

卵巢刺激周期取卵日 卵泡液成分研究

北京家圆医院 王怀秀

卵巢刺激周期取卵日卵泡液成分研究

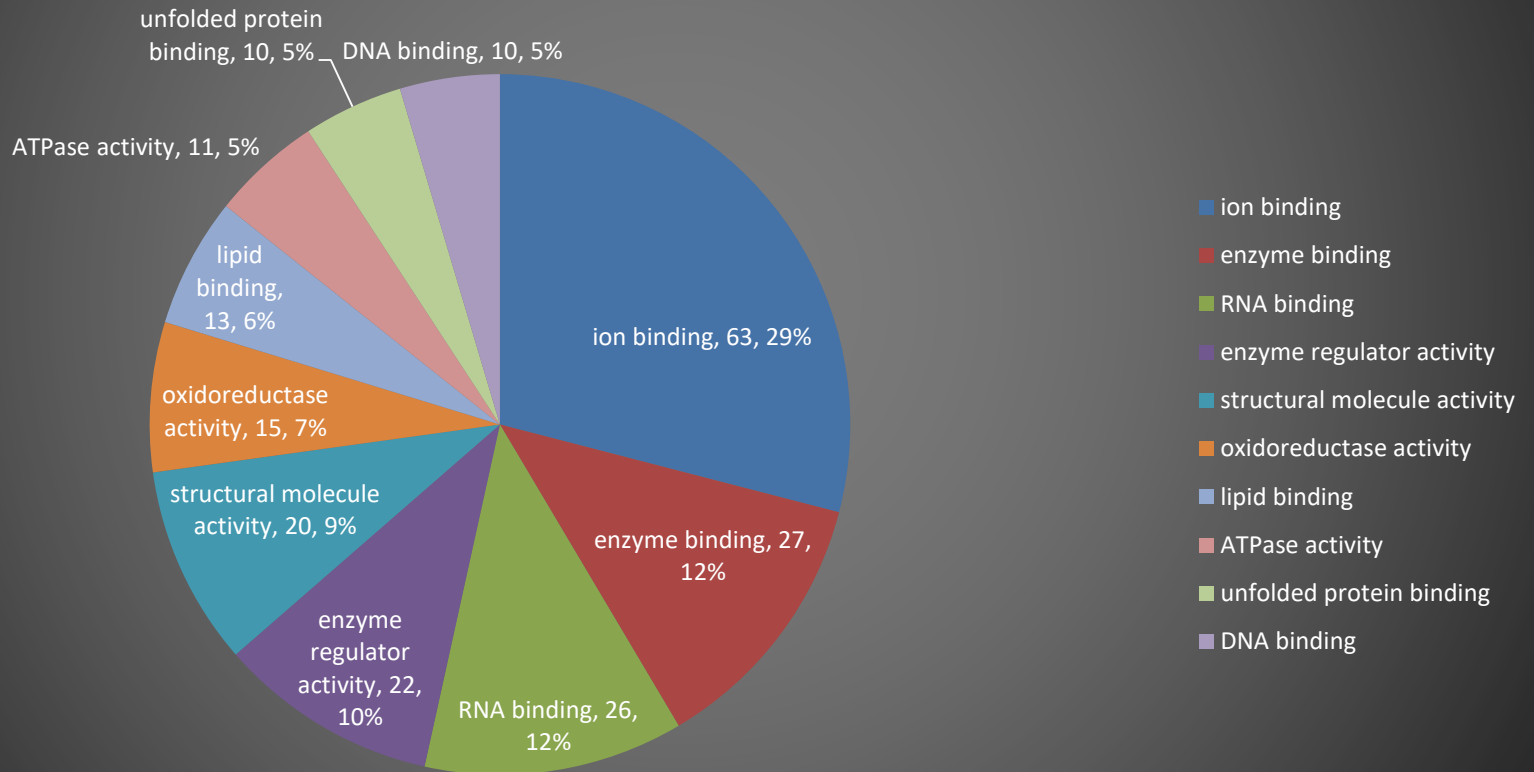
- 卵泡液蛋白组学
- 卵泡液多种离子、能量代谢物质分析
- 卵泡液激素及调控物质分析

卵泡液蛋白组学

- 对17例经常规长方案控制性卵巢刺激的女性不育患者成熟卵泡中卵泡液中蛋白质进行酶切、液相分离及质谱检测，检测结果通过Uniprot 蛋白质数据库进行检索、分析
 - 卵泡液蛋白质分子功能
 - 卵泡液蛋白质参与的生物学过程
 - 卵泡液蛋白质参与的KEGG通路

卵泡液蛋白质分子功能

molecular_function

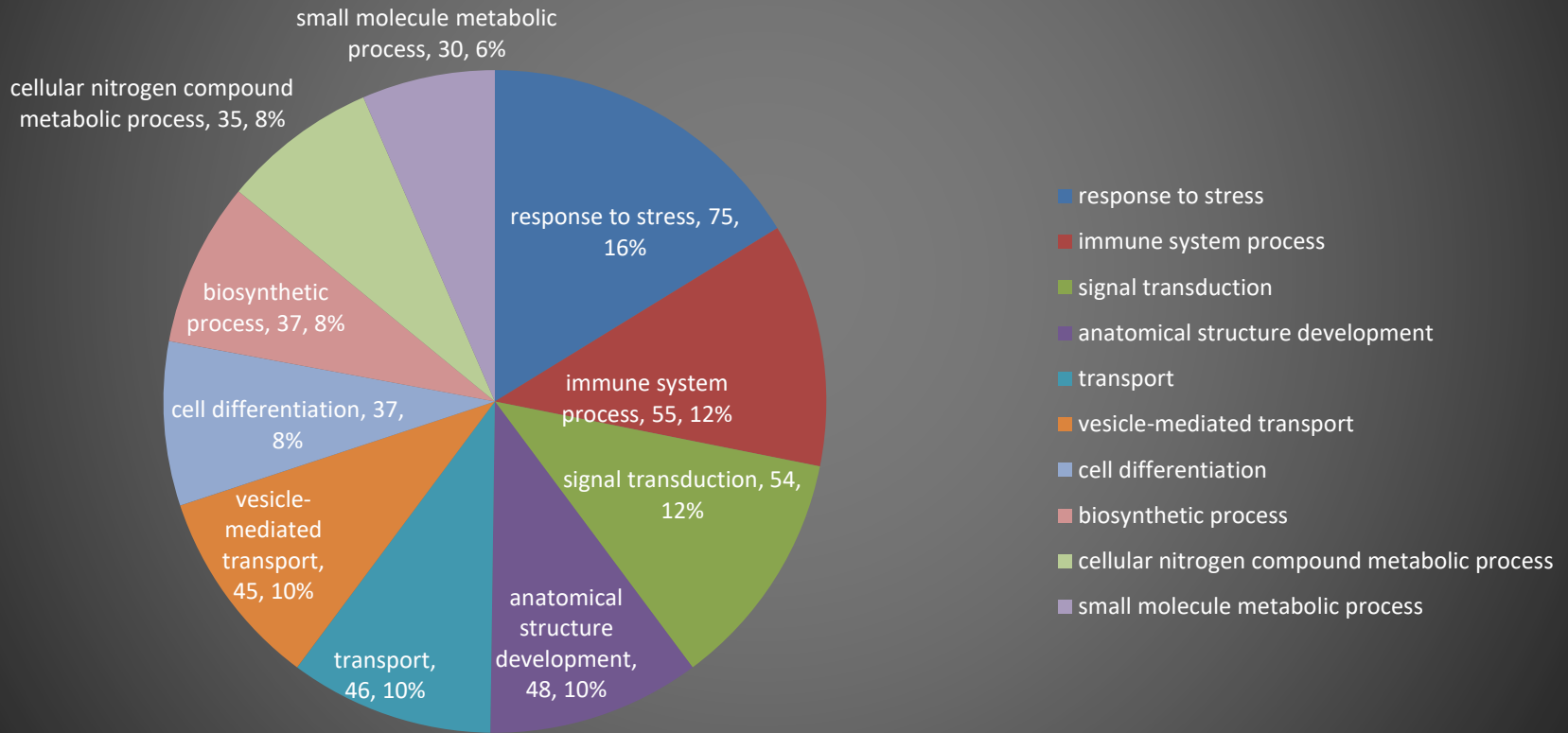


卵泡液蛋白质分子功能

- 基因本体（GO）分类表明，从蛋白质分子功能分析，具有结合功能者177种，具有酶活性者63种，具有酶调节活性者22种。

卵泡液蛋白质参与的生物学过程

biological_process



卵泡液蛋白质参与的生物学过程

- 从参与的生物学过程分析，参与运输者91种，应激反应过程者75种，免疫反应者55种，信号转导反应者54种，结构发育者48种，细胞分化、生物合成过程及细胞氮复合物代谢过程者各37种，参与小分子代谢过程者30种。但最主要的生物学过程是以活性氧为重点的应激反应

卵泡液蛋白质参与的KEGG通路

- 从蛋白质参与的主要通路分析，参与代谢通路的蛋白质最多，参与补体反应及凝血反应通路的蛋白质居第二位。

卵泡液蛋白组学小结

- 本研究提示，辅助生育周期取卵日卵泡液中蛋白质主要分子功能为结合及酶活性；参与的主要生物学过程为代谢及应激反应；除代谢通路外，补体反应及凝血反应在化学通路中具有不可忽视的地位。

卵泡液多种离子及能量代谢物质分析

- 对17例体外受精周期的患者进行长方案垂体下调及卵巢刺激，取卵日对直径大于17mm的卵泡优先进行穿刺，将第一管颜色清亮的卵泡液在捡卵后离心，留上清，对其中钠、钾、钙、镁、氯、铁、锌、磷、丙酮酸、葡萄糖、氨基酸及游离脂肪酸进行检测。

卵泡液多种离子及葡萄糖

病历号	Na ⁺ (mmol/l)	K ⁺ (mmol/l)	Ca ²⁺ (mmol/l)	Mg ²⁺ (mmol/l)	P ³⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	Fe ^{2+ (3+)} (μmol/l)	Zn ⁺⁺ (μmol/l)	葡萄糖 (mmol/l)
A560	136.00	4.20	2.01	0.95	0.93	104.00	7.50	9.64	3.48
A570	132.00	3.76	2.00	0.80	1.10	100.00	11.80	9.64	3.57
A576	135.00	4.17	1.94	0.73	1.32	102.00	7.10	9.64	4.08
A586	131.00	3.84	1.81	0.67	1.07	100.00	13.00	9.79	2.92
A595	133.00	3.93	1.83	0.62	0.87	99.00	14.60	10.55	4.06
A601	130.00	3.92	1.90	0.72	1.22	96.00	13.60	9.64	2.45
A607	133.00	4.10	1.99	0.72	1.32	102.00	9.60	8.87	2.98
A611	135.00	3.98	1.98	0.85	1.13	106.00	4.50	8.87	3.37
A612	133.00	3.71	1.86	0.87	0.97	101.00	10.60	9.18	2.48
A617	137.00	4.01	2.07	0.94	1.10	105.00	11.50	10.09	3.32
X+S	133.50±2.22	3.96±0.16	1.94±0.09	0.79±0.11	1.10±0.15	101.50±2.99	10.38±3.21	9.59±0.52	3.27±0.57
血清	135-145	3.5-5.5	2.2-2.7	0.8-1.2	0.97-1.61	96-108	10.7-27	10.7-17.7	3.9-6.1
P	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01

从上表可以看出，除K⁺、Cl⁻外，卵泡内其他离子及葡萄糖的浓度均低于血清。

卵泡液中游离脂肪酸

病历号	游离脂肪酸 ($\mu\text{mol/l}$)	妊娠结局
-----	-----------------------------	------

A576	451.45	全胚冷冻
A570	473.36	妊娠
A617	533.84	妊娠
A586	551.56	妊娠
A611	638.03	未妊娠
A598	703.07	妊娠
A607	731.42	妊娠
A610	902.74	未妊娠
A560	1736.47	未妊娠
A612	13602.11	未妊娠

$\bar{X} \pm S$ 2032.41 \pm 4082.41

血清 300.00-900.00

由于A560、A610及A612三例患者尤其是A612卵泡液游离脂肪酸水平显著高于血清值正常范围，在胚胎移植后均未妊娠；A576体外受精后将胚胎全胚冷冻，尚未进行胚胎移植；其他6例卵泡液游离脂肪酸在血清值范围之内内的患者，除A611外均获得妊娠。将卵泡液游离脂肪酸按照是否高于血清正常值范围与胚胎移植后是否妊娠进行卡方检验，卡方值5.625， $p=0.018$ 。

卵泡液氨基酸 (mg/l)

病历号	天冬氨酸	谷氨酸	天冬酰胺	丝氨酸	谷氨酰胺	甘氨酸	苏氨酸	组氨酸	丙氨酸	精氨酸	酪氨酸	缬氨酸	蛋氨酸	色氨酸	γ 氨基丁酸	苯丙氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	赖氨酸	脯氨酸
A560	2.8	16.2	7.1	9.0	112.0	11.8	10.4	7.5	48.5	9.5	7.1	16.0	3.2	5.1	1.4	7.6	4.0	7.4	13.6	17.3
A586	<0.5	28.6	<0.5	3.6	49.9	10.5	13.8	9.2	43.1	9.7	6.5	19.3	1.9	7.8	1.2	6.5	4.4	8.7	14.3	25.1
A611	3.0	14.1	7.6	13.1	98.9	13.4	16.7	8.4	45.4	10.1	8.0	19.8	3.2	7.9	1.3	7.4	5.9	8.9	12.2	17.9
血清	<0.8	2.1-0-	9.3-	8.7-	87.1-	9.8-	9.5-	9.3-	16.0-	10.8-	8.5-	17.8-	3.0-	7.6-	ND	7.4-	5.8-	12.9-	15.5-	23.0-
正常值		28.3	18.5	20.6	131.0	24.4	24.7	19.2	47.0	26	17.4	37.7	6.6	16.1		14.5	13.8	23.6	42.1	32.3

卵泡液中未能测出鸟氨酸及半胱氨酸，明显低于血清正常值。另外，由于例数太少，不能进行统计学分析。

卵泡液丙酮酸 ($\mu\text{mol/l}$)

-
- ---
- 病历号 丙酮酸检测值
- ---
- A577 317
- A580 328
- A585 287
- A602 324
- $\bar{X} \pm S$ 314.00 ± 18.57
- 血清正常值 30.00-100.00
- ---
-

- 由于例数太少，不能对检测数据进行统计学处理。但从表中数据可以看出，所有4例患者卵泡液中丙酮酸浓度均显著高于血清正常值

卵泡液多种离子及能量代谢物质分析小结

- 与血清正常值相比，卵泡液中多种离子、多种氨基酸及葡萄糖浓度显著降低，该差异可能源自于血液成分透过卵泡-血液屏障时的选择性或/及卵泡代谢的特殊性。卵泡液中游离脂肪酸浓度过高对妊娠结局有不利影响，有可能作为妊娠的预测指标。

卵泡液中性激素及调控因子分析

- 对17例体外受精周期的患者进行长方案垂体下调及卵巢刺激，取卵日对直径大于17mm的卵泡优先进行穿刺，将第一管颜色清亮的卵泡液在捡卵后离心，留上清，对其中的性激素及多种调控因子进行检测。

卵泡液中性激素

- -----
- 病历号 E₂(pg/ml) P(ng/ml) T(ng/dl) PRL(ng/ml) FSH(mIU/ml) LH(mIU/ml)
- -----
- A577 >48540 >400 406.10 29.18 11.04 0.04
- A580 >48540 >400 692.75 39.56 2.93 0.05
- A585 >48540 >400 405.83 60.77 5.41 0.05
- A602 >48540 >400 1163.37 14.61 6.28 10.08
- -----
- 除雌二醇及孕激素呈高浓度外，睾酮水平也显著升高，提示睾酮对卵泡成熟具有意义。

卵泡液调控因子

病历号	IGF1 (ng/ml)	IGF2 (pg/ml)	TRF (g/l)	AMH (ng/ml)	Insulin (mIU/ml)	GDF9 (pg/ml)	VEGF (pg/ml)	ACVA (pg/ml)	FGF8 (pg/ml)	LIF (pg/ml)	BDNF (ng/ml)	BMP6 (pg/ml)	INHA (pg/ml)	INHb (pg/ml)	BTC (ng/ml)	EREG (pg/ml)	AREG (pg/ml)	Fetuin A (ng/ml)	β cellulin (ng/ml)	EGF	BDNF	NGF	BMP15
A560	59.00	485419.56	1.46	1.42	3.94	455.57	1141.22	1034.79	ND	66.18	ND	ND	68.58	721.89	0.53	1557.36	186.52	279146.15	0.53	ND	ND	ND	ND
A570	<50.00	419151.59	1.60	2.02	0.40	194.95	485.67	3.45	ND	16.86	ND	ND	58.68	567.56	0.45	2330.30	66.29	522392.81	0.45	ND	ND	ND	ND
A576	50.00	828155.69	1.52	19.42	4.06	281.43	665.35	2138.71	ND	22.54	ND	916.77	147.66	1224.26	0.40	2751.37	64.20	565728.60	0.40	ND	ND	ND	ND
A586	85.20	886497.77	1.64	2.04	5.02	163.60	593.06	6.34	ND	45.40	ND	ND	129.22	1237.69	0.24	1551.59	78.49	742694.17	0.24	ND	ND	ND	ND
A595	60.40	未测	2.36	1.02	9.46	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测
A601	97.60	未测	2.02	1.96	2.68	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测	未测
A607	68.00	715471.94	2.22	1.62	1.30	576.82	606.34	204.50	ND	27.69	ND	191.36	70.72	587.62	0.20	1886.28	69.26	556353.05	0.20	ND	ND	ND	ND
A611	81.40	1062525.24	2.38	15.42	0.92	324.67	393.85	1250.93	ND	46.13	ND	137.81	183.30	1704.61	0.11	2701.57	54.41	463304.66	0.11	ND	ND	ND	ND
A612	70.40	571214.92	1.62	1.06	2.66	238.36	597.91	7.61	ND	29.97	ND	881.31	181.47	1383.33	0.32	2446.56	94.73	492747.80	0.32	ND	ND	ND	ND
A617	73.40	934196.94	1.92	3.90	0.98	137.02	724.71	7.82	ND	25.34	ND	150.85	92.23	831.87	0.26	2077.68	106.19	671754.06	0.26	ND	ND	ND	ND
A598	未测	650322.68	未测	未测	未测	146.10	1244.65	6.76	ND	46.55	ND	148.70	125.93	1379.07	0.23	1640.19	172.65	640075.64	0.23	ND	ND	ND	ND
A610	未测	1153940.35	未测	未测	未测	331.47	2374.35	31.04	ND	22.80	ND	943.53	102.46	1116.9	0.27	4270.30	374.84	564105.37	0.27	ND	ND	ND	ND

- 本研究中，病例A570、A 586、A598、A617妊娠 病例中，Fetuin A均高于522392ng/ml，均值为644229.17ng/ml;在病例A560、A607、A610、A611、A612未妊娠病例中，除病例A610Fetuin A浓度为564105.37ng/ml，病例A607为556353.05ng/ml外，其余均低于492747.8ng/ml,均值为471131.41 ng/ml。虽然样本很少，不宜进行统计学处理，但其均值具有明显差异。Fetuin A存在于血清及卵泡液中，有助于防止卵子透明带硬化。因此，在卵泡培养中，许多学者在培养液中添加该成分。本研究中妊娠病例可能得益于卵泡液中较高浓度的Ftuin A。

卵泡液激素及调控因子小结

- 卵泡液中 E_2 、P及T呈显著高浓度，对卵泡发育具有重要意义
- 卵泡液中Fetuin A高浓度可能对卵子受精后胚胎发育潜能有重要影响

本研究限制因素

- 病例数较少，某些指标不能进行统计学处理，因此，对其意义不能进行充分认识
- 所移植胚胎不一定来源于被检测卵泡液所在卵泡中卵子，检测指标对妊娠结局的预测受到限制

欢 迎 指 导