

论著·临床研究

# 卵泡液中 hCG、AMH 浓度与 IVF-ET 结局的关系

牛 莹<sup>1,2</sup>, 田菁燕<sup>2</sup>, 李佳琛<sup>2</sup>, 李卓成<sup>3△</sup>

(1. 广州医科大学, 广东广州 510180; 2. 深圳市罗湖区人民医院生殖医学科, 广东深圳 518001;

3. 深圳市第二人民医院检验科, 广东深圳 518035)

**摘要:**目的 探讨卵泡液中人绒毛膜促性腺激素(hCG)、抗苗勒管激素(AMH)浓度与体外受精-胚胎移植(IVF-ET)结局的关系。**方法** 选取 2017 年 8—11 月在深圳市罗湖区人民医院生殖医学科接受 IVF-ET 助孕的不孕症患者 162 例作为研究对象。162 例不孕症患者根据是否获卵分为未获卵组 29 例和获卵组 133 例, 其中有 103 例患者接受了卵裂期新鲜移植, 根据 103 例患者是否获得临床妊娠分为妊娠组 53 例与未妊娠组 50 例。另外将这 103 份卵泡液又按照 hCG 浓度分为 hCG<25.0 mIU/mL(A 组)、hCG 25.0~37.0 mIU/mL(B 组)、hCG>37.0 mIU/mL(C 组)。162 例患者采用化学发光法检测取卵日卵泡液 hCG 和 AMH 的浓度并分析卵泡液中 hCG、AMH 浓度与 IVF-ET 各种参数及助孕结局之间关系。**结果** 获卵组与未获卵组卵泡液中的 hCG 和 AMH 浓度比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。妊娠组和未妊娠组的两原核(2PN)率、2PN 优质胚胎率及卵泡液中的 hCG 浓度比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。C 组各项指标优于 A、B 两组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 卵泡液中的 hCG 浓度与 IVF-ET 结局有相关性, 而 AMH 浓度与 IVF-ET 结局无相关性。

**关键词:** 卵泡液; 人绒毛膜促性腺激素; 抗苗勒管激素; 体外受精-胚胎移植; 妊娠结局

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.016

**中图法分类号:** R714.8

**文章编号:** 1673-4130(2019)06-0703-04

**文献标识码:** A

## Relationship between hCG and AMH concentrations in the follicular fluid and IVF-ET outcome

NIU Luo<sup>1,2</sup>, TIAN Jingyan<sup>2</sup>, LI Jiachen<sup>2</sup>, LI Zhuocheng<sup>3△</sup>

(1. Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510180, China; 2. Department of Reproductive Medicine, Shenzhen Luohu People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518001, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Second People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen, Guangdong 518035, China)

**Abstract: Objective** To explore the relationship between human chorionic gonadotrophin (hCG) and anti-Mullerian hormone (AMH) concentrations in the follicular fluid and in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) outcome. **Methods** From August to November 2017, 162 infertile patients receiving IVF-ET assisted pregnancy in the department of reproductive medicine of Luohu district People's hospital in Shenzhen were selected as the research objects. The 162 cases of infertility were divided into the non-ovum group (29 cases) and the ovum group (133 cases) according to the availability of ovum. Among them, 103 patients received fresh transplantation at the cleavage stage, and the 103 patients were divided into the pregnancy group ( $n=53$ ) and the non-pregnancy group ( $n=50$ ) according to whether they obtained clinical pregnancy or not. In addition, the 103 pieces of follicular fluid were divided into hCG<25.0 mIU/mL (group A), hCG 25.0—37.0 mIU/mL (group B), and hCG>37.0 mIU/mL (group C) according to the concentration of hCG. 162 infertile patients received routine IVF-ET treatment were selected and the follicular fluid was collected on oocyte retrieval day. The concentrations of hCG and AMH were detected by chemiluminescence. The relationship between the concentration of hCG in follicular fluid and the various indexes of IVF-ET and pregnancy outcome were analyzed. **Results** There were statistically significant differences in the concentrations of hCG and AMH in the follicular fluid between the oocyte retrieved group and the non-oocyte retrieved group ( $P<0.05$ ). A-

**作者简介:** 牛莹, 女, 主管技师, 主要从事免疫学研究。△ **通信作者,** E-mail: lizhuocheng@163.com。

**本文引用格式:** 牛莹, 田菁燕, 李佳琛, 等. 卵泡液中 hCG、AMH 浓度与 IVF-ET 结局的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6): 703-706.

analysis from the pregnancy outcome, There were significant differences between 2PN rate, 2PN high-quality embryo rate and the concentration of hCG in follicular fluid both in the pregnancy and non-pregnancy groups ( $P < 0.05$ ). 2PN rate, 2PN high-quality embryo rate and clinical pregnancy rate of group C was the best ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The follicular fluid hCG concentration is correlated with IVF-ET outcome and there is no correlation between the concentration of AMH in follicular fluid and IVF-ET outcome.

**Key words:** follicular fluid; human chorionic gonadotrophin; anti-Mullerian hormone; in vitro fertilization-embryo transfer; pregnancy outcome

辅助生殖技术(ART)实施过程中,获得高发育潜能的成熟卵母细胞,进一步培养成优质胚胎是提高 ART 临床妊娠率的关键,也是近年来生殖医学领域亟待解决的关键问题之一<sup>[1-2]</sup>。相比于外周血,卵泡液作为卵母细胞的赖以生存的微环境,更能直接影响卵母细胞的生长发育过程、受精能力及发育潜能<sup>[3]</sup>。因此卵泡液微环境中与卵子发育有关的激素和细胞因子的调控作用越来越受到生殖医学界的普遍关注<sup>[4]</sup>。现有研究显示了外周血人绒毛膜促性腺激素(hCG)、抗苗勒管激素(AMH)与评估卵巢储备能力及超促排卵过程中的动态变化与妊娠结局间的关系<sup>[5-7]</sup>,而卵泡液中 hCG、AMH 浓度与体外受精-胚胎移植(IVF-ET)过程中各项指标及妊娠结局间相关性的研究较少。本研究将卵泡液中 hCG、AMH 浓度与 IVF-ET 各参数及助孕结局进行分析,旨在研究卵泡液中 hCG、AMH 浓度与 IVF-ET 结局的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2017 年 8—11 月深圳市罗湖区人民医院生殖医学科接受 IVF-ET 助孕的不孕症患者 162 例作为研究对象。年龄 25~48 岁,平均( $35.37 \pm 4.96$ )岁,其中原发性不孕 61 例,继发性不孕 101 例,不孕年限 1~10 年。162 例不孕症患者根据是否获卵分为未获卵组 29 例和获卵组 133 例,其中有 103 例患者接受了卵裂期新鲜移植,根据 103 例患者是否获得临床妊娠分为妊娠组 53 例与未妊娠组 50 例。另外将这 103 份卵泡液又按照 hCG 浓度分为 hCG $<25.0$  mIU/mL(A 组)、hCG $25.0 \sim 37.0$  mIU/mL(B 组)、hCG $>37.0$  mIU/mL(C 组)。纳入标准:(1)平素月经周期基本规律,基础内分泌水平及体质指数(BMI)正常;(2)6 个月内无激素应用史、免疫治疗史;(3)B 超监测排卵功能正常,子宫及双侧附件无器质性病变。排除标准:(1)多囊卵巢综合征;(2)子宫内膜异位症;(3)合并其他影响内分泌水平的内、外科疾病。本研究经医院伦理委员会审查并讨论通过,在充分知情的基础上获得患者知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 取卵、受精、胚胎培养、胚胎移植** B 超引导下通过连续吸引的负压装置吸取卵泡液,并立即在显

微镜下将卵子移到含胚胎培养液的培养皿中放置于 37℃ 的三气孵箱内培养。取卵后 4 h 行短时体外受精。接受鲜胚移植的患者培养第 3 天择优选择 1~3 枚胚胎予以移植,如有胚胎剩余,根据胚胎情况选择囊胚培养或者玻璃化冻存胚胎。优质胚胎的标准由本中心 IVF 实验室制定并写入标准操作程序:常规 IVF/卵胞浆内单精子显微注射技术(ICSI)受精,培养至第 3 天的胚胎细胞数 6~10 个,均等性良好,碎片含量 $\leq 10\%$ 。

**1.2.2 采集卵泡液** B 超引导下经阴道逐个穿刺目标卵泡采集卵泡液并立即送至实验室捡拾卵子,按照如下标准收集卵泡液:(1)卵泡液未被冲卵液及血液污染;(2)卵泡直径 $\geq 15$  mm;(3)穿刺所得的卵泡液中的卵冠丘复合体(OCCC)达到Ⅲ级及以上。统一将收集好的卵泡液离心处理,速度为 3 000 r/min,离心时间为 10 min,去除残存的纤维蛋白和细胞类物质,取上清液放置于经高压灭菌的 EP 管中,−80℃ 冻存待检,每份样本仅可解冻 1 次。

**1.2.3 检测方法** 检测卵泡液中的 hCG、AMH 浓度采用化学发光免疫分析法。整个检测过程严格按照试剂盒说明书进行。hCG 检测限为 0.6 mIU/mL, AMH 的线性范围 0.10~16.00 ng/mL。

**1.4 观察指标** 患者年龄、卵泡液中 hCG、AMH 浓度和获卵数、卵子成熟度(MⅡ卵率)、两原核(2PN)率、2PN 优质胚胎率,以及临床妊娠率。

**1.5 临床妊娠判断标准** 接受卵裂期新鲜胚胎移植的患者从取卵日开始行黄体支持,胚胎移植后 15 d 检测血 hCG $>100$  mIU/mL 即为生化妊娠,移植后 30 d 阴道 B 超提示宫腔内可见孕囊即判断为临床妊娠。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。采用  $\bar{x} \pm s$  表示计量资料,两组计量资料之间比较差异性采用  $t$  检验,计数资料组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 获卵组与未获卵组卵泡液中 hCG、AMH 浓度比较** 获卵组与未获卵组卵泡液中的 hCG、AMH 浓度比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 妊娠组与未妊娠组不同指标间比较** 根据 103

例接受卵裂期新鲜胚胎移植的患者是否获得临床妊娠分为妊娠组 53 例,未妊娠组 50 例。两组 2PN 率、2PN 优质胚胎率及卵泡液 hCG 浓度比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ );而两组年龄、获卵数、MⅡ卵率及卵泡液 AMH 浓度比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

| 表 1 获卵组与未获卵组卵泡液中 hCG、AMH 浓度比较( $\bar{x}\pm s$ ) |          |             |            |
|-------------------------------------------------|----------|-------------|------------|
| 组别                                              | <i>n</i> | hCG(mIU/mL) | AMH(ng/mL) |
| 获卵组                                             | 133      | 33.69±23.64 | 3.25±2.03  |
| 未获卵组                                            | 29       | 7.53±8.70   | 1.58±1.05  |
| <i>P</i>                                        |          | 0.000       | 0.000      |

| 表 2 妊娠组与未妊娠组不同指标间比较( $\bar{x}\pm s$ ) |                    |                     |          |
|---------------------------------------|--------------------|---------------------|----------|
| 项目                                    | 妊娠组( <i>n</i> =53) | 未妊娠组( <i>n</i> =50) | <i>P</i> |
| 年龄(岁)                                 | 34.17±4.29         | 35.92±5.23          | 0.066    |
| 获卵数(个)                                | 12.55±6.27         | 11.86±6.11          | 0.574    |
| MⅡ卵率(%)                               | 85.67±9.83         | 85.52±15.00         | 0.955    |
| 2PN 率(%)                              | 78.42±11.32        | 65.91±19.71         | 0.000    |
| 2PN 优质胚胎率(%)                          | 76.48±11.97        | 51.78±30.28         | 0.000    |
| 卵泡液 hCG(mIU/mL)                       | 43.98±23.35        | 30.02±26.29         | 0.005    |
| 卵泡液 AMH(ng/mL)                        | 3.19±2.41          | 3.15±1.57           | 0.936    |

**2.3 各卵泡液 hCG 浓度组相关指标比较** 鉴于妊娠组与未妊娠组卵泡液 hCG 浓度比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。进一步将接受鲜胚移植的 103 份卵泡液根据 hCG 浓度分为 3 组,两两一组进行  $\chi^2$  检验对比各项指标显示,A、B、C 组的 MⅡ卵率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。C 组 2PN 率高于 A、B 两组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );A 组的 2PN 优质胚胎率低于 B、C 两组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );C 组的临床妊娠率优于 A 组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

| 表 3 各卵泡液 hCG 浓度组相关指标比较[%( <i>n</i> / <i>n</i> )] |                    |                    |                    |
|--------------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 项目                                               | A 组( <i>n</i> =38) | B 组( <i>n</i> =32) | C 组( <i>n</i> =33) |
| MⅡ卵率                                             | 82.71(311/376)     | 84.29(295/350)     | 84.29(440/522)     |
| 2PN 率                                            | 65.00(202/311)*    | 65.76(194/295)*    | 75.91(334/440)     |
| 2PN 优质胚胎率                                        | 54.95(111/202)     | 67.53(131/194)#    | 70.66(236/334)#    |
| 临床妊娠率                                            | 31.58(12/38)*      | 53.13(17/32)       | 72.73(24/33)       |

注:\*  $P<0.05$ ,与 C 组比较;#  $P<0.05$ ,与 A 组比较

3 讨 论

作为卵母细胞赖以生存发育的微环境,卵泡液主要由血浆渗透液及卵巢局部产生的某些物质组成,其内含有许多对卵母细胞发育潜能和受精能力有重要影响的激素和生物活性因子。在 ART 过程中,如何

获得高质量的成熟卵母细胞并进一步受精发育为高质量的胚胎是取得良好妊娠结局的重要保证。正确掌握注射 hCG 的时机和剂量是获取高质量卵子的关键。AMH 对卵泡的生长发育有着重要意义<sup>[8]</sup>,研究显示卵泡内产生的高浓度 AMH 对正常排卵有着至关重要的作用,而对于排卵前卵泡液 AMH 浓度与胚胎发育潜能之间的关系仍存在争议<sup>[9-11]</sup>。另外,AMH 还能对促排卵阶段的卵巢反应情况有一定的预测作用,有助于识别有潜在卵巢过度刺激综合征风险的女性,为临床医生判断和调整促排卵药物的用量提供依据。值得一提的是,多囊卵巢综合征因其在促排卵过程中易发生卵巢过度刺激或低反应而成为临床工作的难点,陈雅等<sup>[12]</sup>推测,多囊卵巢综合征患者卵泡液 AMH 浓度可能与卵泡发育存在相关性。

在促排卵治疗过程中,hCG 有 LH 样作用可以促进卵泡成熟进而诱导排卵。研究显示体内注射 hCG 有助于提高卵母细胞胞核成熟的效率<sup>[13]</sup>,卵母细胞的细胞核和细胞质发育同步化与卵母细胞的受精能力、发育潜能及妊娠结局直接相关<sup>[14]</sup>。取卵前 hCG 通常的注射方式是肌肉注射给药,由于卵巢血供丰富,药物入血后通过卵巢进入卵泡液,所以说与颗粒细胞和卵母细胞生长发育最息息相关的微环境是卵泡液。研究显示<sup>[15]</sup>,当卵泡液 hCG 浓度在 14~21 nmol/L 时,有利于提高卵母细胞成熟率、受精率及优质胚胎率,从而提高临床妊娠率,并推测其机制可能为适宜的 hCG 浓度促进了卵母细胞质和细胞核的发育同步化,使卵母细胞的受精能力、发育潜能及临床妊娠率得到提高。

本研究未获卵组的卵泡液 hCG 浓度低于获卵组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),研究结果显示取卵前按时按量的注射 hCG 是成功获卵的重要保证。鉴于妊娠组与未妊娠组的卵泡液 hCG 浓度比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),进一步将所有接受新鲜胚胎移植的患者分为 3 个 hCG 浓度组(A、B、C 组),C 组的各项参数及助孕结局相对较好。说明在合适的范围内,hCG 浓度高的各项指标和妊娠结局较好。但是 hCG 浓度绝不是越高越好,hCG 高浓度长时间的使用可能使 IVF 周期所获卵母细胞的受精能力和发育潜能降低,增加胚胎着床失败及早期流产的风险,易导致多胎妊娠的发生率增加,甚至诱发重度卵巢过度刺激综合征而危及患者生命,由此可见 hCG 发挥生物学效应具有较严格的浓度依赖性。本研究有待于继续扩大样本量,深入研究探讨 hCG 浓度的合适范围,根据卵巢储备和反应程度制定个性化合理化的 hCG 使用剂量,降低辅助生育技术并发症的同时又不影响一定数量高发育潜能的卵母细胞的获取。

随着年龄的增加,卵巢储备功能及卵母细胞质量明显下降,辅助生育技术的成功率明显下降,很多卵巢储备功能不足的高龄患者不得不承受获卵失败、无可利用胚胎的痛苦。另一方面,在促排卵前评价卵巢储备功能有助于选择合理的促排卵方案,个性化调整用药剂量和时间,提高用药安全。陈艺等<sup>[16]</sup>的研究表明,卵泡液 AMH 一定程度上能够较好地预测年轻患者 IVF-ET 的临床结局。本研究未获卵组的卵泡液 AMH 浓度低于获卵组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。可以推断出卵泡液中 AMH 浓度偏低与获卵失败之间有直接关系,对于高龄、卵泡数量少、卵巢反应性差及有不良获卵史的患者,有必要在取卵日留取卵泡液用于检测 AMH 浓度来追溯和评估获卵失败的原因,为制定后续的治疗方案提供依据。

#### 4 结 论

卵泡液中 hCG 浓度与 IVF-ET 妊娠结局有相关性,卵泡液 AMH 浓度与获卵与否有直接关系,可以用于评估卵巢储备、追溯获卵失败的原因,这些都为卵泡液 hCG、AMH 浓度与 IVF-ET 妊娠结局的相关性研究提供了新的思路。但本研究也存在检测 AMH 的卵泡液并非来自单个优势卵泡,无法对该卵泡液中的卵母细胞进行进一步观察,以及由于条件限制导致样本量较小等不足之处。总而言之,卵泡液 hCG、AMH 浓度与 IVF-ET 妊娠结局的关系尚需扩大样本量进一步深入研究证实。

#### 参考文献

- [1] HALVAEI I, KHALILI M A, RAZI M H. The effect of immature oocytes quantity on the rates of oocytes maturity and morphology, fertilization, and embryo development in ICSI cycles[J]. J Assist Reprod Genet, 2012, 29(8): 803-810.
- [2] COMBELLES C M, CEKLENIK N A, RACOWSKY C, et al. Assessment of nuclear and cytoplasmic maturation in in-vitro matured human oocytes[J]. Hum Reprod, 2002, 17(1): 1006-1016.
- [3] 那晶, 汤小晗, 卢美松. 卵泡液成分与卵母细胞质量相关性研究进展[J]. 医学综述, 2015, 21(21): 3886-3889.
- [4] KAHYAOGU I, YILMAZ N, TIMUR H, et al. Granulocyte colony-stimulating factor: A relation between serum and follicular fluid levels and in-vitro fertilization outcome in patients with polycystic ovary syndrome[J]. Cytokine, 2015, 74(1): 113-116.
- [5] 马文红, 韦立红, 李忻琳, 等. hCG 剂量与 IVF/ICSI 高反应患者获卵率的相关性[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(6): 101-104.
- [6] 王冬雪, 吴小华. 超促排卵过程中抗苗勒管激素动态变化及其与临床结局的相关性[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(2): 111-116.
- [7] 曾纪扬, 陈洁琼, 毛文礼. 抗苗勒管激素水平检测在高龄妇女卵巢低反应预测中的应用价值[J]. 沈阳医学院学报, 2017, 19(3): 242-243.
- [8] KEDEM-DICKMAN A, MAMAN E, YUNG Y, et al. Anti-Müllerian hormone is highly expressed and secreted from cumulus granulosa cells of stimulated preovulatory immature and atretic oocytes[J]. Reprod Biomed Online, 2012, 24(5): 540-546.
- [9] KIM J H, LEE J R, CHANG H J, et al. Anti-Müllerian hormone levels in the follicular fluid of the preovulatory follicle: a predictor for oocyte fertilization and quality of embryo[J]. J Korean Med Sci, 2014, 29(9): 1266-1270.
- [10] FANCHIN R, MENDEZ D H, Frydman N, et al. Anti-Müllerian hormone concentrations in the follicular fluid of the preovulatory follicle are predictive of the implantation potential of the ensuing embryo obtained by in vitro fertilization[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(5): 1796-1802.
- [11] CUPISTI S, DITTRICH R, MUELLER A, et al. Correlations between Anti-Müllerian hormone, inhibin B, and activin A in follicular fluid in IVF/ICSI patients for assessing the maturation and developmental potential of oocytes[J]. Eur J Med Res, 2007, 12(12): 604-608.
- [12] 陈雅, 叶碧绿, 郑九嘉, 等. 血清及卵泡液抗苗勒管激素在多囊卵巢综合征患者体外受精促排卵治疗中的价值[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 20(12): 1405-1411.
- [13] CHIAN R C, WM B, TULANDI T, et al. Prospective randomized study of human chorionic gonadotrophin priming before immature oocyte retrieval from unstimulated women with polycystic ovarian syndrome[J]. Hum Reprod, 2000, 15(1): 165-170.
- [14] 马从顺, 邢福祺. 人绒毛膜促性腺激素在辅助生殖技术中的研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2011, 30(2): 111-114.
- [15] 张丽丽, 王海英, 张仁礼, 等. 人卵泡液 hCG 水平与卵母细胞成熟及早期胚胎发育的关系[J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(2): 260-264.
- [16] 陈艺, 刘海鹏, 李苏萍, 等. 抗苗勒氏管激素水平对 IVF-ET 妊娠结局的预测价值评估[J]. 生殖医学杂志, 2016, 24(6): 522-527.

(收稿日期: 2018-08-24 修回日期: 2018-11-28)