功能器官次之,而肌肉及骨骼发育最先受到冲击。他人的工作亦证明,新生大鼠暴露于低氧环境中时,其血流重新分配,流向脑组织的血流加多加快,保证能量供应^[8]。另又有工作证明,动物出生一周内,对低氧有一定抗性,其机制可能是此时糖原的无氧酵解占优势,而机体本身需能较低^[9]。李庆芬等人的工作则证明,新生大鼠急性低氧应激时,肝糖原急剧消耗以抵抗缺氧应激损伤^[10]。因此,在此阶段,当动物在高原低氧下发育时,无论是脑组织,还是外周功能器官或体重发育都不明显受抑。

从本文结果看,新生大鼠在 5 km 低氧下发育一个月,肾上腺皮质的功能受到严重的抑制。这对机

体适应环境,生存与发展均是极为不利的。在高原地区应该予以充分的重视。

4 参考文献

- 1 杜继曾,下丘脑肽与低氧适应 中国生理学会七十周年纪念学术论文集, 1996; 505-512
- 2 杨生妹,杜继曾,李良成 低氧对新生大鼠下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素发育的影响 中国应用生理学杂志, 1996; 12(4): 294-297
- 3 杜继曾,李庆芬 模拟低氧对高原鼠兔和大鼠器官与血液若干指标的影响 兽类学报, 1982; 2(1): 35-42
- 4 倪江,钱梓文,徐屯 肾上腺皮质机能实验 生理学方法与技术 科学出版社, 第二集 PP234-241
- 5 Walker C D, Sapolsky R M, Meaney M J, et al Increased pituitary sensitivity to glucocorticoid feedback during the stress nonresponsive period in the neonatal rat *Endocrinology*, 1986; 119: 1816-1821
- 6 Sapolsky R M, Meaney M J. Maturation of the adrenocortical stress response: Neuroendocrine control mechanism and the stress hyporesponsive period *Brain Res Rev*, 1986; 11: 65-76
- 7 杜继曾,李庆芬,陈晓光 高原鼠兔肾上腺皮质功能的每日节律及急性低氧效应 兽类学报, 1983; 3(1): 47-52
- 8 Bilger A, Nehlig A. Regional cerebral blood flow response to acute hypoxia changes with postnatal age in the rat *Dev Brain Res*, 1993; 76: 197-205
- 9 Jilek L. The reaction and adaptation of central nervous system to stagnant hypoxia and anoxia during ontogeny In W. A. Hinw ith (Ed), *Developmental Neurobiology* Thomas, Springfield, L, 1970; pp331-369
- 10 李庆芬,杜继曾,陈晓光,等,模拟高原低氧对妊娠大鼠及其胎儿、新生儿肝细胞与溶酶体的影响 中国应用生理学杂志, 1989; 5(1): 8-14

THE EFFECT OF THE SIMULATED ALTITUDE HYPOXIA ON THE DEVELOPMENT OF ADRENAL CORTEX FUNCTION OF NEONATAL RATS

Du Jizeng¹, Yang Shengmei², Li Liangcheng²

¹Department of Biology, Zhejiang University, Hangzhou 310027;

²Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

ABSTRACT

The response of the corticosterone in neonatal rats to simulated altitude hypoxia and the development of their adrenal cortex function at 5 km altitude were investigated. When exposed to 5 km and 7 km altitude for 24 h, the content of adrenal cortex and plasma corticosterone of 7 d (7 days old) rats did not change. But the plasma corticosterone decreased in 14 d rats at 7 km altitude (20-33% of control). The plasma corticosterone of 21 d rats also reduced at 7 km (5% of control), and their adrenal gland corticosterone increased significantly at 5 km and 7 km (144% and 167% of control, respectively). For 28 d rats, their plasma corticosterone stopped to decrease under hypoxia, and the content of adrenal gland corticosterone increased at 7 km (164% of control), suggesting that in the neonatal rat before 28 d old the response of the biosyntheses of adrenal corticosterone to hypoxia was much sensitive than do the release of corticosterone. When 1 day old neonatal rats developed at 5 km altitude for 3 and 7 d, the development of the function of their adrenal corticosterone was not influenced. But when devel-

oped for 14, 21 and 28 d, the content of plasma and adrenal gland corticosterone decreased significantly, and the development of the function of adrenal gland was inhibited severely.

KEY WORDS development; rat; corticosterone; hypoxia

(上接第 132 页)

Tab. 3 Comparison of NO content in cord blood and NOS activity in endothelocytes of cord vessels

| Group | n | NO (nmol/ml) | NOS (nmol/min.g) |
|----------|----|-----------------|------------------|
| Compare | 30 | 31.094 ± 5.435 | 4.191 ± 0.789 |
| PH-A + B | 24 | 26.143 ± 4.770* | 3.061 ± 0.586* |
| PH-C | 13 | 22.718 ± 4.508* | 1.354 ± 0.379* |

* $P < 0.01$, compared with control group

Tab. 4 Chang of ratio of ET-1/NO and MAP in antepartum period of each pregnant women group

| Group | n | MAP (Kpa) | ET-1/NO |
|---------|----|------------------|-----------------|
| Compare | 30 | 11.500 ± 0.467 | 0.133 ± 0.046 |
| PH-A | 10 | 13.200 ± 0.931* | 0.231 ± 0.085* |
| PH-B | 14 | 15.857 ± 0.862** | 0.336 ± 0.124** |
| PH-C | 13 | 20.185 ± 2.119** | 1.083 ± 0.576** |

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control group

3 讨论

近年来的研究表明, 血管内皮细胞不仅具有屏障作用, 而且是一个功能复杂的代谢和内分泌器官, 具有自分泌、旁分泌及细胞内分泌功能, 可以产生内皮舒张因子(EDRF)和内皮收缩因子(EDCF), 维持血管正常的生理反应。其中EDRF包括NO、前列环素等, 而EDCF则是以ET为代表的一簇血管活性肽。在NO生成过程中, NOS是合成NO的唯一限速因子, 测定组织中NOS的活性可反应局部器官的NO生成量。目前认为, 搏动性血流及血管切变力改变为快速激活NOS的两大因素。动物实验发现, 胎盘和脐带血管内皮细胞损害可致NO生成量下降, 从而影响胎儿在宫内的发育和状态。本文的实验也表明, 妊高征状态下, 脐血NO含量和脐血管内皮细胞NOS活性均较正常孕妇低, 由于胎盘是一个特殊的循环系统, 血流量大, 含氧量高, 营养丰富, 这种状态可以保证胎儿充足的血液供应。当某些因素导致胎盘或脐带血管内皮细胞受损, 内皮细胞完整性破坏, 内源性NO的合成及释放能力降低, 其降低程度与妊高征的血压呈显著负相关。产后随着病因因素的解除, NO及NOS也逐渐恢复到正常调节状态。本研究结果也显示, 脐血NO明显高于同组外周血, 可能与胎盘血液循环的特殊结构有关。胎盘母血循环的生理基础是一系列压差, 为一低压循环系统, 正常妊娠时, 胎盘的NO较母体外周血高, 恰与胎盘的生理特点相等。

Zeeman的研究表明, 在妊高征患者体内可能存在着母体与胎儿的免疫不适应性或免疫排斥反应, 使得滋养细胞侵入螺旋动脉受阻, 胎盘血管发育不良, 组织血流灌注减少, 导致胎盘缺血缺氧, 血管内皮细胞系统受损, 血管活性因子生成及调节失衡, NO合成及释放能力下降, 而ET-1的生成及释放增加。ET具有强烈的缩血管作用, 可使全身小动脉痉挛, 微循环障碍, 从而成为妊高征的发病机制之一。本实验的结果分析, 妊高征MAP与孕妇外周血NO和ET均呈正相关, 其中与NO呈显著负相关, 与ET呈显著正相关, 而且随着MAP值的升高, NO和ET的变化也愈显著。正常妊娠组ET与NO的比值是 0.133 ± 0.046 , 妊高征时随着MAP的升高, 妊高征病情加重, ET/NO比值也增高, 说明ET/NO比例失衡与妊高征的病理变化密切相关。妊高征是一种内皮系统损伤及其所释放的一系列血管活性因子调节失衡引起的复杂的病理状态, 其根本的致病因素在于妊娠, 即胎盘及胎儿的免疫适应性。脐血管内皮细胞中含有多种血管活性因子, 它们具有共存现象, 对妊娠和分娩具有重要的调节作用, 当母体与胎儿存在有免疫排斥时, 可直接影响到胎盘及脐血管的内皮细胞系统, 只要妊娠不终止, 这种不适应性便会一直发展下去, 形成恶性循环。但随着妊娠的终止, 致病因素彻底解除, 母体的病理状态也即恢复乃至彻底痊愈, 说明妊高征病理变化在某种程度上的可逆性和愈后的乐观性; 同时也表明血管活性因子在妊高征的病理生理过程中起着重要的作用。

(1997-06-06 收稿 1997-11-28 修回)