

藏系绵羊血液气体分析及 血红蛋白、血浆蛋白电泳分析

杜继曾 皮南林 李庆芬

(中国科学院西北高原生物研究所)

关于绵羊血红蛋白(Hb)遗传表型,结构差异以及对生态环境的适应关系,颇受学者关注。用电泳方法已从多种绵羊血中分离到Hb-A、B、C等5种类型(Evans等,1965; Vaskov等,1967)。其间有同源与异源性之别(Evans,1965),呈现 β -肽链结构的差异(Huisman等,1965; Vaskov等,1967)。显示着种群生态——遗传分化的生物化学多型性(Polymorphism)现象(Раушенбах,1974),与Hb生理特性密切相关,不同型Hb在呼吸循环生理功能方面,表现出种种差异,对人工低氧环境显示出不同的适应能力和耐受性(Dawson等,1965,1966)。这方面的实验室研究已经积累了不少可贵资料,唯对自然生态环境下的研究分析尚少。

本文试图通过测定藏系绵羊Hb表型及其组成,以及血液气体—酸碱平衡状态和血浆蛋白电泳分析,探讨藏系绵羊于高寒草甸不同物候期(以及海拔高度差异)间,其呼吸循环功能的生理特征和对高原生态环境的适应意义。

材料与amp;方法

青海高原牧场没有明显的四季变化特点。地处青海省海北藏族自治州门源县马场风匣口地区(北纬 $37^{\circ}37'$,东经 $101^{\circ}19'$,海拔约3,250米)高寒草甸,按主要优势种牧草植物生长状况,全年物候相(Phenophase)可大体分为3期:草返青期(5—6月)、草盛期(7—8月)和草枯黄期(9月中旬以后)。

实验按此3期进行,返青期与枯黄期定点于风匣口地区,草盛期随羊群迁至夏牧场——干柴滩(位于风匣口东北约8公里,海拔高度约3,600—3,850米)实验。

实验绵羊为藏系羯羊,4—6岁,于每次实验前20—42小时,自羊群中随机抓取羊10只,共30只,禁食。3期实验时间、环境气温分别为:返青期,1979年5月27日,7 $^{\circ}\text{C}$;草盛期,8月15日,16 $^{\circ}\text{C}$ 和枯黄期,10月15日,9 $^{\circ}\text{C}$ 。实验时先用呼吸面罩测定静息通气量,并测呼吸率,心率和体重。而后,自颈动、静脉穿刺采血,用肝素抗凝,置液体石蜡油封盖的试管中,冰壶保存待分析。

血液气体分析:用英国产Corning 165型pH/Blood gas分析仪分析,样品量170 μl ,仪器数字指示6个参数,即血液pH、血氧分压(Po_2)、血二氧化碳分压(Pco_2)、

血液碳酸氢盐 (HCO_3^-)、血液总二氧化碳 (T-CO_2) 和碱剩余 (BE)。列线图解血氧饱和度 (So_2)。用推算人体组织氧利用系数的原理, 本文按颈动、静脉氧饱和度之差计算组织氧利用率。

Hb总量测定: 采用Sahli氏血红蛋白计定量。

Hb电泳分离: 抗凝血样用生理盐水洗涤3次后, 红血球用pH8.6巴比妥缓冲液(按1:1的体积)冰冻24小时溶血、离心取上清液, 点样5 μl 在乙酸纤维素薄膜(浙江黄岩曙光化工厂出品)上, 在pH 8.8 Tris-EDTA-硼酸之碱性缓冲液中, 用赣州无线电厂生产的DG-2型电泳仪, 电压为30V/cm, 电流为0.4—0.5mA/cm, 电泳1小时。氨基黑10B染色, 0.4N氢氧化钠溶液洗脱, 72型分光光度计620nm比色定量。

血浆蛋白电泳分离: 仪器设备同上, 在乙酸纤维素薄膜上、血浆点样5 μl , 在pH8.6巴比妥缓冲液中, 电压30V/cm, 电流0.7—0.9mA/cm, 电泳1小时。氨基黑10B染色, 0.4N氢氧化钠溶液洗脱, 620nm比色定量。

全部实验试剂为国产市售品, 分析纯以上等级。

实验结果

一、藏系绵羊静息通气量、呼吸率和心率

测得结果如表1。处于草场3物候期间仅心率无明显改变, 静息通气量和呼吸率发

表1 藏系绵羊体重、静息通气量、呼吸率和心率变化

Table 1 Changes of body weight, rest ventilation, respiratory rate and heart rate in Tibetan breed of sheep

物 候 期 Phenophase	体 重 (Kg) Body weight	静 息 通 气 量 (升/分) Rest ventilation (L/Min)		呼 吸 率 (次/分)	心 率 (次/分)
		实 测 Measure value	标 准 状 况 Standard state	Respiratory rate (Beats/min)	Heart rate (Beats/min)
草 返 青 Green up period	43.3 ± 0.9	7.34 ± 0.78	4.38 ± 0.45	49 ± 4.9	126 ± 6.0
草 盛 Exuberance period	56.3 ± 1.7	9.27 ± 0.99	5.40 ± 0.56	69 ± 5.6	113 ± 4.1
草 枯 黄 Withering period	47.1 ± 1.1	5.16 ± 0.75	3.20 ± 0.47	46 ± 7.1	115 ± 7.8
F 测 验 F-test	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05

表内数值为平均值 ± SE, 下同。

Values are means ± SE.

生了明显的变化：草返青期通气量与呼吸率略高于草枯黄期，但差异不显著；草盛期通气量和呼吸率明显高于其它两期。草盛期绵羊体重明显增加。

二、藏系绵羊的血液气体水平与酸碱平衡状态

3个物候期的藏系绵羊血液 P_{O_2} 、 SO_2 和氧利用率变化如表2。草场返青期与枯黄期比较，藏系绵羊颈动脉 P_{O_2} 和静脉 P_{O_2} 均无明显差异。草盛期动脉 P_{O_2} (P_{aO_2}) 明显低于其它两期，而静脉 P_{O_2} (P_{vO_2}) 无明显差异。3个物候期之动脉 SO_2 (SO_{2a}) 未见明显改变，返青期静脉 SO_2 (SO_{2v}) 明显低于其它两期。草盛期组织氧利用率明显低于返青期，亦低于枯黄期但差异不显著。

表2 藏系绵羊颈动、静脉血 P_{O_2} 、 SO_2 和氧利用率变化

Table 2 Changes of P_{O_2} , SO_2 of arteria carotis communis and vena carotis communis and O_2 -utilized percentage in the sheep

物 候 期 Phenophase	P_{O_2} (mm Hg)		SO_2 (%)		氧利用率 (%) O_2 -utilized percentage
	a	v	a	v	
草 返 青 Green up period	59.8±2.7	32.8±1.8	89.3±1.4	54.0±3.9	39.3±4.0
草 盛 Exuberance period	53.6±3.3	35.0±1.9	90.2±1.3	70.7±3.9	24.9±5.0
草 枯 黄 Withering period	63.4±4.4	37.1±3.1	91.8±1.3	64.0±7.0	27.4±4.8
F 测 验 F-test	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

a: 颈总动脉 v: 颈总静脉

a: Arteria carotis communis, v: Vena carotis communis

3个物候期藏系绵羊的颈动、静脉血pH、 P_{CO_2} 、 HCO_3^- 、T- CO_2 和BE值变化如表3。其pH值，草盛期高于其它两期，枯黄期又高于返青期，差异均很明显。 HCO_3^- 、T- CO_2 和BE各值返青期与枯黄期均无明显差异，而草盛期则明显高于其它两期。各物候期 P_{CO_2} 、 HCO_3^- 和T- CO_2 的数值均较平原羊只为低，碱贮备下降。

三、藏系绵羊的Hb水平和电泳分离

草场返青期Hb水平低于草盛期和草枯黄期(表4)。电泳分离显示藏系绵羊具有Hb-AC表型，在碱性缓冲液中，A、C两带均向阳极移动，其迁移速度A大于C，两者电泳图特征与人之Hb-A和Hb-A₂相似。Hb-A带含量极高，而C带极少，两者含量之比可以发生变化。

四、藏系绵羊的血浆蛋白电泳分离

用乙酸纤维素薄膜在pH8.6巴比妥缓冲液中进行血浆蛋白电泳时，可见有8—9个

表3 藏系绵羊颈动、静脉血PH、Pco₂、HCO₃⁻、T-CO₂和BE值变化

Table 3 Changes of PH, Pco₂, HCO₃⁻, T-CO₂ and BE of arteria carotis communis and vena carotis communis in the sheep

物 候 期 Phenophase	pH		Pco ₂ (mmHg)		HCO ₃ ⁻ (mM/L)		T-CO ₂ (mM/L)		BE(mEq/L)	
	a	v	a	v	a	v	a	v	a	v
草 返 青 Green up period	7.387 ± 0.009	7.333 ± 0.012	23.3 ± 1.0	34.1 ± 1.4	14.0 ± 0.9	16.1 ± 0.8	15.0 ± 0.9	17.4 ± 0.7	-7.8 ± 0.9	-8.3 ± 1.0
草 盛 Exuberance period	7.496 ± 0.010	7.465 ± 0.010	22.7 ± 1.0	27.5 ± 1.3	17.5 ± 0.6	19.7 ± 0.7	18.5 ± 0.6	20.9 ± 0.8	-2.0 ± 0.5	-1.5 ± 0.5
草 枯 黄 Withering period	7.443 ± 0.012	7.390 ± 0.013	21.7 ± 0.8	27.0 ± 0.6	14.5 ± 0.7	16.3 ± 0.6	15.4 ± 0.8	17.4 ± 0.6	-5.8 ± 0.9	-5.7 ± 0.7
F 测 验 F-test	<0.001	<0.001	>0.05	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01

表4 藏系绵羊Hb含量及Hb组成变化

Table 4 Changes of amount and component of Hb in the sheep

物 候 期 Phenophase	Hb (g/100 ml)	Hb (%)	
		Hb-A	Hb-C
草 返 青 Green up period	10.1 ± 0.2	—	—
草 盛 Exuberance period	11.9 ± 0.1	99.5 ± 0.05	0.6 ± 0.05
草 枯 黄 Withering period	11.7 ± 0.2	98.9 ± 0.1	1.2 ± 0.1
F 测 验 F-test	<0.01	<0.01	<0.01

条带，明显区别的有7个，称为1个白蛋白带、3个α带、1—2个β带和2个γ球蛋白带（表5）。由表可见，海拔较高的草盛期与枯黄期比较，白蛋白比例下降，而α₁-、γ-和γ_s-球蛋白比例增加。

表5 藏系绵羊血浆蛋白组成与变化

Table 5 Changes of component of blood plasma protein in the sheep

物 候 期 Phenophase	白蛋白(%) Albumin	球 蛋 白 组 成 (%) Componets of globulin					
		α_x	α_1	α_2	β	γ	γ_s
草 盛 Exuberance period	60.0±0.6	1.1±0.1	2.7±0.1	7.7±0.2	3.5±0.2	13.3±0.6	11.5±0.9
草 枯 黄 Withering period	66.8± 1.3**	0.9±0.1	1.6± 0.1***	7.3±0.9	3.7±0.3	10.6±0.9*	8.7±0.4*

*P<0.05**P<0.01***P<0.0001

讨 论

生态——遗传分化的生物化学多型性，是由于动物种群对各种生态环境适应的结果。绵羊Hb即有这种特征。迄今，从不同地区和不同生态环境的羊群得到的5种遗传表型分析(Evans, 1964)，其主要差异在 β -肽链结构，而 α -链则基本相似(Huisman等, 1965; Van Vliet等, 1965; Vaskov等, 1967)。各表型遗传频率随生态环境不同而异。Раушенбах等(1974)发现，不同的自然地理区域(草原、沙漠和高山)Hb表型出现频率不同。在高山地区Hb-A频率高，这对适应高山低氧环境有重要意义。我们测定的30只高寒草甸藏系绵羊，均显示Hb-AC型，以A成分为主C成分极少，且电泳图特征与人的相似。Hb-C由Van Vliet等于1964从贫血症羊血分离而得。Braend等1965称为Hb-N。在严重贫血羊只里C可完全取代A。Hb-A/Hb-C之比似可随海拔增高(或草盛期)而增加?尚待进一步确定。以往研究发现Hb-C型多见于较原始的种羊群，羔羊或幼羊，属于未成熟型Hb，对生理意义很难作出定论。笔者认为藏系绵羊具有的Hb-AC表型及其组成变化，是对低氧寒湿高山草甸生态环境的适应表现。

与藏系绵羊Hb生理特性密切相关，血液气体水平和酸碱平衡状态，直接反应出呼吸、循环功能的高原低氧适应性特征。业已证明Hb-A比Hb-B型有较高的氧亲和力，氧解离曲线偏左所以氧饱和度亦高。而且总血容量、红细胞容量、脾脏贮备和心输出量均高，当两者同暴露于9.5%低氧时，前者有较高的耐受性，后者出现心脏危象和死亡(Dawson等, 1965; 1966)。Hb-C亦有与Hb-A相同的氧亲和力和氧解离曲线(Van Vliet等, 1964)。本文证明世居高原的藏系绵羊，其 So_2 的水平与处于低海拔的澳大利亚Hb-A型羊相近，尽管由于草盛期放牧高度增加使 PO_2 下降，但Hb含量的增加仍使 Sao_2 维持在90.2%。在高原上，由于环境低氧使呼吸率和通气功能增强，通过Haldane和Bohr效应以增加对 O_2 的结合和对 CO_2 的排出，来保证对组织和细胞的供氧。然而通气增强，结果 Pco_2 的下降，必引起血液碱化，为使氢离子浓度恢复到正常水平，势必要通过肾脏代偿性地排出 HCO_3^- ，因此碱贮备量的下降是低氧适应的表现(Besch等, 1971)。这

类现象在藏系绵羊的血液酸碱平衡状态方面是很明显的。

不仅呼吸作用影响着血液气体水平和酸碱平衡状态,代谢的失调同样会产生显著的影响。然而本文所测之数据未显示这类反应。鉴于草盛期藏系绵羊的组织氧利用率明显低于草返青和草枯黄期,似乎与该物候期环境温度升高与羊摄食量关系密切。这与高寒草甸生态系统里的小哺乳动物能量动态变化和季节变化规律相似(王祖望等,1980)。尚需指出,草盛期氧利用率的下降不象是海拔增高的效应,高海拔长期适应与代谢升高有关(Gill和Pugh,1964)。

草盛期出现血浆蛋白电泳图白蛋白比例下降 γ -球蛋白比例升高的现象。这种现象亦见于作者用土著小哺乳动物——高原鼠兔(*Ochotona curoniae* Hodgson)在低气压舱模拟高原低氧的实验中,此乃低氧作用的结果,似与肝脏合成蛋白质减少有关(Surks等,1971)?尚待继续研究确定。

小 结

1.世居于海拔3—4千米高山草甸之青海藏系绵羊,具有适应其生态环境的血红蛋白Hb-A_C,A成分约占99%,C约1%。Hb水平与Hb-A/Hb-C比例随海拔高度等环境因素而变化。

2.草返青期和草枯黄期(海拔约3,250m)藏系绵羊之呼吸率、静息通气量和心率无明显差异;颈动、静脉血 P_{O_2} 和 S_{O_2} 及氧利用率均无明显改变;血液酸碱平衡状态除PH降低外, P_{CO_2} 、 HCO_3^- 、T- CO_2 和BE水平均无明显变化。

3.草盛期(海拔约3,600—3,850m)体重显著增加,Hb含量升高,呼吸率和静息通气量均明显高于其它两期;其颈动脉 P_{aO_2} 明显下降, S_{vO_2} 明显增高,而 S_{aO_2} 保持不变;除 P_{CO_2} 未改变外,血液酸碱平衡诸指标均高于其它两期。

呼吸率和静息通气量的增加,Hb浓度上升, pH 的增高, P_{CO_2} 、 HCO_3^- 、T- CO_2 的低水平,碱贮备的不足乃高原低氧适应性特征。

4.草盛期绵羊组织氧利用率明显低于草返青期和草枯黄期。

5.草盛期较枯黄期血浆蛋白电泳图之白蛋白比例下降, γ -球蛋白比例增高。

参 考 文 献

- 王祖望、曾缙祥、韩永才、张晓爱 1980 高山草甸生态系——小哺乳动物能量动态的研究 I.高原鼠兔和中华鼯鼠对天然食物的消化率和同化水平的测定。动物学报, 26(2): 184—195。
- Besch, E.L., Burton, R.R., and A.H.Smith 1971 Influence of chronic hypoxia on blood gas tensions and pH in domestic fowl. *Am. J. Physiol.* 220(5): 1379—1382.
- Braend, M., and G. Efremov 1965 Haemoglobin N of sheep. *Nature* 205: 186—187.
- Dawson, T.J., and J.V. Evans 1965 Effect of haemoglobin type on the cardiorespiratory system of sheep. *Am. J. Physiol.* 209(3): 593—598.
- Dawson, T.J., and J.V. Evans 1966 Effect of hypoxia on oxygen transport in sheep with different haemoglobin types. *Ibid* 210(5): 1021—1025.
- Evans, J.V., King, J.W.B., Cohen, B.L., Harris, H., and F.L. Warren 1965 Genet-

- ics of haemoglobin and blood potassium differences in sheep. *Nature* 198: 849—850.
- Gill, M.B., and L.G.C.E. Pugh 1964 Basal metabolism and respiration in men living at 5, 800 m (19,000ft) . *J. Appl. Physiol.* 19: 949—954.
- Harris, H., and F.L. Warren 1955 Occurrence of electrophoretically distinct haemoglobins in Ruminants. *Biochem. J.* 60: xxix.
- Huisman, T.H.I., Reynolds, C.A., Dozy, A.M., and J.B. Wilson 1965 The structure of sheep haemoglobins. The amino acid compositions of the α and β chains of the haemoglobins A, B and C. *J. Biol. Chem.* 240: 2455—2460.
- Surks, M.I., and M. Berkowtztz 1971 Rat hepatic polysome profiles and in vitro protein synthesis during hypoxia. *Am. J. Physiol.* 220 (6) : 1606—1609.
- Van Vliet, G., and T.H.J. Huisman 1964 Changes in the haemoglobin types of sheep as a response to anaemia. *Biochem. J.* 93 (2) : 402—409.
- Vaskov, B., G. Efremov 1967 Fourth haemoglobin type in sheep. *Nature* 216 (5115) : 593—594.
- Раушенбах, Ю.О., Подгорная, Е.К. и Каменек, В.М. 1974 Роль биохимического Полиморфизма В Эколого-генетической Дифференциаций Овец. *Генетика* 10 (11) 49—59.

外文摘要 (Abstract)

ANALYSES OF BLOOD GAS, ACID-BASE BALANCE AND ELECTROPHORESIS OF HAEMOGLOBIN AND BLOOD PLASMA PROTEIN IN TIBETAN BREED OF SHEEP

DU Jizeng PI Nanling LI Qingfen

(Northwest Plateau Institute of Biology, Academia Sinica)

It is mentioned in the present paper the results of determining several physiological indices in Tibetan breed of sheep (castrated) living at an alpine meadow in Qinghai Province.

1. There exist haemoglobins with Hb-AC phenotype adapted to hypoxia in the sheep. The components of Hb-A are about 99% of the total amount, only 1% remains with Hb-C. The levels of Hb-AC and the ratio of A to C markedly increase with rising in altitude.

2. In the periods of green up and withering (at elevations of 3,250 m), there are no statistically significant differences in physiological indices such

as respiratory rate, rest-ventilation, heart rate, PO_2 , SO_2 and O_2 -utilized percentage. P_{CO_2} , HCO_3^- , T- CO_2 and BE of acid-base of blood also have no obvious changes except a decline of pH in the period of green up.

3. In the exuberance period (at elevations of 3,600-3,850m) the body weight, Hb concentration, respiratory rate, rest-ventilation, HCO_3^- and T- CO_2 are all higher than those in the other periods. In this period, levels of P_{aO_2} markedly decline, whereas S_{vO_2} obviously rises without changes in level of S_{aO_2} . All these indices are of physiological significance adapted to hypoxia.

4. O_2 -utilized percentage is quite lower in the exuberance period than that in the other periods.

5. A decline of ratio of albumin and an enhancement of γ -globulins occur in the exuberance period.

(Abstract) 要約文

ANALYSES OF BLOOD GASES, ACID-BASE BALANCE
AND HEMORHEOLOGY OF HAEMOGLOBIN AND
BLOOD PLASMA PROTEIN IN TIBETAN
SHEEP OF SHIRAZ

The authors are grateful to the Chinese
Academy of Sciences for their generous support.

In this study, the authors have reported the results of blood gas analysis, acid-base balance, hemorheology and hemoglobin and blood plasma protein in Tibetan sheep of Shiraz. The results show that the sheep of Shiraz have a high hemoglobin concentration and a high hematocrit, which is characteristic of high altitude animals. The blood gas analysis shows that the sheep of Shiraz have a low P_{aO_2} and a high S_{vO_2} , which is also characteristic of high altitude animals. The acid-base balance shows that the sheep of Shiraz have a low pH and a high HCO_3^- , which is also characteristic of high altitude animals. The hemorheology shows that the sheep of Shiraz have a high viscosity and a high erythrocyte aggregation, which is also characteristic of high altitude animals. The hemoglobin and blood plasma protein analysis shows that the sheep of Shiraz have a high hemoglobin concentration and a high γ -globulin concentration, which is also characteristic of high altitude animals.