

多囊卵巢综合征患者卵泡液白细胞介素-1 β 水平与体外受精-胚胎移植结局关系的研究

黄颖, 丘映, 谭秀群

基金项目: 南宁市科技攻关与新产品试制项目课题(编号:201106045C); 广西卫生厅科研课题(编号:Z2011152)

作者单位: 530031 南宁, 广西医科大学第三附属医院生殖医学中心

作者简介: 黄颖(1973-), 女, 大学本科, 医学学士, 主治医师, 研究方向: 生殖医学。E-mail: huangyinggx@126.com

通讯作者: 谭秀群(1970-), 女, 大学本科, 医学学士, 副主任医师, 研究方向: 生殖医学。E-mail: tanxiuqun@126.com

【摘要】 目的 探讨体外受精-胚胎移植(IVF-ET)中 GnRH 拮抗剂治疗多囊卵巢综合征(PCOS)对患者卵泡液中白细胞介素-1 β (IL-1 β)的影响及与助孕结局的关系。方法 选择 2011-08 ~ 2012-09 在该院生殖医学中心行 IVF-ET 的 PCOS 不孕患者 76 例, 随机分为 A 组(GnRH 拮抗剂组)28 例(研究组), B 组(GnRH 激动剂长方案组)48 例(对照组), 比较分析两组患者的卵泡液中 IL-1 β 水平及其与助孕结局的关系。结果 两组卵泡液中 IL-1 β 浓度比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 子宫内膜厚度、获卵数、成熟卵率、受精率、卵裂率、优胚率、种植率、临床妊娠率方面, 两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$); A 组的 Gn 总用量、Gn 用药天数明显比 B 组少($P < 0.01$); A 组绒毛膜促性腺激素(HCG)日 E2 水平低于 B 组($P < 0.05$); 两组的卵巢过度刺激综合征(OHSS)发生率差异无统计学意义($P > 0.05$); A 组的周期取消率明显低于 B 组($P < 0.01$)。结论 IVF-ET 中 GnRH 拮抗剂治疗 PCOS 不会改变卵泡液中的 IL-1 β 水平, 不影响卵泡的发育、卵母细胞的成熟、受精、卵裂能力及胚胎的着床, 故 GnRH 拮抗剂方案是安全有效的。

【关键词】 GnRH 拮抗剂; 多囊卵巢综合征; 体外受精-胚胎移植; 白细胞介素-1 β

【中图分类号】 R 71 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2013)08-0742-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.08.05

Study on relationship between levels of IL-1 β in follicular fluid and IVF-ET outcome in PCOS patients

HUANG Ying, QIU Ying, TAN Xiu-qun. Reproductive Medical Center of the Third Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530031, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of GnRH antagonist in IVF-ET on IL-1 β in follicular fluid and the relationship between GnRH antagonist and IVF-ET outcome in polycystic ovarian syndrome(PCOS) patients. **Methods** Seventy-six cases of PCOS patients undergoing IVF-ET between August 2011 and September 2012 were divided randomly into two groups; Group A(study group): 28 patients with PCOS were subjected to a protocol of gonadotropin-releasing hormone antagonist. Group B(control group): 48 patients with PCOS were subjected to a long protocol of gonadotropin-releasing hormone agonist. The level of IL-1 β of the two groups and the relationships between GnRH antagonist and IVF-ET outcome were analyzed. **Results** The two groups were similar with respect to IL-1 β in follicular fluid($P > 0.05$); the two groups were similar with respect to endometrium thickness, the number of oocyte, the mature rate of the oocytes, fertilization rates, cleavage rates, the rate of the high-quality embryos, implantation rate, pregnancy rate($P > 0.05$). The doses of gonadotropin and the days of administration in Group A was less than those in Group B($P < 0.01$). The levels of serum E2 on day of HCG administration, and the cycle cancellation rate in Group A was lower than that in Group B($P < 0.05$ or 0.01). The difference of the incidence rate of OHSS was not significant($P > 0.05$) between the two groups. **Conclusion** It is demonstrated that GnRH antagonist in PCOS patients undergoing IVF-ET did not alter levels of IL-1 β in follicular fluid, the development of follicle and the oocyte competence. These results demonstrated the high-performance and safety of this drug on controlled ovarian stimulation protocol.

【Key words】 GnRH antagonist; Polycystic ovarian syndrome(PCOS); IVF-ET; IL-1 β

多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 是生育期妇女最常见的内分泌疾病及排卵障碍性不孕的主要原因, 许多 PCOS 患者需要接受体外受精-胚胎移植 (in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) 治疗。近年来的研究表明卵巢内微环境中的白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和生殖内分泌系统有着极其密切的关系, 本文研究在 IVF-ET 周期中使用 GnRH 拮抗剂 (gonadotropin releasing hormone antagonist, GnRHant) 治疗 PCOS 对患者卵泡液中白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的影响及与助孕结局的关系, 试图对 GnRH 拮抗剂方案的安全性及有效性进行探讨, 现将结果报告如下。

表 1 两组患者一般情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	不孕年限(年)	体重指数	FSH(mIU/ml)	LH(mIU/ml)	T(μ g/L)
A组	28	29.54 \pm 2.80	3.82 \pm 1.26	21.95 \pm 2.44	4.85 \pm 1.03	5.36 \pm 3.45	63.13 \pm 64.05
B组	48	29.29 \pm 3.45	3.40 \pm 0.68	21.36 \pm 2.79	4.77 \pm 0.91	4.92 \pm 3.88	72.58 \pm 105.91
<i>t</i>	-	0.318	1.898	0.933	0.357	0.496	-0.428
<i>P</i>	-	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

1.2 研究方法

1.2.1 治疗方案 (1) A 组治疗方案: 停用 OC 后的月经周期第 3 天开始用促性腺激素 (gonadotropin, Gn) 促排卵 (重组人促卵泡激素, 即果那芬, 瑞士雪兰诺公司), 刺激的第 5 天开始根据 B 超监测及性激素水平调整剂量, 当主导卵泡直径达 14 mm 时给予 GnRH 拮抗剂 (注射用醋酸西曲瑞克, 即思则凯, 瑞士雪兰诺公司) 0.25 mg/d, 直至绒毛膜促性腺激素 (HCG) 注射日。(2) B 组治疗方案: 在治疗周期的前一周期 (OC) 周期第 20 ~ 21 天使用 GnRH 激动剂 (Ipsen, Diphereline, 达菲林 1.2 mg) 降调节, 降调节后 15 ~ 17 d 开始使用 Gn (果那芬) 促排卵, 开始使用 Gn 要达到血雌二醇 (E2) \leq 50 pg/ml、无卵泡发育和子宫内膜厚度 $<$ 5 mm 的条件, 5 d 后根据 B 超监测及性激素水平调整剂量。以上两组促排卵方案的 Gn 启动量均从 75 ~ 112.5 IU/d 开始, 当 B 超监测有 3 个主导卵泡径线 \geq 18 mm 时给予注射 HCG 5 000 U, 36 ~ 37 h 取卵, 取卵后 72 h 移植; 取卵后开始应用黄体酮支持黄体功能, 移植后 14 d 抽血查 β -HCG, 阳性为生化妊娠, 移植后 33 ~ 35 d 行 B 超检查, 以孕囊中见胚芽和心管搏动确定为临床妊娠。对于 HCG 日 E2 值高于 5 000 pg/ml 或获卵数多于 15 个等有卵巢过度刺激综合征 (OHSS) 倾向患者, 自取卵日开始每天静滴“羟乙基淀粉” 500 ml, 拟移植日再次问诊、体检、B 超复查,

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择 2011-08 ~ 2012-09 在我院生殖医疗中心因配子运送障碍行 IVF-ET 的 PCOS 不孕患者 76 例, 年龄 23 ~ 35 岁, 随机分为 A 组 (GnRH 拮抗剂组) 28 例 (研究组), B 组 (GnRH 激动剂长方案组) 48 例 (对照组), PCOS 的诊断标准参照 2003 年鹿特丹标准^[1]。排除标准: ①年龄 $>$ 35 岁; ②基础卵泡刺激素 (FSH) $>$ 12 mIU/ml; ③合并子宫内异位症。两组患者的年龄、不孕年限、体重指数、基础内分泌等一般情况比较差异无统计学意义 ($P >$ 0.05), 具有可比性。见表 1。

若仍发现卵巢体积较大, 出现 OHSS 症状、体征者, 则取消新鲜胚胎移植, 行胚胎冷冻保存, 以后择期行冷冻胚胎移植。

1.2.2 标本收集及检测 (1) 卵泡液的收集: 卵泡液为经阴道 B 超引导下抽吸排卵前卵泡所得, 取卵泡直径 \geq 16 mm 的未冲洗卵泡液置无菌干燥离心管中, 3 000 r/min 离心 10 min, 取出上清液分装后储存于 -70 $^{\circ}$ C 冰箱中保存待测。(2) 卵泡液 IL- β 的检测: 采用酶联免疫吸附双抗夹心法 (ELISA) 检测 IL- β 浓度, 检测仪器为雷杜酶标仪, 检测试剂由法国 DIACLONE 公司和深圳市炬英生物科技有限公司提供, 具体操作过程严格按试剂盒说明书进行, 灵敏度为 5 pg/ml, 批内、批间变异系数均 $<$ 10.5%。

1.3 观察指标 Gn 的用量及用药天数、HCG 日的血 E2、LH 水平、子宫内膜厚度、获卵数、成熟卵率、受精率、卵裂率、优胚率、种植率、临床妊娠率、周期取消率和 OHSS 发生率。其中 OHSS 诊断标准参考文献^[2]。

1.4 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据统计分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较采用成组 *t* 检验; 计数资料用率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P <$ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组观察指标比较 A 组的 Gn 用量、用药天数明显比 B 组少 ($P <$ 0.01); A 组 HCG 日 E2 水平

低于 B 组 ($P < 0.05$); 两组卵泡液中 IL-1 β 浓度比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 子宫内膜厚度、获卵数、成熟卵率、受精率、卵裂率、优胚率、种植率、临床妊娠率方面, 两组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.2 两组 OHSS 发生率比较 A 组的 OHSS 发生率低于对照组 ($P > 0.05$); A 组的周期取消率明显低于 B 组(周期取消的原因均为发生 OHSS 或存在 OHSS 高风险) ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 两组观察指标及 OHSS 发生率比较 [$(\bar{x} \pm s), n(\%)$]

组别	例数	Gn 用药天数 (d)	Gn 用量 (IU)	获卵数 (个)	成熟卵率 (%)	受精率(总) (%)	卵裂率(总) (%)	HCG 注射日 内膜厚度 (mm)	HCG 注射日 E2 水平 (pg/ml)
A 组	28	11.43 \pm 3.50	1303.13 \pm 457.95	12.64 \pm 6.52	289(81.87)	79.54 \pm 18.39	96.61 \pm 8.13	10.57 \pm 1.86	2920.14 \pm 1458.27
B 组	48	15.00 \pm 3.69	1567.30 \pm 609.79	14.37 \pm 5.51	545(78.96)	72.89 \pm 20.50	97.04 \pm 6.77	10.52 \pm 2.45	3674.60 \pm 1629.53
t/χ^2	-	-4.146	-2.054	-1.234	0.93	1.413	0.549	0.096	-2.022
P	-	<0.01	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

组别	例数	HCG 注射日 血 LH 水平 (mIU/ml)	取卵日卵泡液 IL-1 β 水平 (pg/ml)	周期取消率 (%)	胚胎移植数 (个)	优胚率 (%)	胚胎种植率 (%)	临床妊娠率 (%)	OHSS 发生率 (%)
A 组	28	1.26 \pm 0.99	32.71 \pm 4.18	1(3.6)	1.96 \pm 0.19	50.14 \pm 25.27	19(35.2)	14(51.9)	0(0.0)
B 组	48	0.71 \pm 0.72	32.82 \pm 4.56	13(27.1)	1.94 \pm 0.23	56.04 \pm 25.06	19(27.9)	18(51.4)	5(10.4)
t/χ^2	-	2.803	0.260	6.505	0.36	-0.987	0.736	0.001	2.923
P	-	<0.05	>0.05	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

注: A 组的成熟卵率、胚胎种植率、临床妊娠率的分母例数分别为 353 例、54 例、27 例; B 组的成熟卵率、胚胎种植率、临床妊娠率的分母例数分别为 690 例、68 例、35 例

3 讨论

3.1 GnRHant 为促性腺激素释放激素类似物 (GnRH analogue), 是通过 GnRH 分子结构的第 1, 2, 3, 6, 8, 10 位的氨基酸进行替换修饰而成的产物, 其竞争性地阻断下丘脑垂体 GnRH 受体, 与垂体细胞膜上的受体相结合后迅速抑制内源性促性腺激素释放激素的分泌。与 GnRHa 相比其特点有: 迅速暂时地抑制 LH; 剂量依赖性抑制; 无初始的“骤然作用”现象; 缩短了刺激周期和减少促性腺激素的用量。我们的研究也显示, GnRH 拮抗剂组的 Gn 总用量、Gn 用药天数明显比 GnRH 激动剂长方案组少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3.2 卵泡液是卵细胞生长的微环境, 微环境的优劣直接影响卵细胞的质量, 卵泡液中含多种细胞因子及激素, 如白细胞介素-1 (IL-1)、白细胞介素-6 (IL-6)、血管内皮生长因子 (VEGF)、E2、P 等, 越来越多的证据表明细胞因子与生殖内分泌系统有极其密切的关系, IL-1 从免疫的角度影响生殖活动的各个环节, 调节卵细胞发育、成熟、排卵等卵巢功能以及受精、着床、妊娠过程^[3-6], IL-1 β 是 IL-1 系统具有生物活性的亚型之一, 与生殖活动最为密切, 基于以上原因, 卵泡液中 IL-1 β 水平的检测是反映卵母细胞的质量及黄体潜能的标志物之一, 是研究 GnRHant

安全性的可测量物质。从本研究结果中可以看到 A 组和 B 组的卵泡液中 IL-1 β 浓度比较差异并无统计学意义, 提示 GnRH 拮抗剂对 IL-1 β 浓度没有影响, 可能与拮抗剂用药时间短、半衰期短有关; 两组的获卵数、成熟卵率、受精率、卵裂率、优胚率、种植率、临床妊娠率相比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明 GnRH 拮抗剂并不影响卵泡的发育、卵母细胞的成熟、受精、卵裂能力及胚胎的着床。以往的文献证实^[7-9], 促排卵周期过高的 E2 水平影响内膜, 使其向分泌期转化不足以及腺体和基质发育不同步, 使胚胎着床的窗口期迅速关闭, 从而影响胚胎的着床及助孕的妊娠率。结合我们的研究结果 A 组的胚胎种植率、临床妊娠率均高于 B 组 ($P > 0.05$), 也可以推断使用 GnRH 拮抗剂方案的 PCOS 患者降低了血 E2 水平, 从而改善子宫内膜的容受性, 使种植率和妊娠率得到提高, 所以说 GnRHant 用药既是安全的也是高效的。

3.3 OHSS 是超排卵的常见并发症, 总发生率 8.4% ~ 23.3%, 严重时危及患者生命, 其病因尚不十分清楚, 其治疗也没有特别有效的措施, 因此预防 OHSS 及降低发生 OHSS 的风险显得尤为重要^[2]。Pellicer 等^[10]的研究表明 IL-1 β 在体外受精中是卵巢过度刺激的致病因子。郭艺红等^[11]的研究提示 OHSS

发生率高的组别其卵泡液中 IL-1 β 的含量明显高于 OHSS 发生率低的组别。我们的研究结果显示, B 组的卵泡液中 IL-1 β 的含量高于 A 组, 但两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B 组的 OHSS 发生率高达 10.4%, 而 A 组为 0, 前者的周期取消率显著高于后者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。因此, 推测卵泡液中 IL-1 β 水平偏高的患者更易发生 OHSS, 该因子对 OHSS 的发病有一定的预测价值。此外, 使用 GnRH 拮抗剂方案, 早期阶段的高 LH 水平, 有助于提高卵巢对 FSH 的敏感性, 缩短刺激时间, 减少 Gn 用量, 从而降低发生 OHSS 的风险^[12]; GnRH 拮抗剂方案较之 GnRH 激动剂长方案能减少 OHSS 发生^[13], 我们的研究亦得出相同的结论。

综上所述, 在体外受精-胚胎移植 PCOS 患者治疗中, 采用 GnRH 拮抗剂方案是安全的、有效的, 由于 GnRH 拮抗剂方案能减少 OHSS 的发生, 可缩短治疗时间, 减少治疗费用, 且疗效可靠, 患者依从性好, 可能为 PCOS 患者行体外受精-胚胎移植治疗较理想的选择。

参考文献

- 1 Consensus RP. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome [J]. Fertil Steril, 2004, 81(1): 19 - 25.
- 2 庄广伦. 现代辅助生育技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 407 - 412.
- 3 郭艺红. 白细胞介素与生殖调节 [J]. 国外医学计划生育分册, 2002, 21(1): 34 - 36.
- 4 王雪峰, 陈士岭, 邢福祺, 等. 白介素-1 对体外受精-胚胎移植着床率的影响 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2003, 19(9): 541 -

- 544.
- 5 王玲, 范琼琳, 李瑞环, 等. 白介素 1 β 在大鼠卵泡发育中表达及功血宁 II 号冲剂的影响 [J]. 天津中医药大学学报, 2009, 28(1): 16 - 19.
- 6 刘萍, 李允广, 徐艳, 等. 白介素-1 β 对小鼠胚胎体外发育及胚胎子宫内膜共培养体系分泌 Hb-EGF、 $\alpha\text{u}\beta 3$ 的影响 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(12): 29 - 31.
- 7 Simon C, Cano F, Valbuena D, et al. Clinical evidence for a detrimental effect on uterine receptive if high serum oestradiol concentrations in high and normal responder patients [J]. Hum Reprod, 1995, 10(11): 2432 - 2437.
- 8 Chazala Basir, Wai-sum O, Ernest Hung, et al. Morphometric analysis of peri-implantation endometrium in patients having excessively high oestradiol concentrations after ovarian stimulation [J]. Hum Reprod, 2001, 16(3): 435 - 440.
- 9 徐凤琴, 杜血. IVF-ET 时子宫容受性的评价 [J]. 国外医学计划生育分册, 2004, 23(11): 37 - 39.
- 10 Pellicer A, Albert C, Mercader A, et al. The Pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome; in vivo studies investigating the role of interleukin-1 β , interleukin-6, and vascular endothelial growth factor [J]. Fertil Steril, 1999, 71(3): 482 - 489.
- 11 郭艺红, 乔玉环, 孙莹璞, 等. 卵泡液 IL-1 β 水平对多囊卵巢综合征患者体外受精-胚胎移植结局的影响 [J]. 实用妇产科杂志, 2005, 12(21): 738 - 740.
- 12 Kurzawa R, Ciepela P, Baczkowski T, et al. Comparison of embryological and clinical outcome in GnRH antagonist vs. GnRH agonist protocols for in vitro fertilization in PCOS non-Obese patients. a prospective randomized study [J]. Assist Reprod Genet, 2008, 25(8): 365 - 374.
- 13 肖双松, 陈双隍, 张春莲, 等. GnRH 拮抗剂对体外受精-胚胎移植中多囊卵巢综合征患者有效性的系统评价 [J]. 中国循证医学杂志, 2011, 11(7): 811 - 818.

[收稿日期 2013-04-27][本文编辑 黄晓红 韦颖]

本刊严正声明

根据有关读者举报并经本刊初步查证, 近一段时间来有人冒充本刊名义和盗用本刊的合法刊号 (ISSN1674 - 3806 / CN45 - 1365 / R) 进行非法出版活动 (该非法出版物的编辑部地址为: 北京市 100036 信箱 27 分箱; 邮政编号: 100036; 联系电话: 010 - 87013678; 网址: <http://www.zglcxyx010.com>; E-mail: zglcxyx010@126.com, ZGLCXYX@163.com), 严重地侵犯本刊的合法权益, 损害了本刊的名义, 在社会上造成了极坏的影响。为此, 本刊特严正声明如下:

- (一) 冒充本刊名义和盗用本刊合法刊号的违法者必须立即停止一切侵权行为和非法出版活动, 并对已发生的侵权行为和非法出版活动承担法律和经济责任。
- (二) 本刊已委托律师通过法律手段追诉侵权和非法出版者的法律责任和经济赔偿责任。
- (三) 本刊一贯严格遵守和执行新闻出版的有关法律、法规和管理规定, 从未在全国任何地方设立过分支机构、分部和代办点; 从未委托本编辑部以外的任何人进行组稿、征稿业务活动。
- (四) CN45 - 1365 / R 的标准刊号为出版物和编辑部设在广西的特定登记号, 凡在广西以外出现的 CN45 - 1365 / R 刊号的出版物和编辑出版机构都是非法的。
- (五) 本刊合法的编辑部地址为: 广西南宁市桃源路 6 号广西壮族自治区人民医院内。邮政编码为: 530021。电话号码为: 0771 - 2186013。网址为: <http://www.zglcxyxzz.com>。E-mail: zglcxyxzz@163.com。
- (六) 敬请广大作者、读者务必认准本刊的标准刊号和编辑部地址, 谨防上当受骗。