

恒河猴(*Macaca mulatta*)生殖周期内性 类固醇激素分泌规律的研究*

季维智 邹如金 严 晔 杨克勤

(中国科学院昆明动物研究所)

吴光瑛 王伯苓 孔凌

(昆明医学院第一附属医院)

摘 要

本文用放射免疫测定法对7只雌性恒河猴(*Macaca mulatta*)的20个月经周期进行了雌二醇、孕酮和睾酮的动态测定分析,其中15个月经周期的中期都有睾酮和雌二醇峰(其峰值分别为 1010.7 ± 411.3 pg/ml和 179.1 ± 91.3 pg/ml),孕酮在黄体期的峰值为 2.54 ± 0.65 ng/ml。正常黄体期的血清孕酮水平不低于1 ng/ml。20个月经周期的平均天数为 28.6 ± 5.4 天,卵泡期和黄体期分别为 11.9 ± 2.6 和 19.2 ± 6.3 天。月经周期可用公式 $Y = 18.92 \pm 0.03 \times X^2$ (Y: 月经周期, X: 黄体期, $R = 0.9444$)表示。实验结果表明,测定周期内三种性类固醇激素可以准确确定排卵。睾酮在生殖周期内的分泌调节机制还待进一步研究。

关键词: 恒河猴(*Macaca mulatta*), 月经周期, 雌二醇, 孕酮, 睾酮

对非人灵长类生殖规律的研究有两个重要意义:一是建立理想的人类生殖的动物模型;一是提高灵长类动物的繁殖率。后者随野生灵长类动物的日趋减少而显得十分重要。本世纪60年代后,随着放射免疫测定技术的广泛应用,对在生殖过程中有重要作用的性类固醇激素作了不少研究。20多年来,恒河猴(*Macaca mulatta*)生殖周期内雌激素和孕酮的变化已有较多的研究(Neill *et al.*, 1967; Parkin & Hendrickx, 1975; Hopper & Tullner, 1970; Foster, 1977; Hess & Resko, 1973; Weick *et al.*, 1973; 练幼辉等, 1983),但有关睾酮变化的报道则很少。本文用放射免疫测定法(RIA)对恒河猴月经周期内的雌二醇,孕酮和睾酮作了测定分析,以期对性类固醇激素变化规律有全面的了解。

* 国家自然科学基金资助课题

本文1986年5月13日收到,1987年4月9日收到修改稿

材 料 和 方 法

实验动物 本所自繁、月经周期正常的雌恒河猴7只(体重4.2—6.0公斤),分别单独饲养于 $0.8 \times 0.6 \times 0.6 \text{M}^3$ 笼内。每日喂食两次,辅以蔬菜、水果,饮水充足,自然光照。

血样采集 在观察到动物有两个正常的月经周期后开始采血,共采集20个月经周期。除月经中期(约5天内)每天隐静脉取血一次外,其余每隔一天取血一次,时间均为早晨8:00—9:00。每次取血约3 ml, 4°C , 2,000rpm离心15分钟分离血清,在 -20°C 保存待用。

激素的测定 雌二醇、孕酮和睾酮的测定均用放射免疫法(RIA)。参照刘以训(1982)法稍加修改。RIA药盒购自上海内分泌所。雌二醇的提取回收率大于90%,灵敏度 $0.5\text{pg}/\text{管}$,批内差小于7%,批间差小于13%;孕酮的提取回收率大于80%,灵敏度 $50\text{pg}/\text{管}$,批内差小于10%,批间差小于15%;睾酮的提取回收率大于95%,灵敏度 $10\text{pg}/\text{管}$,批内差小于8%,批间差小于14%。

月经周期的计算 采用两种方法:一种是行经的第一天至下一次行经为一个周期。行经开始至雌二醇峰为滤泡期(follicle phase),雌二醇峰至下一次行经为黄体期(luteal phase)。另一种是以雌二醇峰为周期的0天,峰值前为-1, -2……天等(滤泡期);峰值后为1, 2……天等(黄体期)。

结 果

表1列出了恒河猴的月经周期和性类固醇激素峰出现的时间。20个月经周期的平均天数为 28.6 ± 5.4 天(24—43天),滤泡期为 11.9 ± 2.6 天(7—17天),黄体期为 16.5 ± 4.8 天(11—27天)。15个月经周期的雌二醇峰与睾酮峰同步,均发生在周期的第7—17天。孕酮峰出现的时间因黄体期的长短而异,发生在月经周期的第13—27天。

图1显示了恒河猴月经周期内性类固醇激素的变化。在所测定的20个月经周期中,15个有明显的中期雌二醇峰,其平均值达 $179.7 \pm 91.3 \text{pg}/\text{ml}$ (116.4—378.0 pg/ml),而滤泡期和黄体期的平均值则分别为 $66.2 \pm 6.8 \text{pg}/\text{ml}$ 和 $61.7 \pm 9.2 \text{pg}/\text{ml}$ 。约在黄体期的第5天还可测到一个雌二醇小峰。睾酮峰与雌二醇峰同步,其值为 $1010.7 \pm 441.3 \text{pg}/\text{ml}$ (780—1900 pg/ml)。滤泡期睾酮的均值($589.1 \pm 117.6 \text{pg}/\text{ml}$)显著高于黄体期($465.5 \pm 87.4 \text{pg}/\text{ml}$, $P < 0.05$)。图2为27号猴一个月经周期的性类固醇激素的变化。

13个月经周期滤泡期内,孕酮保持基础水平($0.548 \pm 0.088 \text{ng}/\text{ml}$),至中期雌二醇出现峰值时才明显上升,大约在周期的第11至27天达到峰值($2.545 \pm 0.648 \text{ng}/\text{ml}$),之后逐渐下降,但不低于 $1 \text{ng}/\text{ml}$ 。有两个月经周期(27D和426A)虽有雌二醇和睾酮峰出现,但未测到明显的孕酮峰,整个黄体期血清孕酮水平均低于 $1 \text{ng}/\text{ml}$ 。其余五个月经周期(36D, 454B, C; 426B, 32B)的性类固醇激素未能测到有规律的变化或是水平较低。

表 1

恒河猴月经周期的特点

Tab. 1 Character of menstrual cycles in rhesus monkeys

猴 号 Monkeys No.	周期持续天数 Length(days)	月 经 周 期 Menstrual cycle			
		雌二醇峰(天) Day of E peak	孕酮峰(天) Day of T ₁ peak	孕酮峰(天) Day of P ₁ peak	
27	A	26	10	10	14
	B	27	11	11	14
	C	27	10	10	13
	D	26	12	12	--
	E	28	14	14	19
28	A	43	17	17	27
	B	43	16	16	27
36	A	24	13	13	16
	B	24	9	9	14
	C	25	10	10	15
	D	25	11	--	--
5	A	30	13	13	15
	B	29	11	11	14
454	A	26	7	7	13
	B	27	--	--	--
	C	31	--	--	--
426	A	26	14	14	--
	B	24	--	--	--
32	A	29	12	12	14
	B	31	--	--	--
平均值 Mean ± SD	28.6 ± 5.4	11.9 ± 2.6	11.9 ± 2.7	16.5 ± 4.8	

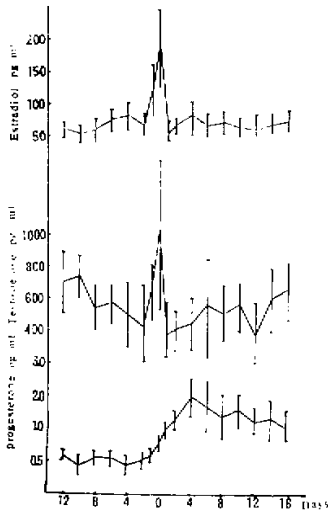


图1 月经周期内性类固醇激素的变化

Fig. 1 Cyclical variations in the concentrations of steroids during the menstrual period ($n = 13$).

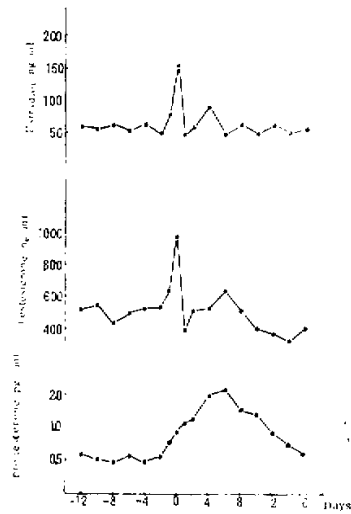


图2 恒河猴月经周期内每日血清性类固醇激素的变化

Fig. 2 Daily serum sex steroids concentrations in the menstrual cycle (No. 27).

讨 论

除少数较低等的灵长类外, 月经周期是灵长类生殖生理规律的重要特征。月经周期的长短受气候, 饲养条件和内分泌等多种因素影响。自本世纪以来, 对恒河猴的月经周期有不少报道 (Parkin & Hendrickx, 1975; Neill *et al.*, 1967; 练幼辉等, 1983)。一般认为生殖季节恒河猴的月经周期为30天左右。从本研究看, 20个月经周期在24—43天间, 平均 28.6 ± 5.4 天, 无较大差异, 但较本地区练幼辉等 (1983) 报道的恒河猴月经周期 (30.4 ± 5.7 天) 短些。这可能与饲养条件有关。从猕猴属7个亚属的几种动物的月经周期看, 尽管它们分布于亚洲广大地区和非洲局部, 但其月经周期大致分为三种型式。一种是典型模式: 28—30天; 一种是短月经周期, 20—27天; 一种是长月经周期, 31—50天。滤泡和黄体的生长和成熟时间是影响灵长类月经周期的直接原因。一般认为, 妇女的月经周期的长短反映着排卵前期的加长或变短 (Hafez, 1980)。Shaikh等 (1978) 认为, 灵长类月经周期的长短, 决定于黄体期的变化。据我们观察到的15个月经周期中, 12个月经周期的滤泡期为9—14天 (占80%), 1个月经周期的滤泡期为7天 (占6.7%), 2个月经周期的滤泡期为16—17天 (占13.3%)。这表明恒河猴的滤泡期是相对稳定的。从表1看出, 恒河猴的黄体期变化较大。因此, 恒河猴的月经周期的长短似主要决定于黄体期, 而不同于Monrone等 (1970) 报道的猕猴的月经周期长短与

滤泡期的变化相关。另据本文研究的结果, 恒河猴的月经周期可用二次曲线方程 $Y = 18.92 + 0.03X^2$ (Y : 月经周期, X : 黄体期; $R = 0.9444$) 表示。

Labotsky等 (1961) 和Adam等 (1978) 在妇女月经周期中测到与雌激素峰一致的睾酮峰。本实验结果与妇女的月经周期相似。所不同的是妇女月经周期的睾酮水平在黄体期较滤泡期高, 而恒河猴的在黄体期却较低, 这和Hess等 (1973) 报道的结果相似。与Hess等的结果不同的是, 我们所测到的整个周期的睾酮水平都较低。上述结果表明, 与雌二醇相似, 恒河猴生殖周期中血清睾酮水平可以用来指示排卵。除了猕猴外, Nadler等于1984年分别报道了在大猩猩 (*Gorilla gorilla*) 和猩猩 (*Pongo pygmaeus*) 的月经周期中也存在同样的睾酮峰。

注射雄激素能使妇女的性欲增加, 这在临床上早有报道。因此, Moncy (1961) 认为妇女的性行为与雄激素有关。Trimble和Herbert (1968) 报道, 一定剂量的睾酮 (1 mg/天) 能促使雌性猕猴的性行为增强, 但注射高剂量的睾酮 (5 mg/天和25mg/天), 非但不增强其性欲, 反而增加其好斗性。故Nadler等 (1981) 认为, 雌性灵长类的睾酮水平与性冲动调节 (Regulation of female sexual intitution) 有关。然而, 并非所有的灵长类的月经周期中都存在这样一个睾酮峰。例如, 狒狒 (*Papio hamadryas*) 的月经周期内就未显示出这一有规律的睾酮峰 (Goncharov *et al.*, 1976)。此外, 从本研究的图3还可看出, 周期中的血清睾酮水平波动较大, 与雌二醇水平之比的变化也较大 (5.32—12.33)。这些结果表明有关周期内睾酮的分泌调节机制及其在进化中的意义, 都值得进一步深入研究。

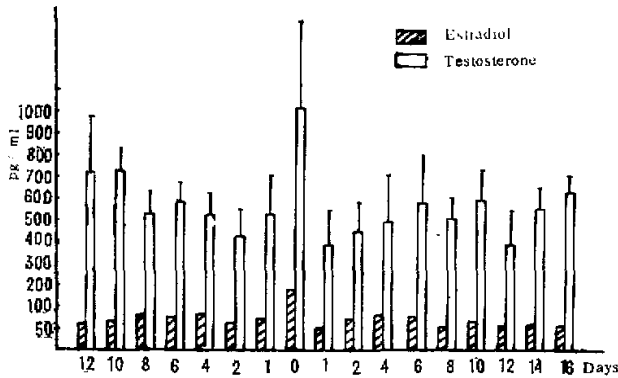


图3 月经周期内雌二醇和睾酮的比较

Fig. 3 Comparison of estradiol and testosterone in menstrual cycles ($n = 13$).

雌二醇在灵长类的月经周期中起着重要作用, 被认为是周期中各种事件的发起者 (Hafez, 1980)。用测定周期中雌二醇的峰值来指示排卵, 已在许多非人灵长类中被认为是一种有效的方法 (Ando *et al.*, 1976; Collins *et al.*, 1975; Lasley *et al.*,

1974; Parkin & Hendrickx, 1975; Shaikh *et al.*, 1978)。从上述研究结果看,除了在月经周期中期都存在明显的雌二醇峰外,灵长类的血清雌二醇水平随种类不同有所差异。不同地区的相同种类其周期内雌二醇峰可能也有一定差异。就本研究结果看,我们所测雌二醇峰值较Hess (1973)所报道的低,而与练幼辉等(1983)的结果相似。

Wilks等(1979)认为,月经周期内的孕酮值可以用来鉴别动物是否排卵。如果发生排卵,黄体期孕酮水平不低于1 ng/ml,而在没有排卵的周期中,虽然出现雌二醇峰和促性腺激素峰,但黄体期血清孕酮水平却低于1 ng/ml;而且认为这种不排卵周期又可分两种情况:一种是短黄体期(小于10天);一种是不完全黄体期,其特点是黄体期时间虽与正常黄体期相同,但孕酮水平明显较低。Walker等(1983)证实了这一结论。从本实验结果看,有两个月经周期虽有明显的雌二醇峰,黄体期也大于10天,但黄体期孕酮水平较低(分别为 0.724 ± 0.052 ng/ml和 0.636 ± 0.045 ng/ml)。综上所述,虽然周期内三种性类固醇激素均可用于排卵,但要准确确定排卵是否发生,应对三种激素作全面测定。

此外,Conaway (1971)和Walker等(1983)认为,有明显生殖季节的动物不能多次重复排卵。Walker等还认为,在半自然条件下,恒河猴在生殖季节一般排卵2—3次,最多6次,而且排卵多发生在生殖季节的早期。本文研究结果,7只动物中排卵最多4次(27号),平均2次,与上述结果一致。据此认为,在分群舍养的恒河猴中,为提高繁殖率,应将动物的交配时间控制在生殖季节的早期。

参 考 文 献

- 刘以训 1982 一种快速、可靠的性甾体激素放射免疫测定法。动物学杂志 3:42—45
- 练幼辉等 1983 雌性恒河猴血清雌二醇和孕酮水平的季节性变化。上海畜牧兽医通讯, 实验动物科学专刊 3(1):24—27
- Adams, D. B. *et al.*, 1978 Rise in female-initiated sexual activity at ovulation and its suppression by oral contraceptives. *N. Engl. J. Med.* 299:1145—1150
- Ando, A. *et al.*, 1976 Routine measurement of urinary estrogens of the female Japanese monkey as an index for estimating the time ovulation. *Primates* 17:89—93
- Cullins, D. C. *et al.*, 1975 Identification and measurement of urinary estrone during the menstrual cycle of the orangutan. *Endocrinology* 96:93—101
- Hafez, E. S. E. (ed) 1980 Human reproduction. Conception and Contraception. Second edition. Harper & Row, Publishers.
- Hess, D. L. & Resko, A. 1973 The effects of progesterone on the patterns of testosterone and estradiol concentrations in the systemic plasma of female rhesus monkey during the intermenstrual period. *Endocrinology* 92:446—453
- Hopper, B. R. & Tullner, W. W. 1970 Urinary estrone and plasma progesterone levels during the menstrual cycle of the rhesus monkey. *Endocrinology* 86:1225—1230
- Koyama, T. *et al.*, 1977 Plasma estrogen, progestin, and luteinizing hormone during the normal menstrual cycle in the baboon, role of luteinizing hormone. *Am. J. Obst. Gynec.* 127:67—72
- Lobotsky, J. *et al.*, 1964 Plasma testosterone in the normal woman. *J. Clin. Endocr. Metab.* 24:1262—1265

- Money, J. 1961 Sex hormone and variable in human erotism. In: Sex and Internal Secretions. pp 1381—1400, Young, W. C. (ed). London, Boilliere, Tindall and Cox Ltd.
- Munrone, S. J. *et al.*, 1970 Patterns of circulating luteinizing hormone and their relationship cycle of the rhesus monkey. *Endocrinology* 87:453—455
- Nadler, R. D. *et al.*, 1984 Luteinizing hormone and gonadal steroid levels during the menstrual cycle of orangutans. *J. Med. Primat.* 13:305—314
- , 1981 Laboratory research on sexual behavior of the great apes. In: Reproductive Biology of Great Apes; Comparative and Biomedical Perspectives. pp 191—238. Graham, C. E. (ed). New York, Academic press.
- Neill, J. D. *et al.*, 1967 levels of progesterone in peripheral plasma during the menstrual cycle of rhesus monkey. *Endocrinology* 81:1161—1164
- Parkir, R. F. & Hendrickx, A. G. 1975 The temporal relationship between the preovulatory estrogen peak and optimal mating period in rhesus and bonnet monkeys. *Biol. Reprod.* 13:610—616
- Shaikh, A. A. *et al.*, 1978 Concentrations of oestradiol-17 β and progesterone in the peripheral plasma of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) in relation to the length of the menstrual cycle and its component phase. *J. Endocr.* 79:1—7
- Trimble, M. R. & Herbert, J. 1968 The effect of testosterone or Oestradiol upon the sexual and associated behavior of the dault female rhesus monkey. *J. Endocr.* 42:171—185
- Walker, M. L. *et al.*, 1983 Menstrual cycle characteristics of seasonally breeding rhesus monkeys. *Biol. Reprod.* 29:841—848
- Weick, R. F. *et al.*, 1973 Perioovulatory time courses of circulating gonadotropin and ovarian hormoens in the rhesus monkey. *Endocrinology* 93:1140—1174
- Wilks, J. W. *et al.*, 1979 Endocrine characteristics of ovulatory and anovulatory menstrual cycles in rhesu monkey. In: Human Ovulation. Hafez, E. S. E. (ed). pp 205—218 Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam.

STUDY ON SECRETION OF SEX
STEROIDS OF RHESUS MONKEY
(*MACACA MULATTA*) IN MENSTRUAL CYCLES

Ji Weizhi Zou Ruijin Yan Ye Yong Kejin
(*Kunming Institute of Zoology, Academic sinica*)

Wu Gungyin Wang Bolin Kong ling
(*The First Hospital Attached to Kunming Medical College*)

The concentration of sex steroids in the serum of 7 females rhesus monkeys during the intermenstrual period were measured by radioimmunoassay. Fifteen of 20 menstrual cycles have a surge of estradiol and testosterone in the middle cycles. The average surge value of estradiol and testosterone are 179.1 ± 91.3 pg/ml and 1010.1 ± 411.3 pg/ml respectively. In normal luteal phase, the value of progesterone is not below 1 ng/ml. The average length of 20 menstrual cycles is 28.6 ± 5.4 days (mean \pm SD). Follicle phase is 11.9 ± 2.8 days. Luteal phase is 19.2 ± 6.3 days. The menstrual cycles are expressed by the formula $Y = 18.92 \pm 0.03X^2$ (Y; menstrual cycle, X; luteal phase; $R = 0.9444$). The results suggest that measuring the three steroids hormones can be accurately indexed ovulatory in rhesus monkeys. The mechanism of secretion and regulation of testosterone in reproductive cycle will be studied continuously.

Key words: *Macaca mulatta*, menstrual cycle, estradiol, testosterone, progesterone.