

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.22.003

抗苗勒管激素和甲状腺自身免疫抗体水平对体外受精-胚胎移植临床结局影响的研究*

柴蓓蓓¹, 何 培¹, 王惠莹¹, 刘 浏¹, 张若鹏^{2△}

(1. 大理大学临床医学院, 云南大理 671000; 2. 大理大学第一附属医院生殖医学科, 云南大理 671000)

摘 要:目的 探究抗苗勒管激素(AMH)和甲状腺-抗体水平对体外受精-胚胎移植临床结局的影响。方法 选取大理大学第一附属医院生殖医学科行体外受精-胚胎移植的患者 174 例, 对其促排卵前的 AMH 水平和甲状腺抗体情况进行分析。结果 AMH>4.17 ng/mL 的患者比 AMH≤4.17 ng/mL 的两组患者有更高的获卵数, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。甲状腺自身免疫抗体阳性患者的流产率(16.4%)明显高于甲状腺自身免疫抗体阴性的患者(6.9%), 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 AMH 水平与患者的促排卵结局关系密切, 可作为制订治疗方案的重要参考。应提高对甲状腺自身免疫抗体阳性不孕症患者的重视, 在其妊娠过程中注意防止流产。

关键词: 抗苗勒管激素; 甲状腺自身免疫抗体; 体外受精胚胎移植

中图分类号: R711.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)22-3332-04

Effects of anti-Mullerian hormone and antithyroid autoantibody on the clinical outcome of in vitro fertilization and embryo transfer*

CHAI Beibei¹, HE Pei¹, WANG Huiying¹, LIU Liu¹, ZHANG Ruopeng^{2△}

(1. College of Clinical Medicine, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China; 2. Department of Reproductive Medicine, the First Affiliated Hospital of Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of anti-Mullerian hormone and antithyroid autoantibody on the clinical outcome of in vitro fertilization and embryo transfer. **Methods** A total of 174 patients who have received the treatment of in vitro fertilization and embryo transfer were enrolled in the Department of Reproductive Medicine at the First Affiliated Hospital of Dali University. Analyze their levels of anti-Mullerian hormone and antithyroid autoantibody before controlled ovarian hyperstimulation(COH). **Results** Patients with anti-Mullerian hormone levels >4.17 ng/mL had more oocytes collected than the two groups with anti-Mullerian hormone levels ≤4.17 ng/mL ($P<0.05$). The abortion rate of antithyroid autoantibody-positive patients (16.4%) was significantly higher than those antithyroid autoantibody-negative patients (6.9%), $P<0.05$. **Conclusion** The anti-Mullerian hormone levels are closely related to the patient's COH outcome and can be used as an important reference to the treatment. We should pay more attention on antithyroid autoantibody-positive patients and avoid abortion during pregnancy.

Key words: anti-Mullerian hormone; antithyroid autoantibody; in vitro fertilization embryo transfer

随着二胎政策的开放,越来越多的不孕症患者走进了大家的视野。目前体外受精-胚胎移植(IVF-ET)技术仍是解决不孕问题的主要方法,故探究各种临床指标与 IVF-ET 临床结局的关系显得尤为重要。抗苗勒管激素(AMH)是近年来已证实的评价卵巢储备功能的良好指标,并有文献报道其对 IVF-ET 临床结局有一定的预测作用^[1-3]。同时随着对甲状腺功能的进一步了解,发现如孕妇的甲状腺自身免疫抗体[包

括甲状腺球蛋白抗体(TG-Ab)和甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)]水平升高,则其自身发生产后甲状腺炎的风险和胎儿产后发生婴幼儿甲状腺功能减退症的风险会大大增高。故本文对 AMH 和甲状腺自身免疫抗体水平对 IVF-ET 临床结局的影响进行了研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2015 年 7 月至 2016 年 12 月于大理大学第一附属医院生殖医学科行 IVF-ET 的 174

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81760269);大理大学博士科研启动费项目(KYBS201612);大理大学第八批中青年学术带头人培养对象项目(理大研发[2017]2 号);大理大学第一附属医院第二批院级重点学(专)科建设项目(大附院[2016]46 号)。

作者简介:柴蓓蓓,女,在读研究生,主要从事临床检验诊断学和生殖医学实验室技术方向的研究。△ 通信作者, E-mail: zrp263000@163.com。

例不孕症患者为研究对象。本研究内容经大理大学医学伦理委员会批准,所有入选患者和家属均签署知情同意书。纳入标准:(1)患者采用标准长方案进行超促排卵,年龄 20~37 岁;(2)患者为输卵管因素导致的不孕(剔除输卵管积液的患者);(3)所有患者无内分泌性疾病、代谢性疾病、甲状腺外免疫性疾病;(4)所有入选周期,最终获卵数目≥3 个,受精率≥50%。排除标准:(1)患者存在子宫肌瘤、子宫腺肌症、子宫内膜异位症等疾病;(2)患者存在甲状腺功能亢进症、甲状腺功能减退症或其他甲状腺功能异常的情况。

1.2 方法

1.2.1 控制性超促排卵(COH) 采用标准长方案,于前 1 个月经周期的黄体期开始促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)/促性腺激素(Gn)/人绒毛膜促性腺激素(HCG)序贯治疗。首先采用 GnRH-a 进行垂体降调,当到卵泡生成激素(FSH)<5 U/L,黄体生成激素(LH)<5 U/L,雌二醇(E2)≤180 pmol/L 时,根据患者年龄、基础激素水平及基础窦卵泡数给予 100~350 U/d 的 Gn 进行促排卵,同时采取经阴道超声监测卵泡的生长发育情况。当两侧卵巢均有 1 个以上直径大于 18 mm 的卵泡或 3 个直径大于 16 mm 的卵泡时,给予 HCG 诱导卵泡成熟,36 h 后行经超声引导的卵母细胞穿刺回收。

1.2.2 IVF-ET 卵母细胞于体外培养 4~6 h 后行体外受精,42~45 h 后按 Peter 卵裂期胚胎评分系统选择 1~3 枚优质胚胎进行新鲜周期移植或对胚胎进行冷冻待患者各方面情况合适后再行解冻移植。移植 14 d 后检测血 β-HCG,如结果提示生化妊娠,再于移植 5 周后行经阴道超声确定是否妊娠。

1.2.3 血清和卵泡液的收集检测 (1)于降调开始前,月经周期的第 2~3 天抽取患者血标本进行 FSH、LH、E2、黄体酮(PRG)、睾酮(T)、催乳激素(PRL)、AMH、促甲状腺激素(TSH)、甲状腺素(T4)、三碘甲状腺氨酸(T3)、游离 T3、游离 T4、TG-Ab 和 TPO-Ab 水平的测定。(2)检测方法:性激素 6 项采用化学发光法进行检测;AMH 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)进行检测;甲状腺功能采用化学发光法进行检测;甲状腺自身免疫抗体采用放射免疫法进行检

测,TG-Ab>30%为阳性,TPO-Ab>20%为阳性。

1.2.4 临床资料收集 收集患者年龄、不育年限、体质量指数(BMI)、COH 天数、总 Gn 量、获卵数、受精率、优胚率、新鲜胚胎移植数、种植率、妊娠率及流产率。

1.2.5 分组方法 (1)2015 年中华医学会生殖学分会《卵巢低反应专家共识》推荐^[4] AMH 低于 0.5~1.1 ng/mL 的为预测卵巢低反应性人群,相关文献报道 AMH 高于 4.17 ng/mL 为预测卵巢高反应性人群^[5],故笔者按 AMH 水平将患者分为 A 组(AMH<1.10 ng/mL)、B 组(AMH:1.10~4.17 ng/mL)、C 组(AMH>4.17 ng/mL)。(2)按 TG-Ab 和 TPO-Ab 的阳性情况将患者分为甲状腺自身免疫抗体阳性组(E 组)和甲状腺自身免疫抗体阴性组(F 组)。并分别对各组患者的一般资料、超促排卵参数和妊娠结局进行比较。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间的比较采用 *t* 检验,3 组间比较采用方差分析;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验;以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般资料 开始降调前,A 组、B 组、C 组患者的年龄、不育年限、体质量指数(BMI)、基础性激素水平,差异无统计学意义(均 *P*>0.05);E 组和 F 组患者的年龄、不育年限、BMI、基础性激素水平,差异无统计学意义(均 *P*>0.05),见表 1。

2.2 按 AMH 水平分组的超促排卵情况和临床结局比较 比较 A 组、B 组、C 组的 Gn 用量、COH 天数、受精率、优胚率、移植胚胎数、种植率、妊娠率、流产率,差异无统计学意义(均 *P*>0.05)。3 组患者的获卵数比较,C 组的获卵数高于 A 组(*P*<0.05)和 B 组(*P*<0.05),但 A 组和 B 组间获卵数差异无统计学意义(*P*=0.103),见表 2。

2.3 按甲状腺自身免疫抗体情况分组的超促排卵情况和临床结局比较 E 组和 F 组的 Gn 用量、COH 天数、获卵数、受精率、优胚率、移植胚胎数、种植率、妊娠率,差异无统计学意义(均 *P*>0.05)。但 E 组患者的流产率(16.4%)高于 F 组患者的流产率(6.9%),差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 3。

表 1 各组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	不孕年限(年)	BMI(kg/m ²)	FSH(U/L)	LH(U/L)	E2(pmol/L)
A 组	48	30.4±4.1	6.4±5.1	22.2±2.8	7.3±2.9	3.9±2.7	328.3±263.7
B 组	73	32.2±3.9	5.8±4.7	21.8±2.2	6.8±2.5	3.6±2.4	309.7±213.2
C 组	53	31.6±4.0	6.7±5.3	22.7±2.6	7.1±2.7	3.9±2.5	336.4±255.4
E 组	71	31.3±3.9	6.3±4.3	22.3±2.3	7.2±2.8	3.7±2.8	327.3±258.2
F 组	103	33.1±3.6	5.9±4.5	21.9±2.5	6.9±2.7	3.8±2.4	332.1±247.9

表 2 按 AMH 水平分组的超促排卵情况及妊娠结局比较

项目	A 组(<i>n</i> =48)	B 组(<i>n</i> =73)	C 组(<i>n</i> =53)	<i>F</i> / χ^2	<i>P</i>
Gn 用量($\bar{x}\pm s,U$)	2 459.6 $\pm$ 1 135.3	2 363.4 $\pm$ 1 093.6	2 416.7 $\pm$ 1 129.4	0.581	0.564
COH 天数($\bar{x}\pm s,d$)	10.7 $\pm$ 1.1	10.3 $\pm$ 1.0	10.3 $\pm$ 0.9	0.848	0.435
获卵数($\bar{x}\pm s,n$)	5.8 $\pm$ 2.3*	7.1 $\pm$ 2.2*	9.1 $\pm$ 2.0	7.350	0.002
受精率(%)	75.0	72.6	73.6	—	0.958
优胚率(%)	43.8	45.2	47.1	—	0.941
移植胚胎数($\bar{x}\pm s,n$)	1.8 $\pm$ 0.4	1.9 $\pm$ 0.5	1.7 $\pm$ 0.5	0.064	0.938
种植率(%)	20.6	21.5	19.4	—	0.917
妊娠率(%)	33.3	35.6	37.7	—	0.899
流产率(%)	10.0	10.1	13.3	—	0.833

注: * *P*<0.05,与 C 组比较

表 3 按甲状腺自身免疫抗体情况分组的超促排卵情况和临床结局比较

项目	E 组(<i>n</i> =73)	F 组(<i>n</i> =101)	<i>P</i>
Gn 用量($\bar{x}\pm s,U$)	2 466.1 $\pm$ 1 095.8	2 378.3 $\pm$ 1 103.6	0.549
COH 天数($\bar{x}\pm s,d$)	10.7 $\pm$ 1.4	10.3 $\pm$ 1.2	0.368
获卵数($\bar{x}\pm s,n$)	7.3 $\pm$ 2.4	7.9 $\pm$ 2.2	0.503
受精率(%)	72.6	74.3	0.807
优胚率(%)	44.7	45.7	0.854
移植胚胎数($\bar{x}\pm s,n$)	1.8 $\pm$ 0.5	1.9 $\pm$ 0.6	0.764
种植率(%)	20.4	21.0	0.897
妊娠率(%)	34.2	36.6	0.746
流产率(%)	16.4	6.9	0.047

3 讨 论

3.1 AMH 与 IVF-ET 临床结局 目前,在 AMH 水平对 IVF-ET 结局的影响方面研究结果较一致。PI-ERRE 等^[6]研究表明,AMH 是 IVF-ET 妊娠结局的可靠预测指标,高 AMH 者有更高的获卵数、更好的卵子质量和胚胎。LIN 等^[7]发现,血清 AMH 高者,有更高的受精率、卵裂率、可移植胚胎数,但相较于血清 AMH 水平,卵泡液 AMH 水平对于预测临床妊娠有更高的价值,当选择卵泡液 AMH>1.777 nmol/L 为参考范围时,判断妊娠的灵敏度高达 91.2%,准确度高达 86.5%。FLAVIA 等^[8]对 AMH 水平分梯度的研究表明,AMH 水平较高的组有更高的获卵数和 E2/FSH 的比值,这与本次研究的结果相似。

3.2 甲状腺自身免疫与 IVF-ET 临床结局 众多国内外研究均表明,甲状腺自身免疫抗体阳性者胚胎质量差,种植率低,妊娠率低,流产率高^[9-12]。且甲状腺自身免疫抗体还可能和胚胎反复种植失败有关,并可从多个方面对 IVF-ET 临床结局产生负面影响^[13]。目前对其作用机制的研究主要有卵泡液学说、胎盘功能学说和亚临床状态学说。(1)卵泡液学说:MON-TELEONE 等^[14]认为甲状腺自身免疫抗体可以穿过

成熟卵母细胞的卵泡液-血屏障,引起抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用,从而损伤卵母细胞。AYESHA 等^[15]的研究表明,甲状腺自身免疫抗体同卵巢早衰密切相关,并会影响卵巢储备情况、卵泡功能和卵泡液成分。(2)胎盘功能学说:GLEICHER 等^[16]推测妊娠时胎儿的细胞可以通过胎盘转移到母体内,当存在甲状腺自身免疫抗体时胎儿和母体的细胞在甲状腺形成微嵌合状态,导致胎盘反应增高产生免疫不耐受,影响胎盘的分泌功能导致 β -HCG、雌激素、孕激素、细胞因子等异常分泌,从而导致流产、早产及死胎等不良妊娠结局。(3)亚临床状态学说:妊娠期母体甲状腺功能对胎儿生长发育和母体激素分泌起着至关重要的作用,但当母体存在甲状腺自身免疫抗体时,TG-Ab 可以与 TG 结合破坏甲状腺细胞,TPO-Ab 可以与 TSH 结合破坏甲状腺细胞,出现虽然甲状腺素水平正常但甲状腺实际已经受损的亚临床状态,导致流产和早产的风险增加^[17]。

综上所述,AMH 和甲状腺自身免疫抗体在获卵数、流产率方面对 IVF-ET 临床结局存在一定影响。在临床工作中,应该提高对甲状腺自身免疫抗体阳性患者的重视,在其妊娠过程中注意防止流产。同时,结合相关文献中卵泡液 AMH 水平的结果,如能对卵泡液中甲状腺自身免疫抗体和其他激素类指标进行更多样化的分析,有助于探究影响体外 IVF-ET 临床结局的生物学机制,从而提高体外 IVF-ET 成功率提供新的科研思路和治疗方案。

参考文献

[1] ERSAHIN A A, ARPACI H, ERSAHIN S S, et al. AFC vs. AMH: prediction of ovarian response in women with endometrioma undergoing controlled ovarian stimulation [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21 (10): 2499-2503.

[2] GLEICHER N, KUSHNIR V A, SEN A, et al. Definition by FSH, AMH and embryo numbers of good-, intermediate- and poor-prognosis patients suggests previously un-

- known IVF outcome determining factor associated with AMH[J]. J Transl Med, 2016, 14(1): 172-177.
- [3] DE CONTO E, GENRO V K, DA SILVA DS, et al. AMH as a prognostic factor for blastocyst development [J]. JBRA Ass Rep, 2015, 19(3): 131-134.
- [4] 武学清, 孔蕊, 田莉, 等. 卵巢低反应专家共识[J]. 生殖与避孕, 2015, 35(2): 71-79.
- [5] 何艺磊, 李蓉, 乔杰. 抗苗勒氏管激素与卵巢储备及反应性相关研究进展[J]. 生殖与避孕, 2016, 36(8): 653-659.
- [6] PIERRE L, MARIA P V, JULIO S, et al. Anti-Müllerian hormone (AMH): a reliable biomarker of oocyte quality in IVF[J]. J Assist Reprod Genet, 2014, 31(4): 493-498.
- [7] LIN W Q, YAO L N, ZHANG D X, et al. The predictive value of anti-müllerian hormone on embryo quality, blastocyst development, and pregnancy rate following in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) [J]. J Assist Reprod Genet, 2013, 30(5): 649-655.
- [8] FLAVIA M, LUCIA S, VALENTINA C, et al. Anti-Müllerian hormone as a predictor of ovarian reserve in ART protocols: the hidden role of thyroid autoimmunity[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2015, 13(1): 106-111.
- [9] MIKO E M, MEGGYES M, DOBA K, et al. Characteristics of peripheral blood NK and NKT-like cells in euthyroid and subclinical hypothyroid women with thyroid autoimmunity experiencing reproductive failure[J]. J Reprod Immunol, 2017(124): 62-70.
- [10] BUSNELLI A, PAFFONI A, FEDELE L, et al. The impact of thyroid autoimmunity on IVF/ICSI outcome: a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod, 2016, 22(6): 775-790.
- [11] 路瑶, 陈子江. 甲状腺功能对女性生育力的影响[J]. 生殖与避孕, 2015, 35(5): 339-344.
- [12] ANDREA W, ERIC H, VITALY A K, et al. The impact of thyroid function and thyroid autoimmunity on embryo quality in women with low functional ovarian reserve: a case-control study[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2015(13): 43-47.
- [13] HUANG C Y, LIANG P Y, DIAO L H, et al. Thyroid autoimmunity is associated with decreased cytotoxicity T cells in women with repeated implantation failure[J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(9): 10352-10361.
- [14] MONTELEONE P, PARRINI D, FAVIANA P, et al. Female infertility related to thyroid autoimmunity: the ovarian follicle hypothesis[J]. Am J Reprod Immunol, 2011, 66(2): 108-114.
- [15] AYESHA J V, GOSWAMI D. Premature ovarian failure: an association with autoimmune diseases[J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(10): 10-12.
- [16] GLEICHER N. Does the immune system induce labor? Lessons from preterm deliveries in women with autoimmune diseases[J]. Clin Rev Allerg Immunol, 2010, 39(3): 194-206.
- [17] 王进进, 王旭. 甲状腺自身抗体对病理性妊娠及不孕症影响的研究进展[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2014, 43(1): 117-120.

(收稿日期: 2018-03-12 修回日期: 2018-06-12)

(上接第 3331 页)

- HMAN N M. Advance in the management of pleural disease[J]. Expert Rev Respir med, 2013, 7(5): 499-513.
- [2] THOMAS R, LEE Y C. Cause and management of common benign pleural effusions[J]. Thorax Surg Clin, 2013, 23(1): 25-42.
- [3] 岑慧, 李观强, 李文, 等. 联合检测血清和胸水中多项肿瘤标志物对良恶性胸水的鉴别诊断价值[J]. 中国医药导报, 2011, 8(19): 90-92.
- [4] BRAUNSCHWEIG R, YAN P, GUILLERET I, et al. Detection of malignant effusions: comparison of a telomerase assay and cytologic examination[J]. Diagn Cytopathol, 2001, 24(3): 174-180.
- [5] 靳广德. 胸腔注射尿激酶联合地塞米松治疗结核性胸膜炎的临床效果[J]. 中国医药导报, 2013, 10(15): 104-105.
- [6] 王信杰, 杜向阳. 降钙素原与腺苷酶检测诊断结核性胸腔积液[J]. 山东大学学报(医学版), 2012, 50(9): 79-82.
- [7] MUNOZ M, EIDENSCHKE C, OTA N, et al. Interleukin-22 induces interleukin-18 expression from epithelial cells during intestinal infection[J]. Immunity, 2015, 42(2): 321-331.
- [8] ZHANG Y, COBLEIGH M, JIAN Q L, et al. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus[J]. Gas Troenterol, 2011, 141(5): 1897-1906.
- [9] FANG J Y, RICHARDSON B C. The MAPK signaling pathways and colorectal cancer[J]. Lancet Oncol, 2005(6): 322-327.
- [10] BOSMANN M, WARD P A. Modulation of inflammation by interleukin-27[J]. J Leukoc Biol, 2013, 94(6): 1159-1165.
- [11] YOSHIMOTO T, CHIBA Y, FURUSAWA J, et al. Potential clinical application of interleukin-27 as an antitumor agent[J]. Cancer Sci, 2015, 106(9): 1103-1110.
- [12] XIA S, WEI J, WANG J, et al. A requirement of dendritic cell-derived interleukin-27 for the tumor infiltration of regulatory T cells[J]. J Leukoc Biol, 2014, 95(5): 733-742.
- [13] CUI W, LIU Y, WEINSTEIN J S, et al. An interleukin-21-interleukin-10-STAT3. Pathway is critical for functional maturation of memory CD8⁺ T cells[J]. Immunity, 2011, 35(5): 792-805.

(收稿日期: 2018-03-11 修回日期: 2018-05-26)