

脂联素及其基因单核苷酸多态性与广西壮族代谢综合征的相关性研究*

郑利平, 杨 兰, 陆俊佳, 朱 旭[△]

(广西壮族自治区南宁市第二人民医院医学检验科 530031)

[摘要] **目的** 探讨脂联素(APN)及其基因位点+45、+276 和-11377 的单核苷酸多态性与广西壮族代谢综合征(MS)的相关性。**方法** 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测壮族 MS 组、壮族健康组、汉族 MS 组和汉族健康组(各 100 例)血清中 APN 浓度,聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 APN 基因位点+45T/G、+276 G/T 和-11377 C/G 的多态性。**结果** (1)较同民族健康组,两个民族的 MS 组高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和 APN 均显著降低,而 BMI、空腹血糖(FPG)、收缩压、舒张压、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);(2)壮族、汉族 MS 组 APN+45 基因位点的 TG 和 GG 基因型频率明显比同族健康组升高,差异有统计学意义($\chi^2 = 14.319, P = 0.001$; $\chi^2 = 11.631, P = 0.003$)。壮族、汉族 MS 组的 APN+276 位点 TG 和 GG 基因型明显高于同族健康组,差异有统计学意义($\chi^2 = 25.058, P = 0.000$; $\chi^2 = 25.425, P = 0.003$)。4 组的 APN-11377 位点绝大部分是野生型,虽等位基因分布频率略有差异,但差异均无统计学意义($P > 0.05$);(3)两个 MS 组中 APN+45 位点为 TT 基因型的患者血清 APN 水平显著高于基因型为 TG 和 GG 型的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。APN+276 位点为 GG 型的患者血清 APN 水平明显高于基因型为 GT 和 TT 型的患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** APN+45 位点 G 基因型和+276 位点 T 基因型导致血清中 APN 水平降低可能与广西地区壮族和汉族 MS 发生有相关性。

[关键词] 脂联素;基因多态性;壮族;代谢综合征**[中图分类号]** R589.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)02-0203-04

Study on correlation between adiponectin and it single nucleotide polymorphism with Zhuang metabolic syndrome in Guangxi*

Zheng Liping, Yang Lan, Lu Junjia, Zhu Xu[△]

(Department of Clinical Laboratory, Nanning Municipal Second People's Hospital, Nanning, the Guangxi Zhuang Autonomous Region 530031, China)

[Abstract] **Objective** To study the correlation between adiponectin (APN) and gene site APN+45, +276 and -11377 polymorphisms with Zhuang metabolic syndrome (MS) in Guangxi Region. **Methods** The levels of serum adiponectin in Zhuang MS patients, Han MS patients, Zhuang normal people and Han normal people(each of 100 cases) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method, and APN+45, APN+276 and APN-11377 polymorphisms were detected by using PCR-RFLP. **Results** (1) Compared with the same nationality normal control group, the APN and HDL-C levels of the two MS groups were significantly decreased, while BMI, FPG, systolic blood pressure, diastolic blood pressure, TC, TG and LDL-C were significantly increased, the differences were statistically significant ($P < 0.05$); (2) the TG and GG genotype frequency of APN+45 loci in Zhuang and Han MS groups was significantly higher than that in the same nationality normal group, the differences were statistically significant ($\chi^2 = 25.058, P = 0.000$; $\chi^2 = 25.425, P = 0.003$). APN+276 loci TG and GG genotype frequency in Zhuang and Han MS groups significantly higher than that of same nationality normal group, the differences were statistically significant ($\chi^2 = 14.319, P = 0.001$; $\chi^2 = 11.631, P = 0.003$). The heterozygosis degree of APN+276 locus in the Zhuang and Han MS groups was significantly higher than that in the same nationality individuals, the difference was statistically significant (all $P < 0.05$). Most of APN-11377 locus in the 4 groups was the wild type, although there was a slight difference in the distribution of allele frequencies, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). (3) The serum APN level in the patients with APN+45 TT genotype of the two MS groups was significantly higher than that in the patients with TG and GG genotype, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The serum APN level in the patients with APN+276 GG genotype was significantly higher than that in the patients with GT and TT genotype, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The APN+45 G genotype and APN+276 T genotype resulted in the decrease of serum APN level, which may be associated with the occurrence of MS in Zhuang and Han nationality.

[Key words] adiponectin; polymorphism; Zhuang nationality; metabolic syndrome

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)是一组以多种代谢性疾病或危险因素在个体聚集的综合征。临床主要表现是高血压、血脂异常、糖耐量异常、凝血异常。胰岛素抵抗是 MS 的主要病理基础,贯穿于 MS 发生、发展的始终。脂联素(APN)

是脂肪细胞分泌的特异性蛋白,具有调节血糖、血脂代谢,增强胰岛素敏感性,抗炎症,抗动脉粥样硬化,抗血小板聚集等生物作用。因此 APN 水平的改变可能引起 MS 发生、发展。本研究通过检测广西最大的少数民族,即壮族 MS 患者外周循环中

APN 水平及其基因位点 +45T/G、+276 G/T 和 -11377C/G 基因多态型及等位基因的分布频率,探讨 APN 水平及基因位点与壮族 MS 的关系,从而为广西地区壮族 MS 防治提供全新视角。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择广西南宁市的壮族 MS 患者、壮族健康个体、汉族 MS 患者和汉族健康个体各 100 例。其中,壮族 MS 组:女 48 例,男 52 例,年龄 46~75 岁,平均 53.1 岁;壮族健康组:女 45 例,男 55 例,年龄 50~71 岁,平均 53.9 岁;汉族 MS 组:女 45 例,男 55 例,年龄 47~78 岁,平均 54.3 岁;汉族健康组:女 47 例,男 53 例,年龄 49~72 岁,平均 54.4 岁。入选标准:(1)3 代以上未有与外族通婚的壮族或汉族家庭,第 3 代或以下个体纳入研究,且尽可能确保研究对象在其可追踪的历史上没有与外族通婚;(2)无遗传性疾病家族史及其他继发血脂、血糖升高的急、慢性疾病史。MS 的诊断参照《中国成人血脂异常防治指南》^[1]。4 组研究对象在年龄和性别上差异无统计学意义($P>0.05$)。采样过程遵循知情同意原则,并通过询问确保样本间无血缘关系。

1.2 仪器与试剂 全自动生化仪(日本日立公司);酶标仪(深圳雷杜生命科学有限公司);核酸扩增仪(美国 ABI 公司);电泳仪(北京六一仪器厂)。凝胶成像仪(珠海黑马生物公司);APN 检测试剂(美国 GBD 公司);全血 DNA 抽提试剂(北京天根生化科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 抽取研究对象空腹状态下静脉血 5 mL,注入干燥管和 EDTA 抗凝管中。干燥管放置 30 min 后,低速离心(3 000 r/min)10 min,分离血清用于测定空腹血糖(FPG)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和 APN 的检测。EDTA 抗凝管充分混匀,提取 DNA 用于 APN 基因位点多态性检测。

1.3.2 血清 FPG、TG、TC、HDL-C、LDL-C 和 APN 的检测 采用比浊法或比色法测定血清 FPG、TG、TC、HDL-C、LDL-C 水平。酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 APN,一切操作严格按照试剂说明书。

1.3.3 DNA 制备 全血 DNA 的制备严格按照 DNA 提取试剂说明书操作,最后 -20 °C 保存备用。

1.3.4 APN 基因检测

1.3.4.1 反应体系 PCR 混合反应液 8.0 μ L(含 dNTP、buffer),Taq 酶 0.5 μ L,无菌水 37.5 μ L,DNA 模版 2.0 μ L 和上、下游引物各 1.0 μ L,共 50.0 μ L 反应体系。APN 3 个基因位点引物序列见表 1。

1.3.4.2 APN 基因位点的扩增条件 APN+45 和 APN+

276 位点:94 °C 5 min 预变性;94 °C 1 min,55 °C 45 s,72 °C 1 min,35 个循环;72 °C 延伸 7 min。APN-11377 位点:94 °C 5 min 预变性;94 °C 1 min,62 °C 45 s,72 °C 1 min,35 个循环;72 °C 延伸 5 min。

1.3.4.3 APN 限制性片段长度多态性分析 PCR 扩展产物 20 μ L、buffer 3 μ L,内切酶 1 μ L,无菌水 6 μ L,37 °C 孵育 1 h 后取 5 μ L 在 2%琼脂糖凝胶上点样。电压 100 V,电泳 30 min 后在凝胶成像仪下观察电泳结果并摄像保存。3 个基因位点酶切情况见表 2。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料用率表示,组间采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。APN 基因位点多态性进行 Hardy-Weinberg 平衡检验, $P>0.05$ 即表明样本具有群体代表性。

表 1 APN+45、+276 和 -11377 基因位点引物序列

位点	引物序列(5'-3')	PCR 产物大小(bp)
APN+45、+276	上游引物:CTTGGTGAGGAAAGGAGAC 下游引物:GAGGAATCAGAAATATGAATG	745
APN-11377	上游引物:TGCTCTTGTTGAAGTTGGTGCCTG 下游引物:GCTTGTGGCTCGAATCGTA	450

表 2 APN3 个基因位点酶切情况

位点	内切酶	基因型	片段大小(bp)
APN+45 位点	BspHI 内切酶	GG	745
		GT	745,291,454
		TT	291,454
APN+276 位点	BsmI 内切酶	TT	745
		TG	745,225,520
		GG	225,520
APN-11377 位点	AlwNI 内切酶	GG	450
		GC	450,95,355
		CC	95,355

2 结果

2.1 4 组临床一般资料及 APN 的比较 较同族健康个体,两个民族的 MS 组外周循环中 HDL-C 和 APN 水平均较健康组显著降低,而 BMI、FPG、收缩压、舒张压、TG、TC、LDL-C 明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。而壮族 MS 组与汉族 MS 组间的 FPG、BMI、收缩压、舒张压、TG、TC、HDL-C、LDL-C 和 APN 略有差异,但差异并无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 研究对象临床资料的比较($\bar{x}\pm s, n=100$)

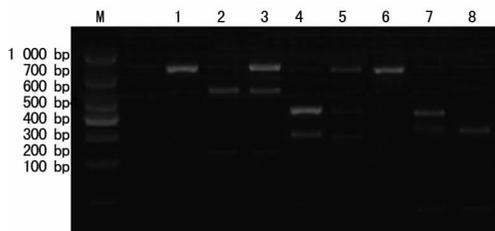
项目	壮族 MS 组	汉族 MS 组	壮族健康组	汉族健康组
APN(mg/L)	79.67 \pm 7.91 ^a	73.24 \pm 8.17 ^a	104.42 \pm 10.67	108.33 \pm 11.24
BMI(Kg/m ²)	26.35 \pm 2.62 ^a	26.97 \pm 2.43 ^a	22.18 \pm 2.32	22.39 \pm 2.84
FPG(mmol/L)	5.67 \pm 2.01 ^a	5.85 \pm 2.29 ^a	4.38 \pm 0.68	4.45 \pm 0.59
收缩压(mm Hg)	137.50 \pm 16.50 ^a	139.80 \pm 17.80 ^a	114.50 \pm 15.70	116.80 \pm 14.90
舒张压(mm Hg)	82.40 \pm 12.50 ^a	83.90 \pm 13.10 ^a	72.10 \pm 8.20	74.40 \pm 8.00
TG(mmol/L)	2.85 \pm 0.61 ^a	2.94 \pm 0.67 ^a	1.13 \pm 0.52	1.24 \pm 0.58
TC(mmol/L)	5.51 \pm 1.69 ^a	5.68 \pm 1.72 ^a	4.27 \pm 1.12	4.35 \pm 1.24
LDL-C(mmol/L)	3.32 \pm 1.51 ^a	3.46 \pm 1.67 ^a	1.79 \pm 0.89	1.85 \pm 0.96
HDL-C(mmol/L)	1.29 \pm 0.42 ^a	1.35 \pm 0.49 ^a	1.62 \pm 0.54	1.69 \pm 0.58

^a: $P<0.05$,与同民族健康组比较。

2.2 4 组的 3 个 APN 基因位点多态性分析 健康组和 MS 组的 APN+45、+276 和 -11377 基因单核苷酸多态性经 H-W 平衡检验,均符合 H-W 群体遗传平衡法则($P>0.05$),具有群体代表性。4 组的 APN+45 和 +276 基因位点杂合程度较高,均以汉族 MS 组最高。4 组 APN-11377 位点少见突变,均以野生型为主。4 组 APN+45 位点等位基因分布频率,发现壮族和汉族 MS 组的 TG 和 GG 基因频率明显比同族健康组升高,差异有统计学意义($\chi^2 = 14.319, P = 0.001; \chi^2 = 11.631, P = 0.003$);壮族 MS 组 APN+45 基因杂合程度略低于汉族 MS 组,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.372, P = 0.830$)。APN+276 位点等位基因分布频率同 APN+45 位点,壮族和汉族 MS 组的 GT 和 TT 基因频率明显比壮族和汉族健康组升高,差异有统计学意义($\chi^2 = 25.058, P = 0.000; \chi^2 = 25.425, P = 0.000$);壮族 MS 组 APN+276 基因杂合程度略低于汉族 MS 组,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.193, P = 0.908$)。4 组的 APN-11377 位点绝大部分是野生型,虽基因频率略有差异,但差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 4。电泳结果见图 1。

表 4 4 组各基因型别频率检测结果(%)

位点	基因型	壮族 MS 组	汉族 MS 组	壮族健康组	汉族健康组
APN+45	TT	16	13	20	17
	TG	38	40	59	59
	GG	46	47	21	24
P		0.099	0.340	0.072	0.063
APN+276	GG	61	58	91	89
	GT	30	32	8	10
	TT	9	10	1	1
P		0.076	0.092	0.114	0.256
APN-11377	CC	96	97	98	99
	CG	4	3	2	1
	GG	0	0	0	0
P		0.838	0.879	0.920	0.960



M: marker; 1: APN+276 TT 型; 2: APN+276 GG 型; 3: APN+276 TG 型; 4: APN+45 TT 型; 5: APN+45 TG 型; 6: APN+45 GG 型; 7: APN-11377 CG 型; 8: APN-11377 CC 型。

图 1 APN 3 个基因位点扩增产物酶切电泳图

2.3 MS 组 APN3 个位点不同基因型与血清 APN 水平的影响 MS 组中 APN+45 位点携带 TT 型的患者血清 APN 水平显著高于基因型为 TG 和 GG 型的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。MS 组 APN+45 位点 TG 型别的 APN 水平较 GG 型别的 MS 患者略高,但差异并无统计学意义($P>0.05$)。MS 组中 APN+276 位点携带 GG 型的患者血清 APN 水平显著高于基因型为 GT 和 TT 型的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。MS 组 APN+276 位点 GT 型别的 APN 水平较 TT 型

别的 MS 患者略高,但差异并无统计学意义($P>0.05$)。MS 组中 APN-11377 位点的 CC 型别和 CG 型别的 APN 水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表 5。

表 5 MS 组 APN+276G/T 和 -11377C/G 不同基因型的血清 APN 水平

位点	基因型	n	APN($\bar{x} \pm s, \text{mg/L}$)
APN+45	TT	29	81.49 ± 9.42
	TG	78	76.17 ± 8.29 ^a
	GG	93	75.68 ± 8.91 ^a
APN+276	GG	119	80.73 ± 9.58
	GT	62	75.49 ± 8.83 ^a
	TT	19	75.21 ± 8.39 ^a
APN-11377	CC	193	76.89 ± 8.47
	CG	7	75.81 ± 5.47
	GG	0	

^a: $P<0.05$, 与同位点 TT 型比较。

3 讨论

APN 是脂肪组织分泌的一种特异性蛋白。可调节葡萄糖、脂质代谢,改善胰岛素抵抗,影响血管内皮功能和炎症反应^[2-3]。APN 基因位于人染色体 3q27 区域,该区域具有丰富的多态性^[4],有研究表明该区域是 2 型糖尿病、MS、冠心病的易感基因区域^[5-7]。但 APN 基因多态性存在地区、种族差异,以致很多研究结果不一致,甚至不同地区的同一种族人群的研究也会有相互矛盾的结果产生^[8]。因此研究广西地区壮族 MS 患者血清中 APN 水平和基因位点单核苷酸多态性,对明确该地区 MS 患者的发生、发展因素具有重要作用。

较同族健康个体,壮族和汉族 MS 组外周循环中 APN 水平显著降低,这与 Kizer 等^[9]研究结果相似,提示血清中低 APN 水平可能与 MS 的发生、发展密切相关。壮族 MS 组 APN 水平略高于汉族 MS 组,这可能跟壮族 MS 组血脂、血糖、血压等临床指数略低于汉族 MS 组相关,间接证明了 MS 的发展与 APN 的水平相关。壮族和汉族 MS 组 APN+45 位点的 TG、GG 基因型分布频率明显高于该族健康个体,且携带 G 基因型的个体血清中 APN 水平降低,GG 基因型个体 APN 水平显著下降,提示携带 SNP+45 G 基因型个体所致的血清中低水平 APN 更易发展为 MS,是 MS 的一个危险因素,这与国内外有关研究相似^[7,9]。目前 APN+276 位点 G/T 变异的研究结果不一致,有研究表明 APN+276 基因多态性与肥胖个体的低 APN 水平相关^[10],也有研究表明该变异位点与 MS 不相关^[11]。同 APN+45 位点,壮族和汉族 MS 组 APN+276 的 GT、TT 基因型明显高于同族健康个体,T 等位基因携带的个体血清中 APN 水平明显降低,提示携带 SNP+276T 基因型的个体所致的血清中低水平 APN 更易发展为 MS,是 MS 的另一个危险因素,这与相关研究结论一致^[7,9]。两个民族 MS 组 APN+45 位点、APN+276 位点等位基因分布频率与血清中 APN 水平虽略有差异,但差异并无统计学意义。提示 APN+45 位点、APN+276 位点多态性在广西地区无民族差异性。有研究表明 APN+45 基因位点和 +276 基因位点存在一定的连锁不平衡^[12]。但因此次研究主要遴选彼此没有血缘关系的研究对象作为研究对象,没有选择 MS 家系做研究,因此不能确定 APN+45 的 G 基因型和 +276 位点的 T 基因型的连锁不平衡。APN-11377 基因位点在两个民族 MS 组和健康

个体中以野生型为主,基因杂合程度均不高,且与血清中 APN 水平并不相关,提示 SNP-11377 基因多态性与 MS 不相关。这与桂北地区汉族体检人群的研究结论一致^[13]。但与 Lin 等^[14]研究表明血浆 APN 水平降低,是 MS 发生的一个危险因素,结论不一致。

总之,APN+45G 基因型和 APN+276T 基因型所导致的血清中低 APN 水平可能与广西地区汉族、壮族 MS 患者的发生密切相关。将 APN+45 和 APN+276 基因位点作为 MS 的筛选基因之一有助于早期发现广西地区 MS 的易感人群。

参考文献

- [1] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2012, 19(18): 5-15.
- [2] Xu XT, Xu Q, Tong JL, et al. Meta-analysis: circulating adiponeetin levels and risk of colorectal cancer and adenoma[J]. J Dig Dis, 2011, 12(4): 234-244.
- [3] Garg MK, Dutta MK, Mahalle N. Adipokines (adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1) in metabolic syndrome[J]. Indian J Endocrinol Metab, 2012, 16(1): 116-123.
- [4] Flynn C, Bakris GL. Interaction between adiponectin and aldosterone[J]. Cardioresnal Med, 2011, 1(2): 96-101.
- [5] 孙琳, 廖羽, 叶琳, 等. FADS1/FADS2 基因多态性与冠心病发病的关联性分析[J]. 吉林大学学报(医学版), 2012, 38(1): 115-118.
- [6] 何慧婧, 卫大英, 王淳秀, 等. 四川凉山汉族 2 型糖尿病与脂联素基因多态性[J]. 中国公共卫生, 2012, 28(3): 302-304.
- [7] 王遂军, 贾伟平, 包玉倩, 等. 脂联素基因多态性与代谢综合征相关性研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2012, 26(7): 659-661.
- [8] 徐丽, 凌文华. 脂联素基因多态性研究进展[J]. 国外医学(内分泌学分册), 2005, 25(1): 1-3.
- [9] Kizer JR, Barzilay JI, Kuller LH, et al. Adiponectin and risk of coronary heart disease in older men and women [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(9): 3357-3364.
- [10] 薛磊, 李丹丹, 庞妮燕. 代谢综合征患者脂联素基因多态性与胰岛素抵抗的相关性[J]. 山东医药, 2014, 54(33): 78-79.
- [11] 朱晓巍, 吴文君, 卜瑞芳, 等. 代谢综合征患者脂联素基因多态性分析[J]. 山东医药, 2010, 50(49): 10-12.
- [12] 史凯蕾, 朱毅, 缪应新, 等. 脂联素基因 SNPs+45T>G 和 SNP+276G>T 与老年非糖尿病冠心病的相关性[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2012, 11(3): 47-49.
- [13] 汪琳姣, 于健, 叶瑶, 等. 桂北地区汉族体检人群代谢综合征调查及脂联素基因多态性研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15(11): 1133-1138.
- [14] Lin CH, Ho CY, Liu CS, et al. Influence of adiponectin gene polymorphisms on adiponectin serum level and insulin resistance index in taiwanese metabolic syndrome patients[J]. Chin J Physiol, 2012, 55(6): 405-411.

(收稿日期: 2016-07-22 修回日期: 2016-11-07)

(上接第 202 页)

- [1] 助孕结局比较[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(6): 438-442.
- [3] Bedoschi GM, De Albuquerque FO, Ferriani RA, et al. Ovarian stimulation during the luteal phase for fertility preservation of cancer patients: case reports and review of the literature[J]. J Assist Reprod Genet, 2010, 27(8): 491-494.
- [4] 丁锦丽, 杨菁, 李风和. 移植胚胎数量和辅助孵化对高龄不孕症患者助孕临床结局的影响[J]. 生殖医学杂志, 2016, 25(1): 16-21.
- [5] Wyndham N, Marin Figueira PG, Patrizio P. A persistent misperception: assisted reproductive technology can reverse the "aged biological clock"[J]. Fertil Steril, 2012, 97(5): 1044-1047.
- [6] Maman E, Meirow D, Brengauz M, et al. Luteal phase oocyte retrieval and in vitro maturation is an optional procedure for urgent fertility preservation [J]. Fertil Steril, 2011, 95(1): 64-67.
- [7] 唐奕, 张红, 罗克莉, 等. 黄体期促排卵方案在卵巢低反应患者中的初步研究[J]. 生殖与避孕, 2014, 34(6): 462-466.
- [8] 李敏, 王嵩明, 商微, 等. 黄体期促排卵取卵在卵巢低反应患者中的应用[J]. 生殖医学杂志, 2013, 22(8): 612-614.
- [9] 朱光丽, 吕玉珍, 宋文月. 人工黄体期促排卵在卵巢储备功能低下患者中的应用[J]. 现代妇产科进展, 2016, 25(4): 273-276.
- [10] 张娟, 方小玲, 李辉, 等. 五种促排卵方案在卵巢储备功能下降患者中的临床疗效观察[J]. 生殖医学杂志, 2012, 21(6): 578-583.
- [11] 罗克莉, 蔡素芬, 林戈, 等. 改良超长方案在卵巢储备功能低下高龄患者中的应用[J]. 生殖与避孕, 2013, 33(1): 11-15.
- [12] Patrizio P, Sakkas D. From oocyte to baby: a clinical evaluation of the biological efficiency of in vitro fertilization [J]. Fertil Steril, 2009, 91(4): 1061-1066.
- [13] 唐静. 不同促排卵方法对卵巢储备功能下降患者的疗效[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(5): 96-99.
- [14] Tsafirri A, Simon A, Revel A, et al. Comparison of "poor" responders with "good" responders using a standard buserelin/human menopausal gonadotrophin regime for IVF[J]. Reprod Biomed Online, 2007, 14(3): 348-355.

(收稿日期: 2016-07-28 修回日期: 2016-09-14)