

· 临床研究 ·

二甲双胍与促性腺激素协同作用在体外受精 - 胚胎移植周期中的应用

李 蓉, 张 帆, 卢丽华, 郝桂琴, 钟 凯, 蔡志明
(北京大学深圳医院生殖医学中心, 广东 深圳 518036)

摘 要:【目的】探讨二甲双胍与促性腺激素协同作用在体外受精 - 胚胎移植 (IVF-ET) 周期中的临床应用。【方法】对空腹胰岛素水平正常、月经周期延长的多囊卵巢 (PCO) 助孕患者, 应用二甲双胍与促性腺激素协同作用进行超排卵治疗, 作为实验组; 自身前次 IVF-ET 治疗周期作为对照组, 总例数为 32 例。【结果】联合应用组 hCG 日 HOMA-IR 和 E_2 水平、使用促性腺激素 (G_n) 天数、使用 G_n 总量、获卵数, 流产率和卵巢过度刺激综合征 (OHSS) 的发生率均显著低于对照组; 卵子的成熟率、受精率、胚胎评分、胚胎种植率、临床妊娠率则显著高于对照组。【结论】应用二甲双胍与促性腺激素协同作用进行超排卵治疗, 可以提高 PCO 助孕患者的胚胎质量、胚胎种植率及临床妊娠率, 降低流产率和 OHSS 的发生率。

关键词: 二甲双胍; 体外受精; 胚胎移植; 多囊卵巢; 促性腺激素

中图分类号: R321.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)04-0350-04

Application of Metformin in Combination with Gonadotrophin in *In Vitro* Fertilization-Embryo Transplant(IVF-ET) Cycles

LI Rong, ZHANG Fan, LU Li-hua, HAO Gui-qing, ZHONG Kai, CAI Zhi-ming
(Reproductive Medicine Center, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518036, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the clinical application of metformin in combination with gonadotrophin in *in vitro* fertilization-embryo transplant (IVF-ET) cycles. 【Methods】Assistant reproductive patients with polycystic ovarium (PCO) who had the normal or a little higher basal insulin level and had normal or lengthened slightly menstrual cyclicity were treated by metformin plus gonadotrophin, and outcome were compared with that treated by gonadotrophin. 【Results】The indexes in the metformin plus gonadotrophin group were significantly lower than those of the control group such as the homeostasis model assessment estimate of insulin resistance (HOMA-IR) and the estradiol level on the day of human chorionic gonadotropin (hCG) administration, the number of days and total dose of gonadotrophin, the number of oocytes, the incidence of spontaneous abortion and ovarian hyperstimulating syndrome (OHSS). Other indexes such as the maturation rate of oocytes, fertilization rate, embryo quality, implantation rate and pregnancy rate in the metformin plus gonadotrophin group was significantly higher than those of the control group. 【Conclusion】The study shows that embryo quality, implantation rate, and pregnancy rate are improved, and the incidence of spontaneous abortion and OHSS are reduced for assistant reproductive patients with PCO administrating metformin plus gonadotrophin.

Key words: metformin; *in vitro* fertilization; embryo transfer; polycystic ovarium; gonadotropin

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2004, 25(4): 350 - 353]

收稿日期 2004-03-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30000180); 广东省自然科学基金(粤卫[1999]33号); 深圳市科技基金项目(A200204025)

作者简介: 李 蓉(1967-), 女, 湖北宜昌人, 博士, 副教授, 课题负责人. E-mail: LRIVF@163.com

二甲双胍治疗多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome PCOS) 的不孕患者,主要集中在胰岛素抵抗综合症和高胰岛素血症,以诱发排卵和恢复正常月经周期等方面。胰岛素抵抗是由遗传和环境因素引起,机体对胰岛素生理作用的反应性降低。主要表现为受体后部位对胰岛素的生物反应受损,即胰岛素敏感性降低。主要部位在肝脏、肌肉和脂肪组织,使糖耐量受损。对于高胰岛素血症的不孕患者,常规使用二甲双胍降低胰岛素水平,本文作者在临床实践中已经取得很好的临床疗效,而且国内外均有较多的相关报道。本文作者在应用二甲双胍的临床实践中发现,对空腹免疫反应性胰岛素水平正常、稳态模型评估胰岛素抵抗指数 (homeostasis model assessment estimate of insulin resistance, HOMA-IR) ≥ 2.7 、月经周期延长的 PCOS 患者,虽然胰岛素水平正常,但内环境稳态胰岛素评估指数提示这部分不孕患者可能存在胰岛素抵抗,因此,在体外受精-胚胎移植 (*in vitro* fertilization-embryo transplant, IVF-ET) 周期中,应用二甲双胍与促性腺激素协同作用进行超排卵治疗,可以改善其体内内分泌环境,提高卵子质量和临床妊娠率,降低流产和卵巢过度刺激综合症的发生率,本文探讨二甲双胍与促性腺激素联合应用的作用机制及临床可行性,在国内外未见相关报道。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2001年10月至2003年10月,在北京大学深圳医院生殖医学中心进行 IVF-ET 治疗的 32 例患者,年龄 25~40 (33.4 ± 2.3) 岁,IVF 的指征主要是男性因素或输卵管因素不育,并满足下列条件:①第一次外院或本院 IVF 治疗时间距本次 IVF 治疗时间超过半年;②第一次外院或本院 IVF 周期获卵数大于 15 个,并且发生中-重度卵巢过度刺激综合症 (ovarian hyperstimulating syndrome, OHSS);③稳态模型评估胰岛素抵抗指数 (homeostasis model assessment estimate of insulin resistance, HOMA-IR) ≥ 2.7 ;④月经第 3~5 天超声检查单侧或双侧卵巢可见多个小卵泡 (单侧卵巢可见 8~10 个直径小于 10 mm 的小卵泡);月经周期 35~45 d。IVF 结局随

访由分诊护士完成。

1.2 方法

1.2.1 联合应用组 月经第 5 天开始服用二甲双胍 (格华止,上海施贵宝公司生产) 250 mg/d, B 超监测卵泡发育,排卵后 1 周使用长效促性腺激素释放激素-激动剂 (gonadotrophin releasing hormone, GnRH-a) 抑那通 (日本 Abott 公司生产) 或达菲林 (法国 Pharma Biotech 药厂生产) 1.875 mg 深部肌内注射,下次月经第 3~5 天,根据血清雌二醇 (estradiol E_2) 和促卵泡生成素 (follicle stimulating hormone, FSH) 水平、子宫内膜厚度以及既往助孕史,开始使用 FSH (果纳芬,瑞士雪兰诺公司生产) 75~150 IU/d, B 超和测定血清 FSH、黄体生成素 (luteinizing hormone, LH)、 E_2 、孕酮 (progesterone, P) 水平以监测卵泡发育;当主导卵泡直径达 18~20 mm 时,肌内注射人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG) (Profasi, 瑞士雪兰诺公司生产) 5 000~10 000 IU, 36 h 后取卵, 2~3 d 后 ET。黄体支持使用黄体酮 20~60 mg 肌内注射,每天 1 次。ET 后 2 周做尿妊娠试验,孕 6~7 周 B 超了解妊娠情况,二甲双胍使用直到妊娠 6 周停药。

1.2.2 对照组 上述助孕患者前次 IVF 治疗周期作为自身对照,未使用二甲双胍,其余相同。

1.3 评价指标

HOMA-IR { [空腹免疫反应性胰岛素 (mIU/L) \times 空腹血糖 (mol/L) - 3.5] \div 22.5 }、获卵数、卵子成熟率、受精率、卵裂率、胚胎评分、临床妊娠率、胚胎种植率、流产率和 OHSS 发生率。

1.4 统计学分析

应用 SPSS10.0 进行 t 检验。

2 结果

联合应用组与对照组的空腹免疫反应性胰岛素水平和空腹血糖水平没有显著的统计学差异。联合应用组 hCG 日 HOMA-IR 和 E_2 水平、使用 Gn 天数、使用 Gn 总量和获卵数显著低于对照组,卵子的成熟率、受精率、胚胎种植率、临床妊娠率显著高于对照组,而流产率和 OHSS 的发生率显著降低,两组患者的胚胎体外培养时间和移植胚胎数没有显著差别 (表 1)。

表 1 两组 IVF-ET 周期各项指标结果比较

Table 1 Main clinical characteristics of subject before and after metformin treatment

	Metformin + Gonadotrophin	Gonadotrophin	P
Age (years)	33.4 ± 2.3	34.4 ± 2.6	NS
Duration of infertility (years)	5.4 ± 0.6	6.2 ± 0.8	NS
Fasting insulin (mIU/L)	14.0 ± 5.5	13.6 ± 4.9	NS
Fasting Glucose (mol/L)	5.0 ± 0.7	4.8 ± 0.8	NS
Basal HOMA-IR	4.1 ± 0.5	3.9 ± 0.4	NS
HOMA-IR on the day of hCG	2.7 ± 0.5	4.5 ± 0.6	< 0.05
E ₂ on the days of hCG (pmol/mL)	9 053 ± 2 318	11 577 ± 3 717	< 0.05
Total No. of Gn (Amp)	26.7 ± 9.9	34.0 ± 5.7	< 0.05
Duration of stimulation (days)	13.7 ± 3.8	17.0 ± 5.7	< 0.05
Total No. of oocyte	14 ± 7.6	19.4 ± 8.2	< 0.05
Maturation rate (%)	89.8	68.2	< 0.05
Fertilization rate (%)	88.5	70.4	< 0.05
Cleavage rate (%)	95.3	90.6	NS
Duration of <i>in vitro</i> culture (days)	2.7 ± 0.5	2.5 ± 0.3	NS
Total No. of embryo transfer	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.3	NS
Embryo quality	5.1 ± 0.9	4.1 ± 0.9	< 0.05
Transfer embryo quality	5.6 ± 0.5	4.5 ± 1.4	NS
Pregnance cases	23	9	< 0.05
Pregnance rate (%)	71.9	28.1	< 0.05
Implantation rate (%)	36.2	14.6	< 0.05
OHSS cases	3	6	< 0.05
OHSS incidence (%)	9.3	18.7	< 0.05
Abortion cases	2	5	< 0.05
Abortion rate (%)	6.3	15.6	< 0.05

HOMA-IR: homeostasis model assessment estimate of insulin resistances; hCG: human chorionic gonadotrophin; Gn: gonadotrophin; OHSS: ovarian hyperstimulating syndrome

3 讨论

3.1 胰岛素与卵巢功能的关系

胰岛素与卵巢功能的关系可以通过以下几点说明: ①胰岛素通过胰岛素样生长因子-1受体刺激卵巢分泌雌激素、雄激素及孕酮; ②胰岛素能够抑制肝脏分泌性激素结合蛋白,降低体内肝脏分泌性激素结合蛋白水平,使体内性激素水平升高; ③胰岛素抑制肝脏合成胰岛素样生长因子结合蛋白-1,降低体内胰岛素样生长因子结合蛋白-1水平,使体内胰岛素样生长因子-1水平升高; ④刺激卵巢多度分泌相关激素; ⑤同Gn相互作用抑制卵泡的凋亡; ⑥上调胰岛素样生长因子-1受体。因此,对于胰岛素抵抗的患者,有可能对卵巢局部产生过渡刺激的可能,已经有学者提出,PCO的发病机理可能是由于在卵泡发育过程中,卵泡过渡募集而又无法选择一个优势卵泡的结果,因此,改善卵巢

局部环境,将有利于卵泡的正常发育。

3.2 二甲双胍的作用机理

目前普遍认为,胰岛素抵抗是胰岛素受体下游缺陷、受体数目或活性异常所致,即β亚基酪氨酸磷酸化降低而丝氨酸磷酸化增加。正常时,胰岛素与靶细胞膜上的受体特异性结合,激活受体β亚单位上的酪氨酸,使其磷酸化,导致胞质内酪氨酸激酶活性上升,生物信号得以转导和放大,产生一系列生物效应。而胰岛素抵抗时,丝氨酸磷酸化的增加改变了肾上腺和卵巢类固醇生成细胞的CYP17活性,使局部环境卵巢激素水平紊乱,二甲双胍通过降低CYP17的活性而使改善卵巢局部过渡刺激的状态^[1];另外有学者发现,人卵巢膜细胞产生的肿瘤细胞的体外培养实验中,二甲双胍对卵巢膜细胞的功能具有直接的抑制作用^[2];临床安慰剂对照研究发现,二甲双胍治疗后性激素结合蛋白水平增加,LH和游离睾酮降低^[3]。二甲双胍在餐后提高肌肉对葡萄糖利用的同时,却不会引起胰岛素分泌的

增加。

3.3 二甲双胍与促性腺激素联合作用机理

本研究将二甲双胍与促性腺激素联合使用, HOMA-IR 指数降低, 表明其作用机理是通过增加胰岛素的敏感性, 降低局部环境的胰岛素水平, 使得局部环境的胰岛素水平维持在正常水平, 从而减少对卵巢的过度刺激作用, 减少募集的卵泡数, 因此, hCG 日 E_2 水平、使用 G_n 天数、使用 G_n 总量和获卵数、OHSS 发生率、流产率均显著低于对照组。

De Leo 将克罗米酚抵抗的 PCOS 患者分为仅给予 FSH 组和 FSH-二甲双胍联合治疗组, 结果显示诱发卵巢反应所需的每日最低剂量是相似的; 但仅用 FSH 组的 E_2 水平、卵泡数显著高于二者联合治疗组, 且 31% 周期由于卵泡数过多而被取消, 二者联合治疗组则无取消周期^[4]。其它研究表明, 二甲双胍与 FSH 联合应用可降低小卵泡的数量, 卵子成熟率、受精率、卵裂率及妊娠率却明显提高; 同时, 卵泡液中胰岛素样生长因子、胰岛素和睾酮水平均有改善, 提示二甲双胍与促性腺激素联合使用可达到协同效果^[5]。本研究将二甲双胍与促性腺激素联合应用于 PCO 的助孕技术, 结果显示, 联合应用组 hCG 日 E_2 水平、使用 G_n 天数、使用 G_n 总量和获卵数、OHSS 发生率、流产率均显著低于对照组, 而卵子成熟率、受精率、胚胎整体评分、临床妊娠率、胚胎种植率均显著高于对照组, 说明二甲双胍与促性腺激素协同作用, 可以减少被募集的卵泡数, 从而降低了 E_2 水平, 减少了 OHSS 的发生率, 使卵泡发生、优势卵泡的发育和小卵泡的闭锁趋于正常, 从而提高卵子及胚胎质量, 提高临床妊娠率和胚胎种植率, 二甲双胍通过降低卵泡液和血清睾酮及胰岛素水平而改善了卵巢内环境。

纤溶酶原激活抑制因子-1 可抑制纤溶酶原激活物激活纤维蛋白溶酶, 抑制纤维蛋白溶解。其水平增高是早期自然流产的一个可逆的非依赖性危险因素。体内外研究显示纤溶酶原激活抑制因子-1 增高可能是 PCO 人群较易流产的致病机制^[6,7]。本研究联合应用组与对照组的流产率存在显著性差异, 可能与纤溶酶原激活抑制因子-1 降低有关, 本

文作者正在进行关于纤溶酶原激活抑制因子-1 与妊娠流产的相关性研究。

3.4 妊娠期使用二甲双胍的安全性

文献报道, 妊娠期使用二甲双胍对胚胎没有致畸作用, 因此, 对空腹免疫反应性胰岛素水平正常、月经周期延长的多囊卵巢助孕患者, 应用二甲双胍可以提高胰岛素的敏感性, 提高体外受精周期中的胚胎质量、临床妊娠率及胚胎种植率, 降低流产率和 OHSS 的发生率, 作者提倡将胰岛素增敏剂应用于 PCO 助孕患者。

参考文献:

- [1] Wood J R, Nelson V L, Ho C, *et al.* The molecular phenotype of polycystic ovary syndrome (PCOS) theca cells and new candidate PCOS genes defined by microarray analysis[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(29): 26380-90.
- [2] Dunaif A. Hyperandrogenism is necessary but not sufficient for polycystic ovary syndrome[J]. *Fertil Steril*, 2003, 80(2): 262-3.
- [3] Gambineri A, Pelusi C, Genghini S, *et al.* Effect of flutamide and metformin administered alone or in combination in dieting obese women with polycystic ovary syndrome[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2004, 60(2): 241-9.
- [4] De Leo V, La Marca A. Metformin and FSH for induction of ovulation in women with polycystic ovarian syndrome[J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(9): 2481-2.
- [5] Xiao K W, Shan Y Z, Jin X L, *et al.* Selective ovary resistance to insulin signaling in women with polycystic ovary syndrome[J]. *Fertil Steril*, 2003, 80(4): 954-65.
- [6] Glueck C J, Wang P, Goldenberg N, *et al.* Pregnancy outcomes among women with polycystic ovary syndrome treated with metformin[J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(11): 2858-64.
- [7] 蔡坚, 黄顺英, 钟依平, 等. 体外受精-胚胎移植后妊娠早产的相关因素分析[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2004, 25(2): 150-2.

(编辑 张恩健)