

因子 IL-10, IL-10 最终缓解了创面愈合过程中的炎症反应,进而愈合速度加快。

早期研究一般认为干细胞修复组织再生主要通过分化为组织相关细胞,参与新生组织的构建^[1,3]。近年来,越来越多的研究倾向于认为干细胞在移植后存活数量随时间急剧下降,极少量的细胞不会通过直接参与新生组织的构建促进组织再生,更有可能是通过改变局部微环境(如炎症)促进组织再生的。本研究同样证实了这一观点。利用本研究中获取 GFP-C57BL 小鼠来源的 ADSCs 持续表达 GFP 蛋白的特点,进行了细胞在体内失踪及存活情况的研究。结果表明,在细胞移植后 2 周,体内只有少量 ADSCs 存活,提示 ADSCs 可能是通过旁分泌作用缓解创面局部炎症反应,进而促进创面愈合。

参考文献

1 Altman AM, Yan Y, Matthias N, *et al.* Human adipose - derived stem cells seeded on a silk fibroin - chitosan scaffold enhance wound repair in a murine soft tissue injury model [J]. *Stem Cells*, 2009, 27 (1):250 - 258

2 Kim WS, Park BS, Sung JH, *et al.* Wound healing effect of adipose - derived stem cells;a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts [J]. *J Dermatol Sci*, 2007, 48(1):15 - 24

3 Wu Y, Chen L, Scott PG *et al.* Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(10):2648 - 2659

4 Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, *et al.* Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2002, (12):4279 - 4295

5 Ogawa R, Wizuno H, Hyakusoku H. Chondrogenic and osteogenic differentiation of adipose - derived stem cells isolated from GFP transgenic mice [J]. *Nippon Med Sch*, 2004, 71(4):240 - 241

6 孙雅娟, 刘鲁川, 金岩, 等. 绿色荧光蛋白转基因小鼠脂肪间充质干细胞的多向分化潜能[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29 (7):623 - 625

7 Zhang Q, Shi S, Liu Y, *et al.* Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation - related tissue destruction in experimental colitis [J]. *J Immunol*, 2009, 183(12):7787 - 7798

8 吴国强, 李耀辉, 刘晓艳, 等. 兔胚胎皮肤伤口无瘢痕愈合机制研究[J]. 中国临床康复, 2004, 8(26):5574 - 5575

(收稿:2011-06-01)

(修回:2011-07-18)

月经中期血清雄激素水平对多囊卵巢综合征促排卵中妊娠预测作用研究

程 静 侯晓红 池海虹 黄永刚 陈益鲁 肖 宇 吕杰强

摘 要 **目的** 探讨围排卵期血清睾酮(testosterone, T)水平对氯米芬(clomiphene citrate, CC)抵抗的多囊卵巢综合征(PCOS)病人妊娠的预测作用。**方法** 60 名 CC 抵抗的 PCOS 病人随机分为 A 组和 B 组。A 组患者予以维生素 E 100mg; B 组患者予以二甲双胍 1000mg; 口服, 每日 2 次, 连续 3 个月作为预处理。随后 A 组患者予以二甲双胍(1000mg 口服, 每日 2 次)、CC、尿促性腺激素(HMG)、人绒毛膜促性腺激素(HCG)促排卵; B 组患者予以 CC/HMG/HCG 促排卵, 连续 3 个月。另选 30 名正常排卵妇女作为对照组(C 组)。促排卵周期及正常周期中测定患者排卵前后血清中生殖激素水平, 并对妊娠和非妊娠周期排卵前后生殖激素水平进行比较。**结果** 实验组 A、B 两组中共 56 人完成 141 治疗周期, A 组中临床妊娠、非妊娠周期排卵后血清睾酮(T)水平分别为 $0.74 \pm 0.11 \text{ ng/ml}$ 和 $0.95 \pm 0.16 \text{ ng/ml}$, 差异有显著意义($P = 0.001$); B 组中临床妊娠、非妊娠周期排卵后 T 分别为 $0.70 \pm 0.04 \text{ ng/ml}$ 和 $0.85 \pm 0.09 \text{ ng/ml}$, 差异有显著意义($P < 0.001$); C 组 30 个周期中妊娠和非妊娠者排卵后血清 T 分别为 $0.73 \pm 0.05 \text{ ng/ml}$ 和 $0.71 \pm 0.07 \text{ ng/ml}$, 差异无统计学意义($P > 0.05$); A、B 组妊娠周期排卵后 T 水平与正常组相比差异无显著性, 而非妊娠周期 A、B 组排卵后 T 水平显著高于 C 组($P < 0.001$)。**结论** 二甲双胍治疗的 CC 抵抗的 PCOS 病人, 排卵后血清 T 水平对妊娠具有一定的预测价值。

关键词 睾酮 多囊卵巢综合征 促排卵 妊娠

Prognostic Value of Testosterone for Pregnancy in the Midcycle During Treatment in Patients with Polycystic Ovary Syndrome. Cheng Jing, Hou Xiaohong, Chi Haihong, *et al.* Department of Obstetrics and Gynecology, Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China

作者单位: 325000 温州医学院附属第二医院生殖健康中心

通讯作者: 吕杰强, 电子信箱: jieqianglu@126.com

Abstract Objective To evaluate whether the testosterone level around the ovulation period is related to the outcome of pregnancy in women with clomiphene citrate (CC) – resistant PCOS women. **Methods** Total 60 non – obese PCOS women with CC resistant PCOS women from Reproductive Health Centre from The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College were enrolled and randomly assigned to be treated with placebo (100mg) (Group A) or metformin (1000mg) (Group B) twice daily for three months as the pre – treatment. Then metformin was administered along with CC, human menopausal gonadotropin (HMG) and human chorionic gonadotropin (HCG) to induce ovulation for three months in Group A. In Group B, CC/HMG/HCG was used to induce ovulation for three months without metformin. Group C ($n=30$) was the control group. Follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E_2) and testosterone (T) levels before and after ovulation in pregnant cycles and non – pregnant cycles were evaluated over the course of treatment. **Results** Total of 56 subjects completed 141 cycles in group A and group B. The T levels after ovulation in the pregnant cycles were significantly lower than in the non – pregnant cycles in both groups ($P=0.001$ and $P<0.001$, respectively), which was as low as that of control group C. **Conclusion** The level of total T after ovulation may be of prognostic value for pregnancy in non – obese women with CC – resistant PCOS during treatment.

Key words Testosterone; Polycystic ovary syndrome; Ovulation induction; Pregnancy

多囊卵巢综合征(PCOS)是引起无排卵和不孕最常见的原因之一,育龄妇女的发病率高达 6.5% ~ 6.8%^[1,2]。高雄激素血症是 PCOS 最主要的临床特征之一,研究表明高雄激素过多可能是 PCOS 发病的根本原因^[3]。

二甲双胍是传统的抗糖尿病药物,也可以用于改善 PCOS 妇女的代谢状态,并可以直接影响卵巢甾体激素的合成^[4-6]。以往的研究表二甲双胍对 CC 抵抗的 PCOS 妇女可以降低基础睾酮(testosterone, T)水平,提高妊娠率^[7,8]。而目前国内外关于围排卵期 T 水平与 PCOS 妇女的报道很少,本研究通过比较二甲双胍治疗 CC 抵抗的 PCOS 妇女妊娠周期和非妊娠周期中围排卵生殖激素水平,探讨围排卵期 T 水平对妊娠是否有预测作用。

对象与方法

1. 对象:2005 年 12 月 ~ 2011 年 5 月在笔者医院生殖健康中心就诊的 PCOS 患者 60 例,均满足以下条件:①氯米芬抵抗;②年龄 ≤ 40 岁;③体重指数(BMI) $< 27\text{kg}/\text{m}^2$;④原发不孕。

2. 对照组选择同期在本中心就诊的因男方因素不孕的排卵正常的妇女。

3. 实验组排除标准:①盆腔手术史;②因为输卵管因素或者男方因素而不孕;③3 个月内服用口服避孕药、糖皮质激素、抗雄激素、抗糖尿病、抗肥胖或者其他激素类药物史;④其他原因所致高雄激素血症及子宫内膜病变。

4. PCOS 的诊断标准:参照鹿特丹标准。

5. 氯米芬抵抗定义:月经周期 3 ~ 7 天每天服用克罗米芬 150mg,连续 3 个月,在月经周期第 12 ~ 14 天经阴道超声检查无卵泡发育,第 21 天血清孕酮水平低于 $5.0\text{ng}/\text{ml}$ 。

6. 分组及用药:随机将受试者分为安慰剂组(A 组)和二甲双胍组(B 组,格华止,默克公司)。A 组患者每日给予维生素 E100mg,口服;B 组予二甲双胍 1000mg,口服;均为每天 2 次,连续 3 个月作为预处理。预处理后开始促排卵治疗。两组妇女均在月经周期第 3 ~ 7 天氯米芬 50mg 每天 1 次口服。

从月经周期第 10 天开始行阴道超声监测卵泡,每 3 天 1 次。当主卵泡达到 14mm 时,每天监测 1 次,当卵泡直径 $> 16\text{mm}$ 后每天监测直至排卵。月经第 10 天,如卵泡直径未达到 10mm,予以 HMG75IU,每天 1 次肌肉注射。当有 1 个卵泡直径达到 20mm,或者 2 个卵泡 $\geq 18\text{mm}$,或者 3 个卵泡直径 $\geq 17\text{mm}$ 时,注射 HCG5000U。HCG 日记录成熟卵泡数目及子宫内膜厚度。指导两组病人在 HCG 注射后 36h 性生活,48h 后行阴道超声检查,确定是否排卵。A 组患者促排卵同时口服二甲双胍 1000mg,每天 2 次;从月经第 1 天开始,连续 3 个月。黄体期支持采用黄体酮针 20mg,每天 1 次,肌肉注射,共 14 天。另设一正常对照组(C 组),排卵监测同 A、B 组。排卵后 15 天月经仍未来潮,行尿妊娠试验。若尿妊娠试验阳性,A 组患者停止服用二甲双胍,并于停经 60 天行阴道超声检查,见孕囊、胚芽及胎心搏动即确定为临床妊娠。C 组不予以用药,在监测卵泡直径达 18mm 时肌肉注射 HCG5000U,检测指标同 A、B 两组。

7. 指标测定:所有 PCOS 妇女在月经周期第 3 天测定空腹胰岛素(FINS)、空腹血糖(FBS)、血清总睾酮(T)、雌二醇(E_2)、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)。采用稳态模型公式评估患者是否存在胰岛素抵抗,稳态模型(HOMA_{IR}) = $\text{FINS}(\text{mU}/\text{L}) \times \text{FBS}(\text{mmol}/\text{L})/22.5$,若稳态模型评分大于 2 即为胰岛素抵抗^[9]。A、B 组在注射 HCG 前、C 组在卵泡成熟日和排卵后 $12 \pm 2\text{h}$,留取血液,离心取上清,血清冻于 -20°C 冰箱,统一测定 T、 E_2 、FSH、LH。

8. 统计学方法:采用 SPSS 16.0 进行统计分析,实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间计量数据比较使用方差分析或秩和检验,率的比较使用卡方检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

结 果

1. 一般资料:入选实验的两组患者之间年龄、体重指数(BMI)、不孕年限、基础 T、FSH、 E_2 、LH、泌乳素(prolactin PRL)、FINS、FBS 及 HOMA_{IR} 评分比较差别无统计学意义($P > 0.05$);对照组 C 组与 A、B 组

间年龄、不孕年限、体重指数、基础的 PRL、FBS、E₂ 水平差别无统计学意义 ($P>0.05$), 而内分泌各项指标差异均具有显著性 ($P<0.01$) (表 1)。

表 1 实验组氯米芬抵抗的多囊卵巢综合征患者的基础临床及内分泌指标

指标	A 组 (<i>n</i> = 28)	B 组 (<i>n</i> = 28)	C 组 (<i>n</i> = 30)	<i>P</i>
年龄 (岁)	27.65 ± 2.83	28.12 ± 3.51	26.78 ± 2.39	0.640
不孕年限 (年)	3.49 ± 2.33	3.12 ± 1.25	2.61 ± 1.64	0.860
BMI (kg/m ²)	22.05 ± 1.39	21.54 ± 1.50	20.28 ± 3.40	0.680
FSH (U/L)	7.68 ± 1.92	8.39 ± 2.54	4.68 ± 3.25	0.040
LH (U/L)	5.74 ± 2.46	7.39 ± 5.23	5.12 ± 1.86	0.020
T (ng/ml)	0.65 ± 0.23	0.68 ± 0.16	0.32 ± 1.26	0.001
E ₂ (pg/ml)	53.87 ± 30.48	48.63 ± 12.55	45.20 ± 10.66	0.080
PRL (ng/ml)	15.39 ± 5.07	16.39 ± 4.59	18.42 ± 2.59	0.100
FBS (mmol/L)	4.94 ± 0.41	5.07 ± 0.55	4.35 ± 0.33	0.260
FINS (mU/L)	9.91 ± 3.89	10.55 ± 6.98	5.67 ± 2.41	0.001
HOMA _{IR} score	2.19 ± 0.64	2.48 ± 1.79	1.46 ± 0.84	0.030

BMI. 体重指数; FSH. 卵泡刺激素; LH. 黄体生成素; T. 睾酮; E₂. 雌二醇; PRL. 泌乳素; FINS. 空腹胰岛素; FBS. 空腹血糖; HOMA_{IR} score. 稳态模型

2. 临床结果: 实验组共 60 位入选者中的 56 位完成本研究, A 组 2 人诱发排卵过程中退出; B 组有 2 人预治疗中因妊娠退出。A 组 30 人中的 16 人临床妊娠 (53.33%), B 组 30 人中, 15 人 (50%) 妊娠。另外, A 组中有 2 例分别孕 52 天、56 天自然流产。对照组 C 组 30 例全部完成本研究。

3. 实验组排卵前后生殖激素比较: 排卵前 A、B 两组中妊娠周期和非妊娠周期的 E₂、FSH、LH 差别均无统计学意义 ($P>0.05$); 两组患者排卵前 T 水平在妊娠周期中均低于非妊娠周期, 但差异仍无显著性 ($P>0.05$) (表 2)。排卵后两组妊娠周期和非妊娠周期 T 水平比较, 差异均有显著统计学意义 ($P = 0.001, P<0.001$), 而 E₂、FSH、LH 差别均无统计学意义 ($P>0.05$) (表 2)。

4. 实验组与正常对照组相比, 排卵前妊娠周期与非妊娠周期的各项内分泌指标与对照组相比差异均具有显著性 ($P<0.01$); 排卵后, 实验两组的妊娠周

表 2 实验两组临床妊娠和非临床妊娠周期临床指标和围排卵期内分泌指标比较

项目	A 组			B 组		
	妊娠周期 (<i>n</i> = 16)	非妊娠周期 (<i>n</i> = 53)	<i>P</i>	妊娠周期 (<i>n</i> = 15)	非妊娠周期 (<i>n</i> = 55)	<i>P</i>
内分泌指标						
排卵前						
FSH (U/L)	8.75 ± 2.44	9.35 ± 3.20	0.720	9.92 ± 4.51	8.23 ± 1.70	0.360
LH (U/L)	34.37 ± 23.24	24.58 ± 20.09	0.160	31.90 ± 12.44	32.46 ± 6.50	0.750
T (ng/ml)	0.80 ± 0.26	0.83 ± 0.51	0.170	0.89 ± 0.31	1.05 ± 0.17	0.080
E ₂ (pg/ml)	1285.00 ± 1210.34	793.21 ± 655.90	0.150	655.33 ± 501.85	418.66 ± 216.58	0.300
排卵后						
FSH (U/L)	8.66 ± 4.45	8.72 ± 2.57	0.630	7.88 ± 1.45	7.46 ± 1.75	0.420
LH (U/L)	25.35 ± 14.68	22.97 ± 13.46	0.840	15.75 ± 8.78	20.87 ± 5.82	0.180
T (ng/ml)	0.74 ± 0.11	0.95 ± 0.16	0.001	0.70 ± 0.04	0.85 ± 0.09	0.000
E ₂ (pg/ml)	805.38 ± 544.12	723.37 ± 631.99	0.350	275.17 ± 182.76	323.00 ± 166.43	0.420
子宫内膜厚度 (mm)	8.28 ± 0.77	8.32 ± 0.55	0.660	8.18 ± 0.70	8.59 ± 0.61	0.140
成熟卵泡 (个)	2.13 ± 0.62	1.76 ± 0.88	0.240	1.83 ± 0.25	1.64 ± 0.53	0.560

FSH: 卵泡刺激素; LH: 黄体生成素; T: 睾酮; E₂: 雌二醇

期中血清 T 水平及子宫内膜厚度与正常组相比差异无显著意义 ($P>0.05$), 而非妊娠周期血清 T 水平显著高于对照组; 其他内分泌指标、成熟卵泡个数与对照组相比差异均有显著性 ($P<0.01$, 表 3)。

5. HCG 日子宫内膜厚度、大于 16mm 卵泡数比较差异无统计学意义 ($P>0.05$) (表 2)。

表 3 排卵后各组 T 水平比较 (ng/ml)

组别	妊娠周期	非妊娠周期	<i>P</i>
A 组	0.74 ± 0.11	0.95 ± 0.16	0.001
B 组	0.70 ± 0.04	0.85 ± 0.09	0.000
C 组	0.73 ± 0.05	0.71 ± 0.07	> 0.05
<i>P</i>	> 0.05	0.000	

讨 论

PCOS 患者不孕的治疗中, 高雄激素血症常预示着卵巢的低反应性^[10]。二甲双胍可以单独或者与氯米芬 (CC) 合用诱发 PCOS 患者排卵。Rouzi 等报道, 二甲双胍联合 CC 对 PCOS 患者治疗 3 个周期, 可以使 38.5% 的 CC 抵抗的 PCOS 患者获得妊娠, 同时伴有血清睾酮水平 (testosterone, T) 降低达 39.9%^[7]。而另外一项研究结果也证实了二甲双胍应用一个周期, 即可使血清中睾酮水平降低 41.6%, 并可以使 16.6% 的 CC 抵抗的 PCOS 患者妊娠^[8]。因此二甲双胍对 PCOS 妇女治疗的有效性往往与 PCOS 患者高雄激素血症的改善有关, 特别是与基础 T 水平改善有

关^[7,8,11]。但在卵母细胞成熟过程中,卵泡内的激素环境同样发挥着重要作用^[12]。研究表明 HCG 日 E₂ 水平高低、卵巢内雄激素状态与体外受精-胚胎移植 (IVF-ET) 中妊娠结局密切相关^[13,14]。

本研究通过比较实验两组 CC 抵抗的 PCOS 病人促排卵过程中妊娠和非妊娠周期围排卵期 FSH、LH、E₂、T 水平发现 HCG 注射前及排卵后 FSH、LH、E₂ 水平无显著差别,而两组病人妊娠周期中排卵后 T 水平显著低于非妊娠周期,达到或接近正常排卵妇女的 T 水平。本研究中,尽管在排卵后,妊娠周期的 PCOS 病人的 E₂ 水平与正常组相比,差异仍具有显著性,我们分析其原因可能与排卵日的成熟卵泡个数有关。

研究还发现两组病人基础的 T 水平均在正常值范围内,差异无显著性,但随着卵泡的发育,卵巢内的 T 分泌增加,到排卵时达最高峰,其后果可能会严重影响卵母细胞发育,对卵细胞的成熟、受精产生影响。本研究结果表明二甲双胍不仅可以降低 PCOS 妇女基础状态下的 T 水平,还能够降低围排卵期睾酮水平,而且只有排卵后血清内的 T 水平达到正常值水平时 ($<0.75\text{ng/ml}$),妊娠才可能发生,其机制可能涉及二甲双胍直接作用于人卵巢甾体激素生成、调节卵泡发育、影响卵细胞成熟、受精、囊胚发育和胚胎卵裂等各个环节^[5,6,13]。因此我们认为当二甲双胍对卵巢作用达到能够纠正围排卵期的高雄激素血症时,妊娠才可能发生。这与以往的研究二甲双胍能够提高 IVF-ET 中 CC 抵抗 PCOS 妇女妊娠率、改善卵巢内雄激素状态的结论相一致^[14]。

有研究指出,BMI 可以作为 PCOS 妇女妊娠预测指标,但肥胖会加重胰岛素抵抗,其后果是卵巢产生的睾酮更多^[17,18]。因此本研究选择的非肥胖的 PCOS 妇女,排除了 BMI 对妊娠的影响,而本研究的结果也可以部分解释二甲双胍对非肥胖的 PCOS 妇女治疗效果明显的原因^[17]。

PCOS 妇女妊娠后流产的风险高达 30% ~ 50%^[18],原因可能与雄激素水平和胰岛素敏感性有关,因为高水平的 T 可以损害子宫内膜及囊胚发育^[7,19]。本研究 A 组中有 2 例生化妊娠,她们排卵后 T 水平分别为 0.81ng/ml 和 0.85ng/ml ,而其他排卵后睾酮在正常范围的妊娠妇女未发现有胚胎停育现象。我们分析排卵后高水平的睾酮可能是导致自然流产的原因。A 组中早期妊娠丢失说明排卵后的睾酮水平降至 0.75ng/ml 以下时妊娠才可能发生并顺利进行,如妊娠的 PCOS 妇女的排卵后的 T 水平高于

正常,应继续二甲双胍治疗,因为二甲双胍可为受精卵提供较好的环境、改善的子宫内膜容受性,这样可以减少 PCOS 妇女早期妊娠丢失^[18]。

总之本研究首次揭示了排卵后血清 T 水平对治疗中的 PCOS 妇女妊娠的预测作用,这为临床医生优化二甲双胍治疗时限、确定 PCOS 妇女可能的妊娠时机提供了新思路。但本研究样本例数较少,还需要更大样本的研究进一步证实此结论。另外,本研究以 $\text{BMI} < 27\text{kg/m}^2$ 的 PCOS 为研究对象,对于 $\text{BMI} \geq 27\text{kg/m}^2$ 的患者,排卵后 T 对其妊娠的预测作用还有待进一步研究证实。

参考文献

- Asuncion M, Calvo RM, San Millan JL, *et al.* A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85 (7): 2434 - 2438
- Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, *et al.* A survey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84(11): 4006 - 4011
- Homburg R. Androgen circle of polycystic ovary syndrome[J]. Hum Reprod, 2009, 24(7): 1548 - 1555
- Palomba S, Falbo A, Orio F, *et al.* Efficacy predictors for metformin and clomiphene citrate treatment in anovulatory infertile patients with polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2009, 91(6): 2557 - 2567
- Palomba S, Falbo A, Zullo F, *et al.* Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review[J]. Endocr Rev, 2009, 30(1): 1 - 50
- Mansfield R, Galea R, Brincat M. *et al.* Metformin has direct effects on human ovarian steroidogenesis[J]. Fertil Steril, 2003, 79(4): 956 - 962
- Rouzi AA, Ardawi MS. A randomized controlled trial of the efficacy of rosiglitazone and clomiphene citrate versus metformin and clomiphene citrate in women with clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2006, 85(2): 428 - 435
- Kazerooni T, Ghaffarparand F, Kazerooni Y, *et al.* Short-term metformin treatment for clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2009, 107(1): 50 - 53
- Homburg R. Clomiphene citrate - end of an era? A mini-review[J]. Hum Reprod, 2005, 20(8): 2043 - 2051
- Filicori M, Flamigni C, Campaniello E, *et al.* The abnormal response of polycystic ovarian disease patients to exogenous pulsatile gonadotropin-releasing hormone: characterization and management[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1989, 69(4): 825 - 831
- Kolodziejczyk B, Duleba AJ, Spaczynski RZ, *et al.* Metformin therapy decreases hyperandrogenism and hyperinsulinemia in women with polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2000, 73(6): 1149 - 1154

- 12 Kobayashi T, Oda T, Yoshimura Y, *et al.* Androstenedione and progesterone concentrations in preovulatory follicular fluid correlate with successful fertilization and cleavage of human oocytes in vitro [J]. *Fertil Steril*, 1991, 56(2):301-305
- 13 Stadtmayer LA, Toma SK, Riehl RM, *et al.* Impact of metformin therapy on ovarian stimulation and outcome in 'coasted' patients with polycystic ovary syndrome undergoing in-vitro fertilization [J]. *Reprod Biomed Online*, 2002, 5(2):112-116
- 14 Yarali H, Yildiz BO, Demirel A, *et al.* Co-administration of metformin during rFSH treatment in patients with clomiphene citrate-resistant polycystic ovarian syndrome; a prospective randomized trial [J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(2):289-294
- 15 Rittmaster RS, Deshwal N, Lehman L. The role of adrenal hyperandrogenism, insulin resistance, and obesity in the pathogenesis of polycystic ovarian syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993, 76(5):1295-1300
- 16 Barbieri RL, Makris A, Randall RW, *et al.* Insulin stimulates androgen accumulation in incubations of ovarian stroma obtained from women with hyperandrogenism [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1986, 62(5):904-910
- 17 Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, *et al.* Ovulatory response to treatment of polycystic ovary syndrome is associated with a polymorphism in the STK11 gene [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(3):792-800
- 18 Jakubowicz DJ, Luomo MJ, Jakubowicz S, *et al.* Effects of metformin on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(2):524-529
- 19 Deaton JL, Dempsey RA, Miller KA. Serum from women with polycystic ovary syndrome inhibits fertilization and embryonic development in the murine in vitro fertilization model [J]. *Fertil Steril*, 1996, 65(6):1224-1228
(收稿:2011-08-10)
(修回:2011-09-08)

淋病奈瑟菌 *gyrA* 和 *parC* 基因喹诺酮耐药决定区突变与环丙沙星耐药相关性研究

高家良 王黎芳 李洵璐 周娇萍 孙爱华

摘 要 **目的** 分析宁波地区淋病奈瑟菌临床菌株 *gyrA* 和 *parC* 基因喹诺酮耐药决定区 (QRDR) 突变类型及与喹诺酮类药物耐药的相关性。**方法** 采用琼脂稀释法检测 137 株淋病奈瑟菌临床菌株对 6 种抗生素的最小抑菌浓度 (MIC), PCR 法扩增 50 株环丙沙星耐药的淋病奈瑟菌临床菌株 *gyrA* 和 *parC* 基因喹诺酮耐药决定区, 并进行测序分析。**结果** 137 株淋病奈瑟菌临床菌株对大观霉素、头孢曲松、四环素、青霉素、氧氟沙星和环丙沙星的耐药率分别为 0、0、75.2%、76.6%、97.1% 和 100%。50 株临床菌株测序发现, *gyrA* 基因存在 3 种核苷酸序列发生错义突变, 其中 S91F 突变发生在所有检测菌株, 49 株 D95 位发生突变; *parC* 基因突变位点较多且相对比较分散, 其中 28 株 *parC* 基因 85、86、87、88 和 91 位发生单位点突变, 9 株 *parC* 基因发生双重突变。**结论** 青霉素、四环素、氧氟沙星和环丙沙星已不能作为治疗淋病的常规用药, 大观霉素和头孢曲松仍可推荐用药。 *gyrA* 和 *parC* 基因突变在淋病奈瑟菌对喹诺酮类药物耐药中起重要作用。

关键词 淋病奈瑟菌 *gyrA* 和 *parC* 基因 突变 序列分析 耐药性

Correlation of Mutation Patterns in *gyrA* and *parC* Genes in *Neisseria gonorrhoeae* Isolates with Quinolone Resistance. Gao Jialiang, Wang Lifang, Li Xunlu, Zhou Jiaoping, Sun Aihua. *Yinzhou People's Hospital, Zhejiang 315040, China*

Abstract Objective To analyze mutations patterns in the quinolone-resistance-determining-region (QRDR) in *gyrA* and *parC* genes and study the correlation with quinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Ningbo. **Methods** The MICs of 6 antimicrobials were determined by agar dilution method. PCR and DNA sequencing were conducted to analyze QRDR associated genes of *gyrA* and *parC* in 50 isolates. **Results** The resistance rate of the 137 strains were 0, 0, 75.2%, 76.6%, 97.1% and 100% to spectinomycin, ceftriaxone, tetracycline, penicillin, ofloxacin and ciprofloxacin respectively. Sequencing analysis of *gyrA* revealed that all 50 isolates had mutation of S91F and 49 resistant isolates had mutation of D95G/A/N/E. Mutations in *parC* gene were at 85, 86, 87 and 91. And 37 resistant isolates had at least one mutation in QRDR within *parC*, in which 28 isolates had single mutation, and 9 isolates had double mutations in *parC*. **Conclusion** Tetracycline, penicillin, ofloxacin and ciprofloxacin should not be routine therapy for gonorrhoea, while the use of spectinomycin and ceftriaxone is recommended. Mutations in *gyrA* and *parC* genes play an important role in the development of

基金项目:浙江省医药卫生科学研究基金资助项目(2004A018)

作者单位:315040 浙江省宁波市鄞州人民医院(高家良、李洵璐、周娇萍);310053 浙江医学高等专科学校(王黎芳、孙爱华)

通讯作者:孙爱华, 硕士研究生导师, 电子信箱:sunah123@126.com