

西农萨能奶山羊发情周期中外周血浆孕酮水平的变化

李 权 武*

(西北农学院畜牧兽医系研究生)

指导教师 王建辰教授

摘 要

应用放射免疫法对 6 只西农萨能奶山羊发情周期中外周血浆孕酮水平进行了测定。发情期(0—1 天, 发情=0 天, 发情周期=21 天)孕酮水平最低, 平均值为 $0.31 \pm 0.11 \text{ ng/ml}$ 。黄体期孕酮水平升高, 发情后第 5—19(—2) 天维持较高水平, 平均值的变动范围为 1.93 ± 0.86 — $5.45 \pm 1.36 \text{ ng/ml}$, 发情后第 10—15 天达到峰值, 平均峰值为 $5.45 \pm 1.39 \text{ ng/ml}$ 。发情后 17—19 天(下次发情前 2—4 天)孕酮水平降低, 发情前 1 天降低到 1 ng/ml 左右。

黄体是暂时性内分泌器官, 其产生的孕酮与发情、妊娠的建立和维持以及分娩均有密切关系。近十多年来, 由于测定技术的迅速进展, 应用竞争蛋白结合法、放射免疫法和放射受体法可以精确地测定家畜血液孕酮水平。已经证明, 外周血液孕酮水平与黄体功能的变化是一致的, 因此可以作为家畜繁殖生理和繁殖病理的重要指标之一, 用于监控母畜的繁殖情况。

家畜、家禽及野生哺乳动物发情周期中外周血液孕酮水平国外已有详细报道。国内曾国庆等(1980)报道了湖羊和三北羊以及宁夏滩羊发情周期中外周血清孕酮含量的变化^(7,8)。但奶山羊发情周期中血液孕酮水平的变化国内至今未见报道。

西农萨能奶山羊是西北农学院选育的优良高产乳用山羊。为了研究与繁殖生理有关的激素变化, 给繁殖技术的改进(特别是早期妊娠诊断)和繁殖病理的诊断及治疗提供依据, 本实验对其发情周期中外周血浆孕酮水平进行了测定。

材 料 和 方 法

(一) 动物及采样

从西北农学院畜牧站经产西农萨能奶山羊群中随机抽取 6 只发情母羊, 经检查确认

*本试验在测定时承蒙段恩奎同志协助工作, 中国科学院动物研究所内分泌研究室和上海十二药厂赠送了部分试剂, 谨表感谢。

健康,无生殖系统疾病,发情表现明显。按常规饲养管理。每天早晨和下午观察发情情况,并用种公羊试情。6只奶山羊的号数、出生日期、胎次、发情周期的日期及天数如表1所示。

采样从1980年9月14日开始,到10月8日结束,此时正值发情配种旺季。检出发情母羊后,从发情的当天到下次发情开始,每天早晨挤乳前(7.30'—8.30')从颈静脉穿刺采血5毫升,用肝素作抗凝剂,置冰壶冷却后离心分离血浆(3500转/分,10分钟),血浆样品贮存在-20℃低温冷箱待测。

(二) 仪器及试剂

FJ-353双道液体闪烁计数器:国营西安二六二厂1977年6月产品。

[1、2、6、7]³H孕酮:上海原子核研究所1977.4.25产品,比放射活性80居里/毫克分子。

标准孕酮:上海十二药厂,批号73—11—22。

孕酮抗体:中国科学院动物研究所内分泌研究室赠送。交叉反应数值:孕酮100%,17 α 羟孕酮0.25%,11 α 羟孕酮<50%,雄烯二酮<0.02%,睾酮0.13%。

其它试剂均为分析纯或化学纯。

(三) 测定方法

孕酮的放射免疫测定是按中国科学院动物研究所内分泌研究室修改的Furr方法进行的,根据本实验室的具体条件,对个别细节稍加改变。其过程如下:

取0.2毫升血浆,加2毫升石油醚提取,冰冻后每管吸提取液0.7毫升(双管),蒸干后加入0.1M明胶磷酸盐缓冲液0.1毫升,使残存物溶解后,再加入³H标记孕酮(15000cpm)和孕酮抗体(1:6000)各0.1毫升,在温箱中37℃孵育1小时后加入0.3毫升葡聚糖活性碳吸附液,振荡离心,吸上清液0.4毫升移到闪烁液内,测定放射脉冲数(cpm)。标准曲线管的范围为25—800pg。

根据标准曲线管的孕酮含量和相应的结合率,应用logit转换的方法列出回归方程,将样品的结合率代入回归方程,再经体积和提取率换算为所表示的结果^(2,5)。

结 果

6只奶山羊发情周期中外周血浆孕酮水平的变化趋势基本相同(图1),但个体之间孕酮水平差异极显著($P<0.01$),发情期(0—1天,发情=0天,发情周期=21天)孕酮水平最低,平均值为 $0.31\pm 0.11\text{ng/ml}$ 。黄体期升高,发情后5—19(-2)天维持较高水平,波动于 1.93 ± 0.86 — $5.45\pm 1.39\text{ng/ml}$ 的范围内(图2、表1)。6只奶山羊分别在发情后第11、10、14、15、11和11天达到峰值,其峰值分别为6.04、6.61、4.41、7.38、4.00和6.09ng/ml(图1)。6只奶山羊的平均峰值为 $5.45\pm 1.36\text{ng/ml}$,出现在发情后第15天(图2)。发情后17—19天(下次发情前2—4天)孕酮水平降低,发情前1天降低到1ng/ml左右。

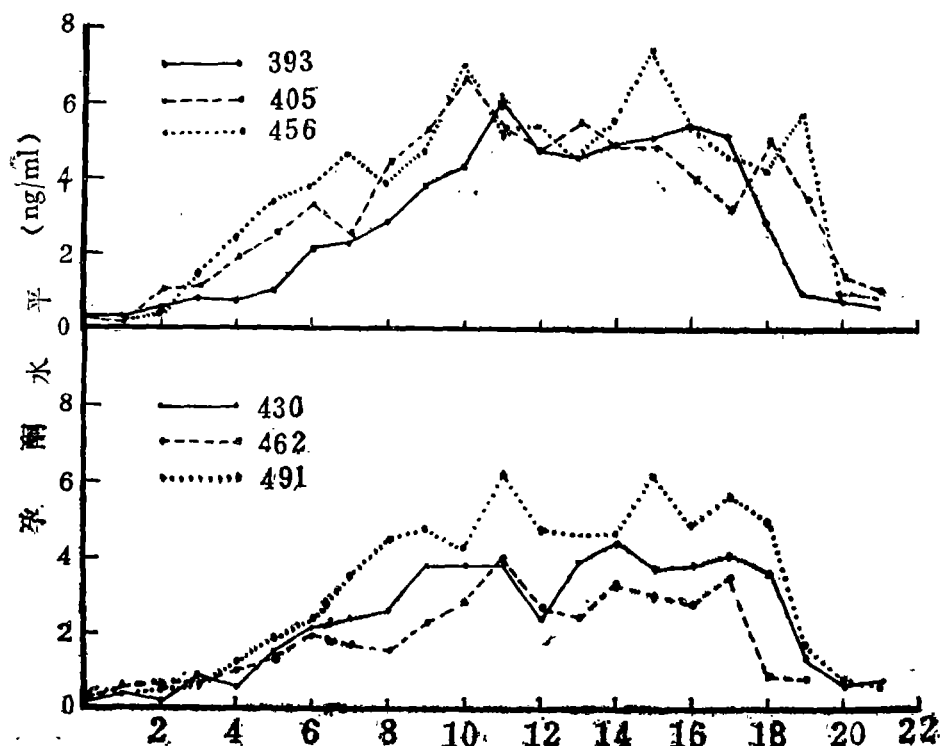


图1 奶山羊发情周期中外周血浆孕酮水平的变化曲线。

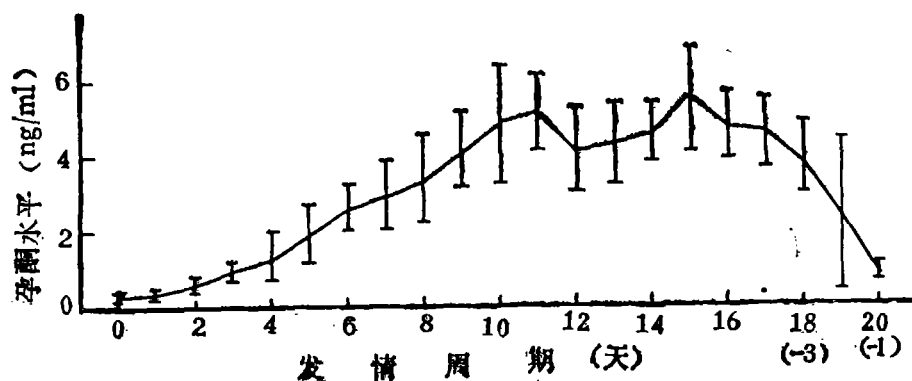


图2 六只西农萨能奶山羊发情周期中外周血浆孕酮水平的平均值变化曲线。(竖线表示标准差)

表 1 西农萨能奶山羊发情周期中外周血浆孕酮水平

羊号	出生日期	胎次	发情周期 日(天)	发情周期中外周血浆孕酮水平(ng/ml)										
				0	1	2	3	4	峰值 (天)	次峰值 (天)	—4 (17)	—3 (18)	—2 (19)	—1 (20)
393	75.1	4	80.9.14-10.5 (21)	0.29	0.31	0.66	0.76	0.68	6.04 (11)	5.37 (16)	5.13	2.76	0.86	0.72
405	76.1	3	80.9.16-10.7 (21)	0.26	0.10	1.02	1.07	1.95	6.61 (10)	5.74 (13)	5.01	4.48	1.39	0.98
430	76.1	3	80.9.15-10.6 (21)	0.19	0.38	0.22	0.85	0.61	4.41 (14)	4.14 (17)	4.14	3.62	1.30	0.61
456	77.2	2	80.9.15-10.6 (21)	0.30	0.23	0.38	1.43	2.41	7.38 (15)	6.98 (10)	4.59	4.18	5.67	0.93
462	77.2	2	80.9.15-10.4 (19)	0.30	0.53	0.74	0.74	1.01	4.00 (11)	3.48 (17)	3.00 (15)	2.85 (16)	3.48 (17)	0.86 (18)
491	78.1	1	80.9.14-10.5 (21)	0.42	0.31	0.37	0.50	1.24	6.09 (11)	6.06 (15)	5.63	4.88	1.57	0.70
平均值				0.29	0.32	0.57	0.89	1.32	5.45	5.11	4.58	3.80	2.38	0.80
±标准差			(20.7±0.8)	±0.07	±0.15	±0.29	±0.32	±0.72	±1.36	±1.00	±0.93	±0.87	±1.85	±0.15
差				0.31±0.11					(15)	(11)				

讨 论

1、本实验中0管与25pg标准孕酮管的结合率差异极显著($P < 0.001$)，灵敏度在25pg/管之下。491号羊两次测定的分析间变异系数为15.8% ($n = 21$)。标准曲线管的不同孕酮量两次平均回收率分别为 $100.7 \pm 9.3\%$ 和 $89.5 \pm 8.1\%$ 。六次测定的结合率在45.5—53.8%范围内。石油醚的提取率平均为 91.5 ± 3.3 ($n = 6$)。

在本实验中，孕酮放射免疫测定方法的灵敏度、精密度和提取率，以及标准曲线的回归方程和相关系数，均基本符合国内外的有关报道^(2,7,8)。因此，测定结果较为可靠。

2、Tones和Knifton (1972) 报道⁽¹¹⁾，山羊发情后3—7天孕酮水平开始升高，稳定3天后，在第12天突然升高到峰值，在发情开始前降低。本试验中孕酮水平升高的时间与此相似，但未观察到稳定期。达到峰值的时间也相似，但突然升高到峰值的现象不明显。

Thorburn和Schneider (1972) ⁽¹²⁾ 报道，应用竞争旦白结合法测定的结果表明，萨能羊发情期(0—1天)外周血浆孕酮水平最低，平均为0.2ng/ml ($n = 17$)，发情后第10天达到峰值，平均为4.0ng/ml (校正值为5.0ng/ml, $n = 7-10$ ，发情周期为21天)，发情前3天内迅速降低。本试验的结果与此报道相似，但平均值稍高。

3、在本实验中，个体的孕酮水平有两次高峰(图1、表1)，为了表示这种变化情况，可将最高峰称为峰值(Peak)，将稍低的峰称为次峰值(Secondary Peak)。峰值和次峰值均在孕酮水平维持较高的时期内(5—2天)。次峰值一般在峰值之后(393、405、430、462和491号羊)，但456号羊的次峰值在峰值之前。

孕酮水平在达到第一次高峰(峰值或次峰值)之后迅速降低，然后在3—6天内达到第二次高峰(次峰值或峰值)，这种变化情况在平均值的变化曲线中也能表现出来(图1、图2)。

在Thorburn和Schneider (1972) 的报道中⁽¹²⁾，萨能羊发情周期中外周血浆平均孕酮水平也呈现两次较高水平，但作者未说明这种变化。Donaldson等(1970)在报道中注意到这种变化⁽¹⁰⁾，乳牛发情周期中外周血浆孕酮水平的升高和降低过程呈现波动形状，在达到第二次峰值(Second Peak)之前显著降低，但由于变化时间不相同，这种变化情况在平均值中没有明显表现出来。本实验中观察到的变化情况与此相似。对这种变化情况的详细机理和生理学意义有待于今后进一步研究。

4、孕酮水平的平均值在发情后第15天达到峰值之后持续降低，下次发情前3天迅速降低(图2)。从个体来看(图1、表1)，393、405、930和491号羊发情前4天逐渐降低，发情前3—2天24小时内迅速降低到原来的 $\frac{3}{4}$ — $\frac{1}{2}$ 。但456和462号羊在下次发情前2天仍然维持较高水平，在发情前2—1天24小时内迅速降低到原来的 $\frac{3}{4}$ — $\frac{1}{2}$ 。发情前1天，孕酮水平降到1ng/ml左右。由于孕酮水平降低的时间不相同，-2天的标准差最大。本实验中观察到的孕酮水平降低时间(-4——-2天)与Thorburn和Schneider (1972) 报道的时间(-3天)相近⁽¹²⁾。

5、在人医临床上,常以测血液孕酮水平作为诊断有无排卵和了解黄体功能的重要指标。通常认为,血清孕酮含量在5 ng/ml以上者表示有排卵⁽⁶⁾。

在畜牧兽医实践中,测定外周血浆孕酮水平可以了解黄体的功能。根据授精后17—24天外周血浆孕酮水平可以进行牛、绵羊、山羊和猪的早期妊娠诊断。另外,还适用于暗发情、假发情、持久黄体、卵巢囊肿和孕酮不足性流产等疾病的诊断,并对治疗效果进行监控⁽⁴⁾。本实验测定的发情周期中外周血浆孕酮水平和变化情况可以作为奶山羊临床应用时的对照水平和基础资料。

6、从本实验的结果可以初步看出西农萨能奶山羊发情周期中外周血浆孕酮水平的变化规律。但因样本较少,对于影响孕酮水平的其它因素(如排卵数、黄体的大小、体重、年令、胎次和季节等)未能分析,有待今后进一步研究。

参 考 文 献

- 1、上海第一医学院卫生统计学教研组(1979), 医用统计方法, 37—44, 72—9, 上海科学技术出版社。
- 2、中国医学科学院第七研究室(1979), 同位素技术及其在生物医学中的应用, 172, 207—208, 213—214, 科学出版社。
- 3、中国科学院生物物理研究所“液闪”编译组(1979), 液体闪烁计数及其在生物学中的应用, 183—188, 科学出版社。
- 4、李权武(1980), 家畜外周血浆孕酮水平及其在兽医产科上的应用(续), 国外兽医学——畜禽疾病, 3: 5—8。
- 5、梁素香等(1979), 饱和分析法标准曲线的直线化, 避孕药科研参考资料, 114—119。
- 6、曹梅讯等(1979), 孕酮的放射免疫测定法, 避孕药科研参考资料, 56—65。
- 7、曾国庆等(1980), 湖羊、三北羊发情期外周血液中促黄体素、雌二醇和孕酮含量的变化, 畜牧兽医学报, 11(3): 147—152。
- 8、曾国庆等(1980), 宁夏滩羊发情周期血液中促黄体素(LH)、孕酮、雌二醇— 17β 含量的测定, 畜牧兽医学报, 11(3): 153—157。
- 9、曾国庆(1981), 孕酮和 17β —雌二醇放射免疫测定技术, 28—29, 中国科学院动物研究所。
- 10、Donaldson, L.E., Bassett, J.M. and Thorburn, G.D. (1970). Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, oestrous cycles, pregnancy and lactation, and the effects of undernutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration. J. Endocr., 48: 599—614.
- 11、Jones, D.E., Knifton, A. (1972). Progesterone concentration in the peripheral plasma of goats during the oestrous cycle. Research in Veterinary Science, 13: 193—195.
- 12、Thorburn, G.D. and Schneider, W. (1972). The progesterone concentration in the plasma of the goat during the oestrous cycle and pregnancy. J. Endocr., 52: 23—36.

Changes of progesterone level
in the peripheral plasma of Saanen
dairy goats during oestrous cycle

Li Quanwu

Abstract

Progesterone levels in the peripheral plasma of six dairy goats during oestrous cycle were measured by radioimmunoassay. The mean level was lowest of 0.31 ± 0.11 ng/ml during oestrus (day 0—1). The progesterone levels increased to a peak on day 10—15, reaching mean peak of 5.45 ± 1.36 ng/ml on day 15, and maintained high levels of 1.93 ± 0.89 — 5.45 ± 1.36 ng/ml throughout day 5—19 (—2) of the 21—day cycle at luteal phase, and began to decline during the last 2—4 days of the cycle, reaching low levels of about 1 ng/ml on the day before oestrus.