

不同去甲肾上腺素剂量下布氏田鼠非颤抖性产热比较

王建梅^{1,2,3} 王德华^{2*}

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

(2 中国科学院动物研究所, 北京, 100080) (3 中国科学院研究生院, 北京, 100049)

摘要: 非颤抖性产热是小型哺乳动物的一种重要产热方式。关于其定量测定, 一般采用注射去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 诱导的最大耗氧量的方式获得。因此, 去甲肾上腺素剂量的选择就显得很重要。我们利用常用的 3 种经验公式计算剂量, 即: (1) $NE (mg/kg DK) = 2.53W^{-0.4}$; (2) $NE (mg/kg) = 3.3W^{-0.458}$; 和 (3) $NE (mg/kg) = 6.6W^{-0.458}$, W 是体重 (g), 以布氏田鼠为实验对象, 测定了 3 种剂量诱导的非颤抖性产热情况。结果表明, 3 种剂量都能诱导出最大非颤抖性产热能力, 在非颤抖性产热大小上没有显著性差异, 分别为 6.190 ± 1.342 (公式 1)、 6.166 ± 0.852 (公式 2) 和 7.005 ± 1.501 (公式 3), 但公式 (3) 剂量下体温增加程度显著高于前两个剂量, 分别增加了 1.9 ± 0.9 (公式 3)、 0.9 ± 0.2 (公式 1) 和 0.7 ± 0.2 (公式 2)。为了防止动物体温过高引起死亡, 我们推荐公式 (1) 和 (或) (2)。

关键词: 非颤抖性产热; 去甲肾上腺素; 布氏田鼠

中图分类号: Q494

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 1050 (2006) 01 - 0084 - 05

Comparison of nonshivering thermogenesis induced by dosages of norepinephrine from 3 allometric equations in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*)

WANG Jianmei^{1,2,3}, WANG Dehua^{2*}

(1 Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001, China)

(2 Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100080, China)

(3 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China)

Abstract: Nonshivering thermogenesis (NST) is an important thermogenic mechanism for small mammals. Quantitative measurement of NST is usually stimulated by injection of norepinephrine. The injection dosage of norepinephrine (NE) is critical for eliciting the maximum NST. Three empirical equations of NE dosages were often referenced in previous studies: (1) $NE (mg/kg) = 2.53W^{-0.4}$; (2) $NE (mg/kg) = 3.3W^{-0.458}$ and (3) $NE (mg/kg) = 6.6W^{-0.458}$. In the present study, we used Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*) as experiment subjects to test the effects of the three dosages of NE on NST. Results showed that all the three dosages of NE could induce the maximum NST for Brandt's voles. No significant differences were found in NST among groups and the NST was respectively 6.190 ± 1.342 (formula 1), 6.166 ± 0.852 (formula 2) and 7.005 ± 1.501 (formula 3). However, when injected with NE dosage from formula (3), the increase of body temperatures was significantly higher than the other two NE dosages (increased 1.9 ± 0.9 (formula 3), 0.9 ± 0.2 (formula 1), and 0.7 ± 0.2 (formula 2), respectively). In order to prevent the death because of hyperthermia, formula (1) or (2) is recommended to be used.

Key words: Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*); Nonshivering thermogenesis (NST); Norepinephrine (NE)

自 Claude Bernard 1876 年首次发现在动物体内存在除颤抖性产热以外的其他产热方式后, 有关非颤抖性产热 (nonshivering thermogenesis, NST) 的

研究逐渐发展起来 (Sellers *et al.*, 1954; Cottle and Carlson, 1956; Jansky, 1973), 至今仍然是哺乳动物体温和产热调节的重要研究内容。非颤抖性

基金项目: 国家自然科学基金项目 (304330140, 30170151)

作者简介: 王建梅 (1977 -), 女, 博士研究生, 主要从事动物生理生态学研究。

收稿日期: 2005 - 06 - 15; 修回日期: 2005 - 10 - 11

* 通讯作者, correspondence author, E-mail: wangdh@ioz.ac.cn

产热是一种不包含肌肉收缩的化学产热方式, 主要产生部位是褐色脂肪组织 (Brown adipose tissue, BAT) (Jansky, 1973)。由于去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 诱导的产热与冷诱导的 NST 是等价的 (Bockler *et al.*, 1982), 因此最大 NST 一般定义为对 NE 的总的代谢反应 (Heldmaier *et al.*, 1982), 从而可以通过注射与体重相关的 NE 剂量, 测定在热中性区以下动物在安静、清醒状态下的最大耗氧量来确定。

多年来学者们研究了不同剂量的 NE 对小哺乳动物 NST 的诱导反应, 但是只有选用最适的 NE 注射剂量, 非颤抖性产热才能获得准确可信的结果。NE 剂量过低则不能诱导最大的 NST 能力, 过高则会抑制 NST 能力。要确定合适的 NE 注射剂量, 需设定不同的剂量梯度, 制定剂量反应曲线, 但需要的动物样本量很大。因此一些学者尝试建立 NE 注射剂量与动物体重的关系式。目前在文献中有 3 种剂量计算公式。Heldmaier (1971) 首先提出小型哺乳动物非颤抖性产热中 NE 剂量的计算公式: $NE (mg/kg) = 6.6W^{-0.458}$ (W 是动物的体重, 单位是 g)。Merritt (1986) 认为这个剂量对于野生小型哺乳动物有些过高, 建议将剂量减半, 即 $NE (mg/kg) = 3.3W^{-0.458}$ 。Wunder 和 Gettinger (1996) 通过实验提出野生小型哺乳动物的 NE 注射剂量公式为: $NE (mg/kg) = 2.53W^{-0.4}$ 。文献中这 3 种剂量都有应用, 都可以诱导最大 NST 能力。但对这 3 种剂量尚没有一个系统的评价。我们在实验中究竟采用哪种剂量才能更好地诱导出最大 NST 反应, 3 种剂量对同一种动物的 NST 诱导结果有何异同? 我们以布氏田鼠 (*Lasiopodomys brandtii*) 为实验对象, 对这 3 种剂量诱导的 NST 进行了比较。

布氏田鼠是分布在我国内蒙古高原、蒙古国东部及俄罗斯外贝加尔东南部地区的主要草原害鼠, 对其适应性产热研究已有相关报道 (Wang *et al.*, 2003; Zhao and Wang, 2005)。以往我们主要采用 Heldmaier (1971) 提出的剂量计算公式确定 NE 的注射剂量, 实验结束时发现布氏田鼠有体温过高现象 (王德华等, 未发表数据)。本实验通过 3 种剂量的比较, 对 3 种剂量进行评价, 并确定引起布氏田鼠非颤抖产热的最适剂量。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验用布氏田鼠是捕自内蒙古锡林郭勒盟太仆

寺旗的室内繁殖后代。用塑料笼 (30 cm × 15 cm × 20 cm) 饲养于中国科学院动物研究所动物饲养房内, 温度 23 ± 1 , 光照条件为 12L 12D, 喂以北京科澳协力饲料有限公司生产的标准兔饲料, 自由取食和饮水。

本实验中选取体重在 43 ~ 50 g 范围内的布氏田鼠 10 只, 雌雄各半, 单笼饲养, 适应 1 周后, 开始代谢测定。

1.2 实验设计

3 种 NE 剂量按由低到高的顺序进行实验。所用布氏田鼠为同一批动物。不同剂量的注射间隔是 3 d, 以避免 NE 对代谢的影响。

NE 剂量的计算公式为:

$$NE (mg/kg) = 2.53W^{-0.4} \quad (1)$$

$$NE (mg/kg) = 3.3W^{-0.458} \quad (2)$$

$$NE (mg/kg) = 6.6W^{-0.458} \quad (3)$$

W 为体重, 单位是 g

1.3 代谢测定

耗氧量采用开放式气体自动分析仪 (OXY-MAX System, Columbia Instruments Co, USA) 进行测定。先将动物在呼吸室中适应 30 ~ 40 min 并进行静止代谢率 (RMR) 测定, 然后将动物从呼吸室内取出, 从背部皮下注射与动物体重相当剂量的 NE, 迅速放回呼吸室, 再继续测定 60 min。NE 采用上海禾丰制药有限公司生产的重酒石酸去甲肾上腺素注射液 (1 ml 含 2 mg), 加入 9 ml 生理盐水稀释成 0.2 mg/ml。一般动物在注射 NE 后 10 ~ 45 min 内就可出现代谢反应高峰。呼吸室温度用水浴控温, 测定过程中保持水浴温度为 25 (低于动物的热中性区)。动物的呼吸室体积为 2.4 L。

进入呼吸室的气体流量为 0.9 L/min, 样品泵的气体流量为 0.5 L/min。进入氧气分析仪的气体经过硅胶干燥。与氧气分析仪相连的计算机将自动计算耗氧量并校正到标准状态下。取值时一般先将耗氧量对测定时间作散点图, 取 10 个连续稳定的最低值的平均值作为 RMR 值, 10 个连续稳定的最高值的平均值作为 NST 值。

每次实验前后均用电子天平称量动物的体重 (精确到 0.1 g) 及肛温 (采用北京师范大学司南仪器厂生产的 2202 型数字温度计, 精确到 0.1)。测肛温时温度计探头插入直肠 3 cm。

用 SPSS for Windows 10.0 软件包进行统计分析。不同注射剂量对 NST 的影响采用重复测量 (Repeated measures) ANCOVA 进行分析, 以初始体重为协变量

以消除体重对代谢的影响。文中数据均以平均值 ± 标准误 (Mean ± SE) 表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

经统计分析, 各参数雌雄之间没有显著性差异, 故数据合并处理。由表 1 可见, 3 次测定, 布氏田鼠的静止代谢率 (RMR) 没有显著性差异 ($F_{(2,16)} = 1.588, P = 0.223$); 在消除体重的影响后, 3 种 NE 剂量诱导的 NST 也没有显著性差异 ($F_{(2,16)} = 2.636, P = 0.090$)。注射 3 种不同剂量的 NE 后, 达到最大 NST 的时间也基本一致。图 1、

图 2 和图 3 分别显示了动物对 3 种剂量的反应过程, 一般都在 20 min 左右达到代谢高峰。

在注射 NE 前后布氏田鼠的体重变化没有显著性差异。以公式 (3) 剂量注射 NE 后, 布氏田鼠的体温及体温变化幅度显著高于公式 (1) 和 (2) 注射剂量 (分别为 $F_{(2,16)} = 7.210; P = 0.005$ 和 $F_{(2,16)} = 8.986; P = 0.007$), 平均体温高达 39.3 (表 1)。同时在实验过程中也观察到, 注射剂量 (3) 的 NE 后, 布氏田鼠四肢伸展趴在呼吸室底部, 呼吸急促, 背部和胸腹部由于大量排汗而非常潮湿, 为典型的过热反应。

表 1 布氏田鼠体温、静止代谢率和不同剂量去甲肾上腺素诱导的非颤抖性产热的变化

Table 1 Body temperature (Tb), resting metabolic rate (RMR) and nonshivering thermogenesis (NST) elicited by three different norepinephrine dosages in *Lasiopodomys brandtii* (n=10, Mean ± SE)

去甲肾上腺素剂量 NE dosage	实验前体重 Initial body mass (g)	实验后体重 Final body mass (g)	实验前体温 Initial Tb (°C)	实验后体温 Final Tb (°C)	体温变化 Changes in Tb (°C)	静止代谢率 RMR (mlO ₂ /g/h)	非颤抖性产热 NST (mlO ₂ /g/h)
NE (mg/kg) = 2.53W ^{-0.4}	46.6 ± 1.6	45.4 ± 1.5	37.6 ± 1.7	38.3 ± 1.7 ^b	0.9 ± 0.2 ^b	2.525 ± 0.479	6.190 ± 1.342
NE (mg/kg) = 3.3W ^{-0.458}	52.0 ± 1.6	50.5 ± 1.7	37.4 ± 1.6	38.0 ± 1.8 ^b	0.7 ± 0.2 ^b	2.634 ± 0.334	6.166 ± 0.852
NE (mg/kg) = 6.6W ^{-0.458}	53.1 ± 1.86	51.8 ± 1.6	37.5 ± 1.7	39.3 ± 1.7 ^a	1.9 ± 0.9 ^a	2.745 ± 0.305	7.005 ± 1.501

同一列中不同上标表示差异显著 Different superscripts in the same row mean significant differences

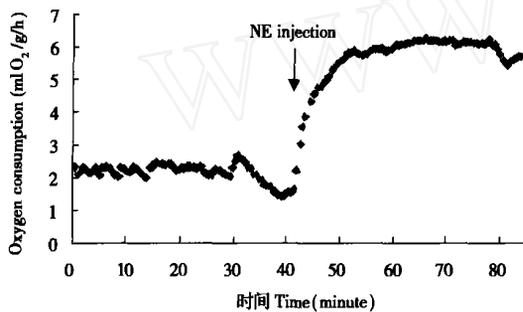


图 1 体重为 47.2 g 的雌性布氏田鼠注射剂量为 NE (mg/kg) = 2.53W^{-0.4} 时的代谢反应曲线

Fig.1 Metabolic responses of *Lasiopodomys brandtii* (body mass 47.2 g, female) injected with the NE dose calculated by NE (mg/kg) = 2.53W^{-0.4} (W is body mass in g)

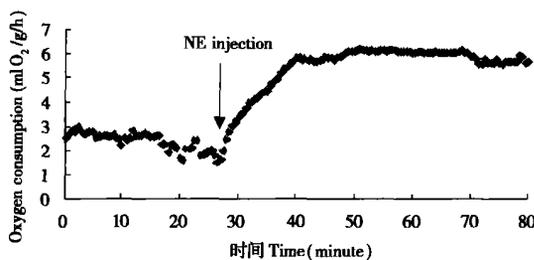


图 2 体重为 51.3 g 的雄性布氏田鼠注射剂量为 NE (mg/kg) = 3.3W^{-0.458} 时的代谢反应曲线

Fig.2 Metabolic responses of *Lasiopodomys brandtii* (body mass 51.3 g, male) injected with the NE dose calculated by NE (mg/kg) = 3.3W^{-0.458} (W is body mass in g)

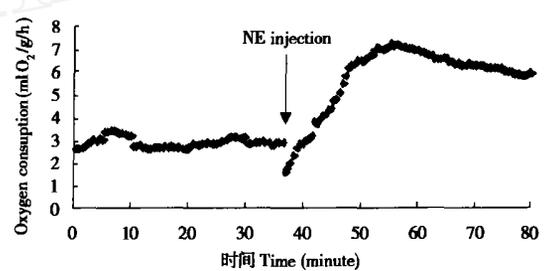


图 3 体重为 52.9 g 的雄性布氏田鼠注射剂量为 NE (mg/kg) = 6.6W^{-0.458} 时的代谢反应曲线

Fig.3 Metabolic responses of *Lasiopodomys brandtii* (body mass 52.9 g, male) injected with the NE dose calculated by NE (mg/kg) = 6.6W^{-0.458} (W is body mass in g)

3 讨论

本实验结果表明, 消除体重的影响后, 3 种 NE 剂量诱导的布氏田鼠的非颤抖性产热能力没有显著性差异, 即 3 种注射剂量都能诱导最大 NST, 但动物的体温变化不同。注射高剂量 (3) 的 NE 后布氏田鼠的体温及其体温变化幅度显著高于其他两个剂量组。此外, 在我们的预备实验中, 注射高剂量 NE 的动物由于体温过高, 有部分动物在实验第 2 天死亡。预备实验是从高剂量开始的, 这也是我们在正式实验时采用从低剂量开始的原因。我们用封闭式流体压力呼吸仪对布氏田鼠的季节性产热

曾进行过研究, 结果显示基础代谢率的变化范围为: $2.11 \sim 2.28 \text{ mD}_2/\text{g/h}$, NST的变化范围是: $6.09 \sim 7.29 \text{ mD}_2/\text{g/h}$, 体重范围是 $33 \sim 43 \text{ g}$ (Wang *et al.*, 2003), 与本实验的测定结果相似。Zhao和 Wang (2005) 及 Li和 Wang (2005) 对室内饲养条件下的测定结果也是如此。

非颤抖性产热是小型哺乳动物的一种重要产热方式 (Heldmaier *et al.*, 1990)。从产热机理上看, 非颤抖性产热受下丘脑调控, 并基于由交感神经末梢释放的去甲肾上腺素的产热作用而启动产热效应 (Garlid *et al.*, 2000; Klingenberg and Echtay, 2001)。由于非颤抖性产热的大小与去甲肾上腺素的产热作用相关, 最适剂量的去甲肾上腺素将能诱导出动物的非颤抖性产热能力 (Hsieh and Carlson, 1957; Depocas, 1960)。当去甲肾上腺素的注射剂量过低时, 去甲肾上腺素对产热的贡献将不会完全显示出来, 剂量过高时所诱导的产热能力维持不变甚至下降 (Wunder and Gettinger, 1996), 同时动物体又常常因为体温过高而失去体温调节能力, 最终导致动物死亡。Heldmaier (1971) 提出的剂量计算公式 (3) 在产热研究中被广泛采用 (Wang *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2001)。但由于其所用实验动物为 5 驯化处理, 且在测定 NST时动物均被麻醉, 因为当时普遍认为 NE注射将引起动物活动, 而动物活动将会影响代谢的测定, 后来发现麻醉会对动物代谢产生另外一些影响, 而且注射 NE后, 动物往往并不活动, 而是趴伏于呼吸室底部以便身体散热, 而且多数实验中动物并非 5 驯化, 所以, 这一剂量公式的应用受到一定限制。Wunder和 Gettinger (1996) 对体重在 $15 \sim 900 \text{ g}$ 的野生小哺乳动物进行了研究, 所用实验动物为 23 驯化, 动物不麻醉, 结果发现驯化温度并不影响诱导 NST所需的 NE剂量的大小, 但麻醉会影响小哺乳动物对 NE的敏感性以及动物的代谢反应能力, 根据剂量反应曲线得到 NE诱导 NST反应公式 (1)。Meritt (1986) 建议的公式 (2) 与公式 (1) 很接近。在本实验中, 选择的 3 个去甲肾上腺素的注射剂量均有效诱导了布氏田鼠的非颤抖性产热, 在产热量大小上没有显著差异, 但由于注射高剂量的 NE后, 布氏田鼠的体温显著升高, 注射前后的体温变化显著高于其他两个剂量, 而且在预实验过程中选择的 10 只布氏田鼠中有 2 只个体由于注射高剂量的 NE最终因体温过高而死亡。在本实验中注射高剂量 NE后布氏田鼠没有死亡情况发生, 可能

是由于在实验过程中, 注射剂量按从小到大进行, 到注射高剂量的 NE时布氏田鼠可能已经具备了一定的适应能力; 其间也不排除个体差异的原因。

在测定非颤抖性产热时选择合适的 NE剂量对于获得准确可信的结果是至关重要的。从布氏田鼠的实验结果来看, 3 种剂量都可以诱导最大的 NST能力, 但剂量 (1) 和 (2) 既有效地诱导了非颤抖性产热能力, 又避免了动物由于体温过高而死亡的现象。所以在测定非颤抖性产热时, 使用这两个注射剂量都是合适的, 对布氏田鼠也是安全的。通过本实验可以认为, 在测定一种动物的 NST时, 首先进行预备实验, 只要动物不出现体温过高导致过热现象, 3 种剂量都可以采用, 我们推荐剂量 (1) 和 (或) (2)。

致谢: 感谢中国科学院动物研究所动物生理生态学组迟庆生同学提供鼠源, 感谢动物生理生态学组全体成员在实验过程中给予的帮助和对论文初稿提出的宝贵建议。

参考文献:

- Bockler H, Steinlechner S, Heldmaier G. 1982. Complete cold substitution of norepinephrine induced thermogenesis in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *Experientia*, **38**: 261 - 262.
- Cottle W H, Carlson L D. 1956. Turnover of thyroid in cold-exposed rats determined by radio-active iodine studies. *Endocrinology*, **59**: 1 - 11.
- Depocas F. 1960. The cabrigenic response of cold-acclimated white rats to infused noradrenaline. *Can J Biochem Physiol*, **38**: 107 - 114.
- Garlid KD, Jaburek M, Jezek P, Varecha M. 2000. How do uncoupling proteins uncouple? *Biochim Biophys Acta*, **1459**: 383 - 389.
- Heldmaier G. 1971. Nonshivering thermogenesis and body size in mammals. *J Comp Physiol*, **73**: 222 - 248.
- Heldmaier G, Steinlechner S, Rafael J. 1982. Nonshivering thermogenesis and cold resistance during seasonal acclimatization in the Djungarian hamster. *J Comp Physiol B*, **149**: 1 - 9.
- Heldmaier G, Klaus S, Wiesinger H. 1990. Seasonal adaptation of the thermoregulatory heat production in small mammals. In: Bligh J, Voigt K eds. *Thermoregulation and temperature regulation*, Berlin: Springer press, 235 - 243.
- Hsieh A C L, Carlson L D. 1957. Role of adrenaline and noradrenaline in chemical regulation of heat production. *Am J Physiol*, **190**: 243 - 246.
- Jansky L. 1973. Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biol Rev*, **48**: 85 - 132.
- Klingenberg M, Echtay K S. 2001. Uncoupling proteins: the issues from a biochemist point of view. *Biochim Biophys Acta*, **1504**: 128 - 143.

- Li Q F, Sun R Y, Huang C X, Wang Z K, Liu X T, Hou J J. 2001. Cold adaptive thermogenesis in small mammals from different geographical zones of China. *Camp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, **129**: 949 - 961.
- Li X S, Wang D H. 2005. Regulation of body weight and thermogenesis in seasonally acclimatized Brandt's voles (*Microtus brandti*). *Home Behav*, **48** (3): 321 - 328.
- Merritt J. 1986. Winter survival adaptations of the short-tailed shrew (*Blarina brevicauda*) in an Appalachian montane forest. *J Mammal*, **67**: 450 - 464.
- Sellers E A, Scott J W, Thomas N. 1954. The thyroid gland and the liver mitochondrial proteinic electrochemical potential difference: a novel hormone action? *J Theor Biol*, **82**: 1 - 13.
- Wang D H, Sun R Y, Wang Z W, Liu J S. 1999. Effects of temperature and photoperiod on thermogenesis in plateau pikas (*Ochotona curzoniae*) and root voles (*Microtus oeconomus*). *J Comp Physiol B*, **169**: 77 - 83.
- Wang D H, Wang Z W, Wang Y S, Yang J C. 2003. Seasonal changes of thermogenesis in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) and Brandt's voles (*Microtus brandti*). *Camp Biochem Physiol*, **134** (Suppl 1) A: S96.
- Wunder B A, Gettinger R D. 1996. Effects of body mass and temperature acclimation on the nonshivering thermogenic response of small mammals. In: Geiser F, Hulbert A J, Nicol S C eds. Adaptations to the cold: Tenth international hibernation symposium, 131 - 139.
- Zhao Z J, Wang D H. 2005. Short photoperiod enhances thermogenic capacity in Brandt's voles. *Physiol Behav*, **85** (2): 143 - 149.

www.cnki.net