维普资讯 http://www.cqvip.com

重庆医科大学学报 1991年第16卷第3期

卵巢，去甲肾上腺素，雌激素，孕激素

184-188

卵巢中去甲肾上腺素含量和血清雌、孕激素水平相互关系的研究

生殖生理教研室 文 慧* 沈稚芳 R335.5

提 要 利用荧光分光光度法测定了动情周期中大鼠与未成熟鼠卵巢组织中的NE含量，同时用放射免疫法测定其血中雌、孕激素的水平。结果表明动情周期中大鼠卵巢NE含量与血清雌、孕激素水平均有周期性波动，其中NE含量变化与孕激素水平变化间有显著的直线依存关系。未成熟鼠的NE与性激素含量明显低于成年大鼠。作者认为，性成熟前卵巢NE含量低，其内分泌功能处于相对静止状态；而性成熟后，NE含量增多，可能促进卵巢内孕激素的合成

关键词 卵巢；去甲肾上腺素；雌激素；孕激素；大鼠

中图分类号 R335.5

很多学者对支配卵巢的神经的来源及其在卵巢组织中的分布进行了形态学的研究，组化法显示卵巢组织中有丰富的肾上腺素能神经[1~3]，但对于卵巢肾上腺素能神经的生理作用则研究较少。Fyling[4]首先提出，肾上腺素能神经可以调控孕酮的合成。也有学者指出，卵巢中的儿茶酚胺在某些方面参与卵巢功能的调控，如卵泡生长、排卵以及孕酮合成等，故卵巢中的儿茶酚胺可能和垂体—性腺轴的功能活动有关[5]。Farrar[6]与Garris[7]先后研究了豚鼠卵巢中去甲肾上腺素（NE）水平和卵巢活动有无关系，但意见不一。Ben-Jonathan[8]和Bahr[9]分别对大鼠和猪卵泡液中的NE含量进行了测定，并认为卵泡液中的NE水平和卵巢功能活动有关。但是，卵泡液中的NE水平并不能完全反应卵巢组织中作为神经递质的NE水平，关于大鼠卵巢内的神经递质在动情周期中的变化以及这种变化和卵巢功能的关系，至今鲜见报道。本工作即利用荧光分光光度法测定了动情周期中各期大鼠和未成熟幼鼠卵巢组织中的NE含量，并用放射免疫分析法测定了血清中的雌二醇（E_2）和孕酮(P)水平，以观察大鼠卵巢中NE含量变化和卵巢合成甾体激素之间的关系，分析神经因素在性成熟后卵巢内分泌调节中的作用。

材料和方法

1. 动物

（1） 选用体重180～250g雌性wistar大鼠，自然光照，室温25℃左右。每日进行阴道涂片，以监测其动情周期，1～2周后，选择具有规则4～5天

* 研究生

ratio. On the average, chlorpromazine can increase the erythrocyte lithium by 31% and lithium ratio by 20%. Plasma lithium, erythrocyte lithium and lithium ratio were in positive correlation. Sex, family history, Plasma sodium and potassium level showed no correlation with their lithium ratio

KEY WORDS Mania; Lithium Ratio; Lithium Carbonate; Chlorpromazine

维普资讯 http://www.cqvip.com

动情周期的雌鼠，分别在确定为动情前期、动情期、动情后期或动情间期时处死动物。

（2） 鼠龄30天，体重50～70g雌性 wistar 幼鼠。

2．方法

（1） 标本制备：将确定动情周期的大鼠断头取血备用。迅速取出卵巢，去除周围结缔组织，吸干称重，－20℃下贮存备用。血标本在室温下静置6～8h，待血清析出后，离心10 min（3000～4000rpm），分离出上层血清贮于－20℃备用。

（2） 操作方法

荧光分光光度法测定NE浓度 依据 Anton 和 Sayre 的报道[10]略加改进。卵巢组织中加入 10ml 0.4N过氯酸，玻璃匀浆器匀浆。匀浆液离心(30000g，0～10℃，10min）后取上清液，以 0.4N 过氯酸稀释至 10ml，加入 200mgAl_2O_3，100mgEDTA，10mg偏重亚硫酸钠，用NaOH调 pH 至 8.6，振动 5min，静置后弃上清液，用 10ml 三重蒸馏水洗涤沉淀，振摇 2min，离心 1min(3000rpm)，弃上清液，再用三重蒸馏水洗涤，重复四次。用5ml 0.05N 过氯酸洗脱沉淀上吸附的儿茶酚胺，振摇 15min，离心（4000rpm）10min，此上清液即为含去甲肾上腺素的卵巢提取液。

在0.8ml提取液中依次加入 0.4ml 磷酸缓冲液(0.5M，pH7.0)，0.08ml0.25%高铁氰化钾，0.8ml 碱性vitc(10mgVitC，0.1ml 三重蒸馏水，5ml 10N NaOH)。每加一种试剂均要振摇混匀，在加入碱性VitC后15～30s内再加入三重蒸馏水 2ml，振摇后静置，在1h内用岛津 RF-540 型分光光度计测定其荧光强度。0.8ml1NE（100ng/ml）作为标准管，0.8ml0.05N过氯酸作为空白管，激发波长400nm，发射波长500nm。

放射免疫分析法[11]先将药盒抗血清作滴度测定，并制作标准曲线。取血清标本1ml，加入 0.1N NaOH0.2ml，振摇后加入重蒸的二氯甲烷(CH_2Cl_2) 6ml，加盖振摇 5min，静置片刻，弃去上层杂质，再加入重蒸水1ml，振摇 1min，弃上层杂质，重复水洗1次，离心10min(2500rpm)，弃去上层水液，下层提取液即供测定之用。取提取液 2ml 测定 E_2，取 0.4ml 测定 P。分别加入[^{3}H]—$E_2$10μl 和[^{3}H]—P 10μl，50℃水浴，吹干，再分别加入E_2抗血清（1:1.8万）0.2ml和P抗血清（1:6万）0.2ml，置于4℃16～24h。次日在冰浴中每管分别加入0.5%明胶0.1ml，再加0.25%活性炭 0.5ml，立即混匀，冰浴中置 10min，然后离心 10min(2500rpm)，取上清液0.4ml，加入8ml闪烁液，16～24h后通过液体闪烁仪计数，所得数据依标准曲线计算E_2与 P 的度。

3．资材的统计学处理

本实验所得数据均为计量资料，对动情周期中各期卵巢的NE浓度和血清E_2与 P 浓度分别作方差分析和SNK检验，判断各期变化有无显著差别，同时作NE与E_2，NE与P 的相关性分析。用 t 检验比较幼鼠与成年鼠在卵巢NE浓度和血清E_2与P的浓度方面有无显著差别。

实验结果

1．动情周期中大鼠卵巢内NE 浓度的变化(图1)

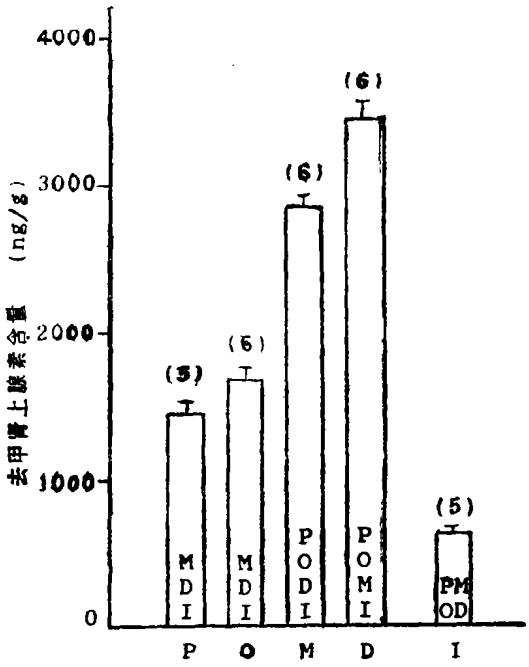


图1 动情周期中大鼠与幼鼠的卵巢去甲肾上腺素含量

P 动情前期 O 动情期 M 动情后期 D 动情间期 I 未成年幼鼠

各组与柱内注字组之间有高度显著性差异

卵巢组织中的NE 浓度在动情周期中发生变化，排卵前较低，排卵后逐渐增高，动

维普资讯 http://www.cqvip.com

情间期达到最大值。经方差分析和SNK检验得知，动情间期和其它各期间的差别具有显著性意义($P<0.01$)，动情后期和其它各期间的差别亦有显著性意义($P<0.01$)，动情前期和动情期之间的差别不显著($P>0.05$)。

2. 动情周期中血清 E_2 P 浓度的变化（图2、图3）

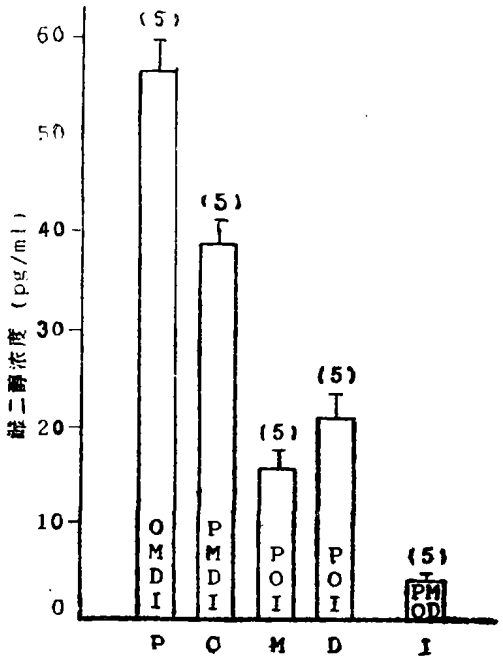


图2 动情周期中大鼠与幼鼠的血清雌二醇浓度

注释同图1

E_2在动情前期最高，动情期较动情前期稍低，后期更低，间期稍有升高。动情前期和其它各期间的差别有显著性意义($P<0.01$)，动情期和其它各期间的差别亦有显著性意义($P<0.01$)，动情间期和动情后期间的差别不显著($P>0.05$)。

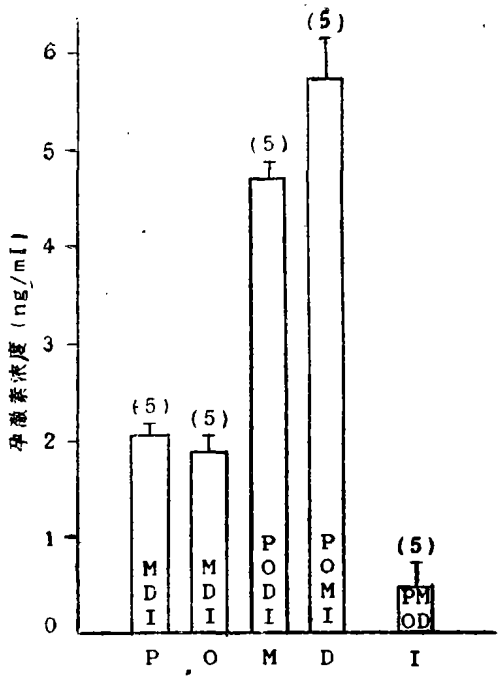


图3 动情周期中大鼠与幼鼠的血清孕激素浓度

各组与柱内注字组之间有显著或高度显著性差异，其余注释同图1

P 在动情前期与动情期均低，动情后期明显增高，而动情间期则最高，动情间期和动情后期间的差别有显著性意义($P<0.05$)，动情间期或动情后期和动情期或动情前期之间的差别有高度显著性意义($P<0.01$)，动情前期和动情期之间的差别不显著($P>0.05$)。

3. 动情周期中卵巢NE浓度和血清 E_2，P浓度的关系（表）

分析表明，动情周期中卵巢 NE 浓度和血清E_2的变化呈负相关（相关系数检验 $P<$

附表 成年大鼠与未成年幼鼠卵巢NE含量与血E_2，P浓度的比较

	动情前期	动情期	动情后期	动情间期	未成年鼠
NE(6)#	*1449.0±60.5^a	1676.33±67.4^a	2841.5±89.5^b	3421.33±133.2^c	631.0±6.92^d
E_2(5)	56.5±2.8^a	38.6±2.4^b	15.8±1.8^c	21.1±2.3^c	4.24±0.53^d
P(5)	2.01±0.17^a	1.84±0.19^a	4.66±0.19^b	5.69±0.45^c	0.46±0.026^d

标本数　　*n=5　　$\bar{X}$值±SE

a,b,c,d　同一排中字母不同的数值之间有显著或高度显著性差异

维普资讯 http://www.cqvip.com

0.01)。卵巢NE浓度（X）和血清P的变化（Y）则在时间上存在正性相关(相关系数检验 $P<0.01$)，二者间且存在直线回归关系，回归方程 $Y=0.002X-1.2$。(回归系数显著性检验 $P<0.01$)

4. 幼鼠与成年鼠卵巢内NE浓度和血清E_2，P浓度方面的比较（表）

幼鼠卵巢组织中NE浓度很低，与成年鼠各期卵巢NE浓度相比都有高度显著性差异($P<0.01$)，血清E_2和P的浓度也处于低水平，和成年鼠各期比较有高度显著性差异($P<0.01$)。

讨　论

Fyling[4]曾发现，给早期妊娠的妇女静脉注射肾上腺素，血中P水平升高，因而推测儿茶酚胺可能促进P的合成。Farrar[6]提出豚鼠卵巢的NE浓度或总量在动情周期的各期中未见明显差异。Garris[7]则与Farrar观察到的结果相反，他首次在豚鼠上证实了卵巢中NE水平升高可伴有血中P水平的升高。作者认为Farrar之所以未能见到NE在动情周期中的变化，可能与其所选用的豚鼠体重大小不一有关(285～1030g)。因为已经发现体重轻的（400g左右）豚鼠卵巢NE浓度(2.2μg/g)明显低于体重重的(600g左右)豚鼠卵巢NE浓度(6.0μg/g)[6]，估计由于个体差异太大，致使动情周期中卵巢NE水平的变化未能显示出来。本文在大鼠上观察到的现象和Garris在豚鼠上观察到的现象是一致的，即卵巢内NE含量在动情周期中有周期性变化，这种变化和血清P水平的变化呈正相关。联系前人观察到的注射肾上腺素可致血清P升高的现象，作者认为，卵巢中NE含量的变化可以影响卵巢的机能，NE增加可能促进卵巢黄体孕酮的合成。我们在幼鼠上见到，卵巢内NE水平明显低于成熟鼠，血清E_2与P亦极低，表明此时卵巢功能处于相对静止状态，而随着幼鼠的生长发育，卵巢内NE逐渐增多，血清性激素水平即升高，且有周期性变化，这也显示卵巢中的NE水平可能和卵巢功能活动有一定关系。

Kulkarni[12]报告切除支配豚鼠卵巢的肾上腺素能神经纤维，卵巢中NE含量明显降。Lawrence[2]则在大鼠上看到切除支配卵巢的肾上腺素能神经纤维后，卵巢中NE即全部消失或基本消失。因此可以认为卵巢内的NE主要来自肾上腺素能神经的递质释放，测定卵巢内的NE水平，可以反映肾上腺素能神经的功能状态。Aguado[13]发现在动情前期切除含肾上腺素能神经纤维的卵巢上神经，可使大鼠血中P水平降低，因而认为除激素调节外，支配卵巢的肾上腺素能神经还直接控制卵巢的功能活动。显然，这也支持我们关于NE能促进P合成的推论。

已知向大鼠动脉灌注NE30s后，即出现卵巢组织中CAMP升高[14]，又有人证实，大鼠卵巢内存在β受体，其含量的变化和孕酮的变化相一致[15]。根据这些工作，我们设想，卵巢内NE增多引起P水平升高的机制，可能是前者激活了卵巢内的β受体，通过腺苷酸环化酶系统引起P合成的增加，但要证实这设想尚待进一步的研究。

（蔡家春、韩力力、毛玉兰以及张晓平等同志在激素测定中给予大力支持，特此志谢。）

参 考 文 献

[1] Burden HW, et al. Anat Rec 1978; 190:233

[2] Lawrence IE, et al. Anat Rec 1980; 196:51

[3] Bahr JM, et al. Biol Reprod 1974; 10:273

[4] Fyling P. Acta Endocrinology 1971; 66:283

[5] Ben-Jonathan N, et al. Endocrinology 1984; 115:1426

[6] Farrar JA, et al. Biol Reprod 1980;

维普资讯 http://www.cqvip.com

22:473
[7] Garris DR, et al. IRCS Med Sci 1984; 12:162
[8] Ben-Jonathan N, et al. Endocrinology 1982; 110:457
[9] Bahr JM, et al. Endocrinology 1985; 117:620
[10] Anton AN, et al. Pharmac Exp Ther 1962; 138:360
[11] 丁霆. 中华医学检验杂志 1981; 4:135
[12] Kulkarni PS, et al. Am J Physiol 1976; 230:1400
[13] Aguado LI. Endocrinology 1984; 114:1944
[14] Norjavaara E, et al. Acta Physiol Scand 1983; 119:113
[15] Aguado LI, et al. Endocrinology 1982; 110:1124

(收稿日期 1990—12—28)

INVESTIGATION ON THE RELATIONSHIP BETWEEN NORADRENALINE CONTENT IN OVARY AND BLOOD ESTROGEN AND PROGESTERONE LEVELS

Wen Hui, et al

Department of Reproductive Physiology

The noradrenaline(NE) content in ovary as well as estrogen(E) and progesterone(P) levels in blood of the mature and inmature rats were determined with spectrophotofluorometry and radioimmunoassay respectively. The ovary NE content and blood E,P levels have been found to fluctuate during estrous cycle. By using linear regression, it shows that blood P level (Y) is affected by the ovary NE content (X) in a linear manner, where $Y=0.002X-1.2$(Significance test of regression coefficient, $P<0.01$). Besides, the NE and the sex hormone content in immature rat were significantly lower than those in mature rat ($P<0.01$). It is concluded that the synthesis of P in ovary may be promoted by the raise of blood NE level after maturation

KEY WORDS Ovary; Noradrenaline; Estrogen; Progesterone; Rat

勘误

本刊上期148页短篇《卡马西平引起严重白细胞减少症1例报告》一文中遗漏作者姓名陈德祥特此补正，向作者致歉。

学报编辑室