

模拟太空失重对雌性大鼠生殖功能的影响

贾木天 宋昕宸 / 山东省实验中学
指导教师 张怡明 王立祥 高英茂

◎ 研究目的

探索太空是人类拓展生存空间的必然选择,女性在航天中相比于男性具有“耐久力更强,心理更稳定;耐寂寞更强,感觉更敏锐;心思更细腻,考虑更周全”等优势。2010年6月28日,美国国际空间站的6名宇航员中就有3名为女性,中国的“天宫一号”载人航天飞行计划,女宇航员也参与其中。在久远的将来,太空移民更离不开女性。失重是太空环境对人体的重大威胁之一,失重环境对女性生殖和生理功能的影响目前还不清楚。本项目利用模拟太空失重动物模型,研究失重状态对雌性大鼠生殖功能和生殖生理的影响,从而为未来保护女性措施的研究提供理论依据和实验基础。

◎ 研究方法

利用国际公认的大鼠尾部悬吊法建立模拟太空失重状态的大鼠模型,将大鼠分为模拟失重7天组、模拟失重14天组和模拟失重21天组,3个对照组是与模拟失重组鼠龄对应的自由活动组。在此动物模型上,进行下列3个层

面的实验。

◆ 宏观实验:将失重处理后的雌性大鼠及同龄正常对照雌性大鼠与健康雄性大鼠合笼,比较两者的妊娠率、产仔鼠数、仔鼠存活率和仔鼠畸形率。

◆ 微观实验:应用石蜡切片、苏木素-伊红染色技术方法,显微镜观察实验动物卵巢的微细结构变化;应用组织衰老特异性脂褐素原位染色技术,显微镜下检测卵巢组织细胞的衰老变化。

◆ 分子实验:在分子层面上检测了调控生殖功能和生殖生理的多种激素和分子表达状况,以求更深入地探讨失重状态影响雌性大鼠生殖功能变化的分子机理。应用酶联免疫吸附实验检测血清中雌二醇、卵泡刺激素和黄体生成素的水平,这3种激素是调控雌性生殖功能和生殖生理的主要激素。应用逆转录荧光定量PCR技术,检测卵巢组织中与细胞衰老密切相关的端粒酶逆转录酶和p53、p16、p21和p27分子的mRNA表达状况;PCR-酶联免疫吸附实验检测端粒重复序列的含量以推测端粒酶活性;应用免疫组织化学方法检测p53、p16、p21和p27分子的蛋白

表达状况。

具体研究方案见图1。

我们以美国航空航天局认可和国际公认的尾部悬吊失重大鼠技术参数为标准,设计了“尾部悬吊模拟失重大鼠饲养与观察笼”。失重大鼠,前肢踏于笼底,躯干与笼底水平面呈30度角,后肢悬空固定于笼顶。我们在笼顶两侧安装两条滑轨,滑轨之间连接一条滑竿,滑竿上挂接有一滑动挂钩,通过铁链与悬吊大鼠尾部相连,使大鼠在悬吊失重状态下可自由活动。失重笼的正面和左右侧面为有机玻璃,前、后壁下部各固定一层不透明钢片,侧壁下部各固定一个透明角度计,并有一层可移动不透明钢片。观察大鼠悬吊角度时,将不透明钢片拉出,观察完毕,将不透明钢片推回,避免外界因素对大鼠干扰。见图2。

◎ 实验结果

与对照组相比,模拟失重组雌性大鼠的产仔数减少,仔鼠存活率下降,见图3。各模拟失重组雌性大鼠所产的仔鼠无肉眼可见的畸形;模拟失重组大鼠卵巢中卵泡的数量比对照组明显减少;

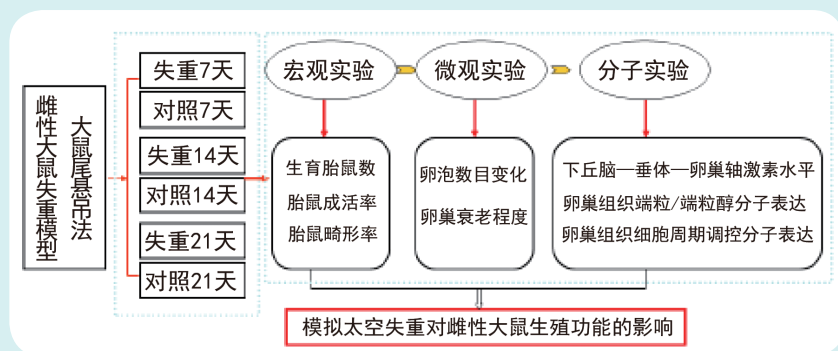


图1 “模拟太空失重对雌性大鼠生殖功能的影响”的研究方案图



图2 尾部悬吊模拟失重大鼠饲养与观察笼

卵巢组织的细胞衰老指数显著升高；血清中雌二醇水平下降，卵泡刺激素和黄体生成素水平上升，与对照组相比差异显著；卵巢细胞衰老相关的端粒酶受到抑制，其降低程度与失重时间呈正相关；衰老相关的细胞周期调控分子 p53、p16、p21 和 p27 在 mRNA 和蛋白水平上的表达均显著升高。

与对照组相比，模拟失重组大鼠产仔鼠数量减少并有死胎（图3中箭头所指）。

本实验结果显示，模拟失重可导致雌性大鼠生殖功能障碍，生殖功能障碍的发生与模拟失重引发卵巢组织细胞衰老、增殖活性降低和下丘脑—垂体—卵巢轴内分泌功能紊乱密切相关；这一实验结果为进一步研究失重危害女性生殖功能的防护措施提供了理论依据和实验基础。

“模拟失重对雌性大鼠生殖功能影响”研究结果图示见图4。

◎ 讨论

为研究失重对卵巢功能的影响，本项目选用了国际通用的鼠尾悬吊模型来

模拟太空失重状态，检测其对雌性大鼠生殖功能的影响及其发生机制。我们分别将模拟失重7天、14天和21天的雌性大鼠与正常雄性大鼠合笼交配，通过与自由活动的对照组雌性大鼠比较，发现模拟失重组雌性大鼠生育的仔鼠数量减少、仔鼠存活率下降。由此可见，尾悬吊模拟失重会影响雌性大鼠的生育能力。在此基础上，我们对失重影响雌性大鼠的生殖功能的机制进行了比较深入的研究。

研究表明，鼠尾悬吊模拟失重可引起卵巢功能衰退导致其性激素分泌减少。

为了探明失重状态下卵巢的组织结构是否发生了异常改变，我们通过对各组大鼠组织切片进行了显微镜观察，发现模拟失重组大鼠卵巢中卵泡数量明显减少。为了探明失重状态是否会引发卵巢组织发生衰老性退变，我们对组织切片进行衰老特异性的脂褐素染色，结果发现失重组大鼠卵巢组织染色程度显著高于对照组，表明失重可使雌性大鼠卵巢细胞发生衰老性退变。细胞衰老是指细胞周期停滞，但在一段时间内仍保持

代谢活性，端粒缩短。为明确尾悬吊模拟失重导致卵巢细胞衰老的分子机制，我们运用逆转录荧光定量PCR和免疫组化技术对上述衰老相关的重要分子在mRNA转录水平和蛋白水平的表达进行了检测。结果显示，与各对照组相比，各模拟失重组端粒酶mRNA转录受到抑制，而p53、p16、p21和p27的mRNA转录则显著上升。实验结果还表明，模拟失重可导致大鼠卵巢细胞端粒酶活性下降，细胞增殖周期受阻，细胞发生衰老，卵巢功能和生殖能力受损。

通过本项研究，我们发现，鼠尾悬吊模拟失重可通过以下两个途径影响雌性大鼠的生育能力：①抑制端粒酶表达，降低端粒酶活性，阻遏细胞周期，从而诱发卵巢细胞衰老；②通过干扰下丘脑垂体—性腺轴上的激素分泌而抑制卵巢的卵泡发育和正常排卵。随着人类探索宇宙的不断深入，将有一定数量的女性在太空长期停留，深入研究失重状态对女性生育能力和内分泌功能的影响并加以有效防护，是航天科学研究中的一个重要问题。在本项研究取得现有成果的

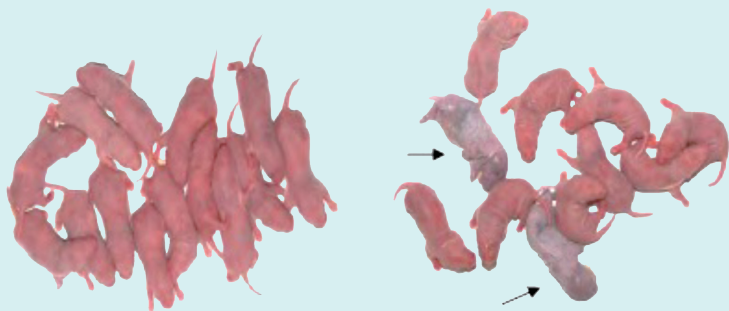


图3 模拟失重组（右）和对照组（左）大鼠所产仔鼠图

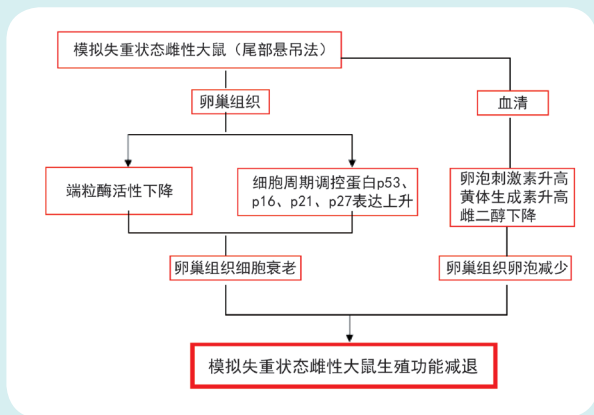


图4 研究结果图示

基础上,可以进一步探讨有效干预措施,研究保护太空失重对女性生殖损伤的方法。

◎ 创新要点

◆ 理论创新:①发现模拟失重可抑制雌性大鼠卵巢组织端粒酶的表达式和端粒酶活性,并激活细胞周期抑制分子导致细胞衰老;②发现模拟失重可导致雌性大鼠雌二醇水平下降,卵泡刺激素和黄体生成素水平上升,下丘脑—垂体—卵巢轴内分泌功能紊乱。模拟失重通过以上两个途径导致雌性大鼠生殖功能减退。经国家一级科技查新咨询单位山东省科学技术情报研究所科技查新结论显示“未见类似研究报道”。

◆ 技术创新:以国际公认的技术参数为标准,我们设计了“尾部悬吊模拟失重大鼠饲养与观察笼”,其性能稳定、简易方便、有利观察,已申请实用新型专利。

◆ 科普展示仪发明:我们研制了“模拟失重大鼠仿真智能化展示仪”,属于科学技术普及展示器材,为模拟太空失重经典动物模型提供了一种直观的

演示仪,适合于向广大青少年普及航天医学知识,具有仿真、环保、智能等特点,已申请发明专利。

◎ 完善本研究的设想

进一步完善该项目的方向可以定位于“模拟失重诱发雌性大鼠生殖功能损伤的干预和保护措施”的研究,我们认为可从以下3个方面深化研究。

◆ 自然恢复实验:雌性大鼠解除失重状态,饲养于自由活动空间,在不同时间段,从宏观水平、微观水平和分子水平研究“解除模拟失重状态后雌性大鼠生殖功能损伤的恢复及恢复机制”,该部分研究我们现有的能力和科研条件能够实施。

◆ 分子靶向保护:以系统生物学理念为指导,解析失重引发卵巢衰老分子调控网络 and 关键节点,为建立基于分子靶点的保护失重诱发衰老的新策略提供理论依据;该部分研究理论和技术都较为复杂,我们现有的知识水平和技术能力难以实施,然而,这是我们科学人生追求的目标。

◆ 中医中药调理:将中医“整体

调理,辨证施治”思想与现代医学理念相结合,利用丰富的中草药资源,探索中医辨证以及中药方剂或单体干预失重致卵巢衰老的新策略。该部分研究具有中国特色,有可能孕育新突破,是今后我们立志追求的科学目标。

该项目获得第26届全国青少年科技创新大赛创新成果竞赛项目中学组医药与健康学一等奖。

专家评语

该项目主题新颖、创新性强、科学意义明显,从宏观到微观,从不同层面研究模拟太空失重大鼠生殖功能的影响,比较系统,符合中学生逻辑思维。充分反映出研究者宽广的基础理论和科学研究能力,取得了具有创新性的研究成果。■