

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.08.004
文章编号: 1005-8982 (2019) 08-0018-07

临床研究·论著

自然流产患者的卵泡液代谢标志物研究*

孙振高¹, 王晓明², 王天琪², 杨毅², 徐凯月²

(1. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250014)

摘要: 目的 探讨与自然流产发生相关的卵泡液 (FF) 代谢标志物, 以进一步科学阐释自然流产的发生机制。**方法** 利用超高效液相色谱-高分辨质谱技术对因输卵管因素行体外受精-胚胎移植 (IVF-ET) 后自然流产患者即流产组 (40例) 及分娩者即对照组 (45例) 的 FF 进行代谢组学分析。**结果** 流产组和对照组 FF 共 32 种差异代谢物, 主要有氨基酸类、胆固醇类、维生素类、脂肪酸类、胆酸类、溶血卵磷脂类及其他 7 大类, 其中上调的有 Dehydroepiandrosterone sulfate, LysoPC (16 : 0), Palmitoylglycerophosphocholine 等 8 种, 下调的有 L-valine, 6-Oxohexanoate, L-Phenylalanine, 2-Oxoglutarate, Linoleate 等 24 种。**结论** 本研究鉴定的 32 种差异代谢物与自然流产相关, 为自然流产提供可能的诊断依据和治疗靶点, 从 FF 代谢组学层面为阐释自然流产发生机制提供科学依据。

关键词: 流产, 自然; 卵泡液; 代谢组

中图分类号: R714.21

文献标识码: A

Study of follicular fluid metabolic markers in patients with spontaneous abortion based on follicular fluid metabonomics*

Zhen-gao Sun¹, Xiao-ming Wang², Tian-qi Wang², Yi Yang², Kai-yue Xu²

(1. the Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250014, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250014, China)

Abstract: Objective To investigate the follicular fluid metabolic markers associated with spontaneous abortion to further elucidate the mechanism of spontaneous abortion. **Methods** Follicular fluid metabonomics analysis was performed on abortion group ($n = 40$) and control group ($n = 45$) who underwent in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) by ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. **Results** There were 32 kinds of different follicular fluid metabolites between abortion group and control group, including amino acids, cholesterol, vitamins, fatty acids, bile acids, lysolecithin and others. Dehydroepiandrosterone sulfate, LysoPC (16: 0), Palmitoylglycerophosphocholine and other 5 metabolites were up-regulated, and 24 species were down-regulated, including L-valine, 6-Oxohexanoate, L-Phenylalanine, 2-Oxoglutarate, Linoleate and so on. **Conclusions** The 32 differential metabolites identified in this study are related to spontaneous abortion and provide a possible diagnostic basis and therapeutic target for spontaneous abortion. It provides a scientific basis for elucidating the mechanism of spontaneous abortion from the perspective of follicular fluid metabonomics.

Keywords: abortion, spontaneous; follicular fluid; metabonomics

收稿日期: 2018-09-30

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81674018)

自然流产是指妊娠 <28 周, 胎儿体重 <1 000 g 而终止者^[1], 属妇科常见病、多发病, 其发生率高达 10% ~ 15%。近年来, 随着二胎政策出台, 高龄孕妇所占比例升高, 导致自然流产发生率呈逐年上升趋势。自然流产病因复杂多样, 除已知病因外, 临床上仍有 40% ~ 50% 原因不明^[2], 因此探索自然流产未知病因具有紧迫性和挑战性。卵泡液 (follicular fluid, FF) 是卵母细胞生长发育所需要的微环境, 研究 FF 代谢物成分可以间接反映卵母细胞质量及发育潜能。本研究旨在通过 FF 代谢组学筛选具有诊断价值的 FF 代谢标志物, 为解释不明原因自然流产发生机制提供科学依据, 为自然流产夫妇的生育问题作出贡献。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 一般资料 收集 2016 年 5 月—2017 年 12 月就诊于山东中医药大学附属医院中西医结合生殖与遗传中心因输卵管因素行体外受精-胚胎移植 (in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) 患者的 FF。分为流产组 (IVF-ET 后自然流产者) 40 例和对照组 (IVF-ET 后分娩者) 45 例。该研究已获得本院生殖医学伦理委员会审议批准, 所有对象签署知情同意书。

1.1.2 诊断标准 主要参照全国统编 8 年制教材沈铿、马丁主编的第 3 版《妇产科学》^[1]。

1.1.3 纳入标准 ①因输卵管因素行试管婴儿者; ②符合自然流产西医诊断标准; ③年龄 24 ~ 40 岁的非妊娠期及哺乳期妇女; ④肝、肾功能正常, 无妇科及其他全身疾病; ⑤知情同意, 志愿受试者。

1.1.4 排除标准 ①合并有心脑血管、肝、肾及造血系统等严重疾病者, 精神病患者; ②近半年内接受过激素类药物治疗; ③对本研究使用药物过敏; ④不符合纳入标准, 未按规定用药, 无法判断疗效或资料不全等影响疗效及安全性判断; ⑤因内分泌异常、免疫功能异常、子宫及内膜因素、创伤刺激、不良生活习惯及药物因素、胚胎和 / 或夫妇染色体异常、男方精液异常、环境因素等导致流产; ⑥体重指数 (body mass index, BMI) $\geq 24 \text{ kg/m}^2$ 。

1.2 临床研究步骤

采用促性腺激素释放激素激动剂 (gonadotropin-releasing hormone-a, GnRH-a) 黄体期长方案, 促排卵前 1 周期监测卵泡发育, 于排卵后 7 d (黄体中期) 或孕酮 (Progesterone, P) $>5 \text{ ng/ml}$, 开始注射短效

GnRH-a (法国益普生公司) 达到垂体降调节标准 (卵泡直径 $\leq 0.5 \text{ cm}$, 血 FSH、LH $<5 \text{ IU/L}$, E2 $<50 \text{ pg/ml}$), 约降调 14 ~ 17 d 即开始使用促性腺激素 (Gonadotropin, Gn) 启动超促排卵, 根据患者体重及卵巢反应性确定 Gn 启动剂量, 监测 B 超及血激素观察卵泡发育情况, 适时调整药量, 当 ≥ 2 个卵泡的直径 $\geq 18 \text{ mm}$, 肌内注射人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, HCG) 10 000 IU (珠海市丽珠医药集团股份有限公司)。注射 HCG 后 36 h 进行 B 超引导下穿刺取卵, 收集第 1 管淡黄色、透明、无血 FF, 显微镜下确认有 M II 期卵母细胞存在, 收集的 FF 3 000 r/min 离心 15 min; 将上清液分装于离心管 (Eppendorf, EP) (海门市钰博实验器材厂) 中, 标记后直接冻存于液氮贮存罐中, 8 周内实验备用。

1.3 实验研究步骤

1.3.1 样品制备 精密称取 200 μl 受试者 FF 至玻璃试管, 加入 600 μl 甲醇 (美国默克公司) : 乙腈 (美国默克公司) : 水 (4 : 4 : 2), 涡旋 1 min, 14 000 r/min 离心 30 min, 吸取上清液至 EP 管内, 取 5 μl 进样分析。

1.3.2 实验条件 本实验分别采用 Kinetex C18, 2.1 mm \times 100.0 mm, 2.6 μm 和 Waters BEH Amide, 100.0 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm 2 种色谱柱采集。Kinetex C18: 流动相 A 为水相 0.02% 甲酸 (上海斯信生物科技有限公司); 流动相 B 为有机相乙腈。Waters BEH Amide: 流动相 A 为水相 10 mmol 甲酸胺 (上海斯信生物科技有限公司); 流动相 B 为有机相乙腈: 水为 95 : 5 (V/V), 含 10 mmol 甲酸胺。2 种色谱柱流速均为 0.4 ml/min, 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$ 。质谱采用 AB SCIEX Triple TOF 5600+, 在正负离子模式下对数据进行采集。扫描方式为经典的数据依赖性扫描 (IDA), 1 次一级质谱扫描 (100 ms) 触发 10 次二级质谱扫描 (50 ms)。动态背景扣除 (DBS) 功能开启。一级扫描范围 100 ~ 1 000 m/z, 二级扫描范围 100 ~ 1 000 m/z, 气帘气 35 psi, 雾化气 55 psi, 辅助雾化气 55 psi, 离子源温度 550 $^{\circ}\text{C}$, 去簇电压 100 V, 碰撞电压 (35 \pm 15) V。

1.3.3 代谢组学分析 利用代谢组学方法对获取的多维色谱数据进行分析, 并将其转化为一个矩阵, 采用主成分分析法 (PCA) 和偏最小二乘法-判别分析法 (PLS-DA) 从整体上对样本进行直观、可靠和有统计学意义的分析。在得分图中每个点代表 1 个对应的样本, 载荷图中离散点代表得分图分离的变量, 离

散度越高,对得分图贡献越大。通过 t 检验对每个变量进行计算求出 P 值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。由此得到组间有差异性的物质质荷比,由获得的精确质量数与同位素丰度比得到匹配的分子式,根据一级和二级质谱信息鉴定这些差异物,并通过数据库搜索得到相关的代谢通路。

1.4 统计学分析

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用两独立样本校正的 t 检验;计数资料以率表示,用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较

流产组与对照组患者年龄、不孕年限、BMI、

基础促卵泡激素 (basal follicle-stimulating hormone, bFSH)、基础促黄体生成素 (basal luteinizing hormone, bLH)、基础雌二醇 (basal estradiol, bE2)、基础窦卵泡数 (basal antral follicle count, AFC)、Gn 天数、Gn 用量比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在临床评价指标方面,两组患者受精率、优胚率比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),流产组低于对照组,流产组卵母细胞质量和胚胎质量较差,说明 FF 代谢物水平的变化可能对卵母细胞和胚胎质量产生一定的影响;而两组患者获卵数、2PN 卵裂率、冻胚移植 (frozen embryo transfer, FET) 及鲜胚移植 (embryo transfer, ET) 所占比例比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1、2。

2.2 两组样品总离子流图

采用超高液相色谱-高分辨质谱联用仪 (美

表 1 两组患者一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄 / 岁	不孕年限	BMI / (kg/m^2)	bFSH / (IU/L)	bLH / (IU/L)
对照组	45	30.06 \pm 3.15	3.29 \pm 1.75	21.73 \pm 1.01	6.54 \pm 1.09	4.23 \pm 1.69
流产组	40	28.99 \pm 3.05	3.10 \pm 1.91	22.01 \pm 0.98	6.09 \pm 1.36	4.22 \pm 1.46
t 值		0.386	0.887	0.067	0.081	1.973
P 值		0.689	0.319	0.935	0.909	0.064

组别	n	bE2 / (pg/ml)	AFC / 个	Gn 天数	Gn 用量 / IU	获卵数 / 个
对照组	45	46.66 \pm 3.17	15.02 \pm 5.33	12.11 \pm 2.25	2641.46 \pm 986.15	14.31 \pm 6.89
流产组	40	46.62 \pm 3.25	15.17 \pm 5.25	12.10 \pm 2.19	2450.55 \pm 839.13	17.06 \pm 7.09
t 值		0.226	0.339	0.063	0.858	-1.799
P 值		0.801	0.753	0.950	0.387	0.072

表 2 对照组与流产组体外受精结局比较 %

组别	n	IVF 受精率	2PN 卵裂率	优胚率	FET 率	ET 率
对照组	45	67.9	97.5	39.1	63.5	37.7
流产组	40	60.8	97.6	25.7	74.7	24.7
χ^2 值		5.599	0.425	8.864	1.303	
P 值		0.019	0.510	0.005	0.236	

国 SCIEX 公司)分别在正离子和负离子模式下对流产组和对照组 FF 样品进行采集,两组样品的总离子流图见图 1、2,图中峰值越高说明化合物的响应值越高。

2.3 两组样品 PCA 得分

利用非靶向代谢组学手段对自然流产患者 FF 样

品进行全面分析,经过峰提取、峰匹配及统计分析,两组样品分析的 PCA 得分图见图 3、4,图中点分布越密集表示差异越小,分布越分散表示差异越大。两组在 PC1 维度上得到良好地分离,说明流产组 FF 内物质与对照组相比差异显著,自然流产患者 FF 内物质发生了变化。

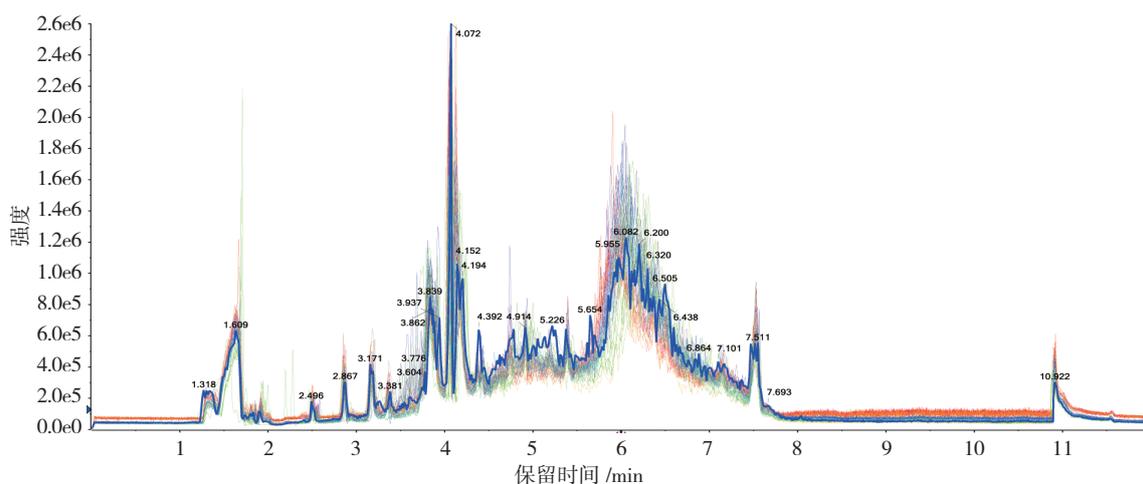


图 1 在正离子模式下两组 FF 样品的色谱总离子流图

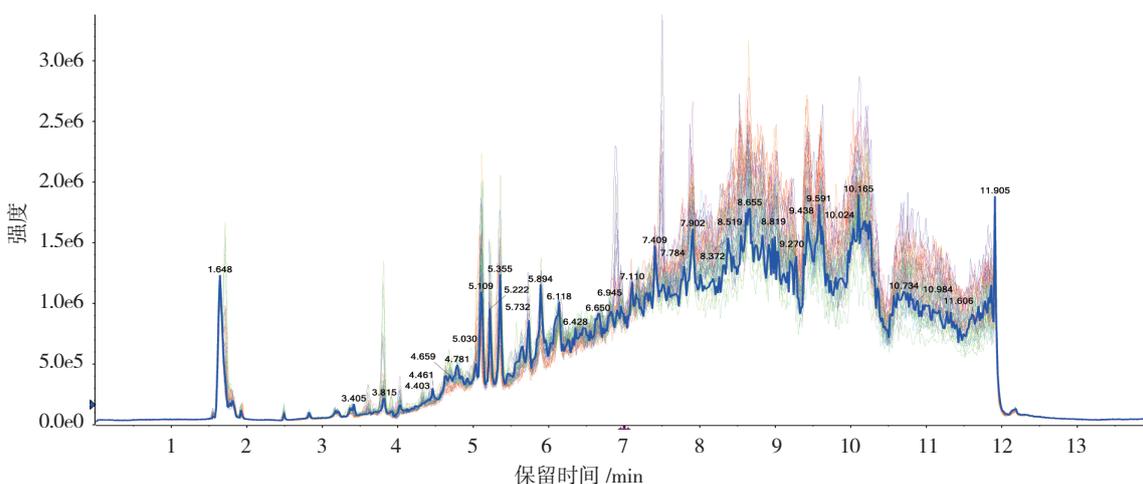


图 2 在负离子模式下两组 FF 样品的色谱总离子流图

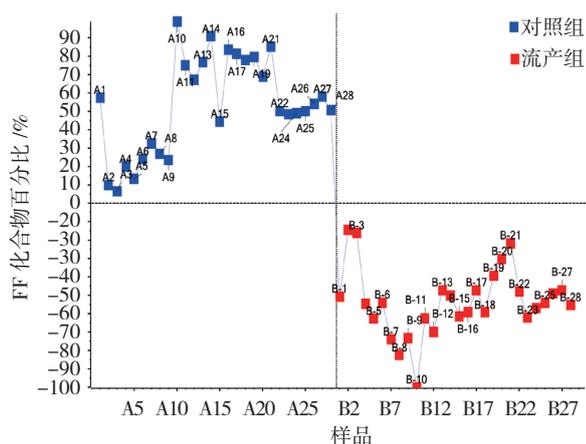


图 3 正离子模式下两组 FF 化合物的得分图

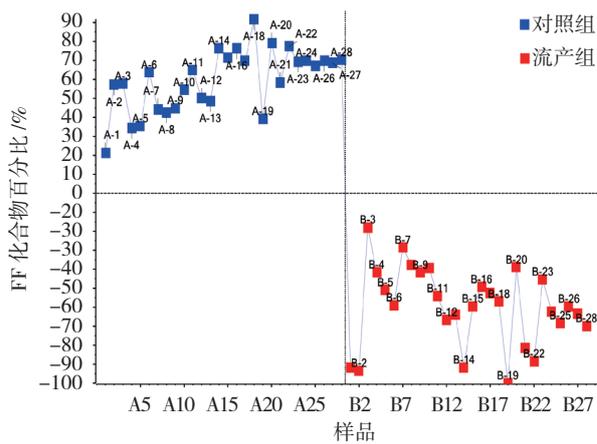


图 4 负离子模式下两组 FF 化合物的得分图

2.4 组间差异代谢物种类

通过 XCMS 代谢组学软件热图分析及 *t* 检验找到有差异的化合物, 并链接到 Metlin 数据库, 根据一级和二级质谱信息, 鉴定差异物, 并把这些差异物通

过 KEGG 聚类分析, 指向差异通路。经鉴定共 32 种差异化合物, 包括胆固醇类、维生素类、氨基酸类、脂肪酸类、胆酸类、溶血卵磷脂类及其他 7 大类, 其中流产组 FF 中表达上调的有 Dehydroepiandrosterone

sulfate, LysoPC (16 : 0), LysoPC (18 : 1), LysoPC (18 : 2), LysoPC (18 : 3), LysoPC (20 : 3), LysoPC (20 : 4), Palmitoylglycerophosphocholine 等 8 种化合物, 表达下调的有 L-valine, 6-Oxohexanoate, L-Phenylalanine, 2-Oxoglutarate, Linoleate, Oleic acid, Oleic acid, Docosaehaenoic acid, 13,

14-Dihydroretinol, Lithocholic acid, stearoylcarnitine, 25-Hydroxyvitamin D₃, Hydroxycholesterol, Chenodeoxyglycocholate, Trihydroxy-5beta-cholestan-26-al, 13'-hydroxy-alpha-tocopherol, 13'-hydroxy-alpha-tocopherol, Tryptophan, LysoPC (18 : 0), LysoPC (20 : 5), Bilirubin 等 24 种。见表 3。

表 3 流产组与对照组组间差异化合物

名称	参与代谢通路	质荷比 / (m/z)
L-valine	亮氨酸和异亮氨酸降解	116.071 1
6-Oxohexanoate	亮氨酸和异亮氨酸降解	129.055 6
L-Phenylalanine	酪氨酸代谢	164.070 7
2-Oxoglutarate	亮氨酸和异亮氨酸降解	191.017 3
Linoleate	脂肪酸代谢	279.231 5
Oleic acid	脂肪酸代谢	281.247 2
Hexadecanal	鞘糖脂代谢	299.257 2
Docosaehaenoic acid	脂肪酸代谢	327.232 0
13, 14-Dihydroretinol	视黄酸代谢	347.258 7
Lithocholic acid	胆酸生物合成	357.278 2
Dehydroepiandrosterone Sulfate	类固醇激素的生物合成与代谢	367.158 2
stearoylcarnitine	肉毒碱穿梭系统	426.362 7
25-Hydroxyvitamin D ₃	维生素 D ₃ 代谢	445.329 9
Hydroxycholesterol	类固醇激素的生物合成与代谢	447.346 0
Chenodeoxyglycocholate	胆酸生物合成	448.306 0
3alpha, 7alpha, 12alpha-Trihydroxy-5beta-cholestan-26-al	胆酸生物合成	474.359 7
13'-hydroxy-alpha-tocopherol	维生素 E 代谢	491.371 5
L-Leucine	亮氨酸和异亮氨酸代谢	132.102 9
Tryptophan	色氨酸代谢	205.097 8
2, 5-Dichloro-4-oxohex-2-enedioate	未知	226.952 2
Lenticin	色氨酸代谢	247.145 0
Palmitic amide	脂肪酸代谢	256.263 2
LysoPC (16 : 0)	脂代谢	496.340 6
2-Palmitoylglycerophosphocholine	酰胺通路	497.345 4
LysoPC (18 : 3)	脂代谢	518.319 3
LysoPC (18 : 2)	脂代谢	520.340 8
LysoPC (18 : 1)	脂代谢	522.356 2
LysoPC (18 : 0)	脂代谢	524.367 8
LysoPC (20 : 5)	脂代谢	542.321 2
LysoPC (20 : 4)	脂代谢	544.341 4
LysoPC (20 : 3)	脂代谢	546.348 6
Bilirubin	胆红素	585.274 0

3 讨论

自然流产病因复杂多样, 目前除感染因素、免疫因素、染色体异常等因素外, 仍有 40% ~ 50% 原因不明^[2]。自然流产的发生大多归于母体和胚胎 2 方面因素, 除常见因素外, 母体因素还应包括卵母细胞质量, 胚胎因素即指胚胎质量, 而胚胎质量与卵母细胞质量直接相关。卵母细胞基因组而不是父系来源的基因组, 是控制早期胚胎发育的关键, 卵母细胞质量已成为影响妊娠结局的重要因素, 而 FF 代谢物成分间接反映卵母细胞质量及发育潜能。本研究运用非靶向代谢组学的研究思路对流产组与对照组患者 FF 进行分析, 找到有差异的化合物, 这些差异物质包括胆固醇类、维生素类、氨基酸类等, 现就其与自然流产相关性进行归类探讨。

3.1 胆固醇类

胆固醇是细胞膜的基本结构成分, 在胎儿每个发育阶段, 胆固醇的调节平衡至关重要。27-羟基胆固醇是胆固醇合成的有效抑制剂, 在早孕期调节胆固醇代谢中起重要作用, 如果孕早期其平衡紊乱, 不能调节胆固醇代谢, 则会影响滋养层细胞浸润和胎盘功能, 引起流产^[3]。LARKIN 等^[4]通过实验研究发现 25-羟基胆固醇的浓度与 hCG 和 P 水平有关, 其浓度 >30 $\mu\text{mol/L}$ 时, 会导致 hCG、P 水平降低, 影响妊娠结局, 引起流产。

3.2 维生素类

免疫因素是复发性流产 (recurrent spontaneous abortion, RSA) 的重要因素。研究发现, 妊娠期母胎界面合成的 25-羟基维生素 D₃ 可作为免疫调节细胞因子来预防母体的排斥反应, 从而降低流产风险^[5]。Treg/Th17 细胞的平衡是持续妊娠的重要因素, 研究发现维生素 D 可在 Treg 与 Th17 细胞的平衡中发挥作用, 从而降低 RSA 的风险^[6]。 α -生育酚 (alpha-tocopherol, α -TE) 是一种脂溶性抗氧化剂, 是胚胎发育所必需。ŞİMŞEK 等^[7]研究发现 α -TE 能清除过氧自由基, 减少氧化应激, 降低流产的发生率。MILLER 等^[8]通过动物实验发现, α -TE 缺乏的斑马鱼可以产生活卵, 但后期胚胎遭受发育障碍并死亡, 因此 α -TE 缺乏可能与胚胎停育相关。此外, α -TE 还可能通过其有效的抗氧化活性, 减弱砷的致畸作用, 从而降低砷暴露胎儿的死亡率, 减少流产的发生率^[9]。

3.3 氨基酸类

氨基酸对胚胎生长发育至关重要。吲哚胺 2, 3-

双加氧酶 (indoleamine 2, 3-dioxygenase, IDO) 是降解色氨酸的细胞质酶。ZONG 等^[10]研究发现, IDO 的缺乏与 RSA 相关, 其机制可能为 IDO 抑制局部 T 细胞增殖, 防止因免疫反应而引起的胎盘对胚胎排斥^[11], 这也间接反映色氨酸对妊娠维持的重要性。FEI 等^[12]认为, 色氨酸代谢是稽留流产的重要潜在靶标途径。ZHANG 等^[13]研究发现, 支链氨基酸 (branched-chain amino acid, BCAA) 与妊娠结局密切相关, 在 BCAA 截断值为 239.10 $\mu\text{mol/L}$ 时, BCAA 水平升高的受试者流产率升高。BANERJEE 等^[14]对特发性反复自然流产 (Idiopathic recurrent spontaneous miscarriage, IRSM) 患者进行血清代谢组学分析发现, 赖氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸等在 IRSM 中显著升高。亮氨酸也是与胚胎发育密切相关的一种氨基酸, POGORELOVA 等^[15]发现, 胎儿生长受限患者胎盘亮氨酸含量降低, 亮氨酸水平低下影响胚胎生长发育, 造成胚胎生长迟缓或死胎。

3.4 脂肪酸类

脂肪酸通常分为饱和脂肪酸 (saturated fatty acid, SFA)、单不饱和脂肪酸 (monounsaturated fatty acid, MUFA) 及多不饱和脂肪酸, 在卵母细胞成熟和胚胎发育中起重要作用。有学者研究发现, 在未成熟卵母细胞体外培养期间, 加入低生理浓度 (1 $\mu\text{mol/L}$) 的二十二碳六烯酸能够改善体外卵母细胞质量, 并可提高囊胚率^[16]。此外, 更高的 MUFA 摄入量可提高胚胎移植后活产率^[17]。同时动物模型研究发现, SFA 与受精、卵裂和囊胚形成率降低有关, 而油酸可以减少其负面影响^[18]。COLVIN 等^[19]则发现棕榈酸酯可增加合体滋养细胞死亡率, 从而影响胚胎发育, 造成流产。

3.5 溶血卵磷脂类

LI^[20]、CHEN 等^[21]通过代谢组学方法研究砷、镉暴露孕妇的尿代谢变化, 发现 LysoPC 是砷、镉代谢相关生物标志物。目前大量研究证实, 砷、镉等重金属与胚胎停育的发生密切相关, 这也间接反映 LysoPC 与自然流产的相关性^[20-21]。

本研究运用 FF 代谢组学的研究方法, 探讨自然流产患者与分娩者的 FF 差异代谢物, 这些差异代谢物可能成为诊断自然流产的生物标志物, 为自然流产的诊断、治疗及新药研发提供新方法和新思路。然而, 本研究样本量较少, 尚不能代表大部分自然流产患者 FF 水平, 还需扩大样本量, 以做更深一步的研究。此外, 考虑到多次经阴道穿刺取卵会增加阴道流血的风

险,因此研究中收集的是患者所有 FF 的总和,可能会对研究结果产生一定影响,因此尚需探索新方法,以求研究结果更加客观、准确。

参 考 文 献:

- [1] 沈铿, 马丁. 妇产科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 120.
- [2] 明雪, 王佳, 蒋艳, 等. VEGF 基因多态性与不明原因复发性自然流产发生风险相关性的 meta 分析 [J]. 现代妇产科进展, 2014(11): 889-894.
- [3] WINKLER B S, KLEINE-EGGEBRECHT N, MAASS N, et al. Maternal 27-hydroxycholesterol (27-OHC) concentrations during the course of pregnancy and in pregnancy pathologies[C]// Pregnancy hypertension. Pub Med, 2015: 128.
- [4] LARKIN J C, SEARS S B, SADOVSKY Y. The influence of ligand-activated LXR on primary human trophoblasts[J]. Placenta, 2014, 35(11): 919-924.
- [5] CHRISTAKOS S. Minireview: vitamin D is there a role in extraskeletal health[J]. Endocrinology, 2011, 152(8): 2930-2936.
- [6] LI N, WU H M, HANG F, et al. Women with recurrent spontaneous abortion have decreased 25 (OH) vitamin D and VDR at the fetal-maternal interface[J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2017, 50(11): e6527.
- [7] ŞİMŞEK M, NAZIROĞLU M, ŞİMŞEK H, et al. Blood plasma levels of lipoperoxides, glutathione peroxidase, beta carotene, vitamin A and E in women with habitual abortion[J]. Cell Biochemistry Function, 1998, 16(4): 227.
- [8] MILLER G W, LABUT E M, LEBOLD K M, et al. Zebrafish (danio rerio) fed vitamin E deficient diets produce embryos with increased morphologic abnormalities and mortality[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2012, 23(5): 478.
- [9] SAMPAYOREYES A, TAMÉZGUERRA R S, BERMÚDEZ M D L, et al. Tocopherol and selenite modulate the transplacental effects induced by sodium arsenite in hamsters[J]. Reproductive Toxicology, 2017, 74: 204.
- [10] ZONG S, LI C, LUO C, et al. Dysregulated expression of IDO may cause unexplained recurrent spontaneous abortion through suppression of trophoblast cell proliferation and migration[J]. Scientific Reports, 2016, DOI: org/10.1038/srep19916.
- [11] KWIDZINSKI E, BUNSE J, KOVAC A D, et al. IDO (indolamine 2, 3-dioxygenase) expression and function in the CNS[J]. Advances in Experimental Medicine Biology, 2003, 527(527): 113.
- [12] FEI H, HOU J, WU Z, et al. Plasma metabolomic profile and potential biomarkers for missed abortion[J]. Biomedical Chromatography Bmc, 2016, 30(12): 1942-1952.
- [13] ZHANG C M, ZHAO Y, LI R, et al. Metabolic heterogeneity of follicular amino acids in polycystic ovary syndrome is affected by obesity and related to pregnancy outcome[J]. Bmc Pregnancy Childbirth, 2014, 14(1): 11.
- [14] BANERJEE P, DUTTA M, SRIVASTAVA S, et al. ¹H NMR serum metabolomics for understanding metabolic dysregulation in women with idiopathic recurrent spontaneous miscarriage during implantation window[J]. Journal of Proteome Research, 2014, 13(6): 3100-3106.
- [15] POGORELOVA T N, GUNKO V O, AVRUTSKAYA V V, et al. Impairments of placental amino acid metabolism in fetal growth restriction[J]. Biomeditsinskaia Khimiia, 2017, 63(3): 266.
- [16] ELIS S, OSEIKRIA M, CARVALHO A V, et al. Docosahexaenoic acid mechanisms of action on the bovine oocyte-cumulus complex[J]. Journal of Ovarian Research, 2017, 10(1): 74.
- [17] COMERFORD K B, AYOOB K T, MURRAY R D, et al. The role of avocados in maternal diets during the periconceptional period, pregnancy, and lactation[J]. Nutrients, 2016, 8(5): 313.
- [18] MIRABI P, CHAICHI M J, ESMAEILZADEH S, et al. The role of fatty acids on ICSI outcomes: a prospective cohort study[J]. Lipids in Health Disease, 2017, 16(1): 18.
- [19] COLVIN B N, LONGTINE M S, CHEN B, et al. Oleate attenuates palmitate-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis in placental trophoblasts[J]. Reproduction, 2017, 153(4): 369.
- [20] LI H, WANG M, LIANG Q, et al. Urinary metabolomics revealed arsenic exposure related to metabolic alterations in general Chinese pregnant women[J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1479: 145.
- [21] CHEN S, ZHANG M, BO L, et al. Metabolomic analysis of the toxic effect of chronic exposure of cadmium on rat urine[J]. Environmental Science Pollution Research International, 2017(1): 1-10.

(童颖丹 编辑)