

标^[5-6]。用检测产妇的初乳中 HBV DNA 来作为是否母乳喂养的标准被一些医院应用。产妇的初乳中 HBV DNA 阳性者,婴儿感染概率会相当高,用荧光定量 PCR 检测乳汁 HBV DNA,可直接反映乙肝产妇能否用母乳喂养,从而有针对性地采取措施,降低母乳喂养的感染率。

3.3 从表 1 中可见,38 例大三阳产妇血清和乳汁 HBV DNA 阳性率分别为 100.0%(38/38)和 81.6%(31/38),39 例小三阳产妇血清和乳汁中 HBV DNA 阳性率分别为 66.7%(26/39)和 33.3%(13/39),23 例双抗阳性产妇血清和乳汁中 HBV DNA 阳性率分别为 30.4%(7/23)和 13.0%(3/23)。三组间乳汁阳性率比较,大三阳产妇血清 HBV DNA 阳性率(81.6%)高于小三阳产妇(33.3%)。结果提示,HBV 携带产妇乳汁 HBV DNA 阳性率低于血清,乳汁的传染性低于血液;大三阳产妇经母乳传播 HBV 的概率高于小三阳产妇,双抗阳性(仅 HBeAb 与 HBcAb 阳性)者仍有 13.0%的产妇乳汁排毒,提示处于 HBV 感染恢复期的产妇,其乳汁也不一定是安全的。

3.4 产妇血液检查为大三阳,由于血清 HBV DNA 拷贝数都比较高(HBV DNA $\geq 10^6$ copy/L),处于病毒复制活跃期,传染性强,即使乳汁 HBV DNA 检测结果为阴性亦不主张母乳喂养,以人工喂养方式为宜,因此,产妇乙肝免疫学检测呈“大三阳”应禁止哺乳。由于机体处于不同的免疫阶段及机体的抵抗力等多种因素的影响,病毒复制有动态变化,一次检测阴性不能保证整个哺乳期阴性;建议“小三阳”但乳汁 HBV DNA 阴性产妇定时做乳汁 HBV DNA 检测,了解乳汁污染情况,以指导哺乳。仅 HBcAb 或 HBeAb 阳性而 HBV DNA 阴性者,可以哺乳。因此用荧光定量 PCR 对母乳进行 HBV DNA 含量的检测,可以直接反映产妇传染性的强弱,同时也对指导母乳喂养提供了可靠依据。据观察,产妇乳汁 HBV DNA 定量结

果阴性进行母乳喂养安全系数很高,没有出现感染现象,可见利用产妇乳汁 HBV DNA 定量结果来判断是否母乳喂养是可行的方法。

综合以上分析作者认为,乙肝病毒标志物阳性产妇产后母乳喂养要慎重,无论血清 HBV 感染为何种模式,均应作乳汁 HBV DNA 检测来判断其传染性的强弱,采取针对性的措施有效地降低母乳喂养的感染率,以保证母乳喂养的安全。

参考文献

- [1] 林静吟,许岸高,袁建寰,等. 乙肝病毒母婴传播的可能途径研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志,1997,7(15):7-8.
- [2] 温旺荣,苏芳,吴勇,等. 乳汁处理方法对检测 HBV DNA 结果的影响[J]. 临床检验杂志,2007,25(1):31-32.
- [3] Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications[J]. Viral Hepat,2002,9:243.
- [4] Rodriguez-Frias F, Jardi R, Buti M, et al. Applicability of real-time PCR combined with melting curve analysis for the study of hepatitis B virus genome mutations[J]. Hepatology,2003,37(2):478-479.
- [5] Sumazaki R, Motz M, Wolf H, et al. Detection of hepatitis B virus in serum using amplification of viral DNA by means of polymerase chain reaction[J]. Med Virol,1989,27:304-308.
- [6] 白艳丽,李建平,许玉仙. HBV DNA 与 HBV TRFIA 检测结果比较分析[J]. 现代检验医学杂志,2004,19(5):43-44.

(收稿日期:2010-09-27)

• 临床研究 •

少弱精子症、无精子症助孕治疗前遗传学检查的临床意义

邹彦,史秋雯,徐苓珍,丘映[△](广西壮族自治区南宁市第二人民医院生殖医疗中心 530031)

【摘要】 目的 探讨辅助生殖技术(ART)治疗前遗传学检查的适应证。**方法** 将 420 例患者分为少弱精子症、极少弱精子症、梗阻性无精子症、非梗阻性无精子症 4 组进行外周血淋巴细胞培养和 G 显带染色体核型分析。**结果** 少弱精子症、无精子症患者的染色体异常率为 13.6%(57/420),其中性染色体异常占 68.4%(39/57),常染色体异常占 33.3%(19/57)。而极度少弱精子症及非梗阻性无精子症患者染色体异常率分别为 10.8%和 21.7%。**结论** 少弱精子症、无精子症患者,尤其是极度少弱精子症及非梗阻性无精子症患者染色体异常率较高,在 ART 治疗前进行染色体核型分析是必要的。

【关键词】 少弱精子症; 无精子症; 辅助生殖技术; 染色体核型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.05.040 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)05-0592-03

现代社会,越来越多人的深受不孕不育的困扰,不育症的发病率由 8%~10%上升到 12%~16%,辅助生殖技术(assisted reproductive technique, ART)问世以来,已成为治疗不孕不育的最有效方法。但在体外受精(in vitro fertilization, IVF)和单精子卵胞浆内注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)周期中,常有异常受精的情况出现。研究显示 IVF 周期中,多精受精率高达 30%,而 IVF 和 ICSI 后单原核孕卵的发

生率为 2%~5%^[1],而这种多精受精不仅易致胚胎着床失败、自然流产率上升,还可导致部分性葡萄胎的产生和染色体异常儿的出生。这些不仅降低了辅助生殖技术的成功率,更给社会和家庭带来沉重的心理压力和经济损失,成为医学工作者亟待攻克的难题。

人类的自然生殖活动在人类生物进化中具有最为重要的选择机制,而 ART 是对这种选择机制的干预,使得在自然条

[△] 通讯作者, E-mail: nnqying@sina.com。

件下无法传递的遗传缺陷和对人类进化不利的基因得以传递。ART 安全性问题日益受到人们的重视^[2]。男性少弱精子症及无精子症是导致男性不育的重要原因,遗传缺陷(基因突变与染色体异常)是精子生成障碍的常见病因之一。随着 ICSI 技术的出现,使一些严重少弱精子症和无精子症患者可以拥有自己的血亲后代,但子代的遗传风险也同时增高。为提高 ART 治疗的安全性,达到优生的目的,本中心对前来就诊的 420 例少弱精子症及无精子症患者进行了染色体核型检查和分析,探讨 ART 治疗前遗传学检查的临床意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象 420 例患者为 2008 年 3 月至 2009 年 9 月在南宁市第二人民医院生殖中心就诊的少弱精子症及无精子症患者。年龄 20~48 岁,平均 29 岁。其中少弱精子症 83 例(精子密度小于 20×10⁶/mL),极度少弱精子症 83 例(精子密度小于 5×10⁶/mL),无精子症 254 例(梗阻性无精子症 70 例,非梗阻性无精子症 184 例)。全部病例根据 WHO 的精液分析操作手册(WHO,1992)至少进行了两次以上的精液常规分析,两次

分析间隔至少 1 个月。

1.2 研究方法 取外周血淋巴细胞制备染色体进行常规 G 显带分析。每例计数 30 个中期分裂象,分析 3 个核型。嵌合型数目异常者计数 100 个中期分裂象,分析 5 个核型。镜下观察和测微尺测量 Y 染色体、18 号及 21 号染色体长度,≥18 号染色体者定为大 Y 染色体,Y≤21 号染色体者定位小 Y 染色体。

2 结 果

420 例少弱精子症、无精子症患者中,有 57 例染色体异常,异常率为 13.6%(57/420)。其中 39 例涉及性染色体异常(68.4%),19 例为常染色体结构异常(33.3%)。47,XXY(克氏综合征)最常见,占异常核型的 54.4%。其次,常染色结构异常发生率也较高,平衡易位 11 例,占异常核型的 19.3%,臂间倒位 4 例,占异常核型的 7.0%。极度少弱精子症及非梗阻性无精子症患者的染色体异常率明显较高,分别为 10.8%和 21.7%。420 例少弱精子症、无精子症患者的染色体异常核型及频率见表 1。

表 1 420 例少弱精子症、无精子症患者的染色体异常核型及频率

异常核型	少弱精子症 (n=83)	极度少弱精子 症(n=83)	无精子症		占异常核型 百分率(%)	占总病例 百分率(%)
			梗阻性(n=70)	非梗阻性(n=184)		
47,XXY	—	—	—	31	54.4	7.6
47,XYY	—	1	—	—	1.8	0.2
46,X,idic(Y)	—	1	—	—	1.8	0.2
46,X,inv(Y)(p11q11)	—	—	1	—	1.8	0.2
46,X,+mar	—	—	—	1	1.8	0.2
46,XX	—	—	—	2	3.5	0.48
46,X,inv(Y)(p11q11),15ps+	—	—	—	1	1.8	0.2
46,XY,inv(1)(p22q44)	—	1	—	—	1.8	0.2
46,XY,inv(7)(p22q22)	—	—	—	1	1.8	0.2
46,XY,inv(9)(p11q12)	2	—	1	1	7.0	1.0
46,XY,inv(8)(p23q22)	1	—	—	—	1.8	0.2
46,X,t(Y;10)(q11;p15)	—	—	—	1	1.8	0.2
46,XY,t(9;15)(q33p11)	—	1	—	—	1.8	0.2
46,XY,t(8;21)(q22;q22)	—	—	—	1	1.8	0.2
46,XY,t(8;10)(q22;p13)	—	—	—	1	1.8	0.2
46,XYqh+,t(6;15)(q25;q22)	1	—	—	—	1.8	0.2
46,XY,t(2;10)(p11;q26)	1	—	—	—	1.8	0.2
46,XY,t(9;21)(p10;p10)	—	1	—	—	1.8	0.2
47,XY,del(5)(q33q35),+mar	—	—	1	—	1.8	0.2
46,XY,t(10;22)(q24;q11)	—	1	—	—	1.8	0.2
46,XY,t(2;11)(q31;p15)	—	1	—	—	1.8	0.2
46,XY,t(1;13)(p32;p10)	—	1	—	—	1.8	0.2
45,XY,der(13;14)(q10;q10)	—	1	—	—	1.8	0.2
合计	5(6.0%)	9(10.8%)	3(4.3%)	40(21.7%)	100(57/57)	13.6(57/420)

注:—表示未检测。

3 讨 论

3.1 少弱精子症与染色体异常 许多非梗阻性无精子症和严重少精子症患者(精子密度小于 5×10⁶/mL)的病因尚不清楚。据估计,其中约有 30%的患者是由于染色体畸变或基因突变等遗传学因素引起的^[3]。因为精子发生的所有过程都受基因

的调控,约有 2 000 个基因调控精子的生成,绝大部分基因位于常染色体上,少数基因位于 Y 染色体上。常染色体上调节精子生成的基因参与精子发生过程及体内其他细胞新陈代谢的调节,而 Y 染色体上的基因主要参与生殖功能的调节。所以性染色体的异常和常染色体的异常都可以引起不育^[4]。

本研究中有 5 例患者涉及 Y 染色体结构异常,占异常核型的 8.8%。其中有 2 例为倒位,根据遗传学理论,减数分裂开始时,倒位的染色体和同源染色体之间的配对发生困难,造成少精子或弱精子或二者兼有;Y 染色体的倒位若损伤到主要的生精相关基因,则可造成患者严重少精子而不育^[5]。如为少弱精子症患者,可通过 ICSI 获得血亲后代,但若生育男孩,将会遗传异常 Y 染色体,生育不育症后代,若生育女孩,则可避免风险。

目前,对男性不育患者染色体异常率国内外报道不一,主要原因与选择患者有关。本研究中,选择少弱精子症、无精子症患者为研究对象,染色体异常发生率为 13.6%,性染色体异常 39 例,占 68.4%,常染色体异常 19 例,占 33.3%。在 ART 治疗过程中,对何种程度的少弱精子症应常规检查染色体,国内外尚无统一观点。ESHRE 会议中,建议对精子密度小于 $5 \times 10^6/\text{mL}$ 的少精子症和无精子症患者进行染色体分析,对密度小于或等于 $1 \times 10^6/\text{mL}$ ^[6] 进行 Y 基因缺失分析。与之相符,本研究中极度少弱精子症和非梗阻性无精子症的发生率分别为 10.8% 和 21.7%。在非梗阻性无精子症和严重少精症患者中,除了克氏综合征外,常染色体异常的发生率也较高^[7]。本研究发现常染色体平衡易位 11 例,常染色体臂间倒位 4 例,占异常核型的 26.3%。近来,不少试验证明,常染色体之间的平衡易位不仅与自然流产有关,而且与男性不育密切相关。常染色体异常与少弱精子症、无精子症的关系现在一般通过减数分裂异常来说明。常染色体相互易位者在第一次减数分裂中期的二价体中交叉图像少于环状图像,精子质量与交叉图像有明显相关性,交叉图像多,成熟精子也多^[8]。因此,常染色体平衡易位与倒位很可能是导致这几例男性精液异常的原因。有学者认为 inv(9) 没有遗传物质的丢失,不影响患者的表型,与不育无关。但多数学者认为 inv(9) 与生殖失败有一定的关系。但是这些染色体异常是否和男性不育相关还有待深入的研究^[9]。

3.2 无精子症与染色体异常

3.2.1 克氏综合征(47,XXY) 克氏综合征是导致少弱精子症、无精子症最常见的染色体异常,本研究中克氏综合征 31 例,占异常核型的 54.4%。克氏综合征是由于细胞进行减数分裂或有丝分裂时,出现性染色体不分离,产生 47,XXY 或 47,XXY/46,XY 嵌合体^[6]。47,XXY 患者因多了一条 X 染色体,多余的 X 染色体的剂量效应影响睾丸曲细精管上皮的发育,表现为生精细胞缺失,曲细精管上皮细胞玻璃样变或纤维化,不能生成精子。患者基本无生育机会。然而克氏综合征表型也有一定的变异,少数病例(考虑为性腺嵌合体)有严重少精和死精,其睾丸大小甚至也可正常,有罕见自然受孕的报道。Bourne 等报道从克氏征患者睾丸活检材料中获取精子并成功用于 ICSI 治疗。

47,XXY/46,XY 嵌合体所表现的体征较典型的 47,XXY 轻微,这可能与 46,XY 正常细胞系的作用有关。患者精液和体征异常的严重程度与两种核型的嵌合比有关。如果 46,XY 细胞系多,则患者体征可接近正常,且有精子产生,如果 47,XXY 的细胞系多,患者情况与典型的 47,XXY 相似。46,XY/47,XXY 嵌合体有不同程度的精细胞存在,并有不同程度的精子生成。诊断嵌合体非常重要,因为有可能通过睾丸穿刺得到正常精子,并通过 ICSI 技术生育后代。

3.2.2 47,XYY 47,XYY 男性,无明显体征,激素水平、精液分析通常正常。通过精子 FISH 分析,47,XYY 患者精子的二体率增加^[10],其生育三体后代的风险增加。

3.3 遗传咨询的重要意义 近年来,ICSI 的普遍开展给男性不育症患者带来了福音。同时,由于这项技术绕过了精子自然受精过程的屏障,有可能将一些遗传疾病传给子代。严重少精子症和无精子症患者通过这一技术生育的子代将面临较大的遗传学风险^[11]。因此,对无精子症和严重少精子症患者在 ART 治疗前进行染色体检查是非常必要的。但是染色体核型正常并不能排除基因缺陷,患者需要理解染色体分析的局限性。随着分子生物学技术的迅猛发展,对遗传物质的检测早已不只停留在细胞遗传学水平——染色体水平。分子遗传学水平对生精相关基因的检测已广泛应用于临床,如 AZF、CFTR 突变检测等。通过这些遗传学检查,可以在很大程度上避免子代面临的遗传学风险^[12]。

综上所述,ART 治疗前对无精子症和严重少精子症患者进行遗传学检查,对于临床避免盲目治疗,提高辅助生殖技术安全性具有重要意义。

参考文献

- [1] 徐芬,徐望明,谢青贞. 体外受精后异常受精的影响因素分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(8):114-116.
- [2] 徐建亚,方小武,杜彦. 助孕治疗前遗传学检查的临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(7):101-103.
- [3] 夏欣一,崔英霞,杨滨. 424 例非梗阻性无精子症和严重少精子症患者的细胞与分子遗传学研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(4):33-35.
- [4] 邹波,鲁莉萍. 104 例男性 Y 染色体变异的细胞遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(4):37-40.
- [5] 陈东红,江丽莉,武蓉珍,等. 139 例男性不育症患者的精液常规检查和染色体分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(6):104.
- [6] Land JA, Evers JL. Risks and complications in assisted reproduction techniques: report of an ESHRE consensus meeting[J]. Hum Reprod,2003,18:455-457.
- [7] Moog U, Coonen E, Dumoulin JC, et al. Karyotypes of men involved in ICSI programmes the Maastricht experience [J]. Hum Reprod,1996,11:223.
- [8] Chandley AC. Infertility and chromosome abnormality [J]. Oxford Rev Reprod Biol,1984,6:1-46.
- [9] 张洲,师娟子,周寒鹰,等. 严重少精子症和无精子症患者染色体核型分析[J]. 甘肃医药,2009,28(1):14-16.
- [10] Martin RH, Rademaker AW. Aneuploidy analysis in spermatozoa from a 47,XXY male[J]. Hum Reprod,1999,14:134.
- [11] 赵冬梅,王建东,马涛. 男性不育患者的细胞遗传学分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(8):33-36.
- [12] 叶文虎,赵寿元,李璞,等. 现代临床遗传学[M]. 合肥:安徽科技出版社,1996:273.