

布舍瑞林(Buserelin)在体外受精中应用 及对排卵前卵泡液类固醇的影响

庄广伦 顾正田 周灿权

(附属第一医院妇产科)

提 要 从外周血及卵泡液中的激素水平评估两种不同超排卵方案在体外受精与胚胎移植中的作用。采用枸橼酸氯米酚胺(枸橼酸克罗米芬, clomiphene citrate, CC)、人更年期促性腺激素(HMG)、人绒毛膜促性腺激素(hCG)进行联合(CHh)超排卵13例, 采用促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)的制剂布舍瑞林(buserelin)结合HMG/hCG(BHh)者11例。过早LH峰发生率CHh组为3/13, BHh组为0/11。BHh组妊娠4例, CHh组1例。卵泡液中黄体酮(P)及雌二醇(E₂)浓度, P/E₂比值BHh组均低于CHh组。P/E₂比值在一定范围内对卵子受精有利。

关键词 体外受精与胚胎移植; 布舍瑞林(buserelin); 超排卵; 卵泡液

中图分类号 R 711.6

1987年Neveu首次应用促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)的制剂布舍瑞林(buserelin)在体外受精与胚胎移植(IVF/ET)中超排卵治疗周期^[1]。随后许多文章^[2,3]报道了在IVF/ET超排卵中使用布舍瑞林结合HMG/hCG与传统超排卵方案(CC/HMG/hCG)相比能有效抑制内源性LH峰, 改善卵子质量, 提高妊娠率, 减少取消周期。本研究目的主要探讨布舍瑞林在IVF/ET中如何改善超排卵周期以及了解其对卵泡微环境中尤其是排卵前卵泡液类固醇浓度的影响, 从而研究布舍瑞林对改善卵子质量, 提高妊娠率的关系。

材 料 与 方 法

研究对象 自1991年10月~1992年2月收集本院行IVF/ET的不育病者共24例, 月经周期正常, 平均为29d(26~32d), 经腹腔镜检查或输卵管碘油造影确诊输卵管阻塞20例(病者配偶无精者1例), 原因不明不育2例, 子宫内膜异位症2例。

研究方法

1. 卵巢刺激超排卵与卵泡发育监测 按

不同刺激方案随机分两组, CHh组13例, 采用传统的CC/HMG/hCG方案, 具体用法及卵泡发育监测按以前发表文章^[4]所描述。BHh组11例, 于前次月经周期第21天(黄体中期)开始使用布舍瑞林(商品名Superfact, 为Hochest产品)喷鼻, 每隔8h1次, 每次3喷, 每日剂量为0.9mg, 于月经周期第5天开始肌注HMG(商品名Pergonal, 为Serono产品)150IU/d, 肌注hCG标准同CHh组, 剂量为10000IU, 同时停喷布舍瑞林, 34~36hB超指导下经阴道取卵。

2. 取卵、体外授精及胚胎移植操作 如前^[4]所述。BHh组于胚胎移植后第1天及第4天肌注hCG2000IU作黄体期支持。

标本收集

1. 血标本收集 CHh组分别于服clomiphene前、月经周期第5天、hCG注射前各抽血1次。BHh组分别于喷鼻前抽血1次, 喷鼻后第2天开始每天抽血1次, 连续4次。以后月经来潮第1天、第5天及肌注hCG前各抽血1次。上述血标本离心后血清置-20℃保存待检。

2. 卵泡液收集 两组共收集91份。所

收集的卵泡液为草黄澄清, 含一个成熟卵(Ⅲ级)或近成熟卵(Ⅱ⁺级)。凡血性、无卵或含有双卵以上的卵泡液、卵泡液容积小于2 ml、或使用Hepes液冲洗的卵泡液均不收集分析。卵泡液离心后, 上清液置-20℃保存待检。

3. 放免分析 血标本测定黄体生成素(LH)、促卵泡成熟素(FSH)、雌二醇(E₂)、黄体酮(P), 卵泡液测定E₂、P和雌烯二酮(A)。卵泡液用磷酸盐缓冲液稀释, E₂、P、A稀释度分别为1/1 000、1/100、1/10, 稀释

后与抑制曲线上标准品平行。E₂、P放免药盒采用天津金马科技开发公司生产产品, LH、FSH、A由天津DPC公司提供, 各项质检符合要求。

统计学处理 采用成组比较的 t 检验, χ^2 检验及等级相关分析。

结果与分析

两种超排卵方案病例临床情况 CHh组和BHh组两种超排卵方案临床检测结果见表1。

表1 两种超排卵方案病例临床情况

	CHh组(n=13)	BHh组(n=11)	P
年龄(岁)	31.8±3.8(25~36)	31.7±5.3(26~43)	>0.05
不育时间(a)	6.7±3.4(2~11)	5.6±3.3(2~12)	>0.05
不育原因			
输卵管性不育	11	9	
不明原因不育	1	1	
子宫内膜异位症	1	1	
Gn用量(支)	13.6±3.0	18.0±3.9	<0.01
Gn疗程(d)	6.7±1.4	8.8±1.8	<0.01
hCG注射前LH峰(例)	3	0	
穿刺卵泡(个)	182	152	
回收卵子(个)	110	111	
获得卵子/卵泡(%)	60.44	73.02	<0.025
获得卵子(个)/周期	8.46	10.09	
受精率(%)	72.7	85.5	<0.025
卵裂率(%)	56.3	77.5	<0.005
妊娠(例)	1	4	

两组的年龄, 不育时间无明显差异。不育原因以输卵管性为多见。BHh组促性腺激素(Gn)用量及用药疗程均较CHh组量多及长($P<0.01$)。CHh组3例出现过早LH峰, 而BHh组无1例出现。BHh组卵子回收、卵子受精率、卵裂率均较CHh组高。BHh组妊娠4例, 而CHh组仅1例妊娠。

布舍瑞林对垂体及卵巢的影响 布舍瑞林喷鼻给药后, 垂体促性腺激素产生一个急速释放, 第2天达高峰, 尤以LH值最为明显, FSH轻度升高, 以后逐渐下降, 到hCG注射前LH

值处于一个低水平。外周血卵巢分泌的E₂也在第2天略为上升, 然后逐渐下降, 在月经来潮

表2 两种超排卵方案在注射hCG前血清LH、FSH、E₂、P水平

	CHh组	BHh组	P
LH(U/L)	22.86±20.17	7.34±2.26	<0.05
FSH(U/L)	23.82±6.37	23.52±6.51	>0.05
E ₂ (ng/L)	167.53±61.35	174.98±71.51	>0.05
P(μg/L)	3.45±2.42	2.00±0.60	>0.05

处于低水平, 黄体酮水平呈进行性下降, 以后随着卵泡的发育, E_2 水平逐渐上升, 而P浓度持续低水平状态。两种超排卵方案在注射 hCG 前血清 LH、FSH、 E_2 、P 的水平比较见表

2。

两种超排卵方案对排卵前卵泡液类固醇浓度的影响 两种超排卵方案的排卵前卵泡液类固醇浓度比较见表 3。

表 3 两种超排卵方案的排卵前卵泡液类固醇浓度比较

	CHh组	n	BHh 组	n	P
$E_2(\mu\text{g/L})$	83.41 ± 41.70	46	65.0 ± 17.3	45	<0.02
P($\mu\text{g/L}$)	$3\,044.9 \pm 1547.5$	46	$2\,237.9 \pm 715.9$	45	<0.005
A($\mu\text{g/L}$)	54.96 ± 28.94	35	52.79 ± 25.48	40	>0.05
P/ E_2	44.0 ± 33.8	40	30.2 ± 12.3	45	<0.02

BHh 组, 卵泡液 E_2 、P 浓度、P/ E_2 比值均较 CHh 组低, A 浓度二组无明显差异。

对受精卵子所在的卵泡液类固醇分析, BHh 组的 P、 E_2 浓度及 P/ E_2 比值仍较 CHh 组低。进一步分析卵子受精率与卵泡液中 P、 E_2 浓度及 P/ E_2 比值关系, 作等级相关分析, 受精率与 P、 E_2 浓度无明显相关, 而与 P/ E_2 比值成正相关, 而这种正相关以 P/ E_2 比值在 10~50 范围为显著。

讨 论

布舍瑞林是人工合成 GnRH-a 的一种制剂, 它的效能较天然的 GnRH 增加 100 倍, 半衰期为 70~80min, 持续给药造成药物性去垂体状态, 使垂体分泌促性腺激素处于低水平, 在 IVF 超排卵的应用中可以达到抑制内源性 LH 峰对卵子质量的影响。本观察结果显示开始使用布舍瑞林短时间引起 LH、FSH 释放, 第 2 天达高峰, FSH 轻度升高, 尤以 LH 值升高明显, 以后二者逐渐下降, LH 值一直处于低水平, 这完全与文献报道一致。

超排卵时 BHh 组所需外源性 Gn 剂量较 CHh 组增加 30%, 且给药时间长, 这可能由于布舍瑞林抑制颗粒细胞表面 FSH/LH 受体形成, 同时布舍瑞林还引起垂体产生 FSH 拮抗剂^[5], 阻碍 Gn 的作用, 在内源性 Gn 低水平状态下, 要达到相似程度的卵泡成熟, 则需要更多量的外源性 Gn 及更长的给药时间。

本研究应用布舍瑞林超排卵, B 超监测发现卵泡大小均匀, 发育同步, 降低了不成熟卵子数目, 因而提高了卵子回收。卵子受精率及卵裂率在 BHh 组均较 CHh 组高, 这除了布舍瑞林抑制内源性 LH 峰发生外, 可能与超排卵时间延长, 使卵细胞的细胞浆和细胞核充分成熟有关。

BHh 组排卵前卵泡液 P、 E_2 浓度及 P/ E_2 比值均较 CHh 组低, 进一步分析受精卵的卵泡液 P、 E_2 浓度及 P/ E_2 比值, BHh 组仍较 CHh 组低。Basuray^[6]等最早对 CC/HMG/hCG 超排卵周期排卵前卵泡液研究已发现卵子所在的卵泡液含有高浓度 P 及 P/ E_2 比值高, 其体外受精率高, 妊娠率也高。David^[7]则认为卵泡液中 E_2 浓度高, 卵子受精及妊娠率高, 因而认为卵泡液中高浓度 E_2 、P 及 P/ E_2 比值可以预测体外授精成功。本研究结果表明布舍瑞林作用下, 卵子受精能力并不与高浓度 E_2 、P 有关, 而能在相对低浓度 P、 E_2 和 P/ E_2 比值下, 卵子仍然能够成熟并受精。高浓度的 E_2 和 P 只仅仅反应卵泡和颗粒细胞的成熟而不是卵子成熟。

两组卵泡液 P、 E_2 浓度及 P/ E_2 比值与受精率作等级相关分析结果表明, P 和 E_2 浓度与卵子受精率无明显相关关系, 而 P/ E_2 比值则与卵子受精率成明显相关关系, P/ E_2 比值在 10~50 范围内, 卵子受精率明显升高, 大于 50 以上表明卵子老化, 会产生异常受精或即使正

常受精, 受精卵裂差, 胚胎质量差, 导致种植失败。

现有报道卵泡内自分泌及旁分泌调节因子: 卵母细胞成熟抑制因子 (OMI)、凝乳酶原 (PR)^[8]和抑制素 (inhibin)^[9]也参与卵泡生长调节。因此, 卵泡液中类固醇浓度不是决定卵子质量的唯一因素, 布舍瑞林是否也通过改变上述因子而提高卵子质量, 有待进一步研究。

参 考 文 献

1. Neveu S, et al. Ovarian stimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1987;47:639
2. Kathleen D, et al. Value of suppression with a gonadotropin-releasing hormone agonist prior to gonadotropin stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1989; 51:292
3. Ziegler D, et al. Suppression of the ovary using a gonadotropin-releasing hormone agonist prior to stimulation for oocyte retrieval. *Fertil Steril* 1987;48:807
4. 庄广伦, 等. 人类体外受精与胚胎移植. 中山医科大学学报 1991;12(4):299
5. Dahl P, et al. Naturally occurring antihormones: secretion of FSH antagonists by women treated with a GnRH analog. *Science* 1988;72:239
6. Basuray G, et al. High progesterone/estradiol ratio in follicular fluid at oocyte aspiration for in vitro fertilization as a predictor of possible pregnancy. *Fertil Steril* 1988;49:1007
7. David B, et al. Early pituitary desensitization and ovarian suppression with leuprolide acetate is associated with in vitro fertilization-embryo transfer success. *Fertil Steril* 1991;56:500
8. Itskovitz S, et al. Relationship of follicular fluid progrenin to oocyte maturation, steroid levels and outcome of in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72:165
9. Marrs RP, et al. Correlation of human follicular fluid inhibin activity with spontaneous and induced follicle maturation. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58:704

(1992-08-10收稿 1993-01-30修回)

THE AVAILABILITY OF BUSERELIN ON IN VITRO FERTILIZATION PROGRAMME AND ITS EFFECTS OF STEROID CONCENTRATIONS IN PREOVULATORY FOLLICULAR FLUID

Zhuang Guanglun Gu Zhengtian Zhou Canquan

(Department of Obstetrics and Gynaecology, First Affiliated Hospital)

The effects of two protocols of controlled ovarian hyperstimulation were assessed with the changes of hormones of peripheral blood and follicular fluid in an in vitro fertilization and embryo transfer. Thirteen women used CC-HMG-hCG (CHh protocol), the remaining 11 women were given one of agents of gonadotropin-releasing hormone agonist, Buserelin with HMG-hCG (BHh protocol). Incidence of premature LH surge was 3/13 in CHh, while 0/11 in BHh. The rates of oocyte retrieval and fertilization and cleavage were higher in BHh than in CHh ($P < 0.005$). There were four pregnancies in BHh, only one in CHh. The means follicular fluid (FF) concentrations of estradiol (E_2) and progesterone (P) were significantly lower in BHh than in CHh ($P < 0.05$) as were FF P/ E_2 ratio ($P < 0.05$). FF P/ E_2 ratio had the benefit on oocyte fertilization in a limiting ranges.

Key words in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET); buserelin; follicular fluid; controlled ovarian hyperstimulation