

氧化应激对子宫内膜异位症患者体外受精 - 胚胎移植妊娠结局的影响

韩彦洁 蒋彦 杨倩 樊涛 张瑶 许红

【摘要】目的 探讨氧化应激对子宫内膜异位症(EMs)患者体外受精-胚胎移植(IVF-ET)妊娠结局的影响。**方法** 收集 EMs 合并不孕患者 65 例为 EMs 组, 输卵管因素引起不孕患者 165 例作为对照组, 分别比较两组患者一般资料、促排卵指标、实验室指标、外周血和卵泡液中氧化应激指标。**结果** EMs 组和对照组的促性腺激素 Gn 使用时间、基础卵泡刺激素(bFSH)、黄体生成素(LH)、抗苗勒管激素(AMH)比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 而 EMs 组患者 Gn 使用量显著增加($P<0.05$)。EMs 组患者的平均获卵数、受精率、优质胚胎率、可用胚胎率、临床妊娠率、流产率分别为(9.12 ± 3.50)枚、(50.96 ± 7.01)%、(20.71 ± 2.21)%、(40.33 ± 6.12)%、(40.98 ± 5.34)%和(20.00 ± 3.39)%, 对照组分别为(18.54 ± 3.92)枚、(70.83 ± 8.23)%、(30.13 ± 4.47)%、(56.64 ± 7.87)%、(54.42 ± 2.98)%和(7.14 ± 2.86)%, 两组比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$); EMs 患者外周血中氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及氧化应激指标活性氧(reactive oxygen species, ROS)表达量分别为(12.60 ± 0.59)U/L 和 63.67 ± 2.31 , 卵泡液中分别为(6.23 ± 0.31)U/L 和 70.00 ± 2.00 , 对照组外周血和卵泡液分别为(19.40 ± 0.53)U/L、 43.53 ± 1.36 、(10.2 ± 0.60)U/L 和 50.33 ± 1.53 , 与对照组比较, 外周血和卵泡液中 ROS 显著升高, SOD 显著降低($P<0.01$)。**结论** EMs 合并不孕患者 ROS 和 SOD 异常引起的氧化应激紊乱可能与其 IVF-ET 妊娠结局不良有关。

【关键词】 子宫内膜异位症; 体外受精-胚胎移植; 氧化应激水平; 妊娠结局

Impact of oxidative stress on the pregnancy outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis

HAN Yanjie, JIANG Yan, YANG Qian, FAN Tao, ZHANG Yao, XU Hong.

(Department of Blood Transfusion, The Fourth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, China)

【Abstract】Objective To investigate the factor that influences the pregnancy outcome of in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) in patients with endometriosis (EMs). **Methods** A total of 65 EMs patients combined infertility (EMs group) and 165 infertility patients caused by fallopian tubal factors (control group) were enrolled. General information, ovulation induction indicators, laboratory indicators, and oxidative stress indicators in peripheral blood and follicular fluid were compared between the two groups. **Results** The usage time of Gn, the levels of basal follicle-stimulating hormone (bFSH), luteinizing hormone (LH), anti-muller-tube hormone (AMH) showed no significant difference between two groups ($P>0.05$), but the usage amount of Gn in the EMs was significantly increased ($P<0.05$). The average number of eggs, fertility rate, high quality of embryo rate, available embryo rate, clinical pregnancy rate and abortion rate were (9.12 ± 3.50), (50.96 ± 7.01)%, (20.71 ± 2.21)%, (40.33 ± 6.12)%, (40.98 ± 5.34)%, (20.00 ± 3.39)% in EMs group, and (18.54 ± 3.92), (70.83 ± 8.23)%, (30.13 ± 4.47)%, (56.64 ± 7.87)%, (54.42 ± 2.98)%, (7.14 ± 2.86)% in control group. There were significant differences between the two groups ($P<0.05$). The expression levels of superoxide dismutase (SOD) and reactive oxygen species (ROS) in peripheral blood of EMs patients were (12.60 ± 0.59)U/L and 63.67 ± 2.31 , respectively, and (6.23 ± 0.31)U/L and 70.00 ± 2.00 in follicular fluid. The control group were (19.40 ± 0.53)U/L, 43.53 ± 1.36 , (10.2 ± 0.60)U/L, and 50.33 ± 1.53 , respectively. Compared with the control group, ROS in the peripheral blood and follicular fluid were significantly increased and SOD was significantly decreased in EMs group ($P<0.01$). **Conclusion** The oxidative stress disorder caused by abnormal ROS and SOD

doi:10.13390/j.issn.1672-1861.2020.02.007

作者单位: 050011 石家庄市第四医院输血科(韩彦洁、张瑶、许红), 生殖中心(蒋彦), 病理科(杨倩), 新生儿科(樊涛)

通信作者: 蒋彦 Email: 13932117427@163.com

in infertility patients combined with EMs may be related to the adverse pregnancy outcome of IVF-ET.

【Key words】 endometriosis; in vitro fertilization-embryo transfer; oxidative stress; pregnancy outcome

Chin J Clin Obstet Gynecol, 2020, 21:138-140

子宫内膜异位症 (endometriosis, EMs) 是一种慢性妇科疾病。流行病学显示, 10%~15% 的生育期女性受 EMs 的困扰, 其中约 50% 的 EMs 患者合并不孕^[1]。近年来, 体外受精-胚胎移植 (IVF-ET) 技术已广泛应用于不孕不育患者的治疗中。然而, 荟萃分析显示, EMs 合并不孕患者接受 IVF-ET 的妊娠率较无 EMs 的不孕症患者明显降低^[2]。其影响因素有哪些, 目前仍然不清。近年来, 有研究报道机体的氧化应激水平对女性生育有重要作用, 氧化应激水平显著影响卵泡微环境、卵母细胞生长、受精和胚胎发育等过程, 而且在 EMs 患者腹水和外周血中氧化应激水平显著升高^[3-4]。为了探讨氧化应激对 EMs 合并不孕患者在接受 IVF-ET 治疗的妊娠结局, 本研究分析了 65 例 EMs 患者行 IVF-ET 的促排卵指标、妊娠结局及外周血和卵泡中 SOD 和 ROS 水平。

资料与方法

一、研究对象

选取 2017 年 12 月至 2018 年 6 月石家庄市第四医院生殖中心首次行 IVF-ET 治疗的 230 例不孕症患者。将 65 例 EMs 合并不孕者作为 EMs 组, 165 例输卵管因素引起不孕患者作为对照组。所有 EMs 患者均经腹腔镜或开腹手术证实; 输卵管因素不孕患者无 EMs 病史、卵巢手术史, 均由宫腔镜或输卵管造影证实, 有明确的 IVF-ET 指征, 并依据美国生育协会 r-AFS 标准进行分期, 其中 I~II 期 36 例 (55.38%), III~IV 期 29 例 (44.62%)。两组夫妇染色体均正常, 入组患者丈夫的精子质量达到常规 IVF-ET 标准, 均无内分泌疾病、心血管疾病、自身免疫性疾病、肝肾疾病; 3 个月内均未使用促性腺激素释放激素激动剂类药物和避孕药; 均无烟酒嗜好。两组患者年龄、不孕年限及基础卵泡刺激素 (bFSH) 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。

表1 EMs组和对照组患者一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄 (岁)	不孕年限 (年)	bFSH (IU/L)
对照组	165	31.93 ± 3.72	4.15 ± 2.68	6.99 ± 2.01
EMs组	65	32.42 ± 3.91	4.32 ± 3.07	6.91 ± 1.32
t值		0.157	0.072	0.057
P值		0.883	0.946	0.957

二、治疗方案

所有患者均采用相同方案降调节, 重组人卵泡刺激素 (Gn, 瑞士 Serono 公司) 启动超促排卵, 通过 B 超和血雌二醇 (E_2) 水平调整剂量。注射人绒毛膜促性腺激素 (hCG) 35~37 h 后穿刺取卵。取卵日对男方精液进行优化, 按照卵泡与精子 1:105 混合, 16~18 h 后观察受精情况。受精成功 48 h 后选出可利用胚胎移植, 移植 2 周后测定尿液和血 hCG, 超声检测诊断是否为临床妊娠。

三、观测指标

促排卵指标: Gn 用量和使用天数、bFSH、LH、抗苗勒管激素 (AMH)。实验室指标: 平均获卵数、受精率、可利用胚胎率、优质胚胎率、临床妊娠率、流产率。氧化应激指标: 取月经第 2 天空腹外周血和卵泡液, 通过基于荧光染料的活性氧检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 检测氧化应激指标活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 浓度, 采用总 SOD 活性检测试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司) 测定氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性。

四、统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组比较采用 student-t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、两组促排卵和妊娠结局情况

两组患者 Gn 使用时间、AMH 和 LH 水平比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与对照组比较, EMs 组的 Gn 使用量增加 ($P<0.05$), 见表 2。EMs 组获卵数、受精率、可用胚胎率、优质胚胎率和临床妊娠率均低于对照组 ($P<0.05$)。而 EMs 组的流产率显著高于对照组 ($P<0.01$), 见表 3。

表2 EMs组和对照组患者促排卵情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Gn用量 (U)	Gn使用时间 (d)	LH (IU/L)	AMH (ng/ml)
对照组	165	2 089.64 ± 689.24	12.67 ± 2.12	4.03 ± 2.28	5.39 ± 3.19
EMs组	65	2 717.34 ± 752.35	12.42 ± 2.54	3.99 ± 1.98	5.63 ± 2.72
t值		1.066	0.131	0.023	0.099
P值		0.047	0.902	0.983	0.926

表3 EMs组和对照组妊娠结局比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	平均获卵数 (枚)	受精率 (%)	可用胚胎率 (%)	优质胚胎率 (%)	临床妊娠率 (%)	流产率 (%)
对照组	165	18.54 ± 3.92	70.83 ± 8.23	56.64 ± 7.87	30.13 ± 4.47	54.42 ± 2.98	7.14 ± 2.86
EMs组	65	9.12 ± 3.50	50.96 ± 7.01	40.33 ± 6.12	20.71 ± 2.21	40.98 ± 5.34	20.00 ± 3.39
t值		3.105	3.183	2.834	3.272	3.800	5.022
P值		0.036	0.033	0.047	0.031	0.019	0.007

二、两组外周血和卵泡液氧化应激指标

与对照组比较, EMs 组血液和卵泡液中 SOD 活性明显降低 ($P < 0.01$), 而 ROS 的水平显著升高 ($P < 0.01$), 见表 4。

表4 两组外周血和卵泡液中氧化应激指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	外周血		卵泡液	
		SOD(U/L)	ROS	SOD(U/L)	ROS
对照组	165	19.4 ± 0.53	43.53 ± 1.36	10.20 ± 0.60	50.33 ± 1.53
EMs组	65	12.60 ± 0.59	63.67 ± 2.31	6.23 ± 0.31	70.00 ± 2.00
I~II期	36	12.49 ± 1.24	65.14 ± 1.29	5.98 ± 1.32	69.21 ± 2.13
III~IV期	29	12.24 ± 1.52	62.20 ± 2.08	6.48 ± 0.89	70.79 ± 1.54
t值		14.989	13.010	10.201	13.541
P值		0.0001	0.0002	0.0005	0.0002

讨 论

尽管临床 IVF-ET 已经取得很大进展, 但其临床妊娠结局仍不理想。尤其是 EMs 患者合并不孕患者较输卵管因素不孕 IVF-ET 妊娠结局差^[5]。目前研究显示, EMs 导致不孕主要与干扰正常排卵、卵子质量下降、阻碍正常受精及影响胚胎的正常着床和发育等方面有关^[6]。并且 EMs 还可引起卵巢功能受损、子宫内膜容受性降低、体内免疫微环境的改变等^[3]。本研究也显示, EMs 合并不孕患者与输卵管因素不孕患者相比, IVF-ET 后妊娠结局欠佳可能与以下因素有关: ① EMs 患者卵巢储备功能下降, 雌孕激素表达紊乱, 需要更多的 Gn 以保证促排卵顺利进行; ② EMs 患者卵巢对促排卵的反应能力下降, 获卵数降低; ③ EMs 患者的盆腔微环境发生改变, 卵母细胞的发育和成熟障碍, 引起受精率下降。

EMs 的发病因素复杂, 其中机体的免疫紊乱导致的 T 细胞介导的细胞毒作用减弱及某些炎症介质的增多可能与 EMs 的发病有关^[7]。研究表明卵泡液中适宜的 ROS 浓度对于保护卵母细胞和卵泡发育至关重要^[8]。低水平的抗氧化能力可能和 EMs 患者合并不孕有关^[9]。本研究显示, 与对照组相比, EMs 组外周血和卵泡液中 ROS 浓度升高, SOD 浓度降低, 表明 EMs 合并不孕患者体内存在较高的氧化应激水平和较低水平的抗氧化能力, 提示氧化应激反应和抗氧化能力的失衡可能是引起 EMs 患者不孕及 IVF-ET 结局不良的因素之一。推测 EMs 患者外周

血和卵泡微环境中较高的氧化应激水平和较低的抗氧化能力降低了卵母细胞的质量、影响了卵泡的正常发育, 干扰了正常受精, 降低了临床妊娠率; 同时, 也正是由于氧化应激水平升高和抗氧化能力降低, 胚胎生长和发育受到威胁, 优胚率降低, 导致 IVF-ET 较低的妊娠率和较高的流产率。因此, EMs 患者体内氧化应激水平失衡可能是引起妊娠结局不良的重要因素之一。本结果提示 EMs 合并不孕患者的 IVF-ET 的治疗中或许可以通过药物干预等方式改善其体内的氧化应激水平, 为 EMs 合并不孕患者 IVF-ET 获得理想的妊娠结局提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Lagana AS, La Rosa VL, Rapisarda AMC, et al. Anxiety and depression in patients with endometriosis: impact and management challenges[J]. Int J Womens Health, 2017, 9(3): 23-30. DOI: 10.2147/IJWH.S119729.
- [2] Rossi AC, Prefumo F. The effects of surgery for endometriosis on pregnancy outcomes following in vitro fertilization and embryo transfer: a systematic review and meta-analysis[J]. Arch Gynecol Obstet, 2016, 294(3): 647-655. DOI: 10.1007/s00404-016-4136-4.
- [3] Da Broi MG, Navarro PA. Oxidative stress and oocyte quality: ethiopathogenic mechanisms of minimal/mild endometriosis-related infertility[J]. Cell Tissue Res, 2016, 364 (1): 1-7. DOI: 10.1007/s00441-015-2339-9.
- [4] Mier-Cabrera J, Aburto-Soto T, Burrola-Mendez S, et al. Women with endometriosis improved their peripheral antioxidant markers after the application of a high antioxidant diet[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2009, 7: 54. DOI: 10.1186/1477-7827-7-54.
- [5] 盛青菁, 潘家坪, 滕晓明, 等. 子宫内膜异位症对体外受精-胚胎移植结果的影响[J]. 同济大学学报(医学版), 2014, 35(4): 80-84. DOI: 10.3969/j.issn1008-0392.2014.04.017.
- [6] Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, et al. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2012, 10: 49. DOI: 10.1186/1477-7827-10-49.
- [7] Vetricka V, Lagana AS, Salmeri FM, et al. Regulation of apoptotic pathways during endometriosis: from the molecular basis to the future perspectives[J]. Arch Gynecol Obstet, 2016 (5), 294: 897-904. DOI: 10.1007/s00404-016-4195-6.
- [8] Nishihara T, Matsumoto K, Hosoi Y, et al. Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in follicular fluid for human in vitro fertilization outcome[J]. Reprod Med Bio, 2018, 17 (4): 481-486. DOI: 10.1002/rmb2.12229.
- [9] Prieto L, Quesada JF, Cambero O, et al. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis[J]. Fertil Steril, 2012, 98(1): 126-130. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.052.

(收稿日期: 2019-01-30)