经验交流

文章编号:1000-5404(2007)01-0090-01

外源性一氧化氮对小鼠卵母细胞及胚胎发育的影响

谭兵兵,龙兴宇,谭晓珊,杨智敏 (遵义医学院附属医院生殖医学中心,遵义 563003)

在某些病理情况下,腹腔液和子宫内膜组织中的免疫细胞在炎性因子和细胞因子的作用下可产生大量一氧化氮(NO)[1]。有研究认为这种局部微环境NO浓度增高与女性不孕症有关[2]。本研究以昆明小鼠为实验模型,以硝普钠为NO供体,模拟内源性NO生成,探讨生殖系统局部微环境NO过量产生对小鼠卵母细胞体内成熟、体外受精和早期胚胎发育的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

孕马血清促性腺激素(PMSG,宁波第二激素制品厂);人绒毛膜促性腺激素(hCG,上海第一生化药业有限公司);硝普钠(SNP,北京双鹤药业股份有限公司);拟人输卵管液(HTF,美国SAGE公司);昆明小鼠45只(贵阳医学院实验动物中心),体质量25~30 g,6~8周龄。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 昆明雌鼠30只,分为2个实验组和1个对照组,每组各10只。各组小鼠腹腔注射PSMG 10 IU,48 h后腹腔注射hCG 10 IU超排卵。实验各组注射hCG后2 h腹腔注射SNP 1.0、5.0 mg/kg,对照组注射等量的生理盐水。

1.2.2 体外受精和胚胎培养 各组雌鼠均在注射hCG后15 h颈椎脱臼法处死,剖腹从输卵管中取出卵母细胞,体外成熟培养5 h(37 ℃,5% CO_2);同法处死昆明雄鼠15只,剖腹从附睾中取出精子,体外获能培养5 h;将精子和卵母细胞共同置于HTF(含5%人白蛋白)培养液中体外受精5~6 h;将受精后的卵母细胞移入覆盖矿物油的HTF微滴培养液中进行胚胎培养。分别对注射hCG 40 h后卵母细胞成熟度、体外受精率、注射hCG 64、88、112 h对2细胞阶段以后胚胎的发育情况进行评价。

1.3 统计学处理

采用SPSS 11.0统计软件行χ^2检验。

2 结果

2.1 不同剂量SNP对小鼠卵母细胞体内成熟和体外受精的影响(表1)

表1 不同剂量SNP对卵母细胞成熟和体外受精的影响(%)

组别	获卵(枚)	退化卵	MI期卵	MII期卵	≥2细胞
对照组	197	5(2.54)	15(7.61)[a]	11(6.21)[a]	166(93.79)[a]
1.0 mg/kg SNP组	184	9(4.89)	19(10.33)[b]	14(8.97)[a]	142(91.03)[a]
5.0 mg/kg SNP组	161	11(6.83)	29(18.01)	42(34.71)	79(65.29)

a: $P<0.01$, b: $P<0.05$,与5.0 mg/kg SNP组比较

基金项目:贵州省重点攻关项目(计字2001-1214)
Supported by the Key Project Foundation of Guizhou Province(2001-1214)

作者简介:谭兵兵(1959-),男,贵州省遵义市人,副研究员,主要从事生殖生物学方面的研究。电话:(0852)8608513

收稿日期:2006-01-08;修回日期:2006-03-20

2.2 不同剂量SNP对小鼠早期胚胎发育的影响(表2)

表2 不同剂量SNP对小鼠早期胚胎发育的影响(%)

观察时间(t/h)	胚胎发育阶段	对照组(n=166)	1.0 mg/kg SNP组(n=142)	5.0 mg/kg SNP组(n=79)
40	2-细胞	160(96.39)	131(92.25)	73(92.45)
64	4-细胞	149(89.76)[a]	124(87.32)[a]	45(56.96)
88	桑葚胚	141(84.94)[a]	108(76.06)[a]	39(49.37)
112	囊胚	115(69.28)[a]	83(58.45)[a]	0(0)

a: $P<0.01$,与5.0 mg/kg SNP组比较

3 讨论

卵母细胞的成熟包括细胞核成熟和细胞质成熟。卵母细胞核成熟的主要形态学特征是生发泡破裂和第一极体的排放。文献[3]报道,仅完成核成熟的卵母细胞并不意味着已具备受精能力,只有细胞核和细胞质均成熟的卵母细胞才真正具备受精能力和进一步发育的潜能。本实验结果表明,较高浓度的NO具有抑制卵母细胞核成熟的作用;同时显示,5.0 mg/kg SNP组未受精MⅡ期卵母细胞的比例也明显增高,而受精率明显降低,提示较高浓度的NO可能通过抑制卵母细胞细胞质成熟而影响受精。

卵母细胞质成熟的机制尚不清楚,也无公认的形态学评价指标。目前评价卵母细胞细胞质成熟度的常用方法是观察受精后早期胚胎的发育能力[4]。受精卵一旦形成即意味着早期胚胎发育的开始,早期胚胎的发育实质上是受精卵连续分裂形成多细胞的过程。本研究观察了不同剂量SNP处理后小鼠2细胞期到囊胚期胚胎的发育过程,结果表明,较高浓度的NO不仅通过抑制卵母细胞细胞质成熟而影响受精,同时也进一步影响早期胚胎的发育。

关键词:一氧化氮;卵母细胞;胚胎;发育
中图法分类号:R321.1 **文献标识码**:B

参考文献:

[1] Wu M Y, Chao K H, Yang J H, *et al*. Nitric oxide synthesis is increased in the endometrial tissue of women with endometriosis[J]. Hum Reprod, 2003, 18(12): 2668-2671.

[2] 董旻岳,程 琪,郝 敏,等. 女性不孕症及子宫内膜异位症患者腹腔液一氧化氮水平的变化及其意义[J]. 中华医学杂志, 2000, 80(8): 596-597.

[3] 李永海,刘瑞华,焦丽红,等. 哺乳动物卵母细胞核质成熟的差异及其影响因素[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(1): 94-100.

[4] 叶华虎,魏 鸿,陈俊颖. 猪卵母细胞在不同培养液中成熟后的发育潜力[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(6): 511-513.

(编辑 陈聪连)