

# 叶酸对动物卵母细胞质量的影响及其作用机制

宋洁 徐盛玉 杨双源 吴德\*

(四川农业大学动物营养研究所, 雅安 625014)

**摘要:** 在雌性动物繁殖过程中, 健康卵母细胞的形成是保证正常受精、胚胎发育以及有性生殖能力的物质基础。叶酸作为一碳单位载体参与 DNA、RNA、蛋白质的合成, 在配子形成、胎儿发育等细胞快速生长分化过程中必不可少。近年来, 叶酸对卵母细胞质量影响的研究取得了一系列新进展, 研究表明, 叶酸可以通过促细胞分裂、抗氧化、促核酸合成和促甲基化反应等途径影响卵母细胞质量。本文就叶酸对动物卵母细胞质量的影响及其作用机制做一综述。

**关键词:** 叶酸; 卵母细胞质量; 促细胞分裂; 抗氧化; 核酸合成; 甲基化

**中图分类号:** S816.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2014)01-0063-06

繁殖性能低下是目前临床医学和畜牧生产中普遍存在的一个难题<sup>[1-2]</sup>。生殖医学界众多研究发现, 卵母细胞质量是影响雌性繁殖性能的关键限制因子<sup>[3]</sup>。卵母细胞质量的好坏直接影响卵细胞的受精率、受精卵的卵裂率、早期胚胎存活以及接下来的一系列发育过程<sup>[4]</sup>。叶酸是一种水溶性 B 族维生素, 动物体内无法合成, 必须由食物供给, 在机体内以辅酶的形式参与一碳单位传递, 影响核酸合成和细胞分裂, 对于雌性繁殖中卵子形成以及胚胎发育至关重要<sup>[5]</sup>。目前关于叶酸对雌性繁殖的研究多集中于妊娠阶段, 对卵母细胞质量影响的研究刚刚兴起, 本文就叶酸对动物卵母细胞质量的影响及其可能的作用机制做一综述。

## 1 叶酸的结构、吸收及代谢

叶酸又名蝶酰谷氨酸, 由蝶呤、对氨基苯甲酸和 1 个或多个谷氨酸结合而成。叶酸以还原型单谷氨酸盐的形式在空肠近端吸收。天然叶酸为还原型多聚谷氨酸盐, 要先经空肠黏膜刷状缘内活跃的  $\gamma$ -谷氨酰羧肽酶 II 水解为单谷氨酸盐, 才能被上皮细胞吸收并转化为 5-甲基四氢叶酸<sup>[6]</sup>。合成型叶酸是氧化型单谷氨酸盐, 能直接进入空

肠上皮细胞, 但必须在二氢叶酸还原酶的作用下先被还原为二氢叶酸和四氢叶酸, 才能甲基化为 5-甲基四氢叶酸。人、鼠和猪等血液循环中叶酸形式主要为 5-甲基四氢叶酸, 与血浆中白蛋白松散结合, 转运到肝脏和其他组织, 通过叶酸受体或还原型叶酸载体吸收利用<sup>[7-9]</sup>。

叶酸以其不同的辅酶形式作为一碳单位的供体或载体发挥作用, 主要参与一碳代谢中脱氧核苷酸和蛋氨酸合成。

叶酸参与脱氧核苷酸合成。细胞内四氢叶酸甲基化产物 5,10-亚甲基四氢叶酸、5,10-次甲基四氢叶酸、10-甲酰基四氢叶酸三者处于动态平衡之中, 用于三磷酸脱氧核糖核苷酸 (dNTP) 的从头合成。10-甲酰基四氢叶酸给嘌呤环 C<sup>2</sup> 和 C<sup>8</sup> 位提供甲基用于嘌呤的合成; 在嘧啶合成时, 5,10-亚甲基四氢叶酸传递给尿嘧啶脱氧核苷酸 (dUMP) 1 个甲基, 形成胸腺嘧啶脱氧核苷酸 (dTMP)<sup>[10]</sup>。

叶酸参与蛋氨酸合成。5,10-亚甲基四氢叶酸经亚甲基四氢叶酸还原酶作用生成 5-甲基四氢叶酸, 而生物体内代谢产生的同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 在维生素 B<sub>12</sub> 依赖性蛋氨酸合

收稿日期: 2013-08-14

基金项目: 教育部创新团队计划 (IRT0555)

作者简介: 宋洁 (1988-), 女, 内蒙古呼和浩特人, 硕士研究生, 从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: songjiesau@163.com

\* 通讯作者: 吴德, 教授, 博士生导师, E-mail: pig2pig@sina.com

酶的作用下,从5-甲基四氢叶酸上得到1个甲基,形成蛋氨酸。由蛋氨酸合成的S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionin, SAM)是100多种反应通用的甲基供体,在DNA甲基转移酶的作用下,由SAM供出甲基后,转化为S-腺苷同型半胱氨酸(S-adenosylhomocysteine, SAH),而甲基受体也转化为相应甲基化产物<sup>[11]</sup>。

在正常含量范围内叶酸能辅助细胞内一碳代谢正常有序进行。目前常见的叶酸缺乏现象会引发一系列叶酸异常代谢,如胸苷酸和嘌呤的合成受阻,影响细胞增殖;Hcy积累,导致细胞氧化损伤;甲基供体SAM缺乏,出现DNA低甲基化等<sup>[12]</sup>。

## 2 叶酸对卵母细胞质量的影响

在妊娠前排卵过程中摄入叶酸非常重要。Matte等<sup>[13]</sup>试验表明,母猪血清叶酸水平在整个繁殖周期出现了2个明显的下降峰,第1个是在配种时,表明雌性排卵过程中可能对叶酸需要量较大;第2个是在妊娠期第60天时。Stegers-Theunissen等<sup>[14]</sup>指出,卵泡液中的叶酸主要来自于血液循环,血液中叶酸含量变化影响卵泡液中叶酸含量,处于卵泡液微环境中的卵母细胞可能因此受到影响。Boxmeer<sup>[1]</sup>在人上的研究也证实了这一观点,孕前服用叶酸能极显著提高卵泡液中叶酸的水平( $P < 0.01$ )。Xiao等<sup>[15]</sup>从配种前8周开始给小鼠饲喂叶酸缺乏饲料到妊娠17d,小鼠妊娠率、着床数、活胎数显著降低( $P < 0.05$ )。Kwong等<sup>[16]</sup>在牛卵母细胞和着床前胚胎中发现有叶酸受体和还原叶酸载体蛋白表达,着床前胚胎核酸和蛋白质的合成很大程度上依赖于卵母细胞生长发育时期所获得的还原型叶酸。

卵母细胞质量包括卵母细胞的完整性、成熟程度、受精能力以及受精后发育成健康有活力个体的潜力等<sup>[4]</sup>,叶酸有利于良好卵母细胞质量的维持。Szymanski等<sup>[17]</sup>在人上的研究发现,与未补充叶酸的女性相比,补充叶酸的女性卵母细胞质量更好且成熟度更高。Huang等<sup>[2]</sup>给体外抑制培养处理小鼠卵母细胞添加500 mol/L的叶酸后,生发泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD)率和第1极体(the first polar body, PB1)排出率均极显著提高( $P < 0.01$ ),纺锤体长、宽以及面积恢复正常,细胞质中的皮质颗粒由散乱分布恢复至均

匀排列于卵膜周围。Lee等<sup>[18]</sup>培养猪卵丘-卵母细胞复合体(cumulus oocyte complex, COC)并进行受精处理,与添加叶酸组相比,叶酸缺乏组猪卵母细胞染色体形态差,卵母细胞成熟度和囊胚数极显著降低( $P < 0.01$ ),卵丘细胞和囊胚凋亡数极显著提高( $P < 0.01$ )。Karri等<sup>[19]</sup>证明,与对照组相比,大鼠肌肉注射叶酸拮抗剂后发情周期延长,卵巢重和卵巢中总RNA、总DNA、总蛋白浓度及腔前卵泡、有腔卵泡数显著降低( $P < 0.05$ ),闭锁卵泡数显著增多( $P < 0.05$ ),当给大鼠补充叶酸或停止注射拮抗剂后,以上现象均有所缓解。

## 3 叶酸影响卵母细胞质量的作用机制

### 3.1 促细胞分裂作用

雌性动物在胚胎期时,卵泡内的卵原细胞增殖成为初级卵母细胞并停滞于生发泡期(germinal vesicle, GV);初情期后,初级卵母细胞恢复分裂,出现GVBD和PB1的排出,完成第1次减数分裂,变为次级卵母细胞,并中止于第2次减数分裂中期,受精或孤雌活化后完成第2次减数分裂<sup>[20]</sup>。成熟促进因子(maturation promoting factor, MPF)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)是该过程的关键调控因子<sup>[21]</sup>。MPF是细胞周期M期的1种蛋白激酶,由催化亚基P34<sup>cdc2</sup>和调节亚基周期蛋白(CyclinB)组成,MPF活性的大小决定了卵母细胞能否由G2期过渡到M期并发生GVBD。MAPK又称细胞外调节蛋白激酶(entracellular regulated protein kinases, ERK),分为ERK1和ERK2,MAPK与其上游信号分子原癌基因蛋白(Mos)以及下游信号分子核糖体S6激酶(ribosomal S6 kinase, RSK)构成的Mos-MEK-MAPK-RSK信号途径能激活MPF,对卵母细胞成熟起着极其重要的作用<sup>[17,22]</sup>。

叶酸有利于卵母细胞GVBD的发生,其作用机制可能是通过增加MAPK活性,提高Mos蛋白表达水平以及活化MPF亚基CyclinB,进而促进卵母细胞减数分裂的重启和成熟。MPF激活机制在爪蟾上研究较深入,Li等<sup>[23]</sup>指出MPF作用机制没有种属特异性。Huang等<sup>[2]</sup>研究发现,将爪蟾卵母细胞移入含不同含量叶酸(125、250、500和1000 μmol/L)的培养液中培养,同时设立空白对照和孕酮阳性对照。体外培养4和6h时,4种剂量叶酸组的卵母细胞GVBD率均显著高于空白组

( $P < 0.05$ ),效果和孕酮阳性对照一致;与空白对照相比,叶酸和孕酮处理后卵母细胞的磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1 (p-ERK1)、Mos、CyclinB 蛋白表达水平均有不同程度的升高( $P < 0.05$ )。梁蓉等<sup>[24]</sup>在小鼠上也有相似的发现,与空白对照相比,10 nmol/L 叶酸刺激 48 h 后检测小鼠体外培养卵巢颗粒细胞,磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (p-ERK) 以及 ERK 蛋白表达水平均显著提高( $P < 0.05$ )。

### 3.2 抗氧化作用

叶酸自身具有抗氧化作用。Joshi 等<sup>[25]</sup>通过体外试验研究证明叶酸可清除体内自由基,防止自由基对生物体的损害。此外,叶酸能通过降低 Hcy 的浓度间接发挥抗氧化作用。叶酸缺乏将导致蛋氨酸合成途径受阻,使 Hcy 积累,Hcy 上的自由巯基易发生自身氧化,产生过氧化氢和其他氧自由基,进而引起脂质过氧化,过量的过氧化脂质及其终末产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 均会损伤生物膜,影响 DNA 和蛋白质结构功能,并激活氧化还原反应敏感转录因子核转录因子  $\kappa$ B (nuclear factor-kappa B, NF $\kappa$ B),引发细胞凋亡<sup>[12,26-27]</sup>。Hcy 还会特异性抑制谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的活性,削弱机体抗氧化功能,造成氧化应激反应<sup>[28]</sup>。

卵泡液微环境内也存在氧化与抗氧化的动态平衡,打破平衡会导致氧化损伤,使卵泡发育受损,严重影响卵母细胞质量<sup>[29-31]</sup>。Boxmeer<sup>[1]</sup>试验表明,女性卵泡液中 Hcy 浓度越高,卵泡直径越小,达到成熟的卵母细胞数量越少,胚胎质量越低,妊娠成功率也相应变低;补充叶酸能显著提高卵泡液中的叶酸含量并显著降低 Hcy 的浓度( $P < 0.05$ )。Berker 等<sup>[32]</sup>同样发现卵泡液中叶酸含量和 Hcy 浓度呈负相关,女性卵泡液中 Hcy 浓度升高极显著降低卵泡液中蛋氨酸合成酶辅酶维生素 B<sub>12</sub> 含量以及雌激素浓度( $P < 0.01$ ),并导致脂质过氧化反应产物 MDA 含量极显著增加( $P < 0.01$ ),严重影响了卵母细胞质量和胚胎质量。Kim 等<sup>[33]</sup>将猪 COC 进行体外培养,10 ng/mL 叶酸处理体系中 GSH 含量显著提高( $P < 0.05$ ),卵丘细胞凋亡数量显著降低( $P < 0.05$ ),卵母细胞体外成熟率更高,囊胚形成率更快,胚胎发育程度更好。叶酸能通过抑制 Hcy 过量积累并促进 GSH 合成来防止氧化应激对卵母细胞造成的氧化损

伤,但叶酸自身的抗氧化作用到底有多大还未见报道。

### 3.3 促核酸合成作用

dNTP 库平衡对遗传稳定性至关重要,dNTP 库平衡改变会对 DNA 高保真复制及细胞周期循环造成不利影响。叶酸在 DNA 代谢过程中有重要作用,在嘌呤合成以及 dUMP 向 dTMP 转化过程中必不可少,叶酸缺乏导致 dUMP 积累,dTMP 合成不足,提高了 dUMP 错误插入 DNA 的几率,引发 DNA 修复反应,造成染色体断裂成核小体,减慢 DNA 复制速度,降低细胞增殖的能力,增加细胞凋亡和坏死的数量<sup>[12,34]</sup>。

James 等<sup>[34]</sup>对中国仓鼠卵巢细胞系进行了体外培养,在 12 d 的培养期中,与对照组相比,叶酸缺乏组细胞出现生长抑制以及凋亡的现象。分别收集凋亡细胞和存活细胞进行 DNA 琼脂糖凝胶电泳,凋亡细胞 DNA 被降解为 180 ~ 200 bp 碱基片段,而存活细胞 DNA 降解较少。同时叶酸缺乏组活细胞中三磷酸脱氧尿苷 (dUTP) 含量显著升高( $P < 0.05$ ),脱氧胸苷三磷酸 (dTTP) 含量显著降低( $P < 0.05$ ),dUTP/dTTP 显著升高( $P < 0.05$ ),表明 dNTP 库平衡被破坏。这与 Melnyk 等<sup>[35]</sup>的研究结果一致。卵巢是卵泡生长和卵母细胞发育的重要依托,卵巢功能受损,直接影响卵泡和卵母细胞质量。而叶酸缺乏破坏 dNTP 库平衡的机制是否会直接作用于卵母细胞还有待进一步研究。

### 3.4 促甲基化作用

卵母细胞发育中和胚胎着床前会经历重要的 DNA 甲基化过程,DNA 甲基化是一种表观遗传机制,能够在不改变核酸分子一级结构的情况下使基因组功能发生改变。叶酸与 DNA 甲基化之间存在密切联系。叶酸参与蛋氨酸合成反应产物 SAM,是机体内重要的甲基供体,能够调控胞嘧啶和鸟嘌呤二核苷酸 (CpG) 岛胞嘧啶 DNA 的甲基化。SAM 供出甲基后,转化 SAH,SAM 和 SAH 的比值 (SAM/SAH) 代表了细胞甲基化的能力。叶酸缺乏会抑制 SAM 的合成,导致全面的 DNA 低甲基化,影响卵泡发育和卵母细胞质量,同时会影响后代生后基因表达以及健康状况<sup>[12,36]</sup>。

Sinclair 等<sup>[36]</sup>给妊娠前雌性绵羊饲喂包括叶酸在内的甲基供体缺乏饲料,显著降低了其卵泡颗粒细胞中 SAM 含量( $P < 0.05$ ),同时 SAM/

SAH 显著降低 ( $P < 0.05$ ) ; 对妊娠 90 d 胚胎肝脏进行限制性标记基因组扫描, 检测 57 个位点的甲基化状态发现, 与对照组相比, 其中 88% 的位点未甲基化或低甲基化, 其后代出生后表现出了一系列病理状态。Anckaert 等<sup>[37]</sup> 收集小鼠腔前卵泡, 分别于完全培养液或叶酸等甲基供体缺乏培养液中进行体外培养, 12 d 后, 甲基供体缺乏组有腔卵泡数量以及 PB1 排出率与对照组相比极显著降低 ( $P < 0.01$ ), 收集排出的卵母细胞和 PB1 进行差异性甲基化区 (differentially methylated region, DMR) 基因甲基化分析, 甲基供体缺乏组 PB1 中 DMR 印记基因 *Mest* 甲基化程度显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。Kanakkaparambil 等<sup>[38]</sup> 指出, 叶酸等甲基供体缺乏使体外培养母羊卵母细胞为感应卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 而表达出更多的生长分化因子 9 (growth differentiation factor 9, *GDF9*)、骨形态发生蛋白 15 (bone morphogenetic protein 15, *BMP15*)、卵泡刺激素受体 (follicle stimulating hormone receptor, *FSHR*) 基因 ( $P < 0.05$ ), 这可能与 DNA 甲基化调节相关。

#### 4 小 结

叶酸以辅酶的身份参与一碳代谢, 能分别从促进卵母细胞减数分裂和成熟、防止卵母细胞氧化损伤、保证卵母细胞遗传稳定性等方面维护卵母细胞质量, 起着至关重要的作用。由于目前叶酸对于卵母细胞质量方面的研究不多, 尽管体外细胞培养研究已经达到了翻译水平, 但还缺乏体内外试验相结合的有力证据, 叶酸能否通过影响下丘脑-垂体-性腺轴激素分泌影响卵母细胞质量还不清楚, 此外, 达到最佳卵母细胞质量的叶酸添加量也值得研究。叶酸影响卵母细胞质量的深入研究对于提高母畜繁殖性能以及辅助生殖技术成功率具有重要价值。

#### 参考文献:

- [ 1 ] BOXMEER J C. The homocysteine pathway in human subfertility [ D ]. Ph. D. Thesis. Rotterdam: Erasmus University Rotterdam, 2008: 1 - 137.
- [ 2 ] HUANG X L, GAO S, XIA W, et al. Folic acid facilitates *in vitro* maturation of mouse and *Xenopus laevis* oocytes [ J ]. *British Journal of Nutrition*, 2013, 109 ( 8 ): 1389 - 1395.
- [ 3 ] GILCHRIST R B, LANE M, THOMPSON J G. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality [ J ]. *Human Reproduction Update*, 2008, 14 ( 2 ): 159 - 177.
- [ 4 ] 徐盛玉, 吴德, 王定越. 卵母细胞质量评定方法 [ J ]. *中国生物工程杂志*, 2008, 28 ( 7 ): 116 - 121.
- [ 5 ] LIU J, WARD R L. Folate and one-carbon metabolism and its impact on aberrant DNA methylation in cancer [ J ]. *Advances in Genetics*, 2010, 71: 79 - 121.
- [ 6 ] BAILEY L B. Folate in health and disease [ M ]. 2nd ed. New York: Taylor and Francis Group, LLC., 2010: 2 - 124.
- [ 7 ] WU L L, WU J T. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for cancer and a new potential tumor marker [ J ]. *Clinica Chimica Acta*, 2002, 322 ( 1/2 ): 21 - 28.
- [ 8 ] SPIEGELSTEIN O, MITCHELL L E, MERRIWEATHER M Y, et al. Embryonic development of folate binding protein-1 ( Folbpl ) knockout mice: effects of the chemical form, dose, and timing of maternal folate supplementation [ J ]. *Developmental Dynamics*, 2004, 231 ( 1 ): 221 - 231.
- [ 9 ] MIZUNO Y, NASUNO T, OKUSA S, et al. 10-Formyltetrahydrofolate exists in pig plasma [ J ]. *Nutrition Research*, 2000, 20 ( 9 ): 1355 - 1359.
- [ 10 ] FUKUSHIMA M, MORITA M, IKEDA K, et al. Population study of expression of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase in patients with solid tumors [ J ]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2003, 12 ( 6 ): 839 - 844.
- [ 11 ] RAMPERSAUD G C, KAUWELL G P, HUTSON A D, et al. Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women [ J ]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, 72 ( 4 ): 998 - 1003.
- [ 12 ] LAANPERE M, ALTMÄE S, STAVREUS-EVERS A, et al. Folate-mediated one-carbon metabolism and its effect on female fertility and pregnancy viability [ J ]. *Nutrition Reviews*, 2010, 68 ( 2 ): 99 - 113.
- [ 13 ] MATTE J J, GIRARD C L, BRISSON G J. Folic acid and reproductive performances of sows [ J ]. *Journal of Animal Science*, 1984, 59 ( 4 ): 1020 - 1025.
- [ 14 ] STEEGERS-THEUNISSEN R P, STEEGERS E A, THOMAS C M, et al. Study on the presence of homocysteine in ovarian follicular fluid [ J ]. *Fertility and Sterility*, 1993, 60 ( 6 ): 1006 - 1010.
- [ 15 ] XIAO S H, HANSEN D K, HORSLEY E T, et al. Maternal folate deficiency results in selective upregu-

- lation of folate receptors and heterogeneous nuclear ribonucleoprotein-E1 associated with multiple subtle aberrations in fetal tissues [J]. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 2005, 73 (1): 6-28.
- [16] KWONG W Y, ADAMIAK S J, GWYNN A, et al. Endogenous folates and single-carbon metabolism in the ovarian follicle, oocyte and pre-implantation embryo [J]. *Reproduction*, 2010, 139(4): 705-715.
- [17] SZYMAŃSKI W, KAZDEPKA-ZIEMIŃSKA A. Effect of homocysteine concentration in follicular fluid on a degree of oocyte maturity [J]. *Ginekologia Polska*, 2003, 74(10): 1392-1396.
- [18] LEE D R, KIM E S, LIM J E, et al. The effect of supplemented folic acid in the maturation medium on the maturation of porcine immature oocytes and subsequent embryonic development [J]. *Fertility and Sterility*, 2008, 90(Suppl.): 333S-334S.
- [19] KARRI S, VANITHAKUMARI G. Effect of methotrexate and leucovorin on female reproductive tract of albino rats [J]. *Cell Biochemistry and Function*, 2011, 29(1): 1-21.
- [20] 朱世恩. 动物生殖生理学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2005: 36-67.
- [21] ABRIEU A, DORÉE M, FISHER D. The interplay between cyclin-B-Cdc2 kinase (MPF) and MAP kinase during maturation of oocytes [J]. *Journal of Cell Science*, 2001, 114(Pt 2): 257-267.
- [22] CASTRO A, PETER M, LORCA T, et al. c-Mos and cyclin B/cdc2 connections during *Xenopus* oocyte maturation [J]. *Biology of the Cell*, 2001, 93(1/2): 15-25.
- [23] LI G P, CHEN D Y, LIAN L, et al. Mouse-rabbit germinal vesicle transfer reveals that factors regulating oocyte meiotic progression are not species-specific in mammals [J]. *Journal of Experimental Zoology*, 2001, 289(5): 322-329.
- [24] 梁蓉, 张育军, 陈曦, 等. 同型半胱氨酸对卵巢颗粒细胞功能的影响 [J/OL]. 中国科技论文在线, [2011-12-28]. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/201112-781>.
- [25] JOSHI R, ADHIKARI S, PATRO B S, et al. Free radical scavenging behavior of folic acid: evidence for possible antioxidant activity [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001, 30(12): 1390-1399.
- [26] PERNA A F, INGROSSO D, DE SANTO N G. Homocysteine and oxidative stress [J]. *Amino Acids*, 2003, 25(3/4): 409-417.
- [27] CHERN C L, HUANG R F, CHEN Y H, et al. Folate deficiency-induced oxidative stress and apoptosis are mediated via homocysteine-dependent overproduction of hydrogen peroxide and enhanced activation of NF-kappaB in human Hep G2 cells [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2001, 55(8): 434-442.
- [28] STANGER O, WEGER M. Interactions of homocysteine, nitric oxide, folate and radicals in the progressively damaged endothelium [J]. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2003, 41(11): 1444-1454.
- [29] 凌洽萍. 细胞生物学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [30] OYAWOYE O, ABDEL GADIR A, GARNER A, et al. Antioxidants and reactive oxygen species in follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome [J]. *Human Reproduction*, 2003, 18(11): 2270-2274.
- [31] CARBONE M C, TATONE C, DELLE MONACHE S, et al. Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid: characterization and age-dependent changes [J]. *Molecular Human Reproduction*, 2003, 9(11): 639-643.
- [32] BERKER B, KAYA C, AYTAC R, et al. Homocysteine concentrations in follicular fluid are associated with poor oocyte and embryo qualities in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction [J]. *Human Reproduction*, 2009, 24(9): 2293-2302.
- [33] KIM E S, SEO J S, EUM J H, et al. The effect of folic acid on *in vitro* maturation and subsequent embryonic development of porcine immature oocytes [J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2009, 76(2): 120-121.
- [34] JAMES S J, BASNAKIAN A G, MILLER B J. *In vitro* folate deficiency induces deoxynucleotide pool imbalance, apoptosis, and mutagenesis in Chinese hamster ovary cells [J]. *Cancer Research*, 1994, 54(19): 5075-5080.
- [35] MELNYK S, POGRIBNA M, MILLER B J, et al. Uracil misincorporation, DNA strand breaks, and gene amplification are associated with tumorigenic cell transformation in folate deficient/repleted Chinese hamster ovary cells [J]. *Cancer Letters*, 1999, 146(1): 35-44.
- [36] SINCLAIR K D, ALLEGRUCCI C, SINGH R, et al.

DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status [ J ]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104 ( 49 ): 19351 – 19356.

[ 37 ] ANCKAERT E, ROMERO S, ADRIAENSSENS T, et al. Effects of low methyl donor levels in culture medi-

um during mouse follicle culture on oocyte imprinting establishment [ J ]. *Biology of Reproduction*, 2010, 83 ( 3 ): 377 – 386.

[ 38 ] KANAKKAPARAMBIL R, SINGH R, LI D, et al. B-vitamin and homocysteine status determines ovarian response to gonadotropin treatment in sheep [ J ]. *Biology of Reproduction*, 2009, 80 ( 4 ): 743 – 752.

## Effects of Folate on Oocytes Quality of Animals and Its Action Mechanism

SONG Jie XU Shengyu YANG Shuangyuan WU De\*

( *Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China* )

**Abstract:** In female reproduction, the formation of healthy oocytes is the material basis of normal fertilization, embryo development, as well as sexual reproduction. As a carrier of one-carbon units involved in the synthesis of DNA, RNA, and protein, folate is absolutely necessary in the process of cell growth and differentiation, such as the formation of gametes and fetal development etc. In recent years, researches found that folate influences oocytes quality through promoting cell division, antioxidation, nucleic acid synthesis and methylation reaction pathway etc. Here, the paper reviews the effects of folate on oocytes quality of animals and its action mechanism. [ *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26 ( 1 ): 63-68 ]

**Key words:** folate; oocyte quality; promoting cell division; antioxidation; nucleic acid synthesis; methylation