

pregnancy[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 1995, 24(1): 41-71.

[5] Pop VJ, Brouwers EP, Vader HL, et al. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study[J]. *Clin Endocrinol*, 2003, 59(3): 282-288.

[6] Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent psychological development in the child[J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(8): 549-555.

[7] 战同霞, 谢海, 张建军, 等. 孕妇亚临床甲状腺功能低下对新生儿健康的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2011, 21(8): 1027-1031.

[8] 刘小莲, 邱文, 梁秋波, 等. 妊娠早中期妇女亚临床甲状腺功能异常对后代甲状腺功能和智力及身体发育的影响[J]. *中国全科医学*, 2012, 5(15): 1698-1700.

[9] Vaidya B, Anthony S, Bilous M, et al. Detection of thyroid dysfunction in early pregnancy: Universal screening or targeted high-risk case finding? [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(1): 203-207.

[10] Horacek J, Spitalnikova S, Dlabalova B, et al. Universal screening detects two-times more thyroid disorders in early pregnancy than targeted high-risk case finding[J]. *Eur J Endocrinol*, 2010, 163(4): 645-650.

(收稿日期: 2013-02-25)

• 经验交流 •

2 种染色方法用于精子细胞形态学分析的效果比较

邓 云, 吕健忠

(广东省开平市妇幼保健院, 广东开平 529300)

摘要:目的 2 种染色方法用于精子细胞形态学分析的效果比较。方法 将处理后精液, 分别用快速刘氏染色液和改良巴氏染色液进行染色, 比较两种染色方法的染色效果差异, 选择最佳染色方法。结果 两种染色液各具长短, 改良巴氏染色液对精子染色效果较好, 快速刘氏细胞染色液对生精细胞和非生精细胞染色效果更佳。结论 不同的人群检测应采用不同的染色方法。精子细胞形态学分析检测适合在医疗单位开展。

关键词: 染色方法; 精子细胞; 形态学分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.076

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)20-2778-01

近年来, 男性不育症越来越多, 逐渐引起了人们的重视。而致病因素很多, 如何快速简单地从精液的基本成分中筛查病因, 为临床诊断治疗提供可靠的依据, 是当前临床检验的重要课题之一^[1-2]。本院从 2005 年开始, 开展了精子及细胞形态学分析检测, 2012 年共检测 1 265 例。作者选择了刘氏快速细胞染色液和改良巴氏染色液来进行染色比较, 通过对比染色效果和改进, 找到了较佳的染色方法。在许多不孕患者的精子及其他非精子细胞上找到一些异常特征, 临床根据这些“异常特征”, 对应下药, 取得了很好的成效, 就诊患者日益增多。现将本院开展的精子及细胞形态学分析检测方法, 做出总结分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 2 月至 2013 年 2 月, 共检测了 1 265 例。作者采用两种方法染色, 从精子体积, 头部、颈部、尾部, 生精细胞, 非生精细胞等方面作出比较。

1.2 仪器与试剂 普通光学显微镜、低速离心机、BASO 快速刘氏染色液和改良巴氏染色液、0.9%生理盐水、香柏油等。

1.3 方法 取液化的精液样本, 2 300 r/min 离心 5 min, 吸出上层精浆, 加入 5 mL 0.9%生理盐水, 用吸管上下反复抽吸, 将沉渣打散充分洗涤后, 2 300 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 重复 2~3 次, 留取底部 1~2 滴洗液, 将沉渣完全打散混匀, 取约 7 μL 沉渣液推 4 张片, 平放玻片, 待其自然干燥后, 用 95%乙醇固定, 分别用快速刘氏染色液和改良巴氏染色液各染色 2 张推片, 待干燥后, 比较两种方法染色效果。在油镜下观察精子和非精子细胞的形态特征有无异常, 并进行分类, 计算百分例和精子畸形率; 观察精子顶体和体表及非精子细胞内有无异常物质吸附或嵌入类似包涵体等异常物质和有无细菌侵袭。

2 结 果

两种方法染色效果比较见表 1。快速刘氏染色后精子体积比原来膨胀增大约 1/4, 可以清晰地看到炎症细胞精子体表异常附着物增多、生精细胞内异常物质增多等现象, 改良巴氏染色不能清晰看见。快速刘氏染色操作简单、快速, 染色片不需要封片便可长期保存; 而改良巴氏染色操作步骤相对较为繁琐, 染色片需用树脂封片后才可长期保存。

表 1 两种方法染色效果比较

参数	快速刘氏染色		改良巴氏染色	
	清晰(n)	清晰百分率(%)	清晰(n)	清晰百分率(%)
精子头部着色	1 191	94.15	1 198	94.70
精子颈部着色	1 213	95.89	1 200	94.86
精子尾部着色	1 201	94.94	872	68.93
生精细胞着色	1 042	82.37	213	16.83
上皮细胞着色	1 265	100.00	1 265	100.00

3 讨 论

精子由睾丸曲细精管生殖上皮细胞产生, 生长发育周期为 64 d。精液由精子和睾丸、附睾、前列腺、精囊腺、尿道球腺等腺体分泌物混合组成, 每部分都有它特有的功能, 缺一不可。当生殖腺和附腺发育不良或发生感染和病变时, 通常会发生精子数量减少、精子畸形率增高、非精子细胞增多等现象。在受真菌、支原体、衣原体或加德纳菌等病原菌感染后的样本中, 除精液中出现大量脱落细胞和炎症细胞外, 精子和非精子细胞上会不同程度出现上述的异常物质^[3-5]。持续监测分(下转封 3)

(上接第 2784 页)

CD13, CD19, CD20, HLA-DR。染色体核型分析结果显示: 47, XY, -2, -8, add(11)(P15), +22, +mar1, +mar2[20]。最终诊断: 急性非淋巴细胞白血病(M1)骨髓象。

2 讨论

根据细胞形态学、组织化学和细胞遗传学特征将急性髓细胞白血病分为不同的类型。急性早幼粒细胞白血病占有急性髓细胞白血病的 10%, 因其形态学改变特殊、染色体变化特异、伴有明显出血异常及对全反式维 A 酸良好的治疗反应等明确特点而与其他急性髓系白血病分开^[1-2]。急性早幼粒细胞白血病的典型特征是具有染色体易位 t(15; 17), 导致位于 17q12 的 RAR α 基因与 PML 编码序列相连, 产生 PML-RAR α 融合蛋白, 这类易位在急性早幼粒细胞白血病中占 95%^[3]。其他极少发生的易位为 t(11; 17)(q23; q12), t(5; 17)(q35q12), t(17; 17)(q11; q12) 或 t(11; 17)(q13; q12), 分别产生 PLZF-RAR α , NPM-RAR α , NuMA-RAR α 和 STAT 5b-RAR α 融合基因^[4]。典型的急性早幼粒细胞白血病比较容易诊断, 但形态学变异及染色体非特异性变异诊断较困难^[5-7]。国内有少数急性早幼粒细胞白血病变异型(M3v)的报道, 但每例变异型的细胞形态学及分子遗传学特点均不相同。多数学者认为 M3v 细胞形态不规则, 胞质内有少量细小颗粒, 髓系过氧化物酶染色阳性, 染色体变异同典型急性早幼粒细胞白血病。但也有少数髓系过氧化物酶染色缺乏的 M3v 报道^[8]。这些特点使得急性早幼粒细胞白血病的诊断难度增大, 误诊为 M2 或 M4 的可能性增加。

本文 2 例急性髓细胞白血病中, 例 1 白血病细胞形态不规则, 胞浆内含少量细小颗粒, 无典型急性早幼粒细胞白血病可见的内外浆, 极似原始粒细胞。但免疫分型示 CD33+, CD15-, CD14-, 故而排除了 M4 或 M5 的可能。进而特征性的 t(15; 17)(q22; q21) 染色体核型改变证实其为急性早幼粒细胞白血病, 而非 M0。例 2 白血病细胞形态疑似原幼淋巴细胞, 然而 POX 染色 30% 阳性, 故而排除急性淋巴细胞白血病的诊断。进一步的免疫分型和染色体分析证实其为复杂核型改变

的急性粒细胞白血病(M1)。因而对伴有复杂核型或特征性核型改变的急性髓细胞白血病, 要结合细胞形态、细胞化学染色、免疫分型及染色体分析等多种检测手段, 才能作出准确诊断。对一些一直沿用 FAB 分型, 仅凭细胞形态而不做细胞化学染色的实验室而言, 此类疾病的误诊率是很高的。

参考文献

- [1] de Thé H, Le Bras M, Lallemand-Breitenbach V. The cell biology of disease: Acute promyelocytic leukemia, arsenic, and PML bodies [J]. *J Cell Biol*, 2012, 198(1): 11-21.
- [2] Liso V, Bennett JM. Morphological and cytochemical characteristics of leukaemic pro- myelocytes [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2003, 16(3): 349-355.
- [3] Di Croce L. Chromatin modifying activity of leukaemia associated fusion proteins [J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(Suppl 1): R77-84.
- [4] Saeed S, Logie C, Stunnenberg HG, et al. Genome-wide functions of PML-RAR α in acute promyelocytic leukaemia [J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(4): 554-558.
- [5] Albano F, Mestice A, Pannunzio A, et al. The biological characteristics of CD34⁺ CD2⁺ adult acute promyelocytic leukemia and the CD34 CD2 hypergranular(M3) and microgranular(M3v) phenotypes [J]. *Haematologica*, 2006, 91(3): 311-316.
- [6] Haferlach T, Kohlmann A, Schnittger S, et al. AML M3 and AML M3 variant each have a distinct gene expression signature but also share patterns different from other genetically defined AML subtypes [J]. *Genes Chr Can*, 2005, 43(2): 113-127.
- [7] Romani C, Murru R, Pettinau M, et al. A case of fatal overwhelming microgranular variant(M3v) of acute promyelocytic leukemia with extensive extramedullary involvement [J]. *Int J Hematol*, 2010, 91(3): 551-552.
- [8] 崔雯, 秦爽, 许议丹, 等. 髓系过氧化物酶和苏丹黑 B 染色缺乏的急性变异型早幼粒细胞性白血病 2 例报道 [J]. *临床血液学杂志*, 2002, 15(5): 201-203.

(收稿日期: 2013-05-27)

(上接第 2778 页)

析这些异常物质, 定期检测精子及细胞形态学分析, 对临床筛查病因提供有力的依据, 在治疗药物疗效监控和愈后跟踪方面, 也有较高的临床意义^[6-8]。

巴氏染色法步骤多、繁琐、操作不便, 但对精子染色效果较好。WHO 也推荐精液精子形态分析采用巴氏染色液进行染色分析。作者认为, 在某些领域中, 不同的人群应采用不同的染色方法为好。例如精子库中心筛选自愿者精子时, 健康人群体检筛查时, 采用巴氏染色液染色较好; 但面对临床上不孕患者人群时, 应采用快速刘氏染色液染色, 或同时采用两种染色液染色, 效果会更好、结果更准确。

目前, 全国各地开展精子细胞形态学分析这个项目检测的临床医院不多。该项目开展对环境及设备要求不高, 收费价格合理且较低, 符合大众要求, 不会增加患者负担; 检测多为手工法操作, 只要对检验技术人员进行操作和分析结果强化培训, 很快便能独立操作, 值得在医院推广。

参考文献

- [1] 黄宇烽, 印洪林. 精液细胞学与超微结构图谱 [M]. 上海: 第二军

医大学出版社, 2002.

- [2] 陆金春, 黄宇烽, 张红焯. 现代男科实验室诊断 [M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2009.
- [3] 吴明章, 曾超文, 张君慧. 男性生殖病理学 [M]. 上海: 上海科学普及出版社, 1996.
- [4] 吴均和, 周庆葵, 黄健红, 等. 男性不育患者生精细胞 HCMV、HSV 感染检测及形态学研究 [J]. *中华男性科学杂志*, 2007, 13(12): 1075-1079.
- [5] 王玺坤. CASA 法对支原体阳性患者精液指标的观察研究 [J]. *中国实用医药杂志*, 2008, 3(8): 38-39.
- [6] 刘悦, 张杰, 聂树涛. 利用细胞块检测少精子症精液增殖与凋亡的研究 [J]. *中国实验诊断学杂志*, 2009, 13(9): 1224-1226.
- [7] 张雪琳, 梁高为. 120 例男性不育症的精液分析 [J]. *中国民康医学杂志*, 2009(19): 2384-2385.
- [8] 金庆骊, 朱伟杰. 精索静脉曲张不育患者精子形态学分析及其治疗后的初步观察 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 1994, 9(1): 12-13, 30.

(收稿日期: 2013-05-08)