

原 著

子宮內膜異位症患者腹膜滲出液的胚胎毒性因子

王怡芬 林楠傑 曾啓瑞 簡立維 張淑如
陳庵君 吳振森* 鄭慧文* 陳朝洋*

摘 要

本研究的目的是評估子宮內膜異位症(endometriosis)患者之腹膜滲出液(peritoneal fluid)對體外培養之兩細胞期小白鼠胚胎發育的影響,並比較此腹膜滲出液中不同成分的胚胎毒性。

以子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液加入兩細胞期小白鼠胚胎的體外培養系統中,72小時後,與對照組比較發育達囊胚期(blastocyst)的胚胎數目。進一步再利用超過濾法(ultrafiltration)分離此腹膜滲出液的成分,我們根據分子量及濃度分成四個實驗組:分子量大於50 kd(A組:10%;B組:20%)及分子量小於50 kd(C組:10%;D組:20%)。每實驗組的兩細胞期胚胎發育情形皆與對照組作比較。

結果在加有子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液的培養液中,長成囊胚的胚胎比例(72%)和對照組(88%)比較,呈現顯著的降低($p < 0.01$)。經超過濾分離之後,D組(分子量小於50 kd,濃度20%)長成囊胚的胚胎比例(74%)亦呈現顯著的下降($p < 0.01$)。

關鍵詞:子宮內膜異位症,腹膜滲出液,胚胎毒性。

雖然子宮內膜異位症(endometriosis)為不孕症(Infertility)婦女患者常見的疾病,然而子宮內膜異位症和不孕症之間的因果關係至今仍不清楚。因為一般推測腹膜滲出液(peritoneal effusion, peritoneal fluid)會進入輸卵管腔,所以可能藉由調整胚胎周遭的顯微環境來影響早期的生殖過程。

近來許多研究報告的爭議集中於局部腹膜液因子(local peritoneal factor)在子宮內膜

異位症與不孕症間之因果關係中所伴演的角色,而我們設計本實驗的目的即為了進一步探討:子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液對體外培養之小白鼠早期胚胎發育的影響;並以超過濾法(ultrafiltration)將腹膜滲出液的內含物分離為不同分子量的兩組(分子量大於50 kd及分子量小於50 kd),且分別用不同濃度(10%及20%)加入胚胎培養系統中,以期評估子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液對小白鼠早

臺北醫學院附設醫院 婦產部 臺北醫學院 生殖醫學研究中心

*臺北醫學院 藥學研究所

民國八十三年一月十二日受理

期胚胎的毒性及其具毒性之成分的主要分子量範圍。

器材與方法

A. 培養液製備：

1. DPBS: Dulbecco's phosphate-buffered saline (Gibco).
2. BSA-HTF: 在取兩細胞期胚胎前一天自冷藏庫取出 HTF (human tubal fluid) 作為溶劑，沖泡成含 1% BSA (bovine serum albumin, Sigma) 的溶液，並以 0.2 μ m Microfilter (Minisart, Sartorius) 過濾除菌。

以上二者皆置於 37°C, 5% CO₂ 的培養箱中過夜，使其酸鹼度穩定，以備隔天使用。

B. 兩細胞期小白鼠胚胎之體外培養系統：

1. 對照組即使用前述 BSA-HTF 來培養兩細胞期胚胎，簡記為 Control。

2. 實驗組設有五組：

- a. 取子宮內膜異位症病人腹膜滲出液 (Endometriosis, peritoneal fluid, E-PF) 加入培養液 BSA-HTF 中，泡成 10%，簡記為 E-PF 10%。

- b. 另使用超過濾法 (Ultrafiltration) 將 E-PF 依分子量大小分離成 MW > 50 kd 及 MW < 50 kd 兩部份，再分別加入培養液 BSA-HTF 中，泡成 10% 及 20% 作為實驗組 A.~D. 所用之培養液，即：

A. E-PF frc., > 50 kd, 10% (frc., fraction);

B. E-PF frc., > 50 kd, 20%;

C. E-PF frc., < 50 kd, 10%;

D. E-PF frc., < 50 kd, 20%.

3. E-PF 的分離—超過濾法：

取子宮內膜異位症病人腹膜滲出液置入恆溫槽 56°C, 30 分鐘 (使內含的 complement 變性)，再以 3,000 rpm 離心 5 分鐘；得到的上

清液取 5 ml 放入 10 ml stirred cell (Amicon)，其內裝置 MW 50,000 的過濾膜 (XM 50, Amicon)；

將 stirred cell 放在 magnetic stirrer 上攪拌並連接氮氣，以 10-15 psi 的壓力推動腹膜滲出液通過過濾膜；收集濾液 4 ml (MW < 50 kd)，過濾膜上則殘餘 1 ml (MW > 50 kd)；

以 Gel Permeation-HPLC 及 Reverse Phase-HPLC (C4) 分析 MW > 50 kd 及 MW < 50 kd 兩個部份的組成。

C. 誘導母鼠排卵與兩細胞期胚胎的取出及培養：

1. 取 6~8 週大的 ICR 母鼠 (台大實驗動物中心)，以腹腔內注射 (IP) 0.1 cc, 10 I. U. PMSG (pregnant mare serum gonadotropin, Serono)，並於 48 小時後再 IP 注射 0.1 cc, 10 I. U. hCG (human chorionic gonadotropin, Serono)；

2. 每隻母鼠在注射 hCG 後，配以兩隻 8~10 週大的 ICR 公鼠 (台大實驗動物中心) 共處一籠過夜，第二天可見母鼠陰部 vaginal plug，代表完成交配；

3. 將成功交配的母鼠於注射 hCG 36 小時時，以頸椎脫臼法 (cervical dislocation) 殺死，取出其兩側輸卵管，置於盛有 DPBS 的培養皿中，在解剖顯微鏡下用 30 號針頭戳破輸卵管，沖出並尋找成功分裂至兩細胞期的胚胎，以玻璃滴管 (已事先在酒精燈焰上將尖端拉長以縮小其管徑) 收集至盛 BSA-HTF 的培養皿中清洗，再隨機分配至盛有對照、實驗組培養液的各個培養皿中，置於 37°C, 5% CO₂ 的培養箱內培養，每 24 小時觀察一次並記錄。發育狀況的評估乃以取兩細胞期胚胎後 72 小時，成功發育成囊胚 (blastocyst) 的數目 (百分比) 來作判斷、比較；並以卡方檢定 (Chi-Square test, X²-test) 檢查是否有

顯著差異存在。

未達顯著差異。

結果

A. E-PF 的超過濾法分離：

1. 對照子宮內膜異位症病人腹膜滲出液的 GP-HPLC 色層圖 MW > 50 kd 及 MW < 50 kd 確實有分離。
2. 對照子宮內膜異位症病人腹膜滲出液的 RP-HPLC 色層圖 MW > 50 kd 部份濃縮 5 倍，MW < 50 kd 部份與未分離的腹膜滲出液濃度相當。

B. 兩細胞期小白鼠胚胎之體外培養：

實驗結果見 Table 1.；對照組的 223 個兩細胞期胚胎在取出後 24 小時，到達 4~8 細胞期者有 206 個(佔 92.4%)；在取出後 48 小時，到達桑椹期(morula)者有 200 個(佔 89.7%)；在取出後 72 小時，到達囊胚期(blastocyst)者有 196 個(佔 87.9%)；餘類推。

在使用卡方檢定後，實驗組 E-PF 10% 與對照組比較呈現顯著差異 ($p < 0.01$)。使用超過濾法將 E-PF 分離後，D 組 E-PF frc., < 50 kd, 20% 與對照組比較亦呈現顯著差異 ($p < 0.01$)；其餘三組中，僅 B 組 E-PF frc., > 50 kd, 20% 及 C 組 E-PF frc., < 50 kd, 10% 兩組差異較大 ($0.05 < p < 0.1$)，但皆

討論

雖然子宮內膜異位症(endometriosis)近來為不孕症(infertility)研究的重要標題，但其病理機轉仍未確立；同時，許多研究結果指出：子宮內膜異位症的婦女的腹膜滲出液(peritoneal fluid; PF)於導致不孕症的過程中可能扮演了重要的角色⁽¹⁻¹²⁾；然而，並不是所有的報告都同意此『子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液對早期胚胎發育有負面影響』的觀念^(13,14)。產生如此矛盾的研究結果報告，可能是因樣本數不同、缺乏樣本個體的同質性(homogeneity)、樣本個體之月經週期的不同，及生物分析的變異(bioassay variability)所致。

在我們的實驗裏，加入 10% 子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液，造成對早期胚胎的變性(degeneration)發育達顯著差異 ($p < 0.01$)；此實驗結果和 Dr. Morcos 及 Dr. Kuo 的報告一致^(6,15)。

至於子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液在不孕症致病機轉中扮演了何種角色，至今仍未定論。根據已發表的報告顯示：將子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液以腹膜內注射後，會減少卵子的數目⁽¹⁶⁾，而機制未知。另者，精子的被吞噬及活化的巨噬細胞(activated macro-

Table 1. The development of the 2-cell embryos of ICR mouse.

	0 hr (2 cells)	24 hrs (4-8 cells)	48 hrs (morula)	72 hrs (blastocysts)
Control	223	206 (92.4%)	200 (89.7%)	196 (87.9%)
E-PF 10%	185	143 (77.3%)	139 (75.1%)	133 (71.9%)*
E-PF frc.,				
A. > 50 kd, 10%	187	182 (97.3%)	174 (93.0%)	164 (87.7%)
B. > 50 kd, 20%	172	165 (95.9%)	155 (90.1%)	139 (80.8%)△
C. < 50 kd, 10%	178	174 (97.8%)	160 (89.9%)	146 (82.0%)△
D. < 50 kd, 20%	191	182 (95.3%)	167 (87.4%)	141 (73.8%)*

* $p < 0.01$ versus the control group.

△ $0.05 < p < 0.1$ versus the control group.

phage)分泌至腹膜內環境的細胞毒性因子(cytotoxic factor)也被提出可能是致因^(17,18)。而多形核性白血球(polymorphonuclear leukocytes)分泌的許多物質也被證明對未著床前的鼠胚胎發育有阻斷作用⁽¹⁹⁻²²⁾。再一次強調的是,也有其他的研究並未能重複證明子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液對受精過程或胚胎發育有負面的影響⁽¹⁴⁾。

於本實驗中,我們將子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液應用超過濾法(ultrafiltration)將其依分子量分離成二部份:分子量大於50 kd 及小於50 kd 的腹膜滲出液成分,以期找出此腹膜滲出液對早期胚胎發育有毒性作用物質的分子量範圍;又因這些未知之胚胎毒性物質的作用可能隨濃度而有所變化,所以我們分別以10%及20%的濃度來檢測胚胎發育的狀況。本實驗以卡方檢定來比較各實驗組中胚胎

由兩細胞期長至囊胚期的比例:發現各組長成囊胚期的比例皆有降低趨勢,但只有分子量小於50 kd、濃度20%的腹膜滲出液實驗組達胚胎退化(degeneration and fragmentation)的顯著差異($p < 0.01$)。

根據近來對腹膜滲出液中所含成分的研究顯示:子宮內膜異位症會增加腹膜滲出液中前列腺素(prostaglandins)比例,然而並非所有研究皆持相同結論⁽²³⁻²⁸⁾;這可能是因分析方法不同、前列腺素的高度不安定及易被代謝之故^(28,29)。不論事實為何,這些曾被測出在子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液中有含量增加的前列腺素類(prostanoids)包括有 thromboxane B₂、6-keto-PGF 1 α , 及 PGF 2 α 。另外如補體成分(complement components)中的 C_{3c}及 C₄,與 cytokine 類的 interleukin-1、tumor necrosis factor、interferon- γ 等,在

Table 2. Substances investigated in PF.

-
1. Steroids
 - a. E
 - b. P
 2. PGs
 - a. Thromboxane B₂ *
 - b. 6-keto-PGF 1- α *
 - c. PGF 2- α *
 3. Complement components C_{3c} * and C₄ *
 4. Cytokines
 - a. IL-1 *
 - b. TNF *
 - c. IL-6
 5. GF
 - a. EGF
 - b. M-CSF
 6. Fibronectin
 7. Plasminogen activator activity
 8. Substance P
 9. PRL
 10. Inhibin
 11. Cholesterol
 12. Albumin
-

*Compounds reported to be elevated in the PF from patients with endometriosis⁽⁴⁰⁾.

子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液中也有此類物質含量上升的研究報告發表^(24,30-33)；同樣的，並非所有的研究者都同意 cytokine 類物質的活性有增加的趨勢^(13,34)。我們將腹膜滲出液的成分列於 Table 2。

根據我們的實驗結果：只有分子量小於 50 kd、濃度 20% 的腹膜滲出液實驗組的胚胎發育不良情形有達顯著差異 ($p < 0.01$)；而分子量小於 50 kd、濃度 10% 的腹膜滲出液實驗組雖有胚胎發育不良現象，但未達顯著差異 ($0.05 < p < 0.1$)；至於分子量大於 50 kd 之腹膜滲出液的兩組 (10%，20%) 則未見胚胎發育不良達顯著差異的現象。

最近的一些研究報告指出：子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液中的某些 cytokine 類物質可能具有胚胎毒性，如 interleukin-1 及 tumor necrosis factor 對於與輸卵管細胞共同培養 (coculture) 的胚胎便有和劑量相關的直接毒性^(30,32)；但另有研究指出：這些 monokine interleukin-1 及 tumor necrosis factor 只有在劑量很高的情形下才可見達顯著差異的胚胎毒性⁽³⁵⁾。再者，interferon- γ 則會抑制胚胎滋養層細胞 (trophoblast) 的增生⁽³⁶⁾。此外，尚有研究報告顯示：prostaglandin E 2 對於未共同培養的胚胎有直接抑制發育的作用^(15,37)；然而，並非所有研究者皆同意子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液中的 cytokine 活性有顯著的提高⁽¹³⁾。

至於 cytokine 類物質可能影響早期胚胎發育的理論機制，一般認為：1) interleukin-1 刺激 T 細胞製造 lymphokines，其中最重要的是 interleukin-2；而 interleukin-2 又促進其他 T 細胞及自然殺手細胞 (natural killer cell) 的增生，進而可能造成子宮內膜異位症患者的不孕⁽³⁰⁾。2) Cell-mediated cytotoxic effects 直接傷害胚胎⁽³⁸⁾。3) Interleukin-1 刺激 B 細胞的增生及抗體的製造，因此在子宮內膜異位症患者的血清中其對抗子宮內膜、卵巢、theca cell 及 granulosa cell 的自體抗體

(autoantibody) 數量怕有增加的趨勢⁽³⁹⁾。

由我們的實驗結果顯示：子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液對早期胚胎發育有顯著的變性作用，其毒性可能主要位於分子量小於 50 kd 的物質，而分子量小於 50 kd 的腹膜滲出液物質則包括有許多 cytokine。而小於 50 kd、濃度 10% 的腹膜滲出液實驗組雖然有胚胎發育不良的趨勢，但未能有顯著差異 ($0.05 < p < 0.1$)，我們推測可能是因：依分子量分離腹膜滲出液的過程中，物質可能有所漏失；或這些小於 50 kd 的物質活性容易隨時間衰變，以致未見其顯著的毒性；或者因為子宮內膜異位症患者之腹膜滲出液的胚胎毒性作用也有少部份是由於分子量大於 50 kd 的物質所造成；此外，也可能因其胚胎毒性作用須在大於 50 kd 及小於 50 kd 之具毒性物質同時存在才更有加成作用。以上的推論，仍須進一步的實驗來證明。

實驗的最終目的，是希望能進一步探討子宮內膜異位症與不孕症間的因果關係。就其腹膜滲出液的胚胎毒性方面，我們實驗的結果顯示：分子量小於 50 kd 的物質具有較顯著的胚胎毒性。我們希望能找出子宮內膜異位症導致不孕的原因，進而藉由醫藥治療或人工生殖技術的改良，以期造福更多的不孕夫婦。

致謝

感謝國科會提供全部研究經費。本研究之計畫編號為 NSC 83-0115-C 038-01-003 B 和 NSC 83-0115-C 038-01-004 B。

參考文獻

1. Drake TS, Metz SA, Grumert GM, et al.: Peritoneal fluid volume in endometriosis. *Fertil Steril* 34; 280-1, 1980.
2. Syrop CH, Halme J: Cyclic change of peritoneal fluid parameters in normal and in-

- fertile patients. *Obstet Gynecol* 69; 416-8, 1987.
3. Marotta L, Badawy SZA: Peritoneal fluid and pregnancy occurrence. *Fertil Steril* 48; 700-1, 1987.
 4. Chacho KJ, Chacho MS, Andresen PJ, et al.: Peritoneal fluid in patients with and without endometriosis: prostanoids and macrophages and their effect on the spermatozoa penetration assay. *Am J Obstet Gynecol* 154; 1290-9, 1986.
 5. Halme J, Hall JL: Effect of pelvic fluid from endometriosis patients on human sperm penetration of zona-free hamster ova. *Fertil Steril* 37; 573-6, 1982.
 6. Morcos RN, Gibbons WE, Eindley WE: Effect of peritoneal fluid on in vitro cleavage of 2 cell mouse embryos: possible role in infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril* 44; 678-83, 1985.
 7. Sueldo CE, Lamert H, Steinleitner A, et al.: The effect of peritoneal fluid from patients with endometriosis on murine sperm-oocyte interaction. *Fertil Steril* 48; 697-701, 1987.
 8. Suginami H, Yano K: An ovum capture inhibitor (OCI) in endometriosis peritoneal fluid: on OCI related membrane responsible for fimbrial failure of ovum capture. *Fertil Steril* 50; 648-53, 1988.
 9. Suginami H, Yano K, Watanabe K, et al.: A factor inhibiting ovum by the oviductal fimbrial present in endometriosis peritoneal fluid. *Fertil Steril* 46; 1140-6, 1986.
 10. Oak MK, Chantler EN, Vaughan-Williams CA, et al: Sperm survival studies in peritoneal fluid from infertile women with endometriosis and unexplained infertility. *Clin Reprod Fertil* 3; 297-303, 1985.
 11. Burke RX: Effects of peritoneal washings from women with endometriosis on sperm velocity. *J Reprod Med* 32; 743-6, 1987.
 12. Coddington CC, Oehninger S, Cunningham DS, et al.: Peritoneal fluid from patients with endometriosis decreases sperm binding to the zona pellucida in the hemizona assay: a preliminary report. *Fertil Steril* 57; 783-6, 1992.
 13. Awadalla SG, Friedman CI, Haq AU, et al.: Local peritoneal factors: their role in infertility associated with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 157; 1207-14, 1987.
 14. Dodds WG, Miller FA, Friedman CI, et al.: The effect of preovulatory peritoneal fluid from cases of endometriosis on murine in vitro fertilization, embryo development, oviduct transport and implantation. *Am J Obstet Gynecol* 166; 219-24, 1992.
 15. Kuo T-M, Taketani Y, Shimizu T, et al.: A possible mechanism of infertility in endometriosis-a role of interleukin I in peritoneal fluid. *Assist Reprod Tech/Androl* 1; 24-31, 1990.
 16. Steinleitner A, Lambert H, Kazensky C, et al.: Peritoneal fluid from endometriosis patients affects reproductive outcome in an in vivo model. *Fertil Steril* 53; 926-9, 1990.
 17. Halme J, Surrey ES: Endometriosis and infertility: the mechanisms involved. In: Chadha DR, Buttram VC, editors. *Current concepts in endometriosis*. New York: Alan R. Liss, Inc., P. 157-78, 1990.
 18. Anderson DJ, Hill JA: Cell mediated immunity in infertility. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 17; 22-30, 1988.
 19. Sueldo CE, Kelly E, Montoro L, et al.: Effect of interleukin-I on gamate interaction and mouse embryo development. *J Reprod Med* 35; 868-72, 1990.

20. Hill JA, Haimovici F, Politch JA, et al.: Effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages (lymphokines and monokines) on human sperm motion parameters. *Fertil Steril* 47; 460-5, 1987.
21. Maruyama DK, Hale RW, Rogers BJ: Effects of white blood cells on the in vitro penetration of zona free hamster eggs by human spermatozoa. *J Androl* 6; 127-35, 1985.
22. Hill JA, Cohen J, Anderson DJ: The effects of lymphokines and monokines on human sperm fertilizing ability and the zona-free hamster egg penetration test. *Am J Obstet Gynecol* 160; 1154-9, 1989.
23. Drake TS, O'Brien WF, Ramwell PW, et al.: Peritoneal fluid thromboxane B₂ and 6-keto-prostaglandin F₁ alpha in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 140; 401-4, 1981.
24. Badawy SZA, Cuenca V, Marshall L, et al.: Cellular components in peritoneal fluid in patients with and without endometriosis. *Fertil Steril* 42; 704-8, 1984.
25. Ylikorkala O, Koskimies A, Laatkainen T, et al.: Peritoneal fluid prostaglandins in endometriosis, tubal disorders, and unexplained infertility. *Obstet Gynecol* 63; 616-20, 1984.
26. Rock JA, Dubin NH, Ghodgaonkas RB, et al.: Cul-de-sac fluid in women with endometriosis: fluid volume and prostanoid concentration during the proliferative phase of the cycle-days 8 to 12. *Fertil Steril* 37; 747-50, 1982.
27. Sgarlata CS, Hertelendy F, Mikhail G: The prostanoid content in peritoneal fluid and plasma of women with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 147; 563-5, 1983.
28. Dawood MY, Khan-Dawood FS, Wilson L: Peritoneal fluid prostaglandins and prostanoids in women with endometriosis, chronic pelvic inflammatory disease and pelvic pain. *Am J Obstet Gynecol* 148; 391-5, 1984.
29. Rock JA, Hurst BS: Clinical significance of prostanoid concentration in women with endometriosis. In: Chadha DR, Buttram VC, editors. *Current concepts in endometriosis*. New York: Alan R. Liss, Inc., P. 61-80, 1990.
30. Fakh H, Baggett B, Holtz G, et al.: Interleukin-1: a possible role in the infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril* 47; 213-7, 1987.
31. Hill JA, Anderson DJ: Lymphocyte activity in the presence of peritoneal fluid from fertile women and infertile women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 161; 861-4, 1989.
32. Taketani Y, Kuo T-M, Mizuno M: Comparison of cytokine levels and embryo toxicity in peritoneal fluid in infertile women with untreated or treated endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 167; 265-70, 1992.
33. Eisermann J, Gast MG, Pineda J, et al.: Tumor necrosis factor in peritoneal fluid of women undergoing laparoscopic surgery. *Fertil Steril* 50; 573-9, 1988.
34. Buyalos RP, Funari VA, Azziz R, et al.: Elevated interleukin-6 levels in peritoneal fluid of patients with pelvic pathology. *Fertil Steril* 58; 302-6, 1992.
35. Hill JA, Haimovici F, Anderson DJ: Products of activated lymphocytes and macrophages inhibit mouse embryo development in vitro. *J Immunol* 139; 2250-4, 1987.
36. Berkowitz RS, Hill JA, Kurtz CB, et al.: Effects of products of activated leukocytes (lymphokines and monokines) on the growth

- of malignant trophoblast cells in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 158; 199-203, 1988.
37. Mizel B: Interleukin-1 and T-cell activation. *Immunol Rev* 63; 51, 1982.
 38. Gawad AHA, Topozada HK, Sawi ME, et al.: Study of the uterine environment in association with intrauterine contraceptive devices. *Contraception* 14; 469, 1977.
 39. Mathur S, Peress MR, Williamson HO, et al.: Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis. *Clin Exp Immunol* 50; 259, 1982.
 40. Ramey JW, Archer DF: Peritoneal fluid: its relevance to the development of endometriosis. *Fertil Steril* 60; 1-14, 1993.

Embryo Toxic Factors of Peritoneal Fluid from Patients with Endometriosis

Y. F. Wang, N. C. Lin, C. R. Tzeng, L. W. Chien, S. R. Chang, A. C. Chen, C. H. Wu*,
H. W. Cheng* and C. Y. Chen*.

ABSTRACT

The objectives of this research are to evaluate the effect of peritoneal fluid (PF) from patients with endometriosis on in vitro development of 2-cell mouse embryos and to compare the embryo toxicity between different contents of PF.

Mouse 2-cell stage embryos were collected and cultured with PF of endometriosis. The number of embryos reaching blastocyst stage was compared with the control. The contents of PF of endometriosis were further ultrafiltrated and divided into 4 groups according to the molecular weight (MW) and concentration: MW > 50 kd (group A: 10%; group B: 20%) and MW < 50 kd (group C: 10%; group D: 20%).

The development of 2-cell embryos in each group was compared with the control.

The percentage of blastocyst formation was significant lower in PF of endometriosis (72%) compared with the control (88%, $p < 0.01$). After ultrafiltration, there was a significant decrease in blastocyst formation in group D (74%, $p < 0.01$).

After ultrafiltration of the PF of endometriosis, components whose MW smaller than 50 kd at concentration of 20% have significant toxicity on mouse 2-cell embryos reaching blastocyst stage.

Key words: Endometriosis, Peritoneal fluid, Embryo toxicity.

Department of Obstetrics & Gynecology, Taipei Medical College Hospital, Center for Reproductive Medicine and Sciences, Taipei Medical College, Taipei, Taiwan, ROC

*Graduate Institute of Pharmaceutical Science, Taipei Medical College, Taipei, Taiwan, ROC

Received for Publication: January 12, 1994.