

引用格式:朱万龙,章迪,叶芳艳,等.雌性中缅树鼩不同生理期血液激素和脂类指标分析[J].科学技术与工程,2018,18(1):182—186
Zhu Wanlong, Zhang Di, Ye Fangyan, et al. Analysis of hormone and lipid index in different physiological period of female tree shrews (*Tupaia belangeri*) [J]. Science Technology and Engineering, 2018, 18(1): 182—186

生物科学

雌性中缅树鼩不同生理期血液激素和脂类指标分析

朱万龙¹ 章迪² 叶芳艳¹ 王政昆^{1*}

(云南师范大学云南省高校西南山地生态系统动植物生态适应进化及保护重点实验室,生命科学学院¹,
昆明 650500;云南经济管理学院²,昆明,650106)

摘要 为了阐明雌性中缅树鼩不同生理期血液激素和脂类指标的变化,对其雌二醇(*Tradiol, E2*)、孕酮(*Progesterone, P*)、睾酮(*Testosterone, T*)、甲状腺激素(*Thyroxine, T₄*)、三碘甲状腺原氨酸(*3,3'5-triodothyromine, T₃*)、瘦素、皮质醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、乳酸脱氢酶、总胆汁酸、尿酸和总蛋白含量进行了测定。结果表明:较野外种群,实验室驯化种群和繁殖种群血清中雌二醇、孕酮显著降低;而血清中高密度脂蛋白胆固醇、总胆汁酸、乳酸脱氢酶、尿酸含量显著升高;怀孕期血清中睾酮、总蛋白显著降低,雌二醇、孕酮、T₃、T₄、瘦素、皮质醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、总胆汁酸、乳酸脱氢酶、尿酸含量显著升高;与未发情期相比,发情期雌性中缅树鼩血液中的雌二醇显著升高,孕酮含量极显著升高。以上结果说明长期驯化的中缅树鼩的动情能力降低,长期圈养同时能降低中缅树鼩的新陈代谢能力。

关键词 中缅树鼩 繁殖 血液激素

中图法分类号 Q959.834; **文献标志码** B

性激素水平能改变动物个体气味的组成以及对气味信号的生理和行为反应。卵巢激素能够影响雌鼠的气味分子组成,从而影响雄鼠的气味偏好。睾酮能够提高雄鼠尿液信息素的浓度,使雄鼠更具吸引力。草甸田鼠(*Microtus pennsylvanicus*)肛殖区气味对异性吸引力显现季节差异性,这种差异受腺体分泌激素的浓度调控^[1]。在配偶识别中,固醇类激素的季节性浓度升高能调节白鼬(*mustela putoriusfuro*)气味腺的分泌活动,从而提高白鼬对配偶的识别能力^[2]。激素也能通过调控物质代谢直接影响气味的化学组成。雌二醇能明显地抑制雌性大仓鼠(*Tscherskia triton de Winton*)膀胱的增长和分泌活动,当雄鼠性达到成熟,增多的雄激素能刺激其膀胱的迅速生长。性激素水平越高,狼(*Canis lupus*)尿液中挥发性物质 1-octen-3-ol 和 indole 的含量越高^[3]。

研究者根据血液和尿液中生殖激素的含量能监

测动物发情期、选择最佳配种时间、选择妊娠等,这有助于解决动物人工繁殖的重要难题。彭世媛运用放射免疫法测定雌性大熊猫不同繁殖期尿液性激素含量的变化规律,从发情期开始雌二醇含量逐渐升高,在发情高潮出现峰值;而从发情高潮期开始孕酮含量降低,到了发情后期开始升高。他们以此确定大熊猫最佳交配时期,在发情高潮期雌二醇达到高峰期的首日和次日配种,熊猫能成功生殖^[4]。中缅树鼩为东洋界特有小型哺乳动物,其动作敏捷迅速,发情行为不明显,不能确定其发情高峰期,难以人工配种,导致中缅树鼩人工繁殖率低下,在本研究中,测定不同来源(野外、实验室驯化、实验室繁殖)以及不同生理期(非发情期和怀孕期、发情期和未发情期)中缅树鼩的血清激素浓度,为解决中缅树鼩的人工繁殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物来源

本研究的实验动物,野外雌性中缅树鼩 6 只为 2015 年捕自于云南省昆明市禄劝县,实验室驯化(实验室饲养 4 周以上)雌性中缅树鼩 6 只,实验室繁殖(中国医学科学院医学生物所提供)雌性中缅

2017 年 6 月 1 日收到 国家自然科学基金(31660121)和
云南省科技计划重点项目(2016FA045)资助
第一作者简介:朱万龙(1983—),男,副教授。研究方向:动物生理生态。E-mail:zwl_8307@163.com。

*通信作者简介:王政昆。E-mail:wzk_930@126.com。

树鼩 6 只。非发情期和怀孕期、发情期和未发情期实验中雌性中缅树鼩均由我国医学科学院医学生物所提供的,其中非发情期和怀孕期雌性中缅树鼩均为 6 只,发情期和未发情期实验中雌性中缅树鼩均为 7 只。

1.2 动物处理

雌性中缅树鼩带回后,于云南师范大学生命科学学院实验动物房(昆明)单笼室温饲养,饲养笼规格为 120 mm × 200 mm × 300 mm,室温控制在(25 ± 1)℃,光周期 12L: 12D,供以充足的饲料。

1.3 血液指标的测定

实验动物为野外、实验室驯化、实验室繁殖中缅树鼩。将驯化的个体进行人工交配,用于怀孕个体(交配后 20 d)血液指标分析。采取静脉采血,将所采血液于 4 ℃低温冰箱静置 1 h;后用 4 ℃、4 000 r/min 离心机离心 0.5 h。取上清,分离血清后保存在 -80 ℃超低温冰箱,检测中避免反复冻融,在室温下解冻时确保样品均匀地充分解冻。雌二醇、孕酮、睾酮、T₃、T₄、瘦素、皮质醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、乳酸脱氢酶、总胆汁酸、尿酸、总蛋白浓度分别采用对应的 ELISA 检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司生产)进行测定。

1.4 统计分析

采用 SPSS16.0 软件包进行实验数据的统计。不同种群血液指标的差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。非发情期和怀孕期、发情期和未发情期雌性中缅树鼩血液指标的差异采用独立样本 T 检验(independent-samples T test)分析。结果均以(平均值 ± 标准误)表示(mean ± SE),P < 0.05 为

差异显著,P < 0.01 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 三种来源的血液指标水平

在非繁殖期,野外、实验室驯化、实验室繁殖中缅树鼩激素水平见表 1,与野外种群相比,实验室驯化种群血液中睾酮、T₄、瘦素、高密度脂蛋白胆固醇显著降低(P < 0.01),雌二醇、孕酮和乳酸脱氢酶含量无显著差异(P > 0.05),T₃、皮质醇、总胆汁、尿酸、总蛋白含量显著升高(P < 0.01)。与野外种群相比,实验室繁殖种群血清中雌二醇、睾酮、孕酮、总蛋白显著降低(P < 0.01),T₃、T₄、瘦素、皮质醇、乳酸脱氢酶、尿酸、含量无显著差异(P > 0.05),高密度脂蛋白胆固醇、总胆汁、含量显著升高(P < 0.01)。与实验室繁殖种群相比,血液中雌二醇、孕酮、皮质醇、乳酸脱氢酶、尿酸、总蛋白显著降低(P < 0.01),睾酮、T₃、瘦素、含量无显著差异(P > 0.05),T₄、高密度脂蛋白胆固醇、总胆汁、含量显著升高(P < 0.01)。

2.2 非发情期和怀孕期血液指标水平

怀孕对中缅树鼩血清激素水平见表 2,与发情期相比,怀孕期血清中睾酮、总蛋白显著降低(所有 P < 0.01),雌二醇、孕酮、T₃、T₄、瘦素、皮质醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、总胆汁酸、乳酸脱氢酶、尿酸含量显著升高(所有 P < 0.01)。

2.3 发情期和未发情期血液雌二醇和孕酮水平

与未发情期相比,雌性血液中的雌二醇显著升高(P < 0.05),孕酮含量极显著升高(P < 0.01,图 1)。

表 1 野外、实验室驯化、实验室繁殖中缅树鼩血清指标水平的比较(n = 6)

Table 1 Comparison of the wild, acclimated and reproductive populations on serum hormone levels in *Tupaia belangeri* (n = 6)

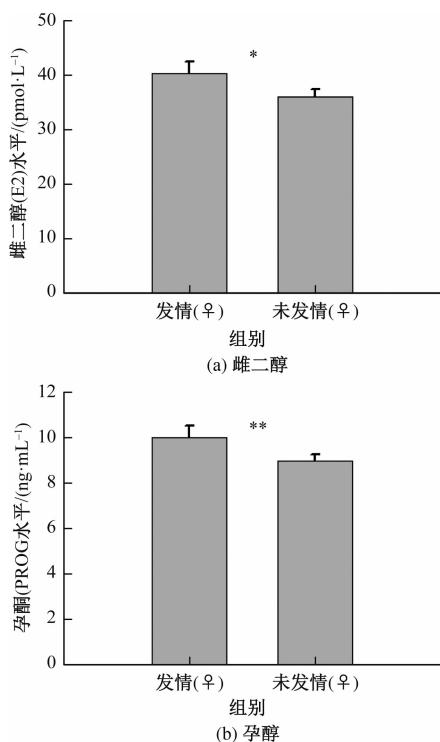
组别	野外种群	驯化种群	繁殖种群
雌二醇(E2)/(pmol·L ⁻¹)	36.36 ± 1.41a	32.94 ± 1.06a	29.07 ± 1.19b
孕酮(P)/(ng·mL ⁻¹)	9.05 ± 0.29a	8.56 ± 0.26a	7.67 ± 0.27b
睾酮(T)/(pg·mL ⁻¹)	471.67 ± 16.46a	415.70 ± 10.98b	382.39 ± 10.63b
T ₃ /(pg·mL ⁻¹)	1 043.00 ± 37.72b	1 518.43 ± 55.22a	1 157.43 ± 27.56b
T ₄ /(pg·mL ⁻¹)	35.16 ± 1.09a	23.02 ± 1.36b	35.00 ± 0.86a
瘦素(LEP)/(pg·mL ⁻¹)	3.24 ± 0.16a	1.85 ± 0.14b	3.22 ± 0.08a
皮质醇(Cortisol)/(pg·mL ⁻¹)	4.50 ± 0.20b	7.02 ± 0.25a	5.07 ± 0.19b
高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)/(μmol·L ⁻¹)	741.71 ± 18.35b	660.57 ± 16.46c	815.71 ± 21.08a
低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)/(mmol·L ⁻¹)	4.08 ± 0.13	4.53 ± 0.18	4.35 ± 0.10
乳酸脱氢酶(LDH)/(IU·L ⁻¹)	3.54 ± 0.13b	5.22 ± 0.19a	3.71 ± 0.23b
总胆汁酸(TBA)/(μmol·L ⁻¹)	5.53 ± 0.35c	7.18 ± 0.32b	8.55 ± 0.28a
尿酸(UA)/(μmol·L ⁻¹)	227.71 ± 6.51b	281.26 ± 7.85a	237.35 ± 4.39b
总蛋白(TP)/(μg·mL ⁻¹)	472.02 ± 16.37b	578.69 ± 33.38a	383.80 ± 10.82c

注:数值为平均值 ± 标准误差;同一行不同字母表示组间差异显著(P < 0.05)。

表 2 繁殖对中缅树鼩血清指标水平的影响($n=6$)Table 2 The effects of reproduction on serum hormone levels in *Tupaia belangeri* ($n=6$)

组别	怀孕组	未发情组	P
雌二醇(E2)/(pmol·L ⁻¹)	53.01 ± 1.80	36.36 ± 1.41	<0.01
孕酮(PROG)/(ng·mL ⁻¹)	13.36 ± 0.29	9.05 ± 0.29	<0.01
睾酮(T)/(pg·mL ⁻¹)	249.86 ± 13.22	471.67 ± 16.46	<0.01
T ₃ /(pg·mL ⁻¹)	1 787.00 ± 57.53	1 043.00 ± 37.72	<0.01
T ₄ /(pg·mL ⁻¹)	38.70 ± 0.67	35.16 ± 1.09	<0.05
瘦素(LEP)/(ng·mL ⁻¹)	4.26 ± 0.15	3.24 ± 0.16	<0.01
皮质醇(Cortisol)/(ng·mL ⁻¹)	5.50 ± 0.13	4.50 ± 0.20	<0.01
高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)/(μmol·L ⁻¹)	1 057.63 ± 26.25	741.71 ± 18.35	<0.01
低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)/(mmol·L ⁻¹)	4.88 ± 0.14	4.08 ± 0.13	<0.01
乳酸脱氢酶(LDH)/(IU·L ⁻¹)	5.10 ± 0.18	3.54 ± 0.13	<0.01
总胆汁酸(TBA)/(μmol·L ⁻¹)	9.09 ± 0.16	5.53 ± 0.35	<0.01
尿酸(UA)/(μmol·L ⁻¹)	304.13 ± 10.71	227.71 ± 8.51	<0.01
总蛋白(TP)/(μg·mL ⁻¹)	370.97 ± 9.70	472.02 ± 16.37	<0.01

注: 数值为平均值 ± 标准误差; $P < 0.05$ 表示差异显著; $P < 0.01$ 表示差异极显著。



* 代表 $P < 0.05$; ** 代表 $P < 0.01$

图 1 发情期和未发情期血液雌二醇和孕酮水平

Fig. 1 E2 and PROG levels in *Tupaia Belangeri* compared with non-estrus group

3 讨论

雌激素(estrogen)是性腺激素中独具苯环结构的类醇化合物,包括雌二醇、雌酮和雌三醇三种,雌二醇(tradiol, E2)的活性最强,雌二醇比雌酮高10倍、比雌三醇的生活高27倍。雌二醇主要由卵巢内卵泡膜细胞和黄体细胞分泌,其浓度在雌性体内呈周期性变化^[5]。在哺乳动物中,雌性动物在孕激素与雌激素共同作用下,通过协同和拮抗两种途径调

节生殖活动。雌激素诱发雌性哺乳动物发情,是雌性动物发情的内分泌基础^[6]。与野外种群相比,雌二醇含量无显著差异,说明短期的驯化可能不影响雌性树鼩的生育能力。而与实验室繁殖种群,实验室繁殖种群相比,血液中雌二醇、孕酮显著降低,说明长期的驯养会降低中缅树鼩的生育能力。与发情期相比,怀孕期血液中孕酮和雌二醇含量显著升高。

甲状腺素(甲状腺激素T₄和三碘甲状腺原氨酸T₃)能量代谢具有非常重要作用,能刺激细胞产生热量^[7]。环境温度的变化能改变体内甲状腺激素的水平,在本研究中,三种来源的中缅树鼩体内甲状腺激素含量的差异可能由环境温度变化导致的。另一方面,甲状腺素对促进恒温动物生长发育具有重要作用,它能促进组织细胞合成蛋白质、RNA、酶,促进人体吸收磷钙和骨骼生长发育^[8,9]。甲状腺激素能促进神经系统生长发育,胎儿或新生儿缺乏甲状腺素,将引起神经细胞形态结构和功能不良,骨骼形成滞后。在本研究中发现,怀孕期中缅树鼩血清中T₃和T₄含量显著升高,这与保证胎儿的正常发育有关。

瘦素(leptin)是obese(Ob)基因表达的产物,主要由白色脂肪组织分泌,对调节摄食行为、能量代谢和体重起着重要作用^[10,11]。血浆中的leptin水平是指导中枢神经系统调节摄食行为、能量消耗,来维持体脂的稳定^[12]。Leptin基因的功能随环境的变化而发生适应性进化。刚刚驯化的中缅树鼩leptin水平最低,说明中缅树鼩可能驯化环境的一种适应。哺乳动物怀孕期leptin水平和其受体含量增加,怀孕期体重的增加受血浆中的leptin水平调控^[13]。室内饲养的驯化和人工繁殖的种群血浆中皮质醇含量显著高于野外种群,这是因为人为因素造成中缅

树鼩紧张程度增加,引起肾上腺皮质醇分泌的增加。怀孕期皮质醇激素显著高于非发情期,这与怀孕个体要保护其胎儿造成的过度敏感有关。高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)是由肝脏和小肠分泌的,由等量的脂质和蛋白质构成,主要由磷脂、游离胆固醇、胆固醇酯和载体蛋白组成,有多种类型^[14]。它是胆固醇的受体,将胆固醇从周围组织转运到肝脏中代谢以胆酸的形式排泄,通过这种生理作用,可以降低血浆中的胆固醇水平^[15]。高密度胆固醇紊乱说明肝脏中胆固醇的代谢发生障碍,会引起一系列疾病^[16]。研究发现,长时间人工繁殖和怀孕期的中缅树鼩血浆中高密度脂蛋白胆固醇显著增加,这说明驯化导致中缅树鼩胆固醇的代谢发生障碍,这可能是降低中缅树鼩人工繁殖率的因素之一。因此,建议在饲养中缅树鼩时,应为它提供低脂肪的食物。

在人类中,怀孕期高血压疾病是一种常出现在怀孕期的疾病,患者伴有感染、出血、抽搐等症状,严重时甚至会导致怀孕者死亡,在高血压孕妇血浆中总胆汁酸(TPA)、乳酸脱氢酶(LDH)、尿酸(UA)含量显著高于正常血压孕妇的,血压越高,这些物质的含量也增加^[17]。这些指标能够反映出心脏、肝脏、肾脏的损伤程度^[18]。研究表明,随着驯化时间的增加,怀孕期个体血浆中总胆汁酸(TPA)、乳酸脱氢酶(LDH)、尿酸(UA)含量显著高于未发情的个体,这说明长期的驯化损害了中缅树鼩的身体健康。

综上所述,在血浆激素方面,长期驯化的中缅树鼩血浆中雌二醇、孕酮显著降低,说明长期驯化的中缅树鼩的动情能力降低;在血浆激素方面,长期驯化的中缅树鼩高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、总胆汁酸(TPA)、乳酸脱氢酶(LDH)、尿酸(UA)含量发生异常,说明长期圈养能降低中缅树鼩的新陈代谢能力。在饲养时,人工笼养繁殖的中缅树鼩生活空间狭小,饲喂食物为谷物水果,食物较为固定单一,常年处于恒温环境中,这大大降低了中缅树鼩的身体机能。因此,建议建立野化训练场,让其适应复杂多变的环境,恢复期身体素质。

参 考 文 献

- 1 Ferkin M H, Johnston R E. Meadow voles, *microtus pennsylvanicus*, use multiple sources of scent for sex recognition. *Animal Behaviour*, 1995;49(1): 37—44
- 2 Woodley S K, Baum M J. Effects of sex hormones and gender on attraction thresholds for volatile anal scent gland odors in ferrets. *Hormones and Behavior*, 2003;44(2): 110—118
- 3 Raymer J, Wiesler D, Novotny M. Chemical investigations of wolf (*Canis lupus*) anal-sac secretion in relation to breeding season. *Journal of Chemical Ecology*, 1985;11(5): 593—608
- 4 彭世媛,李复东,叶志勇. 雌性大熊猫发情期与妊娠期尿液性激素的变化. *动物学杂志*, 1993;28(2): 25—28
Pen Shiyuan, Li Fudong, Ye Zhiyong. Changes of sex hormones in the urine of female giant pandas during estrus and pregnancy. *Chinese Journal of Zoology*, 1993;28(2): 25—28
- 5 Yu H, Zhao X, Yue P. Chemical communication in mammal population: urinary olfactory chemosignals in lactating female root voles (*Microtus oeconomus pallas*). *Polish Journal of Ecology*, 2010;58(1): 153—165
- 6 Reslir L, Wasser S K, Sackett G P. Measurement of excreted steroids in *Macaca nemestrina*. *American Journal of Primatology*, 1987;12(1): 91—100
- 7 Decuypere E, Van A P, Van G S. Thyroid hormone availability and activity in avian species: a review. *Domestic Animal Endocrinology*, 2005;29(1): 63—77
- 8 Abalovich M, Amino N, Barbour L A. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an endocrine society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2007;92(8): 41—47
- 9 Kim K W. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum. *Journal of Economic History*, 2013;85(2): 354—358
- 10 Zhang Y, Proenca R, Maffei M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994;372(6505): 425—432
- 11 Campfield L A, Smith F J, Guisez Y. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, 1995;269(269): 546—549
- 12 Stephens T W, Basinski M, Bristow P K. The role of neuropeptide Y in the antioesity action of the obese gene product. *Nature*, 1995;377(6549): 530—532
- 13 Tups A. Physiological models of leptin resistance. *Journal of Neuroendocrinology*, 2009;21(11): 961—971
- 14 Garver W S, Deeg M A, Bowen R F. Phosphoproteins regulated by the interaction of high-density lipoprotein with human skin fibroblasts. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 1997;17(11): 2698—2706
- 15 Pittman R C, Steinberg D. Sites and mechanisms of uptake and degradation of high density and low density lipoproteins. *Journal of Lipid Research*, 1985;25(13): 1577—1585
- 16 Wang Y, Oram J F. Unsaturated fatty acids phosphorylate and destabilize ABCA1 through a protein kinase C delta pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 2005;280(43): 896—903
- 17 Anna R, Baviera G, Scilipoti A. The clinical utility of serum uric acid measurements in pre-eclampsia and transient hypertension in pregnancy. *Panminerva Medica*, 2000;42(2): 101—103
- 18 Qublan H S, Ammarin V, Bataineh O. Lactic dehydrogenase as a biochemical marker of adverse pregnancy outcome in severe pre-eclampsia. *Medical Science Monitor International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2005;11(8): 393—397

Analysis of Hormone and Lipid Index in Different Physiological Period of Female Tree Shrews (*Tupaia belangeri*)

ZHU Wan-long¹, ZHANG Di², YE Fang-yan¹, WANG Zheng-kun^{1*}

(Key Laboratory of Ecological Adaptive Evolution and Conservation on Animals-Plants in Southwest Mountain Ecosystem of Yunnan Province Higher Institutes College, School of Life Sciences, Yunnan Normal University¹, Kunming 650500, China;
Yunnan College of Business Management², Kunming 650106, China)

[Abstract] In order to investigate the changes of hormone and lipid index in different physiological period of female tree shrews (*Tupaia belangeri*), the tradiol (E2), progesterone (P), testosterone (T), thyroxine (T₄), 3,3'5-triiodothyromine (T₃), leptin levels, cortisol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), lactate dehydrogenase (LDH), total bile acid (TBA), uric acid (UA) and total protein (TP) content were measured in the present study. The results showed that levels of E2 and P in serum were significantly lower in laboratory acclimated population and reproductive population than that of in field population, while the levels of serum HDL-C, TBA, LDH and UA increased significantly than that of in field population. During the pregnancy, levels of T and TP in the serum decreased significantly, E2, P, T₃, T₄, leptin, cortisol, HDL-C, LDL-C, TBA, LDH and UA contents increased significantly. Compared with non estrus of *T. belangeri*, serum E2 and P levels in estrus females were significantly increased. All of the above results showed that long-term acclimation decreased emotional ability, at the same time to reduce the metabolic capacity ability in *T. belangeri*.

[Key words] *Tupaia belangeri* reproduction blood hormone