

DOI: 10.3969/j.issn.1000-7083.2014.03.024

高原鼢鼠对戊巴比妥钠的麻醉反应

崔雪峰^{1,2}, 林恭华¹, 张同作^{1*}, 苏建平^{1*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为了解高原鼢鼠 *Eospalax baileyi* 对植物次生代谢物的解毒能力, 比较分析了戊巴比妥钠对高原鼢鼠和高原鼠兔 *Ochotona curzoniae* 产生的麻醉时间, 及连续注射戊巴比妥钠对实验室内高原鼢鼠麻醉时间的影响过程。研究显示, 在野外状态下, 雌、雄高原鼢鼠的麻醉时间分别为 134.23 min ± 27.73 min 和 121.14 min ± 35.23 min, 雌、雄高原鼠兔的麻醉时间分别为 90.92 min ± 31.10 min 和 116.37 min ± 37.13 min。统计分析表明, 高原鼢鼠的麻醉时间显著长于高原鼠兔 ($P < 0.05$), 意味着高原鼢鼠的解毒能力弱于高原鼠兔, 这可能与有毒植物在高原鼠兔食物中所占比例较大有关。在实验室条件下, 雌、雄高原鼢鼠麻醉时间均有明显的波动, 显示麻醉剂对高原鼢鼠的解毒能力有一定的诱导作用。此外, 雌、雄高原鼢鼠之间麻醉时间的变化过程差别较大, 这可能与两种性别的高原鼢鼠个体对新环境的应激行为明显不同有关。

关键词: 高原鼢鼠; 戊巴比妥钠; 麻醉时间; 植物次生代谢物; 解毒能力

中图分类号: Q959.837 文献标志码: A 文章编号: 1000-7083(2014)03-0445-04

Anaesthetic Response of *Eospalax baileyi* to Pentobarbital Sodium

CUI Xuefeng^{1,2}, LIN Gonghua¹, ZHANG Tongzuo^{1*}, SU Jianping^{1*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In order to investigate the detoxification ability of plateau zokor (*Eospalax baileyi*), this study compared the anesthetic time of plateau zokor and plateau pika (*Ochotona curzoniae*) after treated by pentobarbital sodium for 14 days. The results showed that the anesthetic time of female and male zokors were 134.23 min ± 27.73 min and 121.14 min ± 35.23 min, respectively, and the anesthetic time of female and male zokors were 90.92 min ± 31.10 min and 116.37 min ± 37.13 min, respectively. Statistical analyses showed that the anesthetic time of the zokors were significantly longer than that of pikas. Under laboratorial condition, the anesthetic time of both sexes fluctuated among different time points (days), indicating that the anesthetic time of the zokors could be influenced by pentobarbital sodium treating. Moreover, the change processes of anesthetic time were significantly varied between female and male zokors, which might be due to the distinct behavior responses of female and male zokor individuals (i.e. the trapped males were more nervous than females).

Key words: *Eospalax baileyi*; pentobarbital sodium; anesthetic time; plant secondary metabolites; detoxification ability

地下啮齿类 (subterranean rodents) 是指大部分时间生活在地下洞道之中并且已经适应了地下环境的一类特殊的啮齿动物 (Lacey *et al.*, 2000)。全世界约有 250 种, 隶属于 6 科 38 属, 除大洋洲和南极洲之外的所有大陆都有广泛分布 (Begall *et al.*, 2007)。地下啮齿类的取食大多在洞道中完成, 与地上动物相比, 取食范围严重受限, 能耗较大。因此, 地下啮齿动物的进化常常伴随着对地下有限食物资源的适应, 尤其是对植物次生代谢物 (plant secondary metabolites, PSM) 的适应。地下啮齿动物面对有

限的食物资源, 被迫取食更多样的植物种类 (Heth *et al.*, 1989), 导致摄入大量 PSM, 因此, 抵御 PSM 的毒害成为其关键进化适应问题 (张堰铭, 2000)。细胞色素 P450 氧化酶基因家族的表达产物 P450 氧化酶 (P450) 是生物体内参与毒物代谢的关键因素 (Ioannides, 2008), 同样, P450 也参与进入生物体内 PSM 的代谢。运用生物化学和分子生物学等技术手段可以帮助研究 P450 氧化酶在地下啮齿类中对 PSM 的响应机制, 从而系统了解这类动物如何在生理生化水平对食物中 PSM 的进化适应。

收稿日期: 2013-10-16 接受日期: 2014-02-19 基金项目: 国家自然科学基金项目 (31372197, 31370405)

作者简介: 崔雪峰 (1988 ~), 男, 硕士研究生, 主要从事动物生态学研究

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhangtz@nwipb.cas.cn; jpsu@nwipb.ac.cn

高原鼯鼠 *Eospalax baileyi* 隶属于啮齿目 Rodentia 鼯形鼠科 Spalacidae 鼯鼠亚科 Myospalacinae 凸颅鼯鼠属 *Eospalax* (Norris *et al.*, 2004; Wilson & Reeder 2005)。主要分布于海拔 2800 ~ 4200 m 的山地、农田、草甸草原等生境类型,为青藏高原特有的高度适应地下生活的鼠种(张堰铭,刘季科,2002)。高原鼯鼠主要取食委陵菜 *Potentilla* spp.、风毛菊 *Saussurea* spp.、蓼 *Polygonum* spp. 等杂类草(王权业,2000; Xie *et al.*, 2013),这些杂类草含有丰富的单宁、黄酮、萜类、生物碱等 PSM(王红兵,秦国伟,2005; 梁波,张小丽,2008; 李利英等,2008),都有可能对高原鼯鼠的有机体造成不利影响。而高原鼯鼠在长期进化过程中,势必需要建立有效的 P450 解毒体系,以解除或减少这些 PSM 的毒害。

巴比妥类化合物是一类作用于中枢神经系统的镇静剂,属于巴比妥酸的衍生物,可应用于动物的轻度镇静和完全麻醉。同 PSM 一样,巴比妥类化合物在动物体内也是 P450 氧化酶的重要作用底物(Hansch *et al.*, 1990),动物麻醉状态持续时间的长短在一定程度上取决于麻醉剂在动物体内被 P450 清除的速率。因此,有的学者用巴比妥类对动物的麻醉持续时间长短来估计草食哺乳动物的解毒能力(Dearing, 2006)。本研究借鉴这一思路,利用戊巴比妥钠对高原鼯鼠的麻醉时间,分析其体内 P450 的解毒能力。通过比较高原鼯鼠和高原鼠兔 *Ochotona curzoniae* (与高原鼯鼠同域分布的地上小哺乳动物,是青藏高原地面小型草食哺乳动物的代表物种)的麻醉时间,推测高原鼯鼠的总体解毒能力;同时,通过高原鼯鼠不同时间点的连续注射,分析戊巴比妥钠本身对高原鼯鼠 P450 的诱导作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

高原鼯鼠于 2012 年 6 月在青海省大通县境内(37°8'N, 101°8'E, 海拔 3500 m)捕获,高原鼠兔于 2012 年 7 月在青海省门源县境内(37°48'N, 101°16'E, 海拔 3500 m)捕获。高原鼯鼠的捕捉方法为作者发明的活捕箭法(专利: ZL201120429596.9),高原鼠兔则用绳套法捕捉,两种方法对动物都不会造成损伤。捕捉后将动物单独放在塑料盒中(35 cm × 25 cm × 20 cm)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验一 比较高原鼯鼠和高原鼠兔对戊巴

比妥钠的麻醉反应。捕捉的动物待其安静后,记录每一只动物的性别、体重(精确到 0.01 g)及其他相关信息。用准备好的 3% 戊巴比妥钠(Merck)溶液,按照 70 mg/kg(能将所有动物都麻醉的最低浓度)的剂量进行腹腔注射,并将注射结束的时刻记为 t_0 。几分钟后,动物四肢不能支撑起身体,即进入麻醉状态,该时刻记为 t_1 ;再经过一段时间后恢复知觉,此时动物可以用四肢支撑起身体,该时刻记为 t_2 ,这样便可以测得每一只动物的麻醉时间 $T = t_2 - t_1$ 。

1.2.2 实验二 实验室驯化对高原鼯鼠戊巴比妥钠代谢的影响。

将实验一中在野外测得麻醉时间(该值记为第 0 天的数据)的高原鼯鼠编号带回实验室饲养,维持室内温度 $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$,昼长 14 h,投喂大小鼠维持饲料、甘蓝以及饮用水。在随后的第 3 天、第 7 天和第 14 天再依次重复对这些高原鼯鼠腹腔注射 3% 戊巴比妥钠,并测得每一只高原鼯鼠在相应天数的麻醉时间数据。

1.3 数据统计

采用 SPSS 19.0 统计软件包进行数据处理。在实验一中采用物种间和性别间的双因素方差分析和物种间的单因素方差分析进行数据处理。对于实验二的数据,首先采用单因素方差分析,比较性别之间麻醉时间差异;尔后采用配对样本 t 检验,比较两两时间点之间的麻醉时间差异。数据以平均值 \pm 标准差表示(Mean \pm SD)。值得一提的是,在实验二中,在 14 d 的持续实验期内部分个体死亡,因此只对实验结束后仍然存活的个体进行分析。

2 结果

实验一涉及 20 只高原鼯鼠(雄性 7 只,雌性 13 只)和 21 只高原鼠兔(雄性 8 只,雌性 13 只)。雄性、雌性高原鼯鼠的平均体重分别为 $363.08 \text{ g} \pm 71.60 \text{ g}$ 和 $236.39 \text{ g} \pm 41.84 \text{ g}$,麻醉时间分别为 $121.14 \text{ min} \pm 35.23 \text{ min}$ 和 $134.23 \text{ min} \pm 27.73 \text{ min}$;雄性、雌性高原鼠兔的平均体重分别为 $138.67 \text{ g} \pm 25.54 \text{ g}$ 和 $136.91 \text{ g} \pm 22.77 \text{ g}$,麻醉时间分别为 $116.37 \text{ min} \pm 37.13 \text{ min}$ 和 $90.92 \text{ min} \pm 31.10 \text{ min}$ 。双因素方差分析($df = 1$)显示,性别之间的麻醉时间无显著性差异($F = 0.354, P = 0.556$),物种与性别交互作用也无显著差异($F = 3.436, P = 0.072$),而物种之间存在显著差异($F = 5.347, P = 0.026$)。由于性别的作用不明显,为了突出物种之间的差别,我们同时将各物种的雌雄数据合并,然后做物种间的

单因素方差分析。结果显示,两物种之间的麻醉时间差异极显著 ($F = 8.033, P = 0.007$),即戊巴比妥钠作用于高原鼢鼠的麻醉时间显著长于高原鼠兔(图 1)。

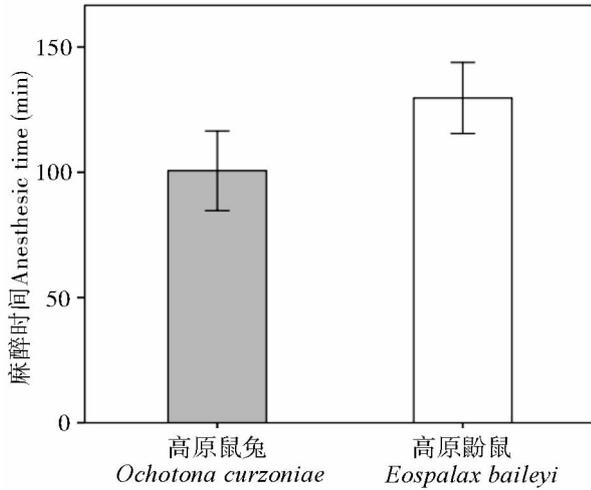


图 1 高原鼠兔和高原鼢鼠在麻醉时间上的比较
Fig. 1 The comparison between *Ochotona curzoniae* and *Eospalax baileyi* in anesthetic time

实验二涉及 16 只高原鼢鼠,其中雄性 4 只,雌性 12 只。分析结果显示,雌、雄高原鼢鼠的麻醉时间变化规律很不相同,具体数据在表 1 中列出。对每个时间点的单因素方差分析结果显示,在第 7 天,雌雄鼢鼠之间的麻醉时间有显著差异 ($F = 4.996, P = 0.042$),其他 3 个时间点性别之间无显著差异。配对样本 t 检验的结果显示,对于雄性鼢鼠,第 7、14 天的麻醉时间显著高于第 0 天 ($P < 0.05$),第 3 天接近显著高于第 0 天 ($P = 0.058$),其他时间点之间无显著差别;对于雌性鼢鼠,第 0 天和第 7 天之间 ($P = 0.047$)、第 7 天和第 14 天之间有显著差别 ($P = 0.022$),而其他时间点之间无显著差异。

表 1 高原鼢鼠在第 0、3、7、14 天的麻醉时间

试验天数 (Day)	麻醉时间 (min)	
	Male	Female
0	107.00 ± 23.31	133.58 ± 28.86
3	187.75 ± 73.38	144.83 ± 52.57
7	169.25 ± 52.68	109.42 ± 44.48
14	150.75 ± 31.56	137.75 ± 27.88

3 讨论

本研究的第一部分实验显示,戊巴比妥钠对高原鼢鼠产生的麻醉时间显著长于高原鼠兔,表明高原鼢鼠对戊巴比妥钠的解毒能力弱于高原鼠兔。这在一定程度上说明高原鼢鼠应对 PSM 的能力弱于

高原鼠兔。对于高原鼢鼠的食性,目前较为详细的研究有 2 个。王权业等(2000)通过胃内容物法研究显示,高原鼢鼠取食频次较高的植物为鹅绒委陵菜 *Potentilla anserina*、直立梗唐松草 *Thalictrum alpinum* 等杂类草(王权业等 2000);而 Xie 等(2013)通过对冬季粮仓的分析发现,高原鼢鼠主要取食珠芽蓼 *Polygonum viviparum*、异叶米口袋 *Gueldenstaedtia diadymifolia* Maxim 等杂草。这些植物所含次生化合物较多,但主要以酚类物质为主,并非毒草类。与此同时,高原鼢鼠也取食瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme*、甘肃棘豆 *Oxytropis kansuensis* 等毒草,但其在粮仓中的比例都不足 5%,远少于其主要食物珠芽蓼(49.06%)(Xie et al., 2013)。对高原鼠兔的食性研究表明,其主要取食垂穗披碱草 *Elymus nutans*、黄花棘豆 *Oxytropis ochrocephala* (蒋志刚,夏武平,1985)。前者是优良牧草,而后者却是重要的毒草(史志诚,1997)。值得注意的是,高原鼠兔对黄花棘豆的利用频率可达其栖息地内所有植物的 17.51%,略低于其利用频率最高的垂穗披碱草(21.93%)。由此可见,高原鼠兔对毒草的利用频率高于高原鼢鼠,这可能是造成其麻醉时间显著低于高原鼢鼠的直接原因。高原鼢鼠长期穴居于地下,导致其倾向于取食珠芽蓼和鹅绒委陵菜这类地下部分肥大的植物,而高原鼠兔在地面采食,喜食地上部分比例较高的垂穗披碱草和黄花棘豆这类植物。因此,高原鼢鼠的食性特征导致其解毒能力低于高原鼠兔,本质上是与其特殊的地下生活方式相关联的。

从实验二的结果来看,高原鼢鼠在不同时间段的麻醉时间确实存在波动。雄性高原鼢鼠在第 3 天麻醉时间上升,尔后缓慢下降,但在第 7、14 天也显著高于第 0 天。第 3 天的麻醉时间上升,可能与高原鼢鼠刚进入实验室环境后的不适应有关。我们的观察显示,在捕获后的前 3 天左右,雄性高原鼢鼠的应激行为比雌鼠高得多,表现出激烈的反抗行为(咬笼子、打斗、拒食等)。我们推测,雄鼠的应激行为导致其体能下降,体内的 P450 解毒能力(酶合成不足)也随之下降;而 3 d 后,雄鼠的应激行为逐渐减弱,体能也逐渐恢复,其解毒能力也逐渐增强。雌性鼢鼠的麻醉时间变化与雄性差异很大。第 3 天与第 0 天的麻醉时间差异不大,这可能与其相对比较温顺有关。第 7 天的麻醉时间显著低于第 0 天,意味着解毒能力显著提高,推测是前面两次戊巴比妥钠

的注射,上调了相关 P450 蛋白的表达量。第 14 天的麻醉时间又升高到与第 0 天接近的水平,显示戊巴比妥钠的上调作用可以在一周之内被解除。高原鼢鼠具有显著的性二型特征,雄性个体明显比雌性强壮,在行为上表现得更为凶猛。我们认为,雌、雄鼢鼠在 P450 的含量及响应规律上也会有较大差别,最终导致其对麻醉处理表现出不同的变化特征。

4 参考文献

- 蒋志刚,夏武平. 1985. 高原鼠兔食物资源利用的研究[J]. 兽类学报,5(4): 251-262.
- 李利英,邓瑞雪,刘普,等. 2008. 委陵菜属植物的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国现代中药,(9): 3-6,29.
- 梁波,张小丽. 2008. 珠芽蓼的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中国现代中药,(5): 8-9.
- 史志诚. 1997. 中国草地重要有毒植物[M]. 北京: 中国农业出版社: 45-66.
- 王红兵,秦国伟. 2005. 风毛菊属植物的化学成分和生物活性[J]. 国外医药(植物药分册),(2): 47-52.
- 王权业,张堰铭,魏万红,等. 2000. 高原鼢鼠食性的研究[J]. 兽类学报,20(3): 193-199.
- 张堰铭,刘季科. 2002. 高原鼢鼠挖掘对植物生物量效应及其反应格局[J]. 兽类学报,22(4): 292-298.
- 张堰铭. 2000. 动物与植物相互作用格局的研究: 高原鼢鼠对高寒草甸生态系统生物地球化学循环的作用及其对植物化学防卫应答的反应[D]. 北京: 中国科学院研究生院.
- Begall S, Burda H, Schleich CE. 2007. Subterranean Rodents: News from Underground[J]. Berlin: Springer: 3-9.
- Dearing MD, Skopec MM, Bastiani MJ. 2006. Detoxification rates of wild herbivorous woodrats (*Neotoma*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 145(4): 419-422.
- Hansch C, Sinclair JF, Sinclair PR. 1990. Induction of Cytochrome P450 by Barbiturates in Chick Embryo Hepatocytes: A Quantitative Structure-Activity Analysis [J]. Quantitative Structure-Activity Relationships, 9(3): 223-226.
- Heth G, Golenberg EM, Nevo E. 1989. Foraging strategy in a subterranean rodent, *Spalax ehrenbergi*: a test case for optimal foraging theory [J]. Oecologia, 79(4): 496-505.
- Ioannides C. 2008. Cytochromes P450 Role in the Metabolism and Toxicity of Drugs and other Xenobiotics [M]. Cambridge: Royal Society of Chemistry Publishing.
- Lacey EA, Patton J, Cameron G. 2000. Life Underground: the Biology of Subterranean Rodents [M]. Chicago: University of Chicago Press: 1-40.
- Norris RW, Zhou KY, Zhou CQ, et al. 2004. The phylogenetic position of the zokors (*Myospalacinae*) and comments on the families of muroids (*Rodentia*) [J]. Mol Phylogenet Evol, 31(3): 972-978.
- Wilson DE, Reeder MD. 2005. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference (3rd ed) [M]. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Xie JX, Lin GH, Liu CX, et al. 2013. Diet selection in overwinter caches of plateau zokor (*Eospalax baileyi*) [J]. Acta Theriologica, DOI 10.1007/s13364-013-0168-3(online).