

体外受精患者卵泡液高密度脂蛋白颗粒组分与胚胎质量的相关性分析

雷承泳,周志伟,段彪,罗朝霞,冯清

(赣州市人民医院生殖医学科,江西 赣州 341000)

摘要:目的 探讨体外受精(IVF)患者卵泡液(FF)高密度脂蛋白(HDL)颗粒组分与卵裂期胚胎质量的相关性。方法 选择2019年8月-2020年3月在我科接受IVF-ET助孕的不孕妇女作为研究对象,共提取504份卵泡液样本,来自110例助孕患者。根据胚胎质量分为优质胚胎组($n=266$)和非优质胚胎组($n=238$)。测定卵泡液中载脂蛋白A1(ApoA1)和载脂蛋白B(ApoB)水平、HDL亚类水平、活性氧(ROS)和总抗氧化能力(TAC)水平,观察HDL颗粒组分ApoA1、HDL亚类水平与卵裂期胚胎质量的相关性。结果 两组ROS、TAC、ApoA1、ApoB、pre β_1 -HDL、HDL3c、HDL3b、HDL3a、HDL2a、HDL2b比较,差异有统计学意义($P<0.05$);卵泡液中ROS、ApoB、pre β_1 -HDL、HDL3c、HDL3b水平与胚胎质量呈负相关($P<0.05$),ApoA1、HDL3a、HDL2a、HDL2b、TAC水平与胚胎质量呈正相关($P<0.05$);多因素Logistic分析结果显示,ApoA1、HDL2b、ApoB为胚胎质量的影响因素($P<0.05$)。结论 HDL颗粒组分中ApoA1、HDL2b含量水平与IVF胚胎质量具有相关性,对胚胎质量具有一定的预测价值。

关键词:体外受精;胚胎移植;胚胎质量;卵泡液;高密度脂蛋白

中图分类号:R714

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.20.024

文章编号:1006-1959(2021)20-0097-04

Correlation Between High Density Lipoprotein Granules in Follicular Fluid and Embryo Quality in in Vitro Fertilization Patients

LEI Cheng-yong,ZHOU Zhi-wei,DUAN Biao,LUO Zhao-xia,FENG Qing

(Department of Reproductive Medicine,Ganzhou People's Hospital,Ganzhou 341000,Jiangxi,China)

Abstract:Objective To investigate the correlation between follicular fluid (FF) high density lipoprotein (HDL) granules composition and embryo quality in vitro fertilization (IVF) patients. Methods A total of 504 follicular fluid samples were collected from 110 infertile women undergoing IVF-ET in our department from August 2019 to March 2020. According to embryo quality, they were divided into high quality embryo group ($n=266$) and non-high quality embryo group ($n=238$). The levels of apolipoprotein A1 (ApoA1) and apolipoprotein B (ApoB), HDL subclasses, reactive oxygen species (ROS) and total antioxidant capacity (TAC) in follicular fluid were measured. The correlation between the levels of ApoA1, HDL subclasses of HDL granules and the quality of cleavage embryos was observed. Results The differences in ROS, TAC, ApoA1, ApoB, pre β_1 -HDL, HDL3c, HDL3b, HDL3a, HDL2a and HDL2b between the two groups were statistically significant ($P<0.05$). The levels of ROS, ApoB, pre β_1 -HDL, HDL3c and HDL3b in follicular fluid were negatively correlated with embryo quality ($P<0.05$). The levels of ApoA1, HDL3a, HDL2a, HDL2b and TAC were positively correlated with embryo quality ($P<0.05$). Multivariate Logistic analysis showed that ApoA1, HDL2b and ApoB were the influencing factors of embryo quality ($P<0.05$). Conclusion The level of ApoA1 and HDL2b in HDL granules are correlated with the quality of IVF embryos, and have certain predictive value for embryo quality.

Key words: In vitro fertilization; Embryo transfer; Embryo quality; Follicular fluid; High density lipoprotein

卵泡液(follicular fluid, FF)为卵母细胞发育提供微环境,在卵泡生长、卵母细胞成熟和排卵等过程中发挥重要作用^[1]。研究显示^[2],卵泡液包括颗粒细胞产生的分泌物和活性成分、毛细血管扩散的血清、透过血卵泡屏障的血浆组分等成分,卵泡液成分的变化对卵泡发育和体外受精-胚胎移植(IVF-ET)胚胎质量具有重要影响。为改善IVF妊娠结局、减少母婴并发症,找到卵泡液中与胚胎质量的相关的组分用于胚胎质量的有效预测,进行选择单胚胎移植就显得尤为重要。本研究以卵泡液中高密度脂蛋白(HDL)颗粒组分为切入点,探讨其与卵裂期胚胎质量的相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择2019年8月-2020年3月在赣州市人民医院生殖医学科接受IVF-ET助孕的不孕妇女为研究对象,共提取504份卵泡液样本。纳入

标准:①年龄20~40岁,有固定配偶、未分居、规律性生活、无避孕措施、无哺乳、有生育意愿但 ≥ 12 月以上未获得临床妊娠;②符合《卫生部关于修订人类辅助生殖技术及人类精子库相关技术规范、基本标准和伦理原则》中IVF-ET的适应证,如输卵管因素不孕、排卵障碍型不孕、子宫内膜异位症、女性免疫性不孕或不明原因不孕^[3];③夫妻双方情况满足并采用常规体外受精的受精方式;④无吸烟、饮酒等不良嗜好。排除标准:①女方既往存在不良孕产史或合并生殖系统畸形、子宫内膜病变、引起宫腔形态变化的子宫腺肌病者;②女方合并甲状腺、肾上腺、垂体等器质性病变及其他内分泌疾病影响妊娠者;③女方合并糖尿病、系统性红斑狼疮、急性活动性肝炎、肝硬化、急性肾炎、慢性肾功能不全等疾病者;④男女任何一方患有泌尿系统急性感染、性传播疾病者;⑤与妊娠结局相关的染色体异常者;⑥男女任何一方具有吸毒等不良嗜好或接触致畸量的放射线、药物、毒品并处于作用期者;⑦男女任何一方存在精神

作者简介:雷承泳(1988.10-),男,江西赣州人,硕士,主管检验师,主要从事辅助生殖实验室技术研究

疾病、认知功能障碍,不能正确理解研究内容者;⑧平行参加其他临床研究者;⑨促排卵期间出现严重不良反应,需要退出研究或患者强烈要求退出研究者。根据胚胎质量将样本分为优质胚胎组($n=266$)和非优质胚胎组($n=238$)。本研究经医院伦理会批准,患者及配偶对研究知情并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集研究对象的年龄、体重、不孕年限、不孕因素、不孕类型、基础FSH、基础LH、基础 E_2 、基础P、基础PRL、Gn量、获卵数、受精率、卵裂率、可移植胚胎率、优质胚胎率等重要临床资料。

1.2.2 体外受精 采用常用的早卵泡期长方案进行促排卵^[4]。在月经来潮第2~3天肌肉注射促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)[注射用醋酸亮丙瑞林微球(上海丽珠制药有限公司,国药准字H20093852),规格:3.75 mg/支]3.75 mg,28~30 d后行B超及内分泌检查。若垂体完全降调节(子宫内膜厚度 ≤ 5 mm,血清FSH < 5 mIU/ml, LH < 5 mIU/ml, $E_2 < 50$ pg/ml),开始给予促性腺激素(Gn)[重组人促卵泡液激素注射液(默克雪兰诺有限公司,进口药品注册标准JS20160044),规格:300 IU/支]75~300 IU/d启动超促排卵周期,5 d后B超监测卵泡生长大小,并监测血清激素水平,根据卵泡生长发育速度调整Gn用量,直至HCG注射日止。当至少有1个卵泡直径 ≥ 19 mm或2个卵泡直径 ≥ 18 mm时,于当晚给予HCG(默克雪兰诺有限公司,批号:S20110045,规格:250 μ g/支)250 μ g皮下注射,36 h后在阴道B超引导下取卵。取卵过程:术前30 min肌注酮咯酸氨丁三醇注射液(山东新时代药业有限公司,国药准字H20052634,规格:30 mg)30 mg,排空膀胱,取膀胱截石位,用生理盐水冲洗外阴和阴道并擦干,铺消毒巾,在阴道探头外罩以无菌橡胶套,安置穿刺架。用生理盐水彻底冲洗探头套和手术者手套,擦干,用培养液冲洗穿刺针,将探头置入阴道内,探查两侧卵巢,连接负压吸引器,维持负压100~120 mmHg,采用16 G~17 G的单腔取卵针通过探头导向器在穿刺引导线的指示下,经阴道穹窿部进针。进针前,先确认患者双侧卵巢位置、卵泡数目及大小,同时注意周围大血管的分布,小心避开盆腔中膀胱、血管、肠管等以防止出血及其它事故的发生,由近至远依次穿刺所有直径 ≥ 14 mm的卵泡,每次只穿刺一个卵泡。抽取的卵泡液快速送入胚胎实验室采集皿中,之后在显微镜下寻找卵泡液中的卵-冠-丘复合体,漂洗掉复合体表面附着的血液和碎片,将漂洗处理过的卵-冠-丘复合体放入提前配好的受精培养液中,然后置于6%CO₂、37℃培养箱培养3~6 h后进行常规体外受精。同时收集卵泡液,以

1800 r/min速度离心10 min,取上清液,分成1 ml/份在-20℃保存。取卵术后予以抗生素防止感染,给予黄体酮注射液(浙江仙琚制药股份有限公司,国药准字H33020828,规格:10 mg)进行黄体支持,为移植日做准备。进行治疗的男方取精前2~7 d不能同房,与女方取卵同日取精,取精前排空膀胱,洗净双手及尿道口,以手淫的方式将采集的精液盛放于无菌的容器中。取精日突发取精困难或存在勃起障碍影响取精者:给予心理暗示、影音刺激、配偶协助求精或口服西地那非(辉瑞制药有限公司,国药准字H20020528,规格:100 mg),或给予直肠前列腺按摩取精,或行睾丸细针抽吸术取精^[5]。收集的精液置于恒温装置上,待其液化后用无菌吸管吹打混匀,然后按本科室常规方案进行精液优化处理,获取的精子悬液标本置于6%CO₂、37℃培养箱培养1 h左右。常规的体外受精是将卵子和精子放入同一培养皿中(根据加入的卵子数来确定加入的精子数),培养16~18 h开始观察卵子的受精状况,再培养24~48 h观察胚胎质量情况。

1.2.3 胚胎质量判定 受精后第3天根据形态学特征对卵裂期胚胎进行质量评分,分为4个等级^[6]。1级:胚胎细胞数为7~9个,细胞大小均匀,形状规则,透明带完整;胞质均匀清晰,没有颗粒现象;碎片比例 $\leq 5\%$ 。2级:胚胎细胞数 ≥ 6 个,细胞大小略不均匀,形状略不规则;胞质有颗粒现象;碎片比例占5%~20%;胞浆有1~2个空泡存在。3级:胚胎细胞数 ≥ 4 个,细胞大小明显不均匀,有明显的形态不规则;胞质有明显颗粒现象;碎片在21%~50%;胞浆中出现少量空泡。4级:胚胎细胞数 ≥ 2 个,细胞大小严重不均匀;形状完全不规则,胞质有严重颗粒现象;碎片在50%以上,或50%以上的空泡。其中第3天质量评分为1级、2级且细胞数为7、8、9个,碎片比例 $\leq 10\%$ 的正常受精胚胎定义为优质胚胎。第3天质量评分为1级、2级且细胞数 ≥ 6 个的正常受精胚胎定义为可移植胚胎。

1.2.4 卵泡液相关成分检测 ①采用免疫比浊法测定载脂蛋白A1(ApoA1)和载脂蛋白B(ApoB)水平;②采用免疫印迹法^[7]测定HDL亚类,各亚类的相对百分含量再与样品中ApoA1的含量相乘,即为HDL各亚类的含量;③采用人活性氧ELISA试剂盒检测活性氧(ROS)含量,采用总抗氧化能力试剂盒检测卵泡液总抗氧化能力(TAC)水平。

1.3 观察指标 观察优质胚胎组和非优质胚胎组卵泡液中ApoA1、HDL亚类水平,分析其与卵裂期胚胎质量是否存在相关性。

1.4 统计学方法 采用SPSS 17.0进行统计学数据分析。计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料

采用 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 相关性分析,多因素分析采用 Logistic 回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者临床资料 纳入 504 份卵泡液样本,来自 110 例助孕患者。年龄 24~37 岁,平均年龄 (29.93 ± 3.28) 岁;体重指数 $16.36\sim 26.67\text{ kg/m}^2$,平均体重指数 $(21.54\pm 2.28)\text{ kg/m}^2$;不孕年限 1~9 年,平均不孕年限 (2.65 ± 1.59) 年。不孕因素:盆腔输卵管因素 79 例,占 71.81%;不明原因不孕 21 例,占 19.09%;排卵障碍 6 例,占 5.45%;多囊卵巢综合征 3 例,占 2.73%;男方因素 8 例,占 7.27%。不孕类型:原发性不孕 46 例,占 41.82%;继发性不孕 64 例,占 58.18%。基础 FSH $(16.16\pm 2.13)\text{ mIU/ml}$;基础 LH $(5.83\pm 2.12)\text{ mIU/L}$;基础 $E_2(175.34\pm 62.55)\text{ pmol/L}$;基础 P $(0.31\pm 0.13)\text{ ng/ml}$;基础 PRL $(17.61\pm 6.10)\text{ ng/ml}$;Gn 量 $(2649.09\pm 989.98)\text{ IU}$ 。

2.2 获卵数及优质胚胎率 获卵 6~17 枚,平均获卵 (10.35 ± 3.07) 枚,共获卵子 1138 枚,受精 1028 枚,

受精率为 90.33%;卵裂 1018 枚,卵裂率为 99.03%;可移植胚胎 504 枚,可移植胚胎率为 49.51%;优质胚胎 266 枚,优质胚胎率为 25.88%。

2.3 两组检查指标比较 两组 ROS、TAC、ApoA1、ApoB、pre β_1 -HDL、HDL3c、HDL3b、HDL3a、HDL2a、HDL2b 比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.4 卵泡液中检查指标与优质胚胎的相关性分析 Spearman 相关分析显示,卵泡液中 pre β_2 -HDL 水平与优质胚胎无相关性($P>0.05$),卵泡液中 ROS、ApoB、pre β_1 -HDL、HDL3c、HDL3b 水平与胚胎质量呈负相关($P<0.05$),ApoA1、HDL3a、HDL2a、HDL2b、TAC 水平与胚胎质量呈正相关($P<0.05$),见表 2。

2.5 影响优质胚胎的多因素 Logistic 回归分析 将单因素分析中 ApoA1、ApoB、pre β_1 -HDL、HDL3c、HDL3b、HDL3a、HDL2a、HDL2b、ROS、TAC 进行自变量赋值($X_1\sim X_{10}$,连续变量),以可移植胚胎是否为优质胚胎为因变量,进行多因素 Logistic 分析,结果显示 ApoA1、HDL2b、ApoB 为胚胎质量的影响因素($P<0.05$),见表 3。

表 1 两组检查指标比较($\bar{x}\pm s$)

项目	优质胚胎组($n=266$)	非优质胚胎组($n=238$)	t	P
ROS(ng/ml)	0.64 ± 0.38	1.31 ± 0.67	-13.929	0.001
TAC(mmol/L)	0.90 ± 0.17	0.66 ± 0.21	13.892	0.001
ApoA1(g/L)	1.23 ± 0.24	0.72 ± 0.17	28.145	0.001
ApoB(g/L)	0.57 ± 0.13	0.79 ± 0.15	-16.975	0.001
pre β_1 -HDL(mg/L)	77.86 ± 15.93	109.23 ± 24.24	-16.958	0.001
pre β_2 -HDL(mg/L)	76.96 ± 13.24	75.59 ± 14.59	1.106	0.269
HDL3c(mg/L)	88.37 ± 22.43	111.16 ± 22.55	-11.360	0.001
HDL3b(mg/L)	145.64 ± 46.09	178.09 ± 48.88	-7.669	0.001
HDL3a(mg/L)	243.14 ± 53.27	202.72 ± 42.43	9.572	0.001
HDL2a(mg/L)	244.90 ± 52.28	213.34 ± 46.46	7.129	0.001
HDL2b(mg/L)	405.33 ± 43.31	242.72 ± 63.32	33.266	0.001

表 2 卵泡液中检查指标与胚胎质量的相关性分析

项目	r	P	项目	r	P
ApoA1	0.797	<0.05	HDL3a	0.390	<0.05
ApoB	-0.616	<0.05	HDL2a	0.296	<0.05
pre β_1 -HDL	-0.625	<0.05	HDL2b	0.840	<0.05
pre β_2 -HDL	0.051	>0.05	ROS	-0.637	<0.05
HDL3c	-0.452	<0.05	TAC	0.544	<0.05
HDL3b	-0.325	<0.05			

表 3 影响优质胚胎的多因素 Logistic 回归分析

项目	B	$S.E.$	$Wals$	P	$Exp(B)$	95%CI
ApoA1	0.017	0.005	11.903	0.001	1.018	1.008~1.028
ApoB	-0.018	0.006	8.758	0.003	0.982	0.971~0.994
HDL2b	0.0121	0.035	11.948	0.001	1.128	1.054~1.208

3 讨论

目前 ART 的临床实践中已经建立了多种胚胎

质量评估的方法,包括形态学、代谢组学和基因组学等^[8]。卵泡液是卵母细胞发育的重要环境,其成分包括血液透过血卵屏障的血浆成分、颗粒细胞和颗粒细胞产生的分泌物和活性成分等,与外周血液相比较,卵泡液与卵母细胞的联系更为紧密,可直接影响卵母细胞的发育过程和受精能力,卵泡液成分的变化直接影响卵母细胞的形态和胚胎质量^[9]。

氧对于细胞的生存至关重要,但正常氧代谢产生的活性氧水平升高可损伤 DNA、蛋白质和脂质,从而影响细胞功能。机体内对抗 ROS 的总能力称为 TAC,包括各种抗氧化分子和抗氧化酶系统,正常情况下卵泡内氧化和抗氧化体系处于动态平衡,如果抗氧化物减少和(或)ROS 增多,则可导致卵泡内 ROS 过度积累,产生氧化应激反应,影响卵泡发育和卵母细胞质量。Várnagy á 等^[10]研究显示,IVF 过程

中卵母细胞受精率降低与 TAC 降低有关。有研究证实^[11],退化的卵母细胞中 ROS 的积累增加,导致了包括 DNA、蛋白和脂质的氧化损伤,最终诱导了细胞周期停滞及减数分裂中非整倍体的产生。Liu Y 等^[12]发现多囊卵巢患者较输卵管因素不育患者的大多数卵不具备减数分裂纺锤体,ROS 水平高而 TAC 水平低,受精率、优质胚胎形成率、临床妊娠率随之下降。但研究显示^[13],卵泡 TAC 水平与妊娠结局参数无明显影响。Yilmaz N 等^[14]报道中显示非妊娠组卵泡液中 TAC 水平高于妊娠组。本研究虽然观察到优质胚胎组 ROS 降低和 TAC 水平升高,但多因素分析的结果并未观察到 ROS 和 TAC 与胚胎质量的相关性,这样的结果可能与患者个体差异、研究方法和样本数等有关,但同时也提示可能存在其他的影响因素,还需要进一步研究探讨。

HDL 是复杂的多功能蛋白复合体,多数研究集中于心血管领域,而生殖领域缺乏相关研究。Rincón JAA 等^[15]阐述了 HDL 作为 FF 中占主导地位的脂蛋白,其具有促进胆固醇逆转运的生理功能,有助于维持卵泡液中胆固醇平衡,对卵母细胞和胚胎的发育起着重要作用,同时 HDL 还具有抗炎和抗氧化活性,其抗氧化活性与脂质组合物、载脂蛋白 ApoA1、结构修饰等相关。该研究的结果表明卵泡液中的 ApoA1 水平与胚胎的卵裂率无关,但与胚胎的碎片化呈负相关,影响胚胎发育质量。既往研究数据显示^[16],卵泡液中 HDL 及其组成脂蛋白 ApoA1 可能对人类卵母细胞质量及随后的早期胚胎发育起保护作用,同时 ApoA1 还与空卵泡刺激综合征的低发生率相关。HDL 组分中的 ApoA1 还通过促进胆固醇和磷脂从外周组织转移到新生盘状 HDL,激活卵磷脂胆固醇脂酰转移酶 (LCAT),LCAT 是胆固醇酯化和最终 HDL 颗粒成熟必需的酶,在 HDL 重塑中发挥关键作用^[17]。LCAT 催化胆固醇酯化,使小颗粒 pre β_1 -HDL 转变为 HDL3,然后进一步转变为成熟球状大颗粒 HDL2。ApoA1 含量增加时,会降低小颗粒的亚类 pre β_1 -HDL 水平,使大颗粒的亚类增加,尤其大颗粒的 HDL2b 增加最为明显。ApoA1 作为 HDL 的关键蛋白组分,在 HDL 结构重塑和抗氧化特性中发挥主要作用,HDL 功能的实现与 ApoA1 密不可分,卵泡液中 ApoA1 可能对人类卵母细胞质量及随后的早期胚胎发育中起保护作用。

综上所述,HDL 颗粒组分 ApoA1、HDL2b 含量水平与 IVF 卵裂期胚胎质量相关,对卵裂期胚胎质量具有一定的预测价值,其具体作用机制尚不清楚,且缺少相关基础研究,需进一步的研究探讨。

参考文献:

[1]刘凯鲁,胡梦婷,蔡令波,等.多囊卵巢综合征患者卵泡液中 6

种 miRNAs 表达的检测 [J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018,37(1):5-10.

[2]曾伟宏,李子涛,陈创奇,等.多囊卵巢综合征卵泡液代谢轮廓分析及对 IVF-ET 妊娠结局的影响 [J]. 实用医学杂志, 2018,34(19):73-77.

[3]国家卫计委.卫生部关于修订人类辅助生殖技术与人类精子库相关技术规范、基本标准和伦理原则[R/OL].(2003-09-30) [2017-08-24].http://www.nhfp.gov.cn/zwgkzt/wsbyjsj/200805/35747.shtml.

[4]田莉峰,吴兴武,苏琼,等.早卵泡期超长方案鲜胚移植策略及临床妊娠结局分析[J].江西医药,2018,53(4):25-29.

[5]吴欢,张静静,贺小进,等.不同手术取精方式在辅助生殖技术中的临床应用[J].当代医学,2018,24(2):180-182.

[6]Kleijkers SH,Eijssen LM,Coonen E,et al.Differences in gene expression profiles between human preimplantation embryos cultured in two different IVF culture media [J].Hum Reprod, 2015,30(10):2303-2311.

[7]吴新伟,傅明德,刘秉文,等.人血清高密度脂蛋白亚类免疫印迹检测法[J].中国动脉硬化杂志,1999,7(3):253-255.

[8]杨蕊,刘平,李蓉.专栏导读——辅助生殖技术提高配子胚胎质量、优化评估体系、改善临床结局系列研究[J].中华生殖与避孕杂志,2020,40(2):89-93.

[9]张玲,熊承良.颗粒细胞和卵泡液因子在评估卵母细胞质量中的价值[J].中华生殖与避孕杂志,2010,30(12):827-831.

[10]Várnagy Á,Koszegi T,Gyorgyi E,et al.Levels of total antioxidant capacity and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine of serum and follicular fluid in women undergoing in vitro fertilization: focusing on endometriosis[J].Hum Fertil (Camb),2020,23(3):200-208.

[11]Fisher JJ,Bartho LA,Perkins AV,et al.Placental mitochondria and reactive oxygen species in the physiology and pathophysiology of pregnancy [J].Clin Exp Pharmacol Physiol,2020,47(1):176-184.

[12]Liu Y,Yu Z,Zhao S,et al.Oxidative stress markers in the follicular fluid of patients with polycystic ovary syndrome correlate with a decrease in embryo quality [J].J Assist Reprod Genet, 2021,38(2):471-477.

[13]王丽佳.多囊卵巢综合征病人卵泡液褪黑素与氧化应激的关联研究[J].安徽医药,2020,24(2):356-360.

[14]Yilmaz N,Inal HA,Gorkem U,et al.Follicular fluid total antioxidant capacity levels in PCOS [J].J Obstet Gynaecol,2016,36(5):654-657.

[15]Rincón JAA,Pradié J,Remiao MH,et al.Effect of high-density lipoprotein on oocyte maturation and bovine embryo development in vitro[J].Reprod Domest Anim,2019,54(3):445-455.

[16]Kim K,Bloom MS,Browne RW,et al.Associations between follicular fluid high density lipoprotein particle components and embryo quality among in vitro fertilization patients [J].J Assist Reprod Genet,2017,34(1):1-10.

[17]Takaeko Y,Matsui S,Kajikawa M,et al.Association of extremely high levels of high-density lipoprotein cholesterol with endothelial dysfunction in men[J].J Clin Lipidol,2019,13(4):664-672.

收稿日期:2021-04-01;修回日期:2021-04-16

编辑/杨倩