

# 幼狼血液生理生化及激素参考值

陈磊 张洪海\*

(曲阜师范大学生命科学学院 曲阜 273165)

**摘要:**为了解狼 (*Canis lupus*) 幼体的血液生理生化和某些激素正常值及其特点,为相关生物学研究、人工饲养和健康检测提供参考资料,本文采用全自动血球计数仪、全自动生化分析系统和全自动第三代发光免疫仪对 8 只 4 月龄幼狼的 40 项血液生理生化及 8 项血清激素指标进行了测定。结果表明,雌雄幼狼的血液生理生化指标无显著差异;雄性幼狼的大多数血液理化指标均比雌性幼狼偏高;雌雄幼狼的血清激素水平存在一定的性别专属。

**关键词:** 幼狼; 血液学; 血液生化学; 激素

**中图分类号:** Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2008)04-127-04

## The Hematology, Blood Biochemistry and Serum Hormones in Wolf Pups

CHEN Lei ZHANG Hong-Hai\*

(College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

**Abstract:** To explore the normal values of hematology, blood biochemistry and serum hormones of wolf pups (*Canis lupus*), 40 hematological and blood biochemical indexes and 8 serum hormone indexes were measured in eight 4-month-old wolf pups. It is showed that there is no significant sexual difference in hematological and blood biochemical indexes between male and female wolf pups except for the sex-specific serum hormones.

**Key words:** Wolf pups; Hematology; Blood biochemistry; Serum Hormone

狼 (*Canis lupus*) 属于食肉目犬科犬属,适应能力强,曾在我国有广泛的分布。近年来,由于人为干扰的影响,狼野生种群的分布和数量已明显减少。目前,国内外对狼的研究已从多方面展开,在遗传学、生态学和行为学方面的研究已较深入<sup>[1]</sup>。在形态学方面,有狼的颅骨、牙齿形态结构及四肢骨骼等的研究报道<sup>[2]</sup>,在生理学方面,也有学者从事幼狼的能量和蛋白质需求量的研究<sup>[3]</sup>,但目前仅有成年狼的血液指标的参考值<sup>[4]</sup>。本文对 4 月龄幼狼的血液生理生化和激素指标进行了测定,旨在为狼的相关生物学研究以及人工饲养、繁殖、疾病诊断和防治提供一些基础性资料。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物 幼狼共 8 只,雌雄各半,捕捉

于内蒙古自治区达赉湖自然保护区附近。捕获时幼狼大约出生 20 d 左右。捕获后室内笼养,室外有运动场。饲料主要以活鸡、鱼为主,辅以鲜牛羊肉,饮自来水。采血时已人工饲喂三个半月。生长发育良好,平均体重 12.84 kg。活动正常,被毛光泽,经兽医师检验无任何疾病。已免疫犬五联苗(美国 Fort Dodge Animal Health 公司生产,犬瘟热、狂犬病、犬细小病毒病、犬传染性肝炎、犬副流感五联苗)。

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30370218),2007 新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-07-0507);

\* 通讯作者, E-mail: zhanghonghai67@126.com;

第一作者介绍 陈磊,男,博士研究生;研究方向:野生动植物保护与利用; E-mail: leisurechen@163.com。

收稿日期:2007-11-28,修回日期:2008-05-05

**1.2 仪器与试剂** 采血用的 2 ml EDTA- $k_2$  血常规管和 5 ml 促凝管为山东成武华通医用制品厂生产。

血常规指标应用全自动血球计数仪 (Cell-Dyn3700 型, 美国 Abbott Laboratories) 进行检测。该仪器是一种 5 分类仪器, 采用氦氛激光, 运用流式细胞术进行红细胞和血小板计数; 应用电阻法原理 (WIC) 和激光分析 (WOC) 计数白细胞总数, 利用多角度激光散射分析技术 (MAPSS 技术) 对白细胞进行分析, 可同时实现 25 项血常规和 3 项网织红细胞分析。

血液生化指标应用全自动生化分析系统 (ADVIA 2400 型, 美国 Bayer) 进行检测。仪器采用惰性碳氟油循环系统, 可基于分光光度法对血液各种生化指标进行测定。所有的样本按 1:5 比例进行预稀释处理, 标准反应温度为 37 $^{\circ}$ C。Bayer 原装试剂可以分析包括 3 项电解质指标在内的 49 项血液生化指标。

血清激素指标应用全自动第三代发光免疫仪 (AxSYM System, 美国 Abbott Laboratories) 进行检测。该系列产品的主要作用原理是基于微粒酶免疫技术 (MEIA) 或荧光偏振免疫技术 (FPIA), 应用 AxSYM System 进行人和哺乳动物血清及血浆激素指标的定量检测。仪器操作自动化, 可连续取样, 任意加样本、试剂和消耗品。加样时, 所取血液样本经离心 (3 000 r/min, 5 min) 分离血清后, 与待检激素试剂盒同时放置于 AxSYM System 试剂托盘的固定位置, 样本和待检激素的抗体通过取样臂的探头自动吸入 AxSYM System 的反应锅 (RV) 中, 反应锅即被转移至反应中心进行反应。激素检测所用试剂盒购于美国 Abbott Laboratories, 试剂盒均为即用型, 规格为 100 Tests, 使用时血清样本及检测试剂均无需稀释。试剂盒主要成分及其检测时所需血清量见表 1。

表 1 血清激素指标检测试剂盒及血清量

Table 1 The reagent kits and the quantity of serum for serum hormone test

名称 Reagent kit	主要成分 Composition	灵敏度 (95%) Sensitivity	方法 Method	血清量 ( $\mu$ l) Quantity
AXS FT3 RGT	FT3 碱性磷酸酶标记物, 山羊 Anti-T3 单抗 (微粒子包被)	1.1 ~ 30 ng/L	MEIA	200
AXS FT4 RGT	FT4 碱性磷酸酶标记物, 绵羊 Anti-T4 单抗 (微粒子包被)	4 ~ 60 ng/L	MEIA	150
AXS INSUL RGT	Insulin 碱性磷酸酶标记物, 鼠 Anti-Insulin 单抗 (微粒子包被)	1 ~ 40 mU/L	MEIA	150
AXS FSH RGT	鼠 Anti-FSH 单抗 (微粒子包被), 山羊 Anti-FSH 多抗碱性磷酸酶标记物	0.17 ~ 106 IU/L	MEIA	150
AXS ESTRA RGT	Estra 碱性磷酸酶标记物, 兔 Anti-Estra 多抗 (微粒子包被)	0.025 ~ 4.8 mg/L	MEIA	200
AXS TESTO RGT	Testo 碱性磷酸酶标记物, 鼠 Anti-Testo 单抗 (微粒子包被)	0.01 ~ 15 mg/L	MEIA	200
AXS PROG RGT	Prog (微粒子包被), 绵羊 Anti-Prog 单抗碱性磷酸酶标记物	0.2 ~ 40 $\mu$ g/L	MEIA	150
AXS CORTI RGT	Corti 荧光追踪剂, 鼠 Anti-Corti 单抗, 山羊 Anti-Corti 多抗	0.01 ~ 0.6 mg/L	FPIA	150

**1.3 实验方法** 于秋季 (9 月初) 进行实验。幼狼采血前禁食 14 h, 早 8:00 ~ 9:00 时在清醒状态下人工仰卧保定, 后肢外侧隐静脉采血 12 ~ 15 ml。其中, 2 ml 注入 EDTA- $k_2$  血常规管中, 颠倒 8 ~ 10 次, 制备抗凝血, 用于血液生理指标的检测。另外 10 ml 分别注入两个 5 ml 促凝管中, 静置, 制备血清, 用于血清生化和激素水平的检测。所有血样均未出现溶血现象。所有检测均在当天完成, 检测具体工作在济宁医学院附属医院医学检验科进行。

**1.4 数据处理** 统计分析应用 SPSS 13.0 完成,  $t$ -检验比较雌雄个体间相应指标的差异显著性。分析数据用平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示。

## 2 结果

**2.1 血液生理指标测定结果** 经测定比较发现, 雄性幼狼的大多数血液生理指标均比雌性幼狼偏高, 但未发现显著差异 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

表 2 4 月龄狼血液生理参考值

Table 2 The hematological indexes of 4-month-old wolf pups (Mean  $\pm$ SD)

测定项目 Item	(n=4)	(n=4)
白细胞 Leucocyte ( $10^9/L$ )	10.07 $\pm$ 2.89	10.50 $\pm$ 2.60
红细胞 Erythrocyte ( $10^{12}/L$ )	5.73 $\pm$ 0.18	5.28 $\pm$ 0.44
血红蛋白浓度 Hemoglobin (g/L)	138.50 $\pm$ 6.36	126.50 $\pm$ 16.26
红细胞压积 Hematocrit value (%)	41.20 $\pm$ 1.41	37.45 $\pm$ 2.62
平均红细胞体积 Mean corpuscular volume (fL <sup>*</sup> )	71.90 $\pm$ 0.14	70.95 $\pm$ 0.92
平均红细胞血红蛋白 Mean corpuscular hemoglobin (pg)	24.15 $\pm$ 0.35	23.90 $\pm$ 1.13
平均红细胞血红蛋白浓度 Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/L)	336.00 $\pm$ 4.24	337.00 $\pm$ 19.80
血小板 Blood platelet ( $10^9/L$ )	138.00 $\pm$ 144.25	178.50 $\pm$ 75.66
红细胞分布宽度变异系数 The variation coefficient of corpuscular distribution (%)	13.75 $\pm$ 0.35	14.30 $\pm$ 0.42
红细胞分布宽度标准差 The standard difference of corpuscular distribution (fL <sup>*</sup> )	29.65 $\pm$ 1.06	30.55 $\pm$ 1.91

\* fL, 毫微微升, 即  $10^{-15}$  L。 \* fL, femtoliter, 1 fL =  $10^{-15}$  L。

2.2 血液生化及激素指标测定结果 经测定比较, 雌雄幼狼的各项血液生化指标未发现显著差异 ( $P > 0.05$ , 表 3)。睾酮和雌二醇的测定

值雌雄幼狼差异显著 ( $P < 0.05$ ), 为性别专属。其余激素指标无显著差异 (表 4)。

表 3 4 月龄狼血液生化参考值

Table 3 The blood biochemical indexes of 4-month-old wolf pups (Mean  $\pm$ SD)

测定项目 Item	(n=4)	(n=4)
总蛋白 Total protein (g/L)	58.25 $\pm$ 3.18	58.45 $\pm$ 0.64
白蛋白 Albumin (g/L)	30.35 $\pm$ 1.63	30.00 $\pm$ 0.57
球蛋白 Globulin (g/L)	27.90 $\pm$ 1.56	28.90 $\pm$ 0.57
白蛋白/球蛋白 A/G	1.09 $\pm$ 0.01	1.04 $\pm$ 0.04
谷草转氨酶 Aspartate aminotransferase (U/L)	47.50 $\pm$ 2.12	42.50 $\pm$ 0.71
谷丙转氨酶 Alanine transaminase (U/L)	59.00 $\pm$ 18.38	55.00 $\pm$ 2.83
谷草/谷丙 AST/ALT	0.84 $\pm$ 0.23	0.77 $\pm$ 0.03
肌酸激酶 Creatine kinase (U/L)	294.50 $\pm$ 54.45	277.00 $\pm$ 28.28
肌酸激酶同工酶 Creatine kinase isoenzyme (U/L)	539.00 $\pm$ 120.21	497.50 $\pm$ 62.93
-谷氨酰转肽酶 Glutamyltranspeptidase (U/L)	5.50 $\pm$ 0.71	4.50 $\pm$ 0.71
乳酸脱氢酶 Lactate dehydrogenase (U/L)	120.00 $\pm$ 32.53	127.00 $\pm$ 12.73
羟丁酸脱氢酶 Hydroxybutyrate dehydrogenase (U/L)	51.50 $\pm$ 12.02	48.50 $\pm$ 7.78
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase (U/L)	213.00 $\pm$ 15.57	208.50 $\pm$ 9.19
总胆固醇 Total cholesterol (mmol/L)	6.75 $\pm$ 0.63	6.60 $\pm$ 0.28
总胆红素 Total bilirubin ( $\mu$ mol/L)	1.90 $\pm$ 0.14	2.40 $\pm$ 0.57
直接胆红素 Direct bilirubin ( $\mu$ mol/L)	0.80 $\pm$ 0.01	1.05 $\pm$ 0.21
间接胆红素 Indirect bilirubin ( $\mu$ mol/L)	1.10 $\pm$ 0.14	1.35 $\pm$ 0.35
尿酸 Uric acid (mmol/L)	17.50 $\pm$ 3.54	18.00 $\pm$ 7.07
尿素氮 Urea nitrogen (mmol/L)	4.05 $\pm$ 0.35	6.05 $\pm$ 2.05
肌酐 Creatinine ( $\mu$ mol/L)	68.00 $\pm$ 0.01	69.00 $\pm$ 1.41
甘油三酯 Triglyceride (mmol/L)	0.60 $\pm$ 0.14	0.60 $\pm$ 0.01
葡萄糖 Glucose (mmol/L)	5.60 $\pm$ 0.28	6.45 $\pm$ 1.06
钙 Calcium (mmol/L)	2.73 $\pm$ 0.10	2.73 $\pm$ 0.14
镁 Magnesium (mmol/L)	0.71 $\pm$ 0.09	0.67 $\pm$ 0.06
磷 Phosphorus (mmol/L)	3.42 $\pm$ 0.47	3.26 $\pm$ 0.45
载脂蛋白 a Apolipoprotein a (g/L)	0.40 $\pm$ 0.01	0.40 $\pm$ 0.01
载脂蛋白 b Apolipoprotein b (g/L)	0.04 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.01
高密度脂蛋白 High density lipoprotein (mmol/L)	4.35 $\pm$ 0.19	4.13 $\pm$ 0.06
低密度脂蛋白 Low density lipoprotein (mmol/L)	0.86 $\pm$ 0.26	0.76 $\pm$ 0.06
极低密度脂蛋白 Very low density lipoprotein (mmol/L)	1.56 $\pm$ 0.23	1.72 $\pm$ 0.32

表 4 4 月龄幼狼的血清激素参考值

Table 4 The blood serum hormone indexes of 4-month-old wolf pups (Mean  $\pm$ SD)

测定项目 Item	(n = 4)	(n = 4)
游离三碘甲状腺素 Free triiodothyronine (pmol/L)	4.70 $\pm$ 0.42	4.25 $\pm$ 0.21
游离四碘甲状腺素 Free thyroxine (pmol/L)	9.75 $\pm$ 1.06	10.50 $\pm$ 0.57
胰岛素 Insulin (mU/L)	17.40 $\pm$ 9.05	16.55 $\pm$ 9.83
促卵泡成熟激素 Follicle-stimulating hormone (IU/L)	0.25 $\pm$ 0.05	0.31 $\pm$ 0.07
雌二醇 Estradiol (mg/L)	0.05 $\pm$ 0.07	1.15 $\pm$ 0.21
睾酮 Testosterone (mg/L)	1.40 $\pm$ 0.42	0.05 $\pm$ 0.01
孕酮 Progesterone (mg/L)	1.38 $\pm$ 0.48	2.08 $\pm$ 1.03
皮质醇 Cortisol (mg/L)	0.11 $\pm$ 0.32	0.12 $\pm$ 0.38

### 3 讨论

血液指标是反映动物生理机能和生物学特性的重要参数,直至成年,动物的各项血液指标逐渐趋于稳定。幼狼血液生理生化测定结果中大多数指标吻合情况比较好,而谷草转氨酶、谷丙转氨酶、-谷氨酰转肽酶、乳酸脱氢酶、羟丁酸脱氢酶、碱性磷酸酶等酶类指标浮动比较大。在对山魈 (*Mandrillus sphinx*)、梅花鹿 (*Cervus nippon*)、金钱豹 (*Panthera pardus*) 等野生动物血液生理生化指标测定中也存在同样问题<sup>[5-7]</sup>。由于动物血液指标测定结果与动物年龄、性别、生理状况、生活环境等因素有关,同时还受动物采食、运动、应激以及样本处理的影响。所以,以上结果还需进一步验证。

雌雄幼狼的各项血液指标差异不显著 ( $P > 0.05$ ),这一结果与成年狼<sup>[4]</sup>及华南虎 (*Panthera tigris amoyensis*)<sup>[8]</sup>的情况相同,而与金钱豹<sup>[7]</sup>的测定结果不同。通过对成年狼和犬科其他动物的比较研究发现,犬科动物大多数血液生理生化参数值无种属特异性<sup>[4,9-11]</sup>。是

否犬科动物幼兽的血液各项参数同样较为接近,尚待考证。同时,通过对金钱豹<sup>[5-8]</sup>等动物的血液指标研究发现,血液指标年龄间的差异明显大于性别间的差异。这一点在狼的血液指标中是否也有体现,还需进一步验证。

幼狼的血清激素水平体现了性别差异。但是这种差异较之成年动物还不是很明显,这一点体现在雌雄幼狼除睾酮和雌二醇以外其他指标(如孕酮)的差异不显著上。

**致谢** 本实验得到了济宁医学院附属医院的鼎力相助,在此谨表谢意!

### 参 考 文 献

- [1] 高中信. 中国狼研究进展. 动物学杂志, 2006, 41(1): 134 ~ 136.
- [2] 刘玉堂, 高中信, 刘红民等. 狼颅骨及牙齿的形态结构. 东北林业大学学报, 1997, 25(1): 33 ~ 37.
- [3] 孙森, 高中信, 佟飞等. 幼狼的能量和蛋白质需要量初步研究. 东北林业大学学报, 1995, 23(6): 47 ~ 51.
- [4] 肖向红, 高中信, 王丽萍等. 狼的血液和血液生化参考值. 兽类学报, 1998, 18(1): 34 ~ 41.
- [5] 邓家波, 钟顺隆, 王强等. 圈养山魈血液生理生化指标测定. 动物医学进展, 2005, 26(7): 86 ~ 90.
- [6] 赵波, 王强, 牛李丽等. 四川地区梅花鹿 40 项血液生理生化指标的测定. 动物医学进展, 2005, 26(8): 55 ~ 57.
- [7] 赵波, 王强, 牛李丽等. 圈养金钱豹血液生理生化指标的测定. 动物医学进展, 2006, 27(6): 84 ~ 87.
- [8] 凌铭德, 李克东, 李仲逵等. 华南虎血液及生物化学某些指标的测定. 动物学报, 1998, 44(4): 430 ~ 434.
- [9] 杨锋, 王红星, 何永亮等. 实验 Beagle 犬血液学及血液生物化学参考值探讨. 中国比较医学杂志, 2004, 14(6): 355 ~ 358.
- [10] 隋丽华, 吴娜, 王冬平等. 比格犬生长期血液生理生化指标的测定. 实验动物科学与管理, 2006, 23(3): 26 ~ 30.
- [11] 齐云, 蔡润兰, 刘彬等. Beagle 犬血液生化参考值的建立. 中国比较医学杂志, 2006, 16(4): 201 ~ 207.