

第3届全国博士后生命科学学术论坛(中国博士后科学基金会,中国农业大学,2005年)

藏鸡高海拔适应与肺组织 NOS 活力的研究

张浩¹ 吴常信¹ 强巴央宗² 凌遥¹ 罗章²

(1. 中国农业大学 动物科技学院,北京 100094; 2. 西藏农牧学院 畜牧兽医系,西藏 林芝 860000)

摘要 为研究藏鸡高海拔适应机制,本试验测定了藏鸡和低地鸡种在高海拔环境饲养时的右心指数,分析了海拔和品种对鸡肺组织一氧化氮合酶(NOS)活力的影响。结果表明在高海拔环境中,藏鸡的右心指数平均为22.91%,在正常范围内;而对照的矮小隐性白(D)和寿光鸡(S)右心指数分别为28.80%和29.89%,表现不同程度的右心增大;藏鸡肺组织NOS活力明显高于低地鸡,特别是在高海拔环境中差异更加显著,比低地鸡高35%~118%。藏鸡NOS活力较高可能是藏鸡在高海拔环境右心指数保持正常的原因,是高海拔适应生理特征之一。

关键词 藏鸡;高海拔;适应性;一氧化氮合酶NOS

中图分类号 S811.2

文章编号 1007-4333(2006)01-0035-04

文献标识码 A

Adaptability to high altitude and NOS activity of lung in Tibetan chicken

Zhang Hao¹, Wu Changxin¹, Chamba Yangzom², Ling Yao¹, Luo Zhang²

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. College of Agriculture and Animal Husbandry, Tibet University, Linzhi 860000, China)

Abstract For researching the mechanism of adaptability to high altitude in Tibetan chicken, the right heart indexes at high altitude were measured, and the effects of altitudes and breeds on NOS activity of lung were analyzed. The results indicated that the right heart index of Tibetan chicken was 22.91 percent within normal values, but the control groups of Dwarf Recessive White (D) and Shouguang (S) were 28.80 and 29.89 percent respectively and hypertrophy of right heart occurred. The NOS activity of Tibetan chicken was higher than that of lowland chickens, and the difference was more significant at high altitude especially, and in which the Tibetan chicken was higher than lowland chickens by percent of 35 to 118. The higher NOS activity would contribute that Tibetan chicken was resistive to highland pulmonary hypertension and right ventricle hypertrophy, and have good adaptability to high altitude.

Key words Tibetan chicken; high altitude; adaptability; NOS

藏鸡是高海拔地区经过长期自然选择和人工驯养的原始地方鸡种,是世界上在高海拔生活历史最久的鸡种,对高海拔低压、低氧、严寒等恶劣气候环境有良好的适应性,种蛋在高海拔孵化率可达80%左右^[1]。而低地鸡种引进到西藏后,往往由于缺氧引起不同程度的高山反应,特别是呼吸和循环系统机能发生困难,影响正常的生长发育和繁殖,严重时危及生命;且低地鸡蛋在西藏地区的孵化率只有30%左

右。由于藏鸡具有独特的高原适应性遗传特性,因此是研究低氧生理和遗传机制的良好模式动物。

高海拔低压低氧环境会引起肺动脉高压^[2],从而导致右心指数增加,甚至发生腹水综合症^[3]。但高山动物在低氧的诱导下,一氧化氮合酶(NOS)活性和NO含量增加^[4]。NO作为血管扩张物,能防止组织缺氧引起的肺动脉高压,改善动脉摄氧能力,有利于动物对高原低氧环境的适应^[5]。Koizumi等

收稿日期:2005-12-06

基金项目:教育部科学技术重大项目资助(10404)

作者简介:张浩,博士后,现在安徽省农业科学院畜牧兽医研究所工作,E-mail:zhanghao827@163.com;

吴常信,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事家禽遗传育种研究,E-mail:lingzi@cau.edu.cn

向藏绵羊体内注射非选择性 NOS 抑制剂 Nw-nitro-L-arginine (NLA, 20 mg/kg), 证明了藏绵羊内源性 NO 增加可以缓解肺动脉高压, 是其适应高海拔 (3 750 m) 的机制之一^[6]。但目前未见鸟类 NO 和 NOS 对高海拔低氧适应作用的报道, 本研究旨在探讨藏鸡肺组织内 NOS 活性与高海拔适应的关系, 为动物高海拔适应生理和遗传机制研究、开发利用藏鸡资源和发展高原畜牧业提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料和地点

试验材料为藏鸡(高原适应地方品种), 由西藏大学农牧学院教学实习牧场提供。对照品种选择 2 个, 1 个为低地引进并培育的肉用品种矮小隐性白鸡(D), 另 1 个为我国低地地方品种寿光鸡(S); 2 者均由中国农业大学实验种鸡场提供。高海拔试验在西藏林芝进行, 当地海拔 2 900 m 左右, 代表高海拔气候环境; 对照鸡种空运至试验地点, 与藏鸡种蛋同时孵化和饲养。低海拔试验在北京进行, 当地海拔 100 m 左右, 代表低海拔气候环境; 所有种蛋同时孵化和饲养。

1.2 试验方法

1) 右心指数测定。在鸡出雏及 2、6 和 10 周龄时, 每组随即抽取 10 只, 放血后解剖, 分离完整的心脏, 用滤纸吸去残余血液后称重。将称重后的心脏沿冠状沟剪去心房, 称取全心室重量; 然后沿前后沟

剪下右心室, 称重。利用公式计算右心指数, 也称腹水心脏指数^[7]:

$$\text{右心指数} = \frac{\text{右心室重}}{\text{全心室重}} \times 100\%$$

2) 肺组织一氧化氮合酶(NOS)测定。取新鲜肺组织, 在低温环境中制备成 10% 的组织匀浆, 测定一氧化氮合酶(NOS)活力, 试剂盒购自南京建成生物制品有限公司, 按试剂盒说明方法进行测定。蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定。

3) 统计方法。采用最小二乘法分析各因素对观察值的影响效应及交互, 并对最小二乘均值进行差异显著性检验(多重比较), 运用 SAS8.02 软件 GLM 程序进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 右心指数

高海拔环境饲养的鸡右心指数(表 1)经方差分析可见, 品种和周龄均明显影响鸡个体的右心指数, 且品种和周龄间也存在交互效应, 均达到极显著水平($P < 0.0001$)。藏鸡的平均右心指数最低, 为 22.91%, 显著低于对照 D 和 S ($P < 0.0001$) 的 28.80% 和 29.89%, D 和 S 差异不显著 ($P > 0.05$); 从周龄对右心指数的影响分析中可知, 在 0 日龄和 2 周龄时, 右心指数较小, 分别为 25.13% 和 24.96%, 二者差异不显著 ($P > 0.05$), 但 6 周龄和 10 周龄时鸡的右心指数显著升高 ($P < 0.0001$)。

表 1 高海拔环境鸡群右心指数比较

Table 1 Right heart indexes of chickens at high altitude

品种组别	出雏 (n)	2 周龄 (n)	6 周龄 (n)	10 周龄 (n)
藏鸡 T	23.18 ± 3.205 0 a (14)	22.46 ± 2.947 6 a (13)	23.50 ± 2.411 2 a (10)	22.49 ± 2.262 9 a (12)
矮小隐性白 D	24.93 ± 3.257 0 ab (12)	24.46 ± 2.310 9 b (12)	32.00 ± 2.802 9 b (10)	33.80 ± 2.325 7 b (12)
寿光鸡 S	26.95 ± 2.543 7 b (10)	26.91 ± 2.098 0 c (10)	31.80 ± 2.482 8 b (10)	33.89 ± 2.580 6 b (12)

注: 同列内肩标无相同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

藏鸡在 4 个周龄阶段, 右心指数基本一致, 无显著变化 ($P > 0.05$); D 和 S 的 0 日龄和 2 周龄时的右心指数也无明显变化 ($P > 0.05$), 但 6 周龄和 10 周龄时显著增高 ($P < 0.0001$)。

10 周龄时不同性别鸡的右心指数(表 2)经方差分析可知, 性别影响效应不显著 ($P > 0.05$)。这说明影响鸡在高海拔环境是否出现右心肥大的因素主要是鸡品种的遗传特性, 性别间没有明显差别。

2.2 肺组织 NOS

在高海拔环境中, 鸡肺组织 NOS 活力(表 3)经方差分析显示, 显著受品种和周龄影响 ($P < 0.0001$), 交互效应不显著 ($P > 0.05$)。藏鸡的 NOS 活力最高, 显著高于低地鸡 ($P < 0.0001$), 而低地鸡 D 和 S 之间差异不显著 ($P > 0.05$)。在出生时, 藏鸡 NOS 活力比 D 和 S 分别高 113% 和 118%, 2 周龄时高 102% 和 69%, 6 周龄时高 101% 和 48%, 10 周龄时

高 36 % 和 35 %。

为了对比不同海拔环境对鸡肺组织 NOS 活力, 测定了 10 周龄时北京和西藏饲养的试验鸡, 测定值 (图 1) 方差分析可知, NOS 活力明显受海拔、品种以及海拔与品种的互作影响 ($P < 0.01$)。高海拔环境中藏鸡和对照鸡肺组织 NOS 活力均明显高于低海

表 2 高海拔环境 10 周龄鸡群右心指数 %

Table 2 Right heart indexes of 10-week chickens at high altitude

性别	藏鸡 T(n)	矮小隐性白 D(n)	寿光鸡 S(n)
F	22.29 ± 2.17a(6)	35.40 ± 2.13b(6)	34.43 ± 2.73b(6)
M	22.70 ± 2.59a(6)	32.19 ± 1.09b(6)	33.36 ± 2.60b(6)

表 3 高海拔环境中鸡肺组织一氧化氮合酶活力

Table 3 Lung NOS activity of chickens at high altitude

U/mg·prot

品种组别	出雏 (n)	2 周龄 (n)	6 周龄 (n)	10 周龄 (n)
藏鸡 T	2.22 ± 0.46 a (14)	2.30 ± 0.54 a (13)	2.67 ± 0.42 a (10)	2.31 ± 0.28 a (12)
矮小隐性白 D	1.04 ± 0.30 b (12)	1.14 ± 0.38 b (12)	1.33 ± 0.23 b (10)	1.70 ± 0.30 b (12)
寿光鸡 S	1.02 ± 0.30 b (10)	1.36 ± 0.42 b (10)	1.60 ± 0.40 b (10)	1.71 ± 0.23 b (12)

拔环境中相应品种 ($P < 0.0001$)。藏鸡在高和低海拔环境中, NOS 活力均最高, 与 2 个低地品种差异显著 ($P < 0.05$), 尤其在低海拔, 与对照鸡差异达极显著水平 ($P < 0.0001$)。

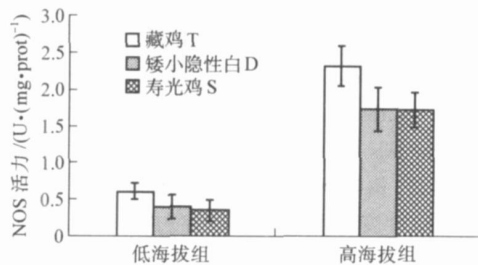


图 1 不同海拔环境中 10 周龄鸡肺 NOS 活力比较

Fig. 1 Lung NOS activity of 10-week chickens at different altitude

3 讨论与小结

高海拔肺动脉高压引起的右心肥大为生理性代偿机制, 有利于肺血灌注, 但右心肥大超过一定的限度即为病理性变化, 会发生高原性心脏病或“兽胸病”。这一现象在平原移入高原动物, 特别在平原急进高原动物表现明显。本研究中, D 和 S 2 个低地鸡在高海拔环境生长右心指数均有所增加, 说明出现了不同程度的右心增生。Julian 提出正常鸡的右心指数小于 25%; 25.0% ~ 29.9% 为中度右心肥大; 大于 29.9% 为严重右心肥大^[8]。藏鸡右心指数在各周龄阶段均小于 25%, 在正常范围内; 这说明藏鸡在 2900 m 海拔地区肺动脉高压反应并不明显, 表现良好的适应性。但对照鸡 D 和 S 的右心指数超过了 25%, 且随着周龄的增长, 右心指数有逐

渐升高的趋势; 特别是 S, 刚出雏右心指数已经达到了 26.95%, 10 周龄时达 33.89%。这与 Burton 等^[9]报道一致, 他们指出在高海拔孵化刚出雏的鸡右心指数就较高, 已经出现了低氧代偿性反应。但多数对低氧引起右心肥大的研究报道是哺乳动物, 如陈颖等报道^[10], 间断低氧 6 周使大鼠肺动脉高压性结构重建, 右心肥厚, 右心指数从 18.04% 升高至 41.12%。阮宗海等也报道^[11], 大鼠右心指数随海拔升高而明显增加, 但高原鼠兔右心指数无显著变化。本研究可见在藏鸡也存在同样的高海拔适应性反应, 右心指数较低是其适应高海拔环境的重要特征之一; 低地鸡, 无论是肉用品种 D 还是国内地方品种 S, 进入高海拔环境以后均会出现右心指数增加。

在肺组织内 NO 有重要的生理功能, 在正常肺循环中, NO 使血管扩张, 避免血小板粘附, 控制平滑肌生长, 影响胞外基质的组成^[12]。在低氧环境时, NO 可以抑制血管平滑肌细胞增殖^[13], 扩张血管^[5], 改善动脉摄氧能力, 缓解肺动脉高压形成和右心增生。但 NO 是很不稳定的小分子物质, 在组织内半衰期仅数秒^[14]。NO 由 L-精氨酸和 O₂ 在一氧化氮合酶 (NOS) 及其辅助因子作用下生成的。NOS 作为 NO 生成关键的限速因子, 对其生物学功能的发挥起着重要作用。动物经低氧习服后, NOS 活性明显改善^[15]。王晓勤等报道^[4], 高原鼠兔血清 NOS 活性和 NO 含量比移居高海拔 30 d 的大鼠高。本研究发现藏鸡和低地鸡, 生活在高海拔环境比生活在低海拔肺组织 NOS 活性明显增加; 但无论在低海拔还是在高海拔时, 藏鸡 NOS 活力都比

低地鸡高;尤其在高原,差异更加明显。这可能就是藏鸡在高原不易发生肺动脉高压和右心肥大的原因之一,表现较好的高原适应性。然而,藏鸡如何在高原环境增加 NOS 活力,需进一步从 NOS 基因的表达调控和低氧信号传导研究其分子遗传机制。

参 考 文 献

- [1] 张浩,吴常信,强巴央宗,等. 高海拔孵化鸡胚死亡曲线分析[J]. 中国农业大学学报,2005,10(4):109-114
- [2] Wideman R F, Erf G F. Intravenous micro-particle injection and pulmonary hypertension in broiler chickens: Cardio-pulmonary hemodynamic responses [J]. *Poult Sci*, 2002, 81: 877-886
- [3] 刘健华,梁礼成,金久善. 缺氧、肺动脉高压、心脏功能与肉鸡腹水综合症的关系[J]. 中国兽医学报,2003, 23(5):483-486
- [4] 王晓勤,王占刚,陈秋红,等. 慢性缺氧大鼠肺血管结构与一氧化氮的变化[J]. 高原医学杂志,2001,11(2):5-8
- [5] Pariente R. Nitric oxide [J]. *EMC-Pneumologie*, 2004, 1: 37-39
- [6] Koizumi T, Ruan Z, Sakai A, et al. Contribution of nitric oxide to adaptation of Tibetan sheep to high altitude [J]. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2004, 140: 189-196
- [7] Diaz G J. Cobalt-induced polycythaemia causing right ventricular hypertrophy and ascites in meat-type chickens [J]. *Avian Pathology*, 1994, 23: 91-104
- [8] Julian R J. The effect of increased sodium in the drinking water on right ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites in broiler chickens [J]. *Avian Pathol*, 1987, 16: 61-71
- [9] Burton R R, Smith A H. Induction of cardiac hypertrophy and polycythemia in the developing chicken at high altitude [J]. *Federation Proc*, 1969, 28: 1170-1177
- [10] 陈颖,阮英茆,李莉,等. 大鼠慢性缺氧性肺动脉高压中肺小动脉血红素氧合酶-1与内皮型一氧化氮合酶的变化[J]. 中国循环杂志,2003,18(1):61-63
- [11] 阮宗海,陈华伟,魏春英,等. 不同海拔高原鼠兔、大白鼠血红蛋白电泳及血液学对比观察[J]. 高原医学杂志,1997,7(4):18-22
- [12] Adnot S, Raffestin B, Eddahibi S. NO in the Lung [J]. *Respir Physiol*, 1995, 101: 109-120
- [13] Gary U C, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells [J]. *J Clin Invest*, 1989, 83: 1774-1777
- [14] Kazuo K, Yukio H, Taihei I, et al. Induction of nitric oxide synthase gene by interleukin in vascular smooth muscle cells [J]. *Hypertension*, 1993, 22: 34
- [15] 谢印芝,杨曦明,马子敏,等. 低氧大鼠脑、肺组织 NO、NOS 变化及其机理研究[J]. 高原医学杂志, 2000,10(1):4-6