• 临床研究 •

东莞市不孕不育患者细胞遗传学分析

刘引霞, 邹莎, 李志芳, 梁爱芬
(广东省东莞市康华医院 523000)

摘要:目的 探讨东莞地区染色体异常与不孕不育的关系。方法 对该院 625 例不孕不育患者进行细胞遗传学分析, 采集外周血, 按照常规方法制备染色体标本。G 显带, 进行众数分析及核型分析。结果 共检出异常核型 11 例, 染色体异常发生率为 1.76%, 多态型 36 例, 占总数的 5.76%。结论 染色体异常可导致不孕不育, 提示不孕不育与遗传因素密切相关。

关键词:不孕不育; 染色体异常; 细胞遗传学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.044

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)12-1701-02

近年来由于环境污染、食品安全、社会压力等诸多因素影响, 不孕不育的患病率呈上升趋势。女性不孕病因主要有器质性病变(如输卵管阻塞、盆腔炎、阴道炎等)、排卵障碍(如多囊卵巢综合征、高泌乳素、卵巢早衰等); 男性不育病因主要以精子少、弱、畸形等情况多见。本研究主要讨论遗传因素对不孕不育造成的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 8 月至 2015 年 2 月因不孕不育来本院生殖医学中心就诊的患者共 625 例, 其中男 353 例, 女 272 例, 年龄 20~45 岁, 主要临床表现为不孕不育、不良妊娠史(反复自然流产、畸胎、胚胎停育)、闭经, 小睾丸综合征、封闭抗体、精液质量异常(弱畸形精子症)等。

1.2 方法 无菌条件下, 抽取患者外周血 10 mL, 肝素抗凝, 常规进行淋巴细胞培养 68 h, 收获前 2.5 h 加入 20 μg/L 的秋水仙素 2 滴, 使细胞停滞在分裂中期, 再经过低渗、固定等处理后, 制备染色体并 G 显带。计数 20 个中期分裂相, 分析 3 个核型。嵌合病例, 计数分析 50 个中期分裂相, 并计算比例。剩余悬液 -20 °C 保存备用。

1.3 统计学处理 采用 Excel2007 软件进行数据处理及统计学分析。

2 结果

异常核型结果 11 例, 占总数的 1.76%, 多态型 36 例, 占总数的 5.76%。平衡易位 7 例, 性染色体异常 2 例, 1 例为月经周期正常的女性不孕患者, 1 例为男性不育患者; 其余 2 例异常为缺失和不明附加片段。见表 1。

表 1 不孕不育患者异常核型结果

类别	n	异常核型结果
多态性(n=36)	3	13pstk+
	4	22pstk+
	3	16qh+
	5	1qh+
	6	X, Yqh-
	3	14pstk+
	1	15p+
	4	inv(9)(p12q21)
	2	X, Yqh+
	4	21pstk+
1	dup(1)(q12q21)	
易位(n=7)	1	46, XY, t(7;18)(q31;q21)

续表 1 不孕不育患者异常核型结果

类别	n	异常核型结果
	1	46, XX, t(11;22)(q23;q11)
	1	45, XX, der(14;21)(q10;q10)
	1	45, XY, der(14;21)(q10;q11)
	1	46, XX, t(9;17)(p10;q10)
	1	46, XY, t(8;11)(p22;q21)
	1	46, XY, t(9;16)(q31;p12)
不明片段附加(n=1)	1	46, XX, add(22)(?:p10→qter)
缺失(n=1)	1	46, XY, del(22)(p10)
性染色体异常(n=2)	1	45, X ^[7] /46, X, del(X)(p10), [43]
	1	46, X, inv(Y)(p11q12)

3 讨论

X 染色体是女性性器官发育的性染色体, X 染色体异常与不孕、不育有直接关系。X 染色体畸变染色体综合征中 Turner 综合征、Klinefelter 综合征、超 X 综合征等都涉及 X 染色体的异常。女性性染色体异常, 常见于 Turner 综合征, 又称先天性卵巢发育不全综合征。其染色体核型包括 X 单体、嵌合体、等臂 X、X 缺失等。这类患者典型临床表现为身材矮小, 原发闭经, 不孕, B 超显示幼稚子宫, 卵巢发育不良。45, X 是 Turner 综合征最常见的核型, 约占全部患者的 30%~55%^[1]。因来本院检查不孕不育的患者, 全部都成年, 临床没有典型的表型。所以, 检查出来与不孕不育有关的 X 染色体异常的患者表型正常, 有月经, 性腺发育正常, 只是长年不孕不育。检查出 1 例患者 X 染色体短臂缺失的核型占多数, Xp 短臂远端含 SHOX 基因的小片段缺失而 XP22.3 区带仍然存在, 常表现为矮身材和其他相关的骨骼畸形, 但无卵巢衰竭表现, 因此 Turner 综合征的特征不明显。但因为该患者是整个短臂的缺失, 不存在 XP22.3 区带的存在, 在现阶段也只是表现出身材矮小, 无症状症状的出现^[2], 但如果由于 X 染色体长臂是性腺发育关键区域, 变异时容易引起性腺发育异常和生育能力降低^[3]。

在不孕不育患者中最容易出现的是 Y 染色体 DNA 序列的重复复制、缺失导致 Y 染色体区域的生长和缩短, 引起 Y 染色体长度变异导致临床通俗所称的大 Y 和小 Y。虽然在归类时, 将本院引起 Y 染色体长度变异的大 Y、小 Y 归纳到了多态性一栏, 但是国内大多数文献报道了不少大 Y、小 Y 的患者也伴有无精少精症状的发生。主要是因为无精子症因子(AZF)定位于 Yq11.23 区域上, 它的缺失或突变可能造成精子生成

障碍^[4]。因为细胞遗传学 G 显带方法的局限性,对于小于 20 Mb 的片段在显微镜观察中很难分辨,所以对于一些无精及少精的患者建议临床同时行基因芯片技术检测微缺失、微重复。或者在核型提示大 Y、小 Y 的基础上,利用多重 PCR 方法对 Y 染色体上 25 个 STS 位点扩增进行确认,提高检出率。Y 染色体易位或倒位的改变染色体在减数分裂时形成倒位环,分离后的两种不平衡配子与正常配子结合后,造成遗传物质不平衡,出现缺失或重复,从而导致流产或不育的发生^[5]。

染色体平衡易位是不孕不育患者中最常见的一个原因,平衡易位因为没有遗传物质的丢失,所以个体表型正常,但可以遗传。两夫妻表型正常,不管是男方或者女方,只要一方出现平衡易位,就很容易导致女方在怀孕早期反复流产。平衡易位患者的胎儿在减数分裂中可产生正常和各种不平衡重排的配子,当与正常配子结合形成正常、平衡易位、部分三体、部分单体 4 种类型的合子,后 3 种合子由于基因量的严重失衡,可导致不育、反复流产、死胎或生育染色体异常后代^[6]。在临床实践中还发现,部分染色体平衡易位个体也有表型的异常表现。对于这一类的患者,现在临床一般对其采取在辅助生殖技术并行胚胎植入前遗传学诊断 PGD 技术,在胚胎培植期通过遗传检测技术选择正常的或没有发病风险的胚胎,植入孕妇体内,避免孕育有家族遗传疾病的胎儿,减少反复流产的发生。

随体增长:13、14、15、21、22 号染色体是近端着丝粒染色体。多数学者认为随体增长,对于不孕不育的结果没有必然联系。但也有学者认为这些染色体是随体增长还是短臂增长,单纯的随体柄或随体增长,没有含有基因的多或少的区别,不会对生育功能产生影响;如果是短臂增长,引起部分的 rRNA 高度重复,可能使染色体不分离,形成了染色体异常的配子或合子,最终导致流产、不孕或生育畸形儿。提到的高度重复是指短臂,有基因编码的,会有重复或者其他片段插入的可能,患者

• 临床研究 •

最好进行基因芯片检查。

次缢痕变异:次缢痕主要存在于第 1、9 和 16 号染色体及 Y 染色体的长臂异染色质区,Y 染色体次缢痕变异已经讨论过,不做赘述。对于常染色体的次缢痕变异,主要考虑异染色质区有没有高度重复或缺失的 DNA 序列,即基因,有基因的重复或缺失就会影响细胞分裂,造成同源染色体配对困难,产生不平衡的配子,形成非整倍体的子代,发生流产或不平衡的配子不能受精而死亡,从而造成不孕不育,无基因的缺失和重复就是 1 种染色体多态性的变化。

参考文献

- [1] 李艳娟,王凤荣.特纳综合征并冠心病 1 例报告合并文献复习[J].中国实用内科杂志,2014,34(4):403-405.
- [2] 吴丽萍,章涛.SHOX 基因的研究进展[J].福建医科大学学报,2012,54(6):223-226.
- [3] 张清健,郑立新,田佩玲,等.367 例不育症者 X 染色体变异临床分析[J].中国计划生育学杂志,2010,19(6):369-370.
- [4] Pandey LK, Pandey S, Gupta J, et al. Loss of the AZFc region due to a human Y-chromosome microdeletion in infertile male patients[J]. Genet Mol Res, 2010, 9(2):1267-1273.
- [5] 杨仙荣,王美琴,李少华.人类 Y 染色体的演化[J].遗传,2014,36(9):849-856.
- [6] 侯红瑛,李小毛,范建辉,等.习惯性流产的细胞遗传学分析[J].中山医科大学学报,2000,21(5):397-399.

(收稿日期:2016-01-21 修回日期:2016-03-20)

标本放置时间对胰岛素测定的影响

赵思婷,植瑞东

(肇庆医学高等专科学校,广东肇庆 526020)

摘要:目的 探讨血清标本在 4℃ 环境下放置不同时间对化学发光检测血清胰岛素水平的影响。方法 用真空分离胶采血管抽取 21 份血液标本,冷冻离心分离血清,采用全自动化学发光仪即时检测胰岛素浓度,将血清标本于 4℃ 分别放置 1、3、24 h 后重复检测,并与即时检测结果进行比较。结果 标本采集后即时检测与 4℃ 下放置 1、3、24 h 后检测胰岛素浓度分别为 (6.88±4.38)、(6.87±4.44)、(7.05±4.68)、(7.57±4.60)mIU/L,经配对 *t* 检验,血清标本在 4℃ 放置 1 h 和 3 h 所测结果与即时测定结果比较,差异无统计学意义 ($P=0.773, 0.273$),而放置 24 h 后所测结果与即时测定结果比较,差异有统计学意义 ($P=0.009$)。结论 标本放置时间对胰岛素测定有影响,血清胰岛素在 4℃ 条件下不能放置 24 h 以上。

关键词:血清标本; 放置时间; 胰岛素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)12-1702-03

随着胰岛素检测手段的不断发展与更新,以及对胰岛素研究的逐渐深入,胰岛素在糖尿病的治疗和诊断中得到广泛应用,胰岛素治疗是控制高血糖的重要手段。1 型糖尿病患者需长期依赖胰岛素维持正常的生理活动,以及控制血糖,从而降低糖尿病并发症发生的风险。2 型糖尿病患者虽然不需要长期胰岛素维持治疗,但当患者口服降糖药失效,或存在口服降糖药的相关禁忌证时,仍需要使用胰岛素对血糖进行控制,以减少高血糖相关症状及相关并发症的发生。当糖尿病患者病程较长时,胰岛素治疗是最主要的,也是必需的控制血糖措施。

对于需要用胰岛素来进行血糖控制的患者,对胰岛素水平准确的检测是临床医生确定患者治疗剂型、剂量和用法的依据,这就需要检验科提供准确的检测结果。然而,由于现实中医院里患者数量多,标本要经过抽血、送检,最后检验的过程,该过程有一定的时间间隔,而且胰岛素的检测不属于急诊检测范围,因此,血液标本一般需要放置一段时间才能检测。所以,在检验时就会引发一系列问题,如血液标本应该怎么保存,保存多久才不会影响胰岛素检测的准确度。目前,胰岛素标本还未实现及时检验,会存放在 4℃ 冰箱中,故本研究将观察血液标