

血清 25-(OH) D₃ 水平对卵巢反应性及冻融胚胎移植临床结局的影响

尹佳倩^{1,2,3}, 许孝凤^{1,2,3}, 张雅梦^{1,2,3}, 邹慧娟^{1,2,3}, 曹云霞^{1,2,3}

摘要 探讨血清 25 羟维生素 D [25-(OH) D₃] 水平对卵巢反应性及冻融周期胚胎移植 (FET) 妊娠结局的影响。选取行 FET 共 157 例患者作为研究对象, 根据患者行体外受精-胚胎移植治疗前血清 25-(OH) D₃ 水平, 分为 <20 μg/L 组和 ≥20 μg/L 组; 比较 2 组的促排卵过程中卵巢反应性及妊娠结局。25-(OH) D₃ ≥20 μg/L 组的临床妊娠率显著高于 <20 μg/L 组 (64.3% vs 45.5% $P < 0.05$); 2 组患者获卵数、M II 数、受精率、促性腺激素 (Gn) 总量、Gn 总天数、优质胚胎率、绒毛膜促性腺激素 (HCG) 日 E₂ 值差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。血清低水平 25-(OH) D₃ 与卵巢反应性无相关性, 但与妊娠率的下降有一定相关性。

关键词 体外受精-胚胎移植技术; 血清 25-(OH) D₃

中图分类号 R 714.8

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)04-0644-03

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.04.031

维生素 D (vitamin D, VitD) 在人体内可促进钙磷吸收和骨盐代谢, 调节细胞增殖分化, 改善胰岛素抵抗, 调节细胞免疫, 并可通过影响卵巢功能和增强子宫内膜容受性影响女性的内分泌功能以及生殖过

程^[1]。人体内的 VitD 主要来源于皮肤光照, 少部分来源于胃肠道吸收。VitD 吸收入血后, 与 VitD 结合蛋白结合转运至肝脏, 在肝脏内经 25 羟化酶转化成 25 羟维生素 D₃ [25-(OH) D₃] , 是血液循环中 VitD 的主要存在形式^[2], 也是诊断体内 VitD 是否不足的可靠指标。有研究^[3-6]显示, 由于女性户外活动的减少, 缺少光照, 部分女性 VitD 缺乏, 并且低水平的 VitD 对卵泡发育、子宫内膜容受性均有负面影响。但 VitD 水平与体外受精-胚胎移植 (in vitro fertilization and embryos transfer, IVF) 结局相关性的报道尚少, 该研究旨在探讨血清 25-(OH) D₃ 水平对不孕患者卵子质量及冻融胚胎移植 (frozen-thawed embryo transfer, FET) 临床结局的影响。

1 材料与方法

1.1 病例资料 回顾性分析 2017 年 6~12 月在安徽医科大学第一附属医院生殖中心因单纯输卵管因素行 IVF 治疗并在复苏周期移植优质囊胚的 157 例患者临床资料。患者年龄 26~34 (29.9 ± 3.97) 岁, 均签署知情同意书, 并于 IVF 治疗前 1 个月经周期检测血清 25-(OH) D₃ 水平, 根据最新 WHO 标准^[7], 分为 VitD 不足组 (<20 μg/L), 共 101 例; VitD 充足组 (≥20 μg/L), 共 56 例。排除标准: ① 男方因素就诊; ② 女方多囊卵巢综合征、糖尿病、甲状腺功能异常等内分泌疾病; ③ 子宫内膜异位症; ④ 生殖道畸形及宫颈异常。

1.2 研究方法

1.2.1 VitD 测定 IVF 治疗前 1 个月经周期留取患者静脉血 5 ml, 采用化学发光法测定血清 25-

2019-11-14 接收

基金项目: 国家重点研发计划项目 (编号: 2016YFC1000204)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院妇产科生殖医学中心, 合肥 230022

² 安徽医科大学生殖健康与遗传安徽省重点实验室, 合肥 230022

³ 安徽省生命资源保存与人工器官工程技术研究中心, 合肥 230022

作者简介: 尹佳倩, 女, 硕士研究生;

曹云霞, 女, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: caoyunxia6@126.com

analysis. The main pathways are metabolic pathway and complement coagulation cascades, the key proteins are divided into the following three kinds according to their different functions: ① regulating the glaucoma optic ganglion cells: HGFA; ② oxidative stress related: glutathione peroxidase 3, SOD, Peroxiredoxin-2; ③ immune response related: C4, C4BP. These differential proteins provide new plasma markers for clinical diagnosis. It helps us to understand the pathological mechanism of primary angle closure glaucoma and provides a new idea for clinical diagnosis.

Key words CPACG; iTRAQ; LC-MS/MS; proteomics

(OH) D₃ 水平。

1.2.2 超促排卵及 IVF 所有患者均于前 1 个月经周期黄体中期皮下注射长效促性腺激素释放激素激动剂(达菲林,法国益普生公司) 1.33 mg 进行垂体降调节 2 周后采用卵泡刺激素(普丽康,美国默沙东公司)促排卵,当 3 个卵泡直径达到 18 mm 时肌肉注射人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG, 丽珠医药集团股份有限公司) 10 000 U。36 h 后在阴道 B 超引导下穿刺取卵,体外培养 4 h 左右加精,受精后 14~20 h 观察到原核为正常受精,选择 5 d 或 6 d 可冷冻的囊胚行玻璃化冷冻保存。由于新鲜周期胚胎移植对患者的获卵数、HCG、注射日孕酮值及内膜厚度等具有一定要求,同时随着冷冻技术的发展,复苏周期相比与新鲜周期移植具有更好的临床结局^[8],因此本研究中所有患者为复苏周期行冻融囊胚移植。

1.2.3 胚胎质量评估 按 Gardner 标准进行囊胚评分^[9],将 3 期含 A 级不含 B、C 级的囊胚 4、5、6 期不含 C 级的囊胚定义为优质囊胚。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两独立样本 *t* 检验进行组间比较;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者一般资料比较 由表 1 可见 2 组间患者年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、不孕年限、基础促卵泡生成激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、基础促黄体生成激素(luteinizing hormone, LH)、基础雌二醇(estradiol, E₂)水平、基础窦卵数差异均无统计学意义。

表 1 两组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

项目	VitD 不足组 (<i>n</i> = 101)	VitD 充足组 (<i>n</i> = 56)	<i>P</i> 值	<i>t</i> / χ^2 值
年龄(岁)	29.74 ± 4.113	30.07 ± 3.765	0.621	-0.496
BMI(kg/m ²)	22.26 ± 3.20	22.05 ± 3.12	0.692	0.397
不孕年限(年)	3.40 ± 2.24	3.02 ± 1.67	0.269	1.109
LH(IU/L)	5.28 ± 3.28	5.23 ± 3.00	0.925	0.094
E ₂ (IU/L)	163.22 ± 100.28	210.00 ± 247.96	0.097	-1.669
FSH(IU/L)	7.66 ± 2.05	7.72 ± 2.29	0.867	-0.168
基础窦卵数(个)	6.84 ± 2.28	7.24 ± 2.73	0.329	-0.980

2.2 2 组 IVF-ET 临床结局比较 由表 2 可见 2 组间获卵数、M II 数、受精率、Gn 总量、促排天数、优

质胚胎数、移植胚胎数、移植日子宫内膜厚度、HCG 日 E₂ 值均无统计学差异($P > 0.05$); VitD 充足组的临床妊娠率(64.2%)显著高于 VitD 不足组(45.5%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 两组患者临床结局比较($\bar{x} \pm s$)

项目	VitD 不足组(<i>n</i> = 101)	VitD 充足组(<i>n</i> = 56)	<i>P</i> 值	<i>t</i> / χ^2 值
HCG 日 E ₂ (IU/L)	14 440.91 ± 4 687.89	13 387.73 ± 4 831.92	0.184	1.334
获卵数(个)	15.53 ± 6.54	14.63 ± 7.39	0.432	0.788
M II 卵数(个)	13.38 ± 6.20	12.96 ± 6.81	0.696	0.392
优质胚胎数(个)	4.49 ± 3.72	4.75 ± 3.76	0.677	-0.418
Gn 天数(d)	11.62 ± 1.90	11.68 ± 2.79	0.873	-0.160
Gn 总量(U)	2 357.16 ± 786.66	2 296.43 ± 863.43	0.655	0.447
受精率(%)	0.88 ± 0.18	0.86 ± 0.17	0.964	0.045
移植胚胎数(个)	1.46 ± 1.09	1.46 ± 0.50	0.994	0.008
移植日子宫内膜厚度(mm)	10.65 ± 1.49	10.63 ± 1.36	0.934	0.083
临床妊娠率[<i>n</i> (%)]	46(45.5)	36(64.2)*	0.024	5.071

与 VitD 不足组比较: * $P < 0.05$

3 讨论

动物实验表明,缺乏 VitD 会导致小鼠子宫发育不全以及黄体功能不足,缺乏 VitD 与 IVF 妊娠率下降有一定相关性^[10]。本研究的结果显示, VitD 不足组的获卵数、M II 数、受精率、Gn 总量、促排天数、优质胚胎率与 Vit D 充足组间均无显著性差异,但 FET 的临床妊娠率显著低于 Vit D 充足组,表明 VitD 不足并不会影响卵巢的反应性及卵子质量,但对临床妊娠率有负面影响。此外,本研究 157 例不孕症患者中, VitD 不足患者占 64.3%,提示 VitD 缺乏在不孕患者中普遍存在。不孕患者就诊时有必要将检测血清 VitD 水平作为常规检查,并对 VitD 不足患者在胚胎移植前给予 VitD 补充以改善其临床结局。

充足 VitD 水平可改善妊娠率的机制可能与其能够提高子宫内膜容受性有关。有研究^[11]显示, 25-(OH) D₃ 可通过与 VitD 受体结合增加 HOXA₁₀ 的 mRNA 转录和蛋白表达,改善子宫内膜容受性,并通过刺激卵巢内胰岛素样生长因子结合蛋白-1 的分泌,改善黄体功能^[12]。此外, VitD 可抑制 Th1 细胞的增殖,限制其产生杀伤性细胞因子如干扰素、白细胞介素-2 和肿瘤坏死因子-α 等,并诱导 T 辅助细胞 2 产生大量维持免疫耐受的细胞因子如 IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10 和 IL-13,维持 TH1/TH2 间的平衡,提高胚胎着床率^[13]。

综上所述,不孕患者大部分存在 VitD 不足的问题,血清低水平 VitD 可能与妊娠率下降有关。

参考文献

- [1] Masri O A ,Chalhoub J M ,Sharara A I. Role of vitamins in gastro-intestinal diseases [J]. *World J Gastroenterol* , 2015 ,21 (17) : 5191 – 209.
- [2] Fernández-Barral A , Costales-Carrera A , Buira S P , et al. Vitamin D differentially regulates colon stem cells in patient-derived normal and tumor organoids [J]. *FEBS J* , 2020 ,287 (1) : 53 – 72.
- [3] 李 雪 ,吴记平 ,黄土艺 ,等. 东莞地区体检人群维生素 D 营养状态及影响因素 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志* , 2018 ,11 (2) : 131 – 5
- [4] 袁雪梅 ,金 莹. 维生素 D 在人类生殖中的研究现状 [J]. *中国计划生育学杂志* , 2019 ,27 (5) : 676 – 9.
- [5] Paffoni A ,Ferrari S ,Viganò P , et al. Vitamin D deficiency and infertility: insights from in vitro fertilization cycles [J]. *J Clin Endocrinol Metab* , 2014 ,99 (11) : E2372 – 6.
- [6] Merhi Z ,Doswell A ,Krebs K , et al. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells [J]. *J Clin Endocrinol Metab* , 2014 , 99 (6) : E1137 – 45.
- [7] WHO Scientific Group on the Prevention and Management of Osteoporosis. Prevention and management of osteoporosis: report of a WHO scientific group [S]. Geneva: World Health Organization , 2003.
- [8] Slomski A. Similar IVF birth rates for frozen and fresh embryos [J]. *JAMA* , 2018 ,319 (12) : 1190.
- [9] Gardner D K ,Lane M ,Stevens J , et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer [J]. *Fertil Steril* , 2000 ,73 (6) : 1155 – 8.
- [10] Lerchbaum E ,Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility: a systematic review [J]. *Eur J Endocrinol* , 2012 ,166 (5) : 765 – 78.
- [11] 苏贞文 ,姚吉龙 ,姜艳华. 维生素 D-3 及其受体与稽留流产的免疫学相关性研究 [J]. *中国医药导报* , 2015 ,12 (32) : 79 – 82.
- [12] Firouzabadi R D ,Rahmani E ,Rahsepar M , et al. Value of follicular fluid vitamin D in predicting the pregnancy rate in an IVF program [J]. *Arch Gynecol Obstet* , 2014 ,289 (1) : 201 – 6.
- [13] Ota K ,Dambaeva S ,Han A R , et al. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity [J]. *Hum Reprod* , 2014 ,29 (2) : 208 – 19.

Effect of serum 25-(OH) D₃ levels on ovarian responsibility and FET outcomes

Yin Jiaqian^{1 2 3} , Xu Xiaofeng^{1 2 3} , Zhang Yameng^{1 2 3} , et al

(¹Reproductive Medicine Center , Dept of Obstetrics and Gynecology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University Hefei 230022; ²Anhui Province Key Laboratory of Reproductive Health and Genetics , Hefei 230022; ³Biopreservation and Artificial Organs , Anhui Provincial Engineering Research Center , Anhui Medical University Hefei 230022)

Abstract To explore the correlation between the serum level of 25 hydroxy vitamin D₃ [25-(OH) D₃] with ovarian responsibility and the pregnancy outcomes of frozen-thawed embryo transfer(FET) . 157 patients with tubal infertile factors who received detection of vitamin D before in vitro fertilization and embryos transfer (IVF) were enrolled this study , and assigned into two groups according to the serum level of 25-(OH) D₃: 25-(OH) VD₃ < 20 μg/L group and 25-(OH) D₃ ≥ 20 μg/L group. The outcomes of ovarian stimulation and FET were compared between two groups. No statistically significant difference was found in patients' retrieved oocytes , M II , fertilization rate , total dosage duration of gonadotropin(Gn) , the total day of Gn injection , high-quality embryonic rate and E₂ in HCG day(*P* > 0.05) . Whereas , clinical pregnancy rate in the 25-(OH) D₃ sufficiency group(64.3%) was significantly higher than that in 25-(OH) D₃ deficiency group(45.5%) . Although serum 25-(OH) D₃ has less effect on ovarian responsibility , serum 25-(OH) D₃ deficiency may have adverse effect on the pregnancy rate of FET.

Key words in vitro fertilization embryo transfer; serum 25 hydroxyl vitamin D₃