·短篇论著·

颗粒细胞氧化应激及凋亡对胚胎发育及体外受精–胚胎移植结局的影响

Effects of oxidative stress and apoptosis of granulosa cells on embryonic development and in vitro fertilization-embryo transfer outcomes

马向薇，肖育红，曹诗悦
（中国人民解放军北部战区总医院和平院区生殖医学科，沈阳 110015）

摘要 选取2023年3月至2024年3月于我科行体外受精–胚胎移植（IVF-ET）的不孕症患者60例进行研究，结果显示，妊娠组与未妊娠组优胚率、凋亡率、丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）水平均存在统计学差异（$P < 0.05$）；凋亡率与获卵数、成熟卵子数，MDA与受精率均显著相关（$P < 0.05$），SOD与IVF-ET相关指标无明显相关（$P > 0.05$）。颗粒细胞氧化应激可加快细胞凋亡，影响卵子发育，对不孕症患者妊娠结局产生负面影响。

关键词 颗粒细胞；氧化应激；胚胎发育；体外受精–胚胎移植
中图分类号 R711 **文献标志码** A **文章编号** 0258–4646（2025）07–0664–03
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250704.1631.018
DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.07.017

不孕症是指经过1年以上时间未采取任何避孕措施，且性生活正常的情况下却未能成功妊娠的症状。治疗不孕症一般采取输卵管或盆腔整形手术等手段，对于手术治疗后仍未自然妊娠的患者，临床多建议采用体外受精–胚胎移植（in vitro fertilization-embryo transfer，IVF-ET）技术提高临床妊娠率[1]。目前，临床上认为颗粒细胞氧化应激与行IVF-ET治疗不孕症患者的妊娠率之间存在一定联系[2]。氧化应激状态是指人体内机体活性氧（reactive oxygen species，ROS）含量过高或是人体本身抗氧化能力下降导致对ROS清除不足，造成氧化以及抗氧化系统失衡，引起细胞氧化损伤的病理过程[3]。临床上主要通过丙二醛（malondialdehyde，MDA）以及超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）监测氧化应激状态，本研究拟探讨颗粒细胞氧化应激及凋亡对胚胎发育及IVF-ET结局的影响。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取2023年3月至2024年3月于我科行IVF-ET的不孕症患者60例，均采用长方案或拮抗剂方案助排卵，年龄28~34岁，平均年龄（31.27 ± 2.24）岁，不孕年限2.4~3.5年，平均不孕年限（2.93 ± 0.31）年。本研究经中国人民解放军北部战区总医院医学伦理委员会审批通过，患者均知情并签署同意书。

1.2 方法

长方案患者于月经周期的第18~22天开始，利用促性腺激素释放激素激动剂（gonado-tropin-releasing hormone agonist，GnRH-a）肌肉注射进行垂体降调节（1次/d），持续治疗2周后，检测患者血液中的雌激素黄体生成素、促卵泡生成素水平，并用三维超声测量子宫内膜厚度，明确是否满足降调标准。若观察患者黄体生成素<5 U/L，雌二醇<180 pmol/L，促卵泡生成素<5 U/L，子宫内膜厚度<5 mm，且未发现功能性囊肿，则给予患者促性腺激素（gonadotropin，Gn）进行卵巢刺激，初始注射剂量为100~300 U/d，注射后利用超声观察卵泡生长情况，并适当调节卵泡生长速度。拮抗剂方案患者于月经周期的第2~4天开始注射Gn，初始剂量为100~200 U/d，根据注射后患者血清激素水平及超声下卵泡生长情况，灵活添加GnRH。当患者优势卵泡直径>12 mm时，给予GnRH拮抗剂皮下注射（0.25 mg/d），持续注射至扳机日。若超声发现患者至少存在2个直径>18 mm或至少存在3个直径>17 mm的卵泡，则给予患者重组人

基金项目：军委后勤保障卫生局计生课题（21JSz11）
作者简介：马向薇（1978–），女，副主任技师，本科.
通信作者：肖育红，E-mail：adbook2023@163.com
收稿日期：2025–02–26
网络出版时间：2025–07–07 10:03:54

绒促性素250 μg或人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin,HCG)4 000 U。在扳机日后约36 h实施超声引导下穿刺取卵术,取卵结束后通过阴道给予黄体酮胶囊(600 mg),并实施常规IVF授精。在体外受精后第3天胚胎卵裂球达到4个细胞以上,胚胎分级1~2级,则进行移植或冷冻,作为可利用胚胎,其余胚胎作为囊胚培养。在IVF-ET结束后采集卵内剩余卵泡液,检测SOD及MDA的表达水平。

1.3　观察指标

在移植后的第28天患者进行超声检查,确定患者是否妊娠。根据妊娠情况进行分组,其中妊娠组38例,未妊娠组22例。观察2组患者胚胎发育情况及氧化应激指标。在IVF-ET结束后采集卵内剩余卵泡液,行红细胞分离后获取颗粒细胞悬浮液,离心,使用BD FACS Canto Ⅱ流式细胞分析仪(杭州德适生物科技股份有限公司)进行细胞凋亡率检测,用硫代巴比妥酸法对SOD、MDA水平进行测定,SOD、MDA试剂盒购自上海恒远生物技术有限公司。观察凋亡率、氧化应激指标与IVF-ET相关指标(获卵数、成熟卵子数、受精率、卵裂率、优胚率)之间的相关性,其中,优胚率(%)=优质胚胎数/受精卵数 × 100。

1.4　统计学分析

采用SPSS 22.0进行统计分析,计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,采用t检验进行比较;计数资料以率(%)表示,采用χ^2检验进行比较;IVF-ET结局与氧化应激指标的相关性采用Spearman相关分析,$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　2组IVF-ET相关指标比较

2组优胚率、凋亡率、MDA、SOD等IVF-ET相关指标比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

2.2　凋亡率、氧化应激指标与IVF-ET相关指标的相关性分析

相关性分析结果显示,凋亡率与获卵数、成熟卵子数密切相关,MDA与受精率密切相关(P均<0.05);而SOD与IVF-ET相关指标间均无明显相关性($P > 0.05$),见表2。

表1　2组IVF-ET相关指标比较

组别	n	优胚率(%)	凋亡率(%)	MDA(nmol/mg)	SOD(U/mL)
观察组	38	0.37 ± 0.19	24.76 ± 5.83	1.13 ± 0.32	4.29 ± 0.73
对照组	22	0.67 ± 0.22	18.98 ± 4.58	1.71 ± 0.46	3.51 ± 1.04
t		5.561	3.987	5.747	3.404
P		<0.001	<0.001	<0.001	0.001

表2　凋亡率、氧化应激指标与IVF-ET相关指标之间的相关性分析

项目	凋亡率		MDA		SOD	
	r	P	r	P	r	P
年龄	−0.104	0.436	−0.014	0.897	−0.084	0.521
获卵数	−0.275	0.043	−0.214	0.105	0.023	0.876
成熟卵子数	−0.317	0.018	−0.102	0.473	0.043	0.729
受精率	−0.052	0.674	−0.418	0.003	0.132	0.328
卵裂率	0.093	0.485	0.076	0.574	0.012	0.916
优胚率	−0.307	0.024	−0.139	0.312	0.054	0.681

3　讨论

女性生殖细胞的丢失与细胞凋亡之间存在紧密联系,颗粒细胞的凋亡在这一过程之中发挥重要作用[4]。卵母细胞的凋亡是卵泡闭锁的开始阶段,颗粒细胞凋亡则是导致卵泡出现退化的主要原

因[5]。目前，研究[6]认为颗粒细胞的凋亡与获卵数之间存在一定联系，颗粒细胞的凋亡可能会导致卵泡闭锁，从而减少成熟卵子数量。

本研究中妊娠组与未妊娠组在优胚率、凋亡率等方面均存在统计学差异（$P < 0.05$）。颗粒细胞凋亡与卵子质量之间也存在紧密联系，在凋亡率偏高的情况下，卵子发育潜能也会受到不良影响，从而改变妊娠结局。在氧化应激反应发生时，患者体内积蓄过多ROS会对细胞大分子造成直接损伤，导致DNA及线粒体DNA发生突变或裂解，使细胞内部重要酶失活；且细胞膜脂质发生过氧化，直接改变膜流动性，同时蛋白液会在此状态之下受到氧化应激反应损伤，导致重要酶失活，从而引发细胞凋亡[7-8]。在本研究中，妊娠组与未妊娠组在MDA、SOD等方面均存在明显差异（$P < 0.05$）。这表明未妊娠患者多处于氧化应激以及抗氧化失衡状态，因此，初步推断颗粒细胞氧化应激是引起颗粒细胞凋亡的主要原因之一。在培养卵泡的过程中，加入适量抗氧化剂能够在一定程度上抑制细胞凋亡进程，这一现象能够间接证明氧化应激会导致细胞凋亡。本研究结果显示，凋亡率与获卵数、成熟卵子数之间显著相关，MDA与受精率显著相关（P均< 0.05），SOD与IVF-ET相关指标均不相关（$P > 0.05$）。刘忠慧等[9]发现，SOD水平与妊娠率之间并无显著相关性，刘景等[10]研究发现，卵泡液中的SOD水平与受精率、胚胎质量之间并无显著相关性，可能是因为获卵数、受精率、胚胎质量等受多种因素的影响，而SOD只是其中的一个因素，其单独的作用并不明显。部分研究[11-13]发现，为行IVF-ET的不孕症患者提供适量叶酸或锌可在一定程度上改善患者ROS水平和氧化应激状态，从而提高卵子质量水平和妊娠成功率，这进一步提示了ROS可能会引起卵子质量的下降，而颗粒细胞氧化应激则会直接降低卵子的受精能力，影响妊娠结局。对氧化应激状态下的不孕症患者而言，颗粒细胞中生成的过量ROS会直接加速细胞本身的凋亡速度，使卵子失去颗粒细胞的保护，从而破坏体内激素的调节能力，影响卵子的正常发育。

综上所述，颗粒细胞氧化应激会加快细胞本身的凋亡，提高细胞凋亡率，降低卵泡质量，从而对卵子发育造成负面影响，导致不良妊娠结局。

参考文献：

[1] 孙宁宇，尹萍，路璐，等. 脱颗粒细胞后卵胞浆内单精子注射时间对早期胚胎发育的影响[J]. 中国性科学，2023，32（1）：48-51. DOI：10.3969/j.issn.1672-1993.2023.01.012.

[2] 甄雪蓉，贾俊龙，王玲. 人卵丘颗粒细胞及胚胎培养液中线粒体的研究进展[J]. 生殖医学杂志，2023，32（2）：301-304. DOI：10.3969/j.issn.1004-3845.2023.02.023.

[3] 罗婷，韦莉莉，周文婷，等. 颗粒细胞线粒体DNA拷贝数用于评估胚胎发育潜能的临床价值[J]. 智慧健康，2023，9（17）：46-49. DOI：10.19335/j.cnki.2096-1219.2023.17.011.

[4] 许相洋，黄煌，林迳苍，等. 人卵丘颗粒细胞ADAMTS-1、GDF-9表达水平与IVF胚胎学结局的相关性分析[J]. 局解手术学杂志，2022，31（3）：244-247. DOI：10.11659/jjssx.09E021099.

[5] 周礼香，张若鹏，董兆梅. 颗粒细胞中干细胞因子对卵母细胞及胚胎质量的评估[J]. 中国性科学，2022，31（10）：65-68. DOI：10.3969/j.issn.1672-1993.2022.10.018.

[6] 赵新伟，马建新，赵秀萍，等. 苍附导痰汤联合穴位埋线对PCOS患者颗粒细胞凋亡及IVF-ET结局的影响[J]. 中国性科学，2023，32（7）：112-116. DOI：10.3969/j.issn.1672-1993.2023.07.028.

[7] JUAN CA，PÉREZ DE LA LASTRA JM，PLOU FJ，et al. The chemistry of reactive oxygen species（ROS）revisited：outlining their role in biological macromolecules（DNA，lipids and proteins）and induced pathologies[J]. Int J Mol Sci，2021，22（9）：4642. DOI：10.3390/ijms22094642.

[8] 赵智慧，翟秀丽，王晶，等. Ghrelin介导HO-1/PGC-1α信号通路调节线粒体氧化应激改善大鼠创伤性脑损伤.中国医科大学学报，2025，54（4）：351-358. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.04.012.

[9] 刘忠慧，黄鑫，郝翠芳. 氧化应激对多囊卵巢综合征患者体外受精-胚胎移植结局的影响[J]. 生殖医学杂志，2014，23（12）：976-980. DOI：10.3969/j.issn.1004-3845.2014.12.011.

[10] 刘景，李艳萍. 颗粒细胞氧化应激及凋亡对IVF-ET结局的影响[J]. 中南大学学报（医学版），2010，35（9）：990-994. DOI：10.3969/j.issn.1672-7347.2010.

[11] 程立立，刘少华，刘珊，等. 卵母细胞分泌因子在卵巢储备功能减退患者中的表达及对胚胎发育的影响[J]. 检验医学与临床，2023，20（4）：460-465，469. DOI：10.3969/j.issn.1672-9455.2023.04.007.

[12] JANCAR N，KOPITAR AN，IHAN A，et al. Effect of apoptosis and reactive oxygen species production in human granulosa cells on oocyte fertilization and blastocyst development[J]. J Assist Reprod Genet，2007，24（2/3）：91-97. DOI：10.1007/s10815-006-9103-8.

[13] ARTINI PG，SCARFÒ G，MARZI I，et al. Oxidative stress-related signaling pathways predict oocytes' fertilization in vitro and embryo quality[J]. Int J Mol Sci，2022，23（21）：13442. DOI：10.3390/ijms232113442.

（编辑　于　溪）