

优生的

实验室诊断

宋伯来 高秀荣 编著

人民卫生出版社

优生的实验室诊断

宋伯来 高秀荣 编著

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

优生的实验室诊断/宋伯来,高秀荣编著.-北京:
人民卫生出版社,1996

ISBN 7-117-02409-7

I. 优… I. ①宋… ②高… III. 胎前诊断:
实验室诊断 IV. R714.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(96)第 03386 号

优生的实验室诊断

宋伯来 高秀荣 编著

人民卫生出版社出版
(北京市崇文区天坛西里10号)

三河市宏达印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 $5\frac{1}{2}$ 印张 121千字

1996年10月第1版 1996年10月第1版第1次印刷

印数:00 001—4 000

ISBN 7-117-02409-9/R·2410 定价:7.50元

〔科技新书目392—102〕

前 言

计划生育及优生优育是我国的基本国策。一对夫妇生一个健康活泼的孩子是广大群众,特别是青年夫妇共同的愿望,它关系到家庭欢乐幸福与民族的繁荣昌盛。但由于人类遗传因素和生活环境条件的影响,仍有遗传病和先天畸形儿出生(出生缺陷约占新生儿的13%~20%),给家庭带来精神痛苦,给社会增加负担。为此,作者编写了《优生的实验室诊断》,以帮助广大临床工作者、计划生育干部乃至广大群众知道如何去了解胎儿在宫内的发育情况,知道如何在青年妇女怀孕后尽早地把有病的胎儿检测出来,以便及时终止妊娠,避免其出生。这对控制人口增长,提高人口素质具有特别重要的意义。

由于作者水平有限,有不当之处,敬请同行及广大读者批评指正。

编者

1996年1月

目 录

第一章 妊娠诊断试验及激素测定	1
第一节 妊娠诊断试验	1
一、快速胶乳凝集抑制试验	1
二、HCG 血凝抑制试验	3
三、单克隆抗体酶联免疫法	4
第二节 激素测定	5
一、下丘脑促垂体激素释放激素(因子)	6
二、垂体激素	7
三、靶腺体及其他激素	8
四、各种激素测定	9
第二章 绒毛组织检查	21
第一节 绒毛取材	21
一、绒毛的形成及结构	21
二、绒毛取材	24
三、绒毛取材的进展	27
四、绒毛检查的内容	28
第二节 绒毛的酶类检查	29
一、绒毛组织胆碱酯酶活性测定	29
二、绒毛组织胆碱酯酶同工酶测定	30
三、绒毛组织酸性磷酸酶测定	30
四、绒毛组织碱性磷酸酶测定	31

五、绒毛组织肌酸激酶测定.....	32
六、绒毛组织乳酸脱氢酶测定.....	33
七、绒毛组织其它酶类测定.....	33
第三章 羊水检查	35
一、羊膜囊穿刺术及其应用.....	35
二、羊水酶类测定.....	37
三、羊水蛋白质及其代谢产物测定.....	41
四、羊水酯类及糖类测定.....	52
五、微量元素及其他无机离子测定.....	57
第四章 感染性疾病及其病原体检查	62
一、病毒感染的检测.....	62
二、弓形体感染的检测.....	76
三、梅毒的检测.....	80
第五章 胎儿成熟度和胎盘功能测定	84
一、胎儿成熟度预测.....	84
二、胎盘功能测定.....	87
第六章 母婴血型不合与胎儿溶血病的检查	89
一、胎儿与新生儿溶血病的检查内容.....	90
二、母婴血型不合与溶血病的检查方法.....	92
三、宫内胎儿血型鉴定.....	98
第七章 目前产前可以诊断的疾病.....	101
第一节 染色体病.....	101
一、先天愚型	103
二、易位型	104
第二节 遗传代谢病.....	105
一、X 性连锁代谢病	106
二、常染色体显性遗传代谢病	107

三、常染色体隐性遗传病	107
第八章 细胞遗传学产前诊断技术	119
第一节 细胞培养和染色体标本制备技术	119
一、胎儿血染色体标本的制备	120
二、羊水细胞染色体标本的制备	121
三、绒毛细胞染色体标本的制备	122
四、性染色质检查	123
五、微核检查	124
第二节 染色体显带方法	125
一、非显带技术	125
二、显带技术	126
第三节 细胞遗传学新技术在产前诊断中的应用	129
一、高分辨染色体技术	129
二、高分辨染色体显微切割、体外扩散微克隆技术	131
三、姐妹染色单体互换技术	132
四、迟复制 X 染色体及 R 带双染色技术	133
五、细胞周期的检测技术	133
六、人类染色体脆性位点检测技术	134
第九章 产前实验室诊断新技术	136
第一节 产前基因诊断	136
一、产前基因诊断的方法	136
二、基因诊断在产前诊断中的应用	141
第二节 微量技术	145
第三节 体细胞杂交试验	147
第四节 聚合酶链反应(PCR)技术	147
第十章 人类染色体核型分析、命名及识别	149

第一节	人类染色体分析方法·····	149
第二节	人类非显带染色体识别·····	150
第三节	人类染色体命名和识别·····	151
	一、人类染色体命名符号和缩写术语·····	151
	二、人类染色体数目及核型识别·····	154
	三、人类染色体数目畸变·····	154
	四、人类染色体结构畸变·····	156
第四节	显带染色体命名·····	157
第五节	人类高分辨染色体命名·····	165
第六节	染色体异态性·····	167

第一章 妊娠诊断试验及激素测定

第一节 妊娠诊断试验

妊娠诊断(pregnancy test)是计划生育、优生优育和诊断某些妇产科肿瘤的一项重要检查项目,目前常用的方法有免疫测定法和单克隆抗体酶联免疫法,后者灵敏度高、特异性强、操作简便。过去使用的生物测定法(雄青蛙或雄蟾蜍试验)已逐渐被摒弃。

一、快速胶乳凝集抑制试验(rapid latex agglutination inhibition test, RLAIT)

【标本】

孕妇或患者清晨尿液或随意尿液。

【原理】

妊娠时胎盘绒毛膜组织产生大量绒毛膜促性腺激素(HCG),它是一种蛋白质性激素,具有抗原性,能与相应的抗血清发生反应。如将孕妇的尿与抗HCG血清相混合,经过一定时间后,再加入吸附了HCG的胶乳,由于抗血清已与尿中的HCG结合,不会使胶乳发生凝集,胶乳仍呈均匀的乳状。反之,非妊娠妇女尿中几乎不含HCG,抗血清中的抗HCG抗体不被消耗,当加入吸附有HCG的胶乳后,抗血清就与胶乳

结合,发生凝集,称为凝集抑制试验。

【结果判定】

阳性反应:胶乳仍保持均匀的乳状,不出现凝集现象。

阴性反应:在 2~3 分钟内出现明显均匀一致的凝集颗粒。

正常妇女为(-),妊娠时为(+),即不发生凝集现象。

【临床意义】

1. 孕妇尿中含有多量 HCG(停经 8 周左右,尿中 HCG 含量最高,以后逐渐减低,直至转为阴性),故呈阳性反应。

2. 人工流产或刮宫后,无胎盘组织残留,即转为阴性。

3. 绒毛膜上皮癌、恶性葡萄胎及睾丸畸胎瘤等患者,其尿中 HCG 比正常妊娠高 10~1000 倍,尿液稀释 200 倍后,仍呈阳性反应,但经手术后即转为阴性,如未转阴性,应考虑手术不彻底或肿瘤已有转移。

【说明】

1. 最好取晨尿,若尿液混浊或有絮状物应离心,取上清液使用。

2. 严重蛋白尿、血尿、尿中含有多量汞盐及严重染菌尿液不宜使用。

3. 此试验应在 15℃ 以上进行,如室温过低,反应缓慢,观察时间应延长至 3~5 分钟。

4. 滴加尿液与抗血清后,应摇匀,作用一定时间后,再加胶乳抗原。滴液大小应一致,否则,会产生假阴性或假阳性反应。

5. 此试验有时可产生一种不均匀一致,呈漂浮状的白色颗粒,为非特异性凝集,可将尿液离心后,取上清液或重新留尿,重作一次。

二、HCG 血凝抑制试验(HCG hemagglutination inhibition test)

分定性试验及半定量(浓缩或稀释)试验。

【标本】

孕妇或患者尿液。

【原理】

将 HCG 作为抗原,注射于动物(如家兔)体内,经免疫后产生抗体,当此种抗体与相应的抗原相遇时,产生特异性的免疫凝集反应。若将抗原吸附于血细胞上,抗原抗体凝集时,即能见到血细胞凝集。在含有抗体的血清内先加入抗原中和后,再加入致敏的血细胞,则不再发生凝集,称为血细胞凝集抑制试验。抗原是人体 HCG,抗体是家兔经 HCG 免疫后的血清,致敏血细胞是绵羊红细胞经鞣酸处理后吸附 HCG 的血细胞,用以中和抗体的抗原是孕妇或患者的尿液。

【结果判定及正常参考值】

阳性:绵羊红细胞不发生凝集现象。

阴性:绵羊红细胞发生凝集现象。

正常妇女为(-),妊娠时为(+),即绵羊红细胞不发生凝集现象。

定性测定为阴性。半定量浓缩试验为小于 100IU/L,半定量稀释试验小于 312IU/L。

【临床意义】

1. 孕妇 HCG 分泌增加,本试验可为阳性或效价增高。如为绒毛膜癌、葡萄胎、睾丸畸胎瘤等,则 HCG 显著增加(可为妊娠之 10~1000 倍以上),有鉴别诊断意义。

2. 流产或死胎后,HCG 分泌逐渐降低至消失,试验转阴

性或效价降低。患葡萄胎或肿瘤者,经手术或化疗后,也可降低或转阴,若效价又增高,提示病变转移或复发。

三、单克隆抗体酶联免疫法(monoclonal antibody enzyme linked immunosorbent assay, ELISA 法)

本法能较早地诊断妊娠,它是一种酶联吸附分析法,或检出尿液或血中 HCG 的完整分子。

【标本】

孕妇或患者清晨尿液或静脉血液。

【原理】

它是一种基于夹心层原理的固相酶联免疫吸附分析法。含有 HCG 的样品与固定在聚苯乙烯试管上的抗 HCG 抗体,以及酶标记的作用同一 HCG 分子上不同抗原决定簇的抗 HCG 抗体进行温育,温育期间,形成了固相/HCG/酶标抗体夹心层状结构,温育之后,洗涤试管以除去未结合的酶标记抗体。然后再将试管与酶底物进行温育,后者在酶的催化下形成蓝色,通过肉眼比较样品管和阴性对照所出现的蓝色强度,即可确定试验结果。

【结果判定】

阳性:测定管所产生的蓝色与阳性对照管的蓝色一样深或更深(对照管为 $25\mu\text{g/L}$ HCG 的阳性管,呈蓝色。阴性对照管呈无色或淡蓝色)。

阴性:样品不产生蓝色或蓝色强度低于阳性对照。

【说明】

1. 如果获得阴性结果而仍然怀疑妊娠时,应隔 48 小时后再采集尿样重新进行试验。

2. 如果尿中的 HCG 含量特别高时,应将尿液稀释后再

测定。

第二节 激素测定

生殖是生物绵延和繁殖种系的重要生命活动,男性主要生殖器为睾丸,睾丸具有生成精子和分泌睾酮(T)的生理功能。女性的主要生殖器是卵巢,卵巢是产生卵子和雌激素(E)之场所。卵巢与子宫的相应变化,均是在下丘脑-垂体-卵巢轴的控制下完成的。卵巢和睾丸分泌的性激素控制着性器官和第二性征,而其本身的发育维持和功能活动,又受到腺垂体的控制,如黄体生成素(LH)控制 T 的分泌,反过来血中的 T 和 E 又通过反馈抑制控制腺垂体 LH 与下丘脑促性腺激素释放激素(GnRH)的分泌,E 降低垂体对 GnRH 的反应性,而 T 不改变垂体的反应性。因此,E 作用于垂体而 T 则作用于下丘脑。妊娠时,胎盘是一个重要的内分泌器官,分泌大量甾体与肽类激素取代垂体的促性腺激素作用,胎盘产生的胎盘泌乳素(HPL)、人绒毛膜促性腺激素(HCG)、人绒毛膜生长素(HCS)、胎盘促甲状腺激素、GnRH 样物质、 β -脑非肽(β -EP)、松弛素以及依赖从胎儿或母体得到甾体激素的前身物质,再加工制造 E 和孕酮(P),这些激素对维持妊娠起决定性作用。雄激素、E 和 P 为性激素,是生殖激素(调节生殖过程的激素)的一部分。生殖激素还包括垂体的 FSH、LH、PRL、GH、神经垂体的 OXT,下丘脑的 GnRH 等。

生殖和计划生育涉及到很多激素,用于产前诊断已有数十种之多。如孕中期羊水甲胎蛋白(AFP)浓度增高时诊断神经管缺陷(NTD),用孕酮合成抑制剂和用抑制前列腺素降解药物,提高动物的流产率,用 GnRH 促进 P 生成,激发排卵、

刺激 T 和精子生成,以治疗不孕症,大剂量的 GnRH 则为生育措施之一(女性——P 生成障碍、排卵停止、闭经;男性——T 生成下降、精子发生障碍等),测定母血 T_3 、 rT_3 、 T_4 和 TSH 以筛选胎儿甲状腺功能低下,以便及时治疗,避免新生儿的脑损害,测定唾液中的 E_2 浓度,月经周期中唾液 P 水平的变化,观察避孕药对卵巢功能的影响,方法简单易行,可多次连续检测,为计划生育的研究开辟了新途径。

激素是协调多细胞机体中不同细胞代谢作用或活性化学信使,其功能非常复杂,而且各种激素往往相互作用,密切配合,参与维持机体稳态的调节。

激素是由内分泌细胞形成的腺体(垂体、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、性腺、胰岛、松果体、胸腺),以及散在于脏器(胃肠、肾脏、心脏)组织(下丘脑)中的内分泌细胞,形成一个体液调节系统,称为内分泌系统。在神经支配和物质代谢反馈调节下释放激素。

一、下丘脑促垂体激素释放激素(因子)

位于下丘脑下部促垂体区域的神经分泌细胞分泌多种垂体激素释放激素,在正中隆起、垂体柄处释放入血,沿垂体门脉系统到达前叶,作用于垂体前叶相应的促激素细胞,调节各种促激素的合成与分泌。其种类及作用如表 1-1。

表 1-1 下丘脑促垂体激素释放激素(因子)及其作用

种 类	作 用	效应细胞分泌的激素
兴奋性	促垂体激素释放激素(因子)	
	促甲状腺素释放激素(TRH)	TSH, PRL
	黄体生成素释放激素(LRH)	LH

续表

种 类	作 用	效应细胞分泌的激素
	卵泡刺激素释放激素(FRH)	FSH
	LRH 和 FRH 称为促性腺激素 释放激素(GnRH)	LH、FSH
	促肾上腺皮质激素释放因子 (CRF)	ACTH
	生长激素释放因子(GRF)	GH
	催乳素释放因子(PRF)	PRL
抑制性	抑制垂体激素释放激素(因子)	
	生长激素释放抑制激素(GRIH)	GH、INS
	催乳素释放抑制因子(PIF)	PRL

二、垂 体 激 素

1. 垂体前叶激素及其生理作用 见表 1-2。

表 1-2 垂体前叶激素及其作用

种 类	靶细胞	生理作用
促甲状腺激素(TSH)	甲状腺滤泡	促进 T_3 、 T_4 的分泌
促肾上腺皮质激素 (ACTH)	肾上腺皮质	促进肾上腺皮质激素的分泌
卵泡刺激素(FSH)	卵巢滤泡	促进分泌雌激素
	睾丸支持细胞	促进分泌抑制素
黄体生成激素(LH)	卵巢黄体	促进分泌孕激素
	睾丸间质细胞	促进分泌睾酮
生长激素(GH)	肝及其它组织的 颗粒内质网	形成生长介素,促进 机体生长发育
催乳素(PRL)	乳腺黄体	促进乳腺腺泡发育和 乳汁分泌,维持黄体 分泌

2. 垂体后叶激素

(1) 抗利尿激素(antidiuretic hormone, ADH): 又称血管加压素(vasopressin), 主要由视上核分泌, 其生理作用是促进肾小管对水的重吸收, 使小动脉收缩而升高血压。

(2) 催产素(oxytocin, OXT): 由室旁核分泌, 能使子宫收缩, 在哺乳期能使乳腺射乳。

三、靶腺体及其他激素

1. 甲状腺激素 包括甲状腺激素(thyroxine, T_4)及三碘甲腺原氨酸(triiodothyronine, T_3), 在甲状腺滤泡上皮细胞内合成和分泌, 受 TSH 的调控, 它们能促进机体新陈代谢及组织器官生长发育, 并对糖、蛋白质、脂肪和水盐代谢有促进作用。降钙素(calcitonin, CT)由甲状腺滤泡旁 C 细胞分泌, 受血钙浓度的调节, 与甲状旁腺激素有拮抗作用。

2. 甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH) 由甲状旁腺主细胞分泌, 受血钙浓度的调节。能使血钙升高, 血磷降低, 肾小管对磷重吸收减少。

3. 肾上腺皮质激素(表 1-3)

表 1-3 肾上腺皮质激素的种类和生理作用

皮质激素	分泌部位	生理作用
糖皮质激素(以皮质醇为代表)	肾上腺皮质束状带	调节糖、蛋白、脂肪代谢抑制炎症反应及免疫反应
盐皮质激素(以醛固酮为代表)	肾上腺皮质球状带	作用于远端肾小管, 促进钠的重吸收, 排出钾和氢离子
性激素(睾酮和雌激素)	肾上腺皮质网状带	促进蛋白质合成, 维持第二性征

4. 卵巢激素 包括雌激素和孕激素。前者促进女性性器官发育和维持第二性征。后者主要为孕酮,由黄体分泌,使子宫内膜由增生期进入分泌期,以备受精卵着床和维持妊娠,促乳腺小叶发育。

5. 睾丸激素 主要是睾酮和抑制素。前者主要促进男性性器官与第二性征的发育。后者反馈作用于垂体前叶,控制FSH的分泌。

6. 胰岛素、胃肠激素和肾脏激素等。

四、各种激素测定

(一) 人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)测定

目前最常用的测定方法是放射免疫法和酶联免疫法。酶联免疫测定多用于定性,而放射免疫测定多用于定量测定,以下重点介绍后者。

【原理】

用激素作抗原免疫动物,使产生相应的特异抗体,以此抗体作为对该抗原激素的特异结合蛋白,使被测物中的该激素与放射同位素标记的该抗原激素进行竞争性放射免疫反应,以测定被测物中该激素的含量。

【方法】

ELIAS法。

【正常参考值】

血清 HCG $< 10\mu\text{g/L}$ (ng/ml), 尿液 HCG $< 30\mu\text{g/L}$ (ng/ml), 血清 HCG- β $< 3.1\mu\text{IU/L}$ 。

【临床意义】

HCG 为一种糖蛋白,主要由孕妇胎盘合体滋养层产生。