

• 临床检验研究论著 •

218 对反复自然流产或胚胎停育史夫妇细胞遗传学分析

黄肖利,梅端容,黄 毅

(福建医科大学省立临床学院检验科,福建福州 350001)

摘要:目的 探讨反复自然流产或胚胎停育史的夫妇染色体核型分布情况,寻找其细胞遗传学病因。方法 常规培养外周血淋巴细胞,收获染色体中期分裂相细胞,G 显带。每个患者计数 20 个染色体中期分裂相细胞,并核型分析 5 个细胞。结果 218 对有反复自然流产或胚胎停育史的夫妇中有 21 例异常染色体核型和 75 例染色体多态,其中易位型 14 例,占 3.21%;倒位型 7 例,占 1.60%;染色体多态 75 例,占 17.2%,其中 Yqh- 多态 52 例,占全部男性受检者的 23.8%。结论 对反复自然流产或胚胎停育史夫妇进行细胞遗传学分析及遗传咨询具有重要的临床意义。

关键词:自然流产; 胚胎停育; 染色体; 异常核型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)22-3021-01

Chromosomal karyotype analysis of 218 couples with history of recurrent spontaneous abortion or embryo damage

Huang Xiaoli, Mei Duanrong, Huang Yi

(Medical Laboratory Department of Fujian Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China)

Abstract: **Objective** To explore the distribution of chromosomal abnormality in the couples with spontaneous abortion and embryos damage more than twice. **Methods** G-banding was carried out by using chromosome preparations from peripheral blood lymphocytes. Then 20 karyotypes in mid-split phase were counted, 5 karyotypes would be analyzed. **Results** In 218 pairs of the couples with spontaneous abortion or embryos damage more than twice, there were 21 cases of polymorphism and 75 cases of abnormality of karyotype, in which 14 cases of patients were translocation of chromosome, accounting for 3.21%, 4 cases of patients were inversion of chromosome, accounting for 1.60%, 75 cases of polymorphism, accounting for 17.2%. Yqh- was the most frequent polymorphism than others, accounting for 23.8% in all of the male patients. **Conclusion** Chromosomal karyotype analysis and genetic counseling were very important to the couples.

Key words: spontaneous abortion; embryos damage; chromosome; karyotype

染色体异常是早期流产特别是反复习惯性流产的主要原因之一,其发生率比普通人群高出 10 倍以上,据文献报道的最高发生率可达 14%^[1]。本文对福建地区 218 对有反复自然流产或胚胎停育史夫妇进行细胞遗传学分析,为遗传咨询和临床诊断提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2005 年 1 月至 2013 年 6 月来本院就诊的遗传咨询者共 436 例(218 对夫妇)。男性年龄范围 24~40 岁,平均年龄 29 岁;女性年龄 20~36 岁,平均年龄 26 岁。就诊患者至少有 2 次以上的自然流产、胚胎枯萎或停育等。

1.2 方法 取患者外周血 5 mL,肝素抗凝,常规培养外周血淋巴细胞,收获染色体中期分裂相细胞,G 显带。每个患者计数 20 个染色体中期分裂相细胞,并核型分析 5 个细胞。根据国际染色体人类命名系统(ISCN)1995 分析标准确定异常染色体核型。

2 结果

在 436 例(218 对夫妇)的受检者中有 21 例染色体核型异常,异常率为 4.81%,其中易位型 14 例(3.21%);倒位型 7 例(1.60%)。染色体多态为 75 例,占总例数的 17.2%,其中 2 例 9qh+ 和 3 例 9qh-,分别占总例数的 0.45% 和 0.69%;9 例 Yqh+ 和 52 例 Yqh-,分别占总男性受检者的 4.13% 和 23.8%;此外还有 16qh+,16qh-,21p+,22 p+,15 p+ 和 1qh+ (见表 1) (见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

3 讨论

染色体异常是导致反复自然流产或胚胎停育的重要原因

之一,夫妻双方中一方染色体异常导致流产的概率远高于正常人群^[2]。一般人群中,染色体的异常发生率为 0.47%~0.84%,2 次以上自然流产史的夫妇中,染色体异常的患者可达 3%~10%^[3]。本文异常染色体核型有 21 例,异常率为 4.81%,与文献报道结果相一致。

本文发现 6 例染色体平衡易位携带者,占总病例数的 3.21%,占总异常核型的 66.7%。染色体易位携带者通常无表型改变,与正常人群并无区别,但在配子形成过程中却可产生 18 种配子,仅 1 种是正常配子,1 种是与亲代相同的平衡易位携带者配子,其余均为不平衡配子,当异常的精子或卵子与正常的卵子或精子结合后,由于遗传物质的不平衡可导致流产、死胎、或者部分单体和部分三体患者^[4]。所以易位携带者与正常人结婚后,易导致多发流产、死胎或生育染色体病患儿的遗传效应。

此外,本研究还发现 7 例染色体倒位核型,占总病例数的 1.60%,占总异常核型的 33.3%,其中 6 例为 inv(9),1 例为 inv(6)(p21p11)。9 号染色体倒位是最常见的倒位形式,inv(9)(p12q13)为最常见的 9 号染色体倒位形式。倒位与易位一样一般无遗传物质的丢失,其表型正常。染色体倒位分臂内倒位和臂间倒位,倒位染色体在减数分裂时形成倒位环,分离后形成 4 种配子,1 种正常,1 种倒位,另外 2 种为部分重复和缺失的无着丝粒或双着丝粒的不平衡配子,遗传性状不稳定,因此倒位携带者夫妇也易多发性自然流产或生育染色体患儿^[5]。据最新的文献报道 9 号染色体 p12 至 q13 臂间倒位属于多态,因为该倒位型染色体在形成倒位环(下转第 3023 页)

万古霉素,给予伏立康唑 200 mg 静滴 2 次/日。1 周后复查检验结果:真菌 GM 试验降至正常(0.16 ng/mL)、hs-CRP 降至 30 mg/L、PCT 较前明显下降(4.04 ng/mL),且患者情况较前明显改善,检验结果提示感染较前明显好转,说明抗真菌感染治疗有效。2 周后患者一般状况较好,相关检验结果无异常,患者出院继续服药巩固治疗。1 个月后复检,已治愈。

1.2 试剂与仪器 培养基购自英国 Oxoid 公司,BacT/Alert 3D 和配套血培养瓶均购自美国 ORGANON TEKNIKA 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 在患者寒颤或高热时,双侧胳膊无菌操作抽取静脉血 4 套,每瓶 10 mL,迅速注入专用血培养瓶中,混匀后立即送检。

1.3.2 病原微生物培养及分离 血培养瓶在 BacT/Alert 3D 全自动血培养仪中进行培养,当仪器报警提示阳性时,立即转种血琼脂平板、麦康凯平板和巧克力平板行细菌培养,同时接种于沙堡弱培养基(SDA)和马铃薯培养基(PDA)行真菌培养,且将标本涂片行革兰染色镜检并及时通知临床医生初步结果。用小培养法(钢圈法)观察真菌形态学:培养基用 PDA,25℃培养 7 d,乳酸酚棉蓝染色观察结果。**1.3.3 真菌鉴定和药敏试验** 根据真菌培养的菌落特点和镜下形态鉴定致病真菌,采用 MIC 方法进行真菌药敏试验。病原菌培养、鉴定和药敏试验严格按照《全国临床检验操作规程》进行。

2 结果

2.1 真菌学检查结果 (1)直接镜检:血培养仪器报警后取出培养瓶,用注射器抽取标本涂片可见透明、呈 45°角的分支菌丝。(2)培养检查:菌落特征,在 SDA 培养基上菌落生长快,表面黑色,粉末状。显微镜特征,小培养(钢圈法)镜下可见分生孢子头顶囊球形或近球形,小梗双层,第 1 层粗大,第 2 层短小呈放射状排列,布满整个顶囊,黑色,顶囊有链形孢子。根据以上特征,该真菌鉴定为黑曲霉菌。

2.2 细菌学检查结果 仪器报警后血培养瓶中取出的标本直接镜检和培养检查均无细菌。

2.3 真菌药敏试验 4 种抗真菌药的结果为:伏立康唑 0.25 μg/mL,两性霉素 B 4.0 μg/mL,伊曲康唑 0.5 μg/mL,卡泊芬

净 0.06 μg/mL。

3 讨论

近年来,随着免疫抑制剂的广泛应用,曲霉菌所致的条件性感染发病不断上升,已成为仅次于念珠菌感染的第 2 大深部真菌病^[2]。侵袭性曲霉病具有高发病率和高病死率,然而,利用自动化仪器进行血培养曲霉菌阳性的结果几乎未见报道^[3-4]。本研究根据 GM 和 G 试验以及 PCT 浓度的变化趋势,结合临床表现初步判断为曲霉菌感染,于是对该患者的血培养进行反复传代,延长培养时间,直至第 10 天仪器才报警提示阳性结果。随即取出培养物进行压片,镜下看到透明、呈 45°角的分支菌丝,初步报告临床后,继续转种培养行鉴定和药敏试验,最终确定为黑曲霉菌感染。本研究结果提示,在临床曲霉菌检验中要善于结合相关的实验结果指导工作。如 GM 和 G 试验是诊断侵袭性真菌感染可靠的指标,曲霉菌感染时,PCT 会较细菌感染延迟上升;而念珠菌相关的脓毒症在大多数情况下,PCT 浓度一般在 0.05~2.00 ng/mL 之间起伏,不会有非常明显的升高。另外,怀疑曲霉菌感染或其他真菌感染时,要及时转种到固体培养基上进一步鉴定,这样才能提高全自动血培养仪对曲霉菌血症的检出率,为患者的诊治提供准确的实验室依据。

参考文献

- [1] 周庭银,倪语星,王明贵.血流感染实验诊断与临床诊治[M].上海:上海科学技术出版社,2011.
- [2] 张梦宇,郑磊,王前.深部曲霉菌感染实验室诊断进展[J].国际检验医学杂志,2006,27(10):913-915.
- [3] 尹秀云,陈建魁,曾利军,等.临床微生物培养不合格标本的特点及解决对策[J].国际检验医学杂志,2012,33(20):2499-2501.
- [4] Rosa C, Araujo R, Rodrigues AG, et al. Detection of Aspergillus species in BACTEC blood cultures[J]. Med Microbiol, 2011, 60 (Pt 10):1467-1471.

(收稿日期:2013-06-18)

(上接第 3021 页)

时,可能会形成比较大片段的染色体重复或缺失,此类胚胎多以流产形式被自然淘汰,因此 inv(9)(p12q13)倒位携带者可以不做产前诊断。本文中的 4 例倒位型染色体均为臂间倒位,未发现臂内倒位。

本文中染色体多态有 75 例,占 17.2%。多态的类型分别有 9qh+、9qh-、Yqh+、Yqh-、16qh+、16qh-、21p+、22p+、15p+和 1qh+。在同一染色体核型 Y 染色体长度小于或等于 21 号染色体作为小 Y 的诊断标准,用 Yqh-表示。本研究 Yqh-在反复自然流产或胚胎停育史夫妇的男性受检者的发生率高达 23.8%,此高发生率提示 Yqh-也可能是导致患者反复流产或胚胎停育的原因之一。Y 染色体异染色质区的变异可能导致细胞有丝分裂发生错误,或因为位置效应使某些基因的表达受到干扰,从而影响受精卵的分裂分化,导致胚胎早期发育障碍而出现流产或停止发育等不良后果^[6]。

导致反复流产或胚胎停育的原因有很多,如遗传基因缺陷、母体因素、内分泌因素、免疫功能异常和环境因素等,其中染色体异常是导致自然流产的重要原因之一。因此,对于临床上不明原因反复流产或胚胎停育的夫妇双方进行染色体检查,

不仅能对患者进行细胞遗传学诊断,更重要的是为优生提供正确的诊断依据和指导,降低出生缺陷,防止染色体异常患儿的出生。

参考文献

- [1] 曹贇孙,陈晓燕.妇产科综合征[M].北京:人民卫生出版社,2003.
- [2] Berkowitz BJ, Jones JG, Merkatz IR, et al. Ovarian conservation in placental site trophoblastic tumor[J]. Gynecol Oncol, 1990, 37 (2): 239-243.
- [3] Machtinger R, Godieb WH. Placental site trophoblastic tumor: outcome of five cases including fertility preserving management [J]. J Gynecol Oncol, 2005, 96(1):56-61.
- [4] 夏家辉,李麓芸.染色体病[M].北京:科学出版社,1989.
- [5] 李文典,刘莉,周玉球,等.反复流产夫妇外周血染色体分析[J].中华妇产科杂志,1997,32(11):697.
- [6] 张海霞.染色体多态与遗传效应的研究[J].中国检验医学杂志,2010,11(3):175-176.

(收稿日期:2013-06-18)