

关中驴分娩期 孕酮和 17β -雌二醇水平的变化

张廷青

(西北农学院畜牧兽医系研究生)

指导教师 王建辰教授

摘要

用放射免疫法测定了怀驴母驴分娩期的孕酮和 17β -雌二醇水平。胎衣排出前,外周血浆中两种激素的水平较高,孕酮为 $7.10-7.94\text{ng/ml}$; 17β -雌二醇为 $34.0-40.8\text{pg/ml}$ 。胎衣排出后,降低显著或极显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$),胎儿排出后12小时,孕酮为 $2.12\pm 0.310\text{ng/ml}$, 17β -雌二醇为 $13.6\pm 3.10\text{pg/ml}$ 。脐静脉血浆孕酮和 17β -雌二醇水平分别是外周血浆的10倍和20倍;羊水 17β -雌二醇水平是外周血浆的3倍。外周血浆与脐静脉血浆孕酮水平极密切正相关($r=0.93, P<0.01$);脐静脉血浆与羊水 17β -雌二醇水平极密切正相关($r=0.91, P<0.01$);外周血浆孕酮和 17β -雌二醇水平正相关($n=57, r=0.32, P<0.05$)。分析了两种激素的产生部位、代谢转变及在母驴分娩生理学上的意义。

母驴有“两低三高”,即追配和配驴骡的受胎率低;怀骡时流产、难产及妊娠毒血症的发病率高。^(4,6,8,10)深入探索这些特殊现象的机理,并设法解决,不仅是生产实践的迫切需要,而且在生殖生理学上也具有重要意义。就怀骡母驴高难产率的病因学而言,似乎也应从内分泌角度给予考虑,因为怀骡母驴难产中约有88%为胎位、胎向及胎势反常,⁽⁶⁾而从其它家畜的实验证明,导致这类难产的基本原因是雌激素/孕酮的质、量或比率异常。^(17,26,27)据此推测,怀骡母驴的高难产率很可能与分娩进程中这两种激素的变化与怀驴母驴不同有关;近年来则进一步证实,怀骡母驴和怀驴母驴妊娠前半期的内分泌范型截然不同,^(7,15)提示二者围产期的范型也许亦存在差别。因此,了解怀骡母驴和怀驴母驴分娩期间各自内分泌范型的特点,或许有助于揭示这种高难产率的真正原因。有关这方面的研究,迄今仅见Rossdale等(1979)报道过两头母驴引产时的内分泌范型,⁽³²⁾至于正常分娩的范型,国内外一直未有报道。

本试验的目的是,用放射免疫法测定正常怀驴母驴分娩期的孕酮和 17β -雌二醇水

本试验承蒙中国科学院动物研究所内分泌室、上海第十二制药厂及英国卜内门化学工业公司(ICI) Furr博士馈赠标准品和抗体,我院段恩奎同志及同位素实验室协助工作,谨此致谢。

平,以了解其变化规律,为母驴分娩的临床内分泌学,以及怀骡母驴高难产率的病因学提供基础资料。

材 料 和 方 法

1、实验母驴

随机选用8头关中驴,年龄 8.5 ± 3.8 (4—14)岁,胎次 5 ± 3 (1—10)胎,妊娠期 359.4 ± 6.8 (350—369)天。健康状况良好,全部怀驴,正常分娩。在采样期间,饲养管理条件照常。

2、采样方法

在分娩前一天(距胎儿排出24—48小时)和开口期(距胎儿排出24小时以内),分别自母驴颈静脉采血一次或数次;在产后期(胎蹄露出)、胎衣排出期(胎儿落地后5—10分钟)、胎衣完全脱落时、胎儿排出后1、2及12小时,各采血一次,并于产后期采集羊水和脐静脉血。

采血时,试管内事先按72单位肝素/毫升全血加入抗凝剂;采血后尽速在室温下以1000g离心5分钟,将分离出的血浆置 -20°C 保存待测。

3、仪器、试剂及药品

FJ—353双道液体闪烁计数器:国营西安262厂产品,1977年6月出厂, ^3H 探测效率40%。

[$(1.2.6.7)^3\text{H}$]孕酮:上海原子核研究所产品,1977年4月25日出厂,放射性总强度5毫居里/毫升,放射性比度80居里/毫克分子。

孕酮抗体:中国科学院动物研究所内分泌室提供,1979年制备。

标准孕酮:上海十二药厂产品,批号73—11—22。

[$(2.4.6.7)^3\text{H}$]17 β -雌二醇:中国科学院动物研究所内分泌室提供。

17 β -雌二醇抗体:英国卜内门化学工业公司(ICI)Furr博士赠送。

标准17 β -雌二醇:上海生化药厂产品。

磷酸盐缓冲液(PBS):临用时配制,0.1M,PH7.2。

其它试剂及药品均为分析纯或化学纯。

4、激素测定

孕酮的放射免疫测定依照中国科学院动物研究所修改的Furr法。⁽¹²⁾标记孕酮稀释成每0.1毫升约15000cpm;孕酮抗体稀释度为1:6000;标准曲线范围是25—800Pg;分离剂的配方:活性炭1.3克,葡聚糖25毫克,加PBS50毫升。灵敏度为25Pg(0Pg与25Pg非标记孕酮管的B/B₀值之间的差异极其显著, $P < 0.001$),分析内和分析间变异系数,以及石油醚提取率分别是0.63—19.27%、4.80—14.85%和84—89%。标准曲线的非标记孕酮剂量的对数值,同与其对应的结合率的Logit值之间呈极密切负相关($r = -0.989$ — -0.994 , $P < 0.01$)。

17 β -雌二醇的放射免疫测定依照中国科学院动物研究所修改的Exley法。⁽¹²⁾标记17 β -雌二醇稀释成每0.1毫升约6000cpm;17 β -雌二醇抗体稀释度为1:24000;标

准曲线范围是5—200pg；分离剂的配方：活性炭0.2克，葡聚糖20毫克，加PBS40毫升。灵敏度为5pg（0pg与5pg非标记17β-雌二醇管的B/B₀值之间的差异非常显著，P<0.01）；分析内和分析间变异系数，以及乙醚提取率分别是0.24—13.16%、1.19—6.95%和98%；在蒸馏水中，加入非标记17β-雌二醇10、20、30、50、100及200pg的平均回收率为88%。标准曲线的非标记17β-雌二醇剂量的对数值，同与其对应的结合率的Logit值之间呈极密切负相关（r = -0.981—-0.994，P<0.01）。

5、样品激素水平的计算

样品激素水平的计算参照曹梅讯等的方法加以修改。⁽²⁾将样品管结合率的Logit值直接代入标准曲线的回归方程求出含量，再按下式校正为ng/ml（孕酮）或pg/ml（17β-雌二醇）：

$$\text{孕酮ng (17}\beta\text{-雌二醇pg) /ml血浆} = \text{孕酮ng (17}\beta\text{-雌二醇pg) /管} \times$$

$$\frac{\text{提取液总量}}{\text{测定用提取液量}} \times \frac{1}{\text{提取血浆量}} \times \frac{1}{\text{提取率}}$$

6、统计学分析⁽¹⁾

对标准曲线B₀管与最小非标记抗原量管的B/B₀之间的差异，进行配对比较的t检验，以估计灵敏度；对外周血浆孕酮和17β-雌二醇水平的变化，外周与脐静脉血浆，脐静脉血浆与羊水的孕酮或17β-雌二醇水平的变化，分别按大样本或小样本相关系数计算法计算其相关系数，以分析它们的产生部位、代谢及相互关系；对不同分娩阶段的外周血浆孕酮和17β-雌二醇水平的变化，用随机区组的方差分析来确定其差异是否显著。

结 果

1、孕酮水平的变化

8头怀驴母驴分娩期外周血浆孕酮平均水平的变化如图1和表1所示：分娩前一天最高，开口期略降低，产出期又升高，然后缓慢下降，胎衣完全脱落时突然锐减，至胎儿排出后12小时，仅为分娩前1天的26.7%。分娩前1天、开口期、产出期及胎衣排出期的平均水平波动于7.10—7.94ng/ml之间，其差异无统计学意义（P>0.05）；但胎儿排出后1、2及12小时的平均水平，与上述各期比较，则差异显著（P<0.05）或极显著（P<0.01）；个体间的孕酮水平差异也非常显著（P<0.01）。

2、17β-雌二醇水平的变化

8头怀驴母驴分娩期外周血浆17β-雌二醇平均水平的变化如图1和表1所示：除产出期最高外，其它阶段的变化基本与孕酮一致。分娩前1天、开口期、产出期及胎衣排出期的平均水平波动于34.0—40.8pg/ml之间，其差异无统计学意义（P>0.05）；胎儿排出后12小时的平均水平仅为分娩前1天的39.5%，显著低于产出期和胎衣排出期（P<0.05）；个体间的17β-雌二醇水平差异也非常显著（P<0.01）；分娩前1天、开口期、产出期及胎衣排出期的17β-雌二醇与孕酮比率（17β-雌二醇：孕酮）分别为1：230、1：210、1：190及1：200。

表1 8头怀驹母驹分娩期外周血浆、脐静脉血浆及羊水的孕酮和 17β -雌二醇水平 ($\bar{X} \pm S\bar{X}$)

样品	孕酮 (ng/ml)	17β -雌二醇 (pg/ml)
分娩前1天	7.94 ± 1.18	34.4 ± 8.6
开口期	7.10 ± 1.07	34.0 ± 8.7
产出期	7.81 ± 1.74	40.8 ± 7.0
胎衣排出期	7.27 ± 1.37	35.8 ± 7.6
胎衣完全脱落时	5.57 ± 0.83	24.0 ± 3.30
胎儿排出后1小时	4.40 ± 0.76	21.7 ± 3.50
胎儿排出后2小时	3.22 ± 0.41	19.7 ± 3.40
胎儿排出后12小时	2.12 ± 0.31	13.6 ± 3.10
产出期脐静脉血浆	77.7 ± 22.4	808 ± 320
产出期羊水	1.76 ± 0.36	136 ± 39.8

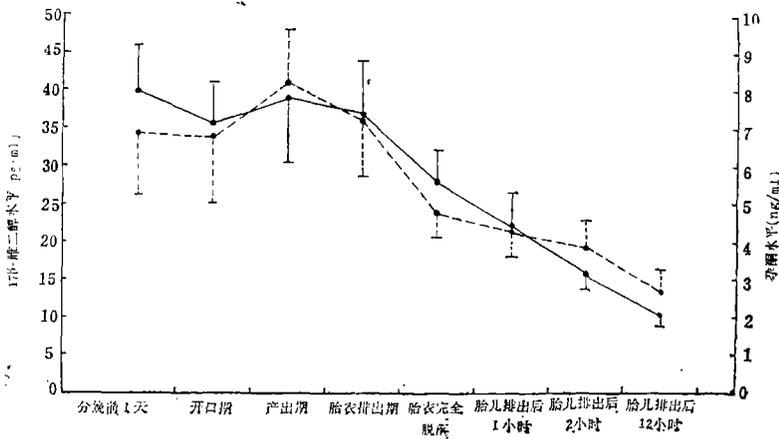


图1 8头母驹分娩期外周血浆孕酮(—)和 17β -雌二醇(- - -)平均水平的变化

3、不同部位中孕酮和17β-雌二醇水平的比较, 以及外周血浆中两种激素的关系

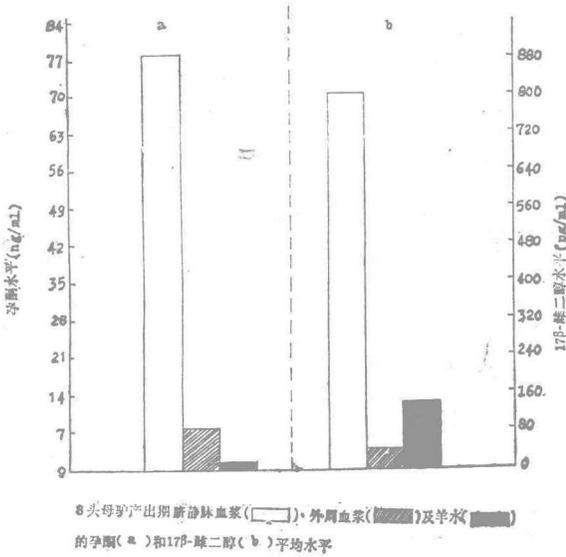


图 2

产出期外周、脐静脉血浆及羊水的孕酮和 17β-雌二醇的平均水平

产出期外周、脐静脉血浆及羊水的孕酮和17β-雌二醇的平均水平见表 1 和图 2。脐静脉血浆孕酮平均水平分别约为外周血浆和羊水的10倍及44倍；17β-雌二醇则分别约为20倍及 6 倍；产出期羊水孕酮的平均水平大致相当于外周血浆的1/4；而17β-雌二醇却相当于其 3 倍左右。

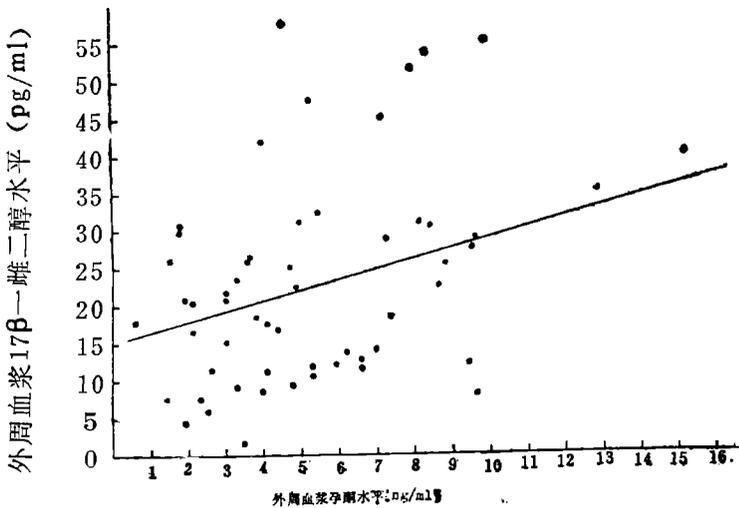


图 3 分娩期外周血浆孕酮和17β-雌二醇水平的关系 (n=57, r=0.32, P<0.05)

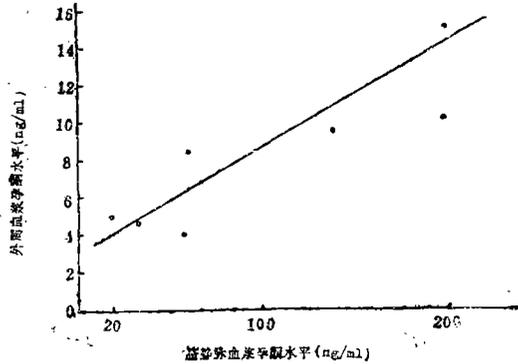


图4 产出期脐静脉与外周血浆孕酮水平的关系
($r = 0.93, P < 0.01$)

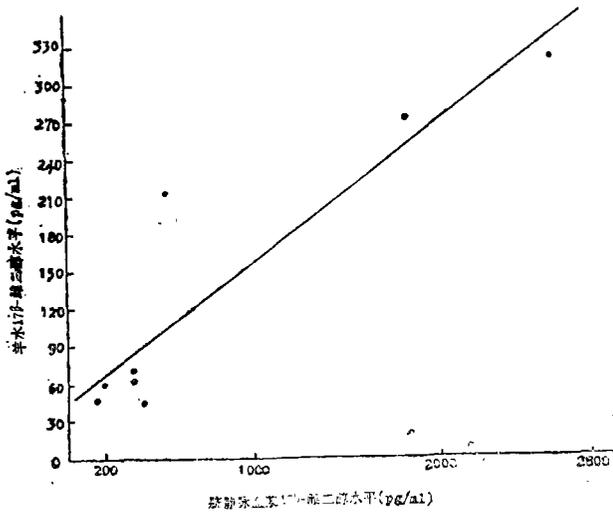


图5 产出期脐静脉血浆与羊水17β-雌二醇水平的关系
($r = 0.91, P < 0.01$)

8头母驴外周血浆17β-雌二醇与孕酮水平正相关(图3, $n = 57, r = 0.32, P < 0.05$);产出期外周血浆与脐静脉血浆孕酮水平极密切正相关(图4, $r = 0.93, P < 0.01$);脐静脉血浆与羊水17β-雌二醇水平极密切正相关(图5, $r = 0.91, P < 0.01$);而脐静脉血浆与羊水孕酮水平无相关性($r = 0.21, P < 0.05$)。

讨 论

本实验的放射免疫法,在灵敏度、精密度、准确度和提取率,以及标准曲线的相互关系数,均基本符合国内外有关报道或专著。^(2,3,12,13)因此,样品激素测值是可信的。

分娩母驴外周血浆孕酮水平的变化,与Rossdale等对两头母驴用氟前列烯醇引产时所观察到的情况基本相同。⁽³²⁾由于其未发表具体数值,故无法作实际比较。此外,

孕酮水平的变化与母马这方面的许多资料大致相符,^(18,20,23,24,26,28)只是测值偏高。在分娩前1天、开口期、产出期、胎衣排出期及胎儿排出后12小时,母驴外周血浆孕酮水平比已报道的母马值^(23,24)分别高1.14、1.90、4.31、4.57及1.12ng/ml。在分娩前1天、开口期、产出期及胎衣排出期,母驴外周血浆孕酮水平一直维持较高水平(图1,表1),虽开口期略降低,产出期复升高,但差异并不明显($P>0.05$),说明母驴的分娩发动不要求外周血浆孕酮先行撤退。这显然异于绵羊、山羊、牛、猪、狗、兔及大鼠,^(11,14,19,21,22)而与马、猴、豚鼠及人的情况颇相类似。^(9,16,19,21,23,25,28,32,33)Schwarz等(1975)证明,在分娩前数天,孕妇胎膜上的一种特异的孕酮结合蛋白大量出现,该结合蛋白不是孕酮的受体蛋白;子宫静脉中的大部分孕酮被这种特异蛋白结合于胎膜而由子宫肌局部撤退,终致引发分娩;与此同时,外周血浆孕酮仍保持原来水平。^(9,33)分娩母驴是否也有孕酮局部撤退现象,有待进一步深入研究。

分娩母驴外周血浆17 β 雌二醇水平的变化,除产出期升至最高(图1,表1)外,其它阶段均与Rossdale等在两头引产母驴上的观察,以及母马这方面的报道基本相同。^(18,21,28,29,32)由于这些资料列举的是雌激素总量,因而不使用本实验的测值直接比较。Allen等(1979)证实,在母马产出期,前列腺素F 2α 呈爆发型释放和升高;雌激素虽对母马的分娩发动无关紧要,但对前列腺素F 2α 合成及子宫肌敏感化却必不可少;若产出期雌激素水平过低,则无前列腺素F 2α 峰值出现,以致宫缩微弱而造成胎势反常。^(16,30)由此,本实验母驴产出期出现的17 β 雌二醇分泌峰值(图1,表1),可能是保证分娩正常进行的必要条件之一。

分娩母驴外周血浆孕酮和17 β 雌二醇水平个体间差异极显著($P<0.01$),其它家畜也有类似情况。^(14,28)至于分娩前1天、开口期、产出期及胎衣排出期两种激素的比率变化,因为缺乏适应资料进行比较,且例数不多,故只能供临床参考;倘若要作为一项预测或判断母驴正常分娩的客观指标,则必需积累更大量的实验证据来充分肯定。

根据本试验脐静脉血浆孕酮和17 β 雌二醇水平远远高于母体外周血浆,胎衣排出后,两种激素自外周血浆显著或极显著减少(图1,2,表1, $P<0.05$ 或 $P<0.01$),在12小时内,孕酮和17 β 雌二醇水平分别降至为分娩前1天的26.7%和39.5%,以及外周血浆与脐静脉血浆孕酮水平变化呈极密切正相关(图4, $r=0.93$, $P<0.01$)等结果,初步可以证明这两种激素产生于孕驴胎盘。关于此点,在驴上未见报道,但对母马的研究资料业已明确肯定。^(5,16,18,21,30)

在产出期,脐静脉血浆和羊水17 β 雌二醇水平呈极密切正相关(图5, $r=0.91$, $P<0.01$)。这在某种程度上与Novy(1977)和Turnbull(1977)的发现相似之处。前者曾观察到猴子胎儿血浆与羊水C $_{17}$ 水平呈极密切正相关;而后者证实,足月妊娠妇女的外周血浆与羊水雌二醇水平同时升高。⁽³³⁾此外,孕驴产出期羊水17 β 雌二醇水平为外周血浆数倍,尽管这一现象在研究马类家畜分娩的浩繁文献中从未提及,但其意义不容忽视。Thorburn(1979)在猕猴上证明,羊水水中的雌激素可扩散至胎膜和蜕膜

内,籍改变溶酶体的磷脂酶活性或直接作用于前列腺素合成酶而影响前列腺素的产生。⁽³³⁾因此,关于羊水中高水平 17β -雌二醇在母驴分娩生理学方面的意义,具有深化认识的必要。

分娩母驴外周血浆和 17β -雌二醇水平正相关(图3, $n=57, r=0.32, P<0.05$),似乎反映二者在代谢转变方面有某种联系。Allen等指出,母马胎盘可将母体的孕酮前体转变为孕酮,而不能转变为雌激素;马胎儿性腺产生的脱氢表雄酮则可经胎盘转变为雌激素。^(18,30,31)目前尚无具体事实和可靠证据说明马胎儿性腺能将孕酮转变为脱氢表雄酮。所以,对于分娩母驴孕酮与 17β -雌二醇的代谢转变研究,需重拟实验设计,改进采样方法,完善分析手段,从不同角度验证上述统计学结论(图3, $n=57, r=0.32, P<0.05$)的真伪性。

脐静脉血浆与羊水孕酮水平无相关性($r=0.21, P>0.05$),表明羊水中孕酮的确切来源及作用仍难以了解;其产出期水平较低,估计有利于分娩的顺利完成。

主要参考文献

- 1、上海第一医学院卫生统计学教研组:《医学统计方法》,29—32,41—43,72—86,1979。
- 2、上海市避孕药领导小组办事组:《避孕药科研参考资料》,1,56—65,66—68,114—119,1979。
- 3、中国医学科学院第七研究室主编:《同位素技术及其在生物医学中的应用》,208,213—214,1979。
- 4、王建辰、刘智喜等:《怀骡驴(马)妊娠毒血症》,西北农学院科技资料,1975,3。
- 5、王建辰:《孕酮及其在畜牧兽医上的应用》(全国家畜繁殖科学讲习班第二期讲义),1981。
- 6、甘肃农业大学兽医系:《怀骡母驴正常分娩及难产的助产》(全国家畜普通病会议交流材料),1979。
- 7、安民:《孕马血促性腺激素(PMSG)》(全国家畜繁殖科学讲习班第二期讲义),1981。
- 8、郑丕留:《驴的生殖器官及生殖生理》,10,26—27,1956。
- 9、袁其晓:《人类分娩的机理》,国外医学——计划生育妇产科学分册(6),233—237,1980。
- 10、渊锡藩:《关于驴繁殖生理一些特点的观察》,陕西牧医科技1,5—9,1976。
- 11、董伟:《第九届国际家畜繁殖及人工授精会议生殖激素论文综述》(全国家畜繁殖科学讲习班第二期讲义),1981。
- 12、曾国庆:《孕酮和 17β -雌二醇放射免疫测定技术》(全国家畜繁殖科学讲习

班第二期讲义) ; 1981。

13. 曾国庆等: 《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卷3期, 147—152, 1980。

14. Agthe, O. et al. Oestrogen and progesterone levels in the blood plasma of cows with normal parturition or with a retained placenta. *J. Reprod. Fert.*, 43, 163—166, 1975.

15. Allen, W. R. The influence of fetal genotype upon endometrial cup development and PMSG and progestagen production in equids. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, 405—413, 1975.

16. Allen, W. R. et al. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition in the mare. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 27, 499—509, 1979.

17. Arthur, G. H. et al. *Veterinary reproduction and obstetrics.* 157. 1975.

18. Barnes, R. J. et al. Plasma Progestagens and oestrogens in fetus and mother in late pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, 617—623, 1975.

19. Bedford, C. A. et al. The role of oestrogens and progesterone in the onset of parturition in various species. *J. Reprod. Fert.*, suppl. 16, 1—23, 1972.

20. Burns, S. T. et al. plasma progestagens in the pregnant mare in the first and last 90 days of gestation. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, 435—439, 1975.

21. Cole, H. H. et al. *Reproduction in domestic animals.* 343—356, 1977.

22. Cox, R. I. The endocrinologic changes of gestation and parturition in the sheep. *Adv. Vet. Sci. Compar. Med.* 19, 287—305, 1975.

23. Ganjam, V. K. et al. Plasma progestagens in cyclic, pregnant and post-partum mares. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, 441—447, 1975.

24. Ganjam, V. K. et al. Peripheral blood plasma levels and some unique metabolic aspects of progesterone in pregnant and non-pregnant mares. *Proc. Am. Ass. Equine Practnr.*, 263—276, 1975.

25. Goodwin, J. W. et al. *Perinatal medicine.* 326, 470—471, 1976.

26. Holtan, D. W. et al. Plasma progestagens in pregnant mares. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, 419—424, 1975.

27. Jochle, W. et al. Inhibition of corticoid-induced parturition by progesterone in cattle: effect on delivery and calf viability. *J. Reprod. Fert.* 28, 407—412, 1972.

28. Lovell, J.D. et al. Endocrine patterns of the mare at term. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 23, 449—456, 1975.

29. Nett, T.M. et al. Oestrogens, LH, PMSG and prolactin in serum of pregnant mares. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 23, 457—462, 1975.

30. Pashes, R.L. et al. Endocrine changes after foetal gonadectomy and during normal and induced parturition in the mare. *Animal Reproduction Science*, 271—288, 1979. 2.

31. Raeside, J.I. et al. A precursor role for DHA in a foeto-placental unit for oestrogen formation in the mare. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 27, 493—497, 1979.

32. Rosedale, P.D. et al. The use of synthetic prostaglandin analogue (fluprostenol) to induce foaling. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 27, 521—529, 1979.

33. Thorburn, G.D. et al. Endocrine control of parturition. *Physiological Reviews* 59 (4), 863—918, 1979.

Changes of progesterone and 17β -estradiol levels in the serum of Guanzhong donkeys during Parturation

Zhang Tingqing

Abstract

Levels of progesterone and 17β -estradiol in donkeys carrying donkey fetus during parturition were measured by radioimmunoassay. Levels of progesterone and 17β -estradiol in the peripheral plasma remained high (7.10 to 7.94 ng/ml and 34.0 to 40.8 pg/ml respectively) until the expulsion of fetal membrane, and then declined significantly or very significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). 12 hours after delivery of the fetus, levels of progesterone and 17β -estradiol were 2.12 ± 0.31 ng/ml and 13.6 ± 3.1 pg/ml, respectively. Progesterone and 17β -estradiol levels in the umbilical vein were 10 and 20 times those of the peripheral plasma respectively; 17β -estradiol levels in the amniotic fluid were 3 times those of the peripheral plasma. Progesterone levels in the umbilical vein plasma correlate well with those of the peripheral, ($r = 0.93$, $P < 0.01$) while 17β -estradiol levels in it with those of the amniotic fluid ($r = 0.91$, $P < 0.01$); in the peripheral plasma, progesterone levels correlate with 17β -estradiol levels ($n = 57$, $r = 0.32$, $P < 0.05$). The origin of the two hormones and their metabolism changes and role in the physiology of donkey parturition are also discussed.