

不同方法测定各孕期羊水 pH 值的结果分析

张俊发¹⁾ 王藻¹⁾ 宋萍¹⁾ 周达生²⁾

(南京铁道医学院)

酸硷度 (pH) 是细胞和组织培养中重要的因素之一。细胞的种类不同, 其生长所需的最适 pH 亦有差异。尤其在使用普通恒温箱进行封闭式培养时, 掌握好培养液的 pH, 对细胞生长、繁殖关系极大。

羊水细胞培养是产前诊断的一项重要手段。培养羊水细胞所需要的最适 pH 各家意见不一, 据报道有 6.5—6.7^[1], 6.8^[2,3], 7.0—7.2^[4], 7.2—7.4^[5], 7.0—7.4^[7]……, 真可谓众说纷纭。这给羊水细胞培养的开展带来一定困难。为了探索羊水细胞培养最适宜的 pH, 我们测定了 200 例正常妊娠各周羊水的 pH 值, 结果及统计学分析如下。

资料与方法

自 1981 年 11 月至 1983 年 10 月, 用电位法与比色法分别测定了 200 例不同孕期羊水的 pH 值, 孕期最早为 13 周, 最晚 46 周。所有羊水标本均由羊膜囊穿刺获取 (其中 164 例经腹壁穿刺, 13 例在剖腹产时经子宫壁穿刺, 23 例分娩时经阴道穿刺), 取出之羊水立即用 pH5.5—9.0 的精密试纸和 25 型酸度计 (精密密度为 0.033) 测定其混悬液和离心 (3,000 转/分, 5 分钟) 后上清液的 pH 值 (其中 17 例未测混悬液的 pH 值)。

结果分析

(一) 电位法与比色法测定羊水 pH 值的比较 用两种方法测定 200 例羊水离心后上清液及其中 183 例混悬液所得 pH 值结果见表 1。

表 1 两种方法测定 pH 值结果比较

方 法	上 清 液		混 悬 液	
	例 数	均 值	例 数	均 值
电位法	200	7.2976	183	7.2084
比色法	200	6.7405	183	6.6765

表 2 两种方法测定 pH 值结果的方差分析表

变异来源	n'	SS	MS	F
总的	765	75.3095		
组间	3	58.0391	19.3464	853.5919
组内	762	17.2705	0.0227	

$$F_{0.01(3,762)} = 3.82, P < 0.01$$

表 3 两种测定 pH 方法均值秩次

秩 次	方 法	均 值
1	电位法上清液	7.2976
2	电位法混悬液	7.2084
3	比色法上清液	6.7405
4	比色法混悬液	6.6765

表 4 四种测定结果的两两比较——Q 检验

比 较	$X_i - X_j$	n'	Q	P
1—4	0.6210	4	65.918	<0.01
1—3	0.5571	3	59.1253	<0.01
1—2	0.0891	2	9.4608	<0.01
2—4	0.5319	3	56.4572	<0.01
2—3	0.4679	2	49.6645	<0.01
3—4	0.0640	2	6.7927	<0.01

$$Q_{0.01(120,2)} = 3.70, Q_{0.01(120,3)} = 4.20, \\ Q_{0.01(120,4)} = 4.50$$

Zhang Junfa et al.: The pH Values of Amniotic Fluid in Different Periods of Pregnancy

1) 附院妇产科; 2) 本院卫生系。

本文于 1984 年 6 月 4 日收到。

经 t 和 $F-Q$ 检验可见电位法测定的 pH 值非常显著地高于比色法 ($P < 0.01$), 同一标本的混悬液与上清液其 pH 值也有极显著差异 ($P < 0.01$)。pH 均值的大小顺序为电位法上清液 (7.2976) > 电位法混悬液 (7.2084) > 比色法上清液 (6.7405) > 比色法混悬液 (6.6765)。

其间差别均具有极显著的统计学意义(见表2—4)。

(二) 不同孕期羊水 pH 值比较 不同孕期两种方法两种处理的羊水 pH 值比较见表 5 及图 1。

表 5 显示随着孕期的增加, pH 值发生相应

表 5 不同孕期羊水 pH 值比较

孕期(周)	例数	混悬液		上清液	
		比色法	电位法	比色法	电位法
		$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$	$\bar{X} \pm S_x$
13—	20	6.845 ± 0.031	7.3305 ± 0.023	6.884 ± 0.030	7.381 ± 0.024
16—	94	6.728 ± 0.032	7.2372 ± 0.030	6.782 ± 0.032	7.3117 ± 0.031
23—	57	6.615 ± 0.045	7.1665 ± 0.041	6.681 ± 0.048	7.2719 ± 0.041
38—46	29	6.545 ± 0.051	7.1134 ± 0.042	6.628 ± 0.051	7.2289 ± 0.050

变化,即孕期越长, pH 值越小, 其间等级相关系数 $r_s = -1$, $P < 0.01$, 呈明显负相关, 与文献^[8,9]报告相似。孕期 16—23 周为产前诊断进行羊水细胞培养的适宜阶段, 此际羊水 pH 值电位法测定在 7.2—7.4 间, 比色法测定在 6.7—6.8 间。

于混悬液。

讨 论

1. 羊水是胎儿的外环境, 其代谢颇为复杂。已知母体、胎儿、胎盘均参与羊水代谢。总而言之, 孕期愈早母体因素的影响愈大。随着妊娠的进展, 胎儿的作用越来越大。胎儿产生的乳酸、尿酸等使羊水酸度逐渐增加, 尤其在胎儿宫内窘迫时, 产生乳酸增多, 使羊水 pH 值降低, 因此测定羊水 pH 值对围产期保健有重要意义。

2. 羊水的有机物质中, 一半是蛋白类物质。在硷性溶液中蛋白质带负电荷, 人体体液中蛋白质的等电点多在 5.0 左右, 呈酸性。离心后上清液除去了细胞和蛋白类物质, 这可能是上清液 pH 值升高的原因。

3. pH 的测定有比色法和电位法两种。比色法虽操作简便, 但准确度低。特别是被测溶液混浊、含有较多蛋白质及盐类时, 此法更不适用^[6]。本文图 1 中比色法 pH 均值曲线波动较大, 亦表明该法误差较大, 且与电位法比较, 均值要低 0.5 左右。鉴于测定方法不同, 所得结果亦不同。因此今后在讨论培养羊水细胞的最适 pH 值时应说明是用何种方法测定的。因电位法准确度高, 最好以电位法为标准进行讨论。

(参考文献转 36 页)

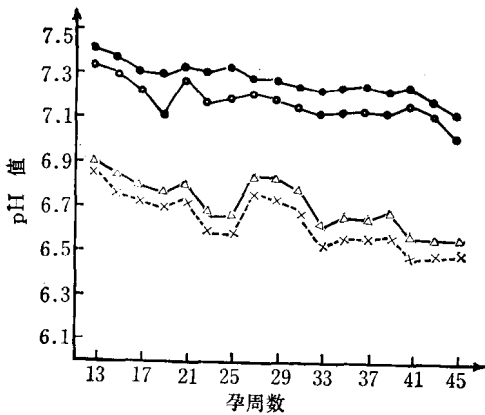


图 1 不同孕期不同方法测定羊水 pH 均值曲线比较
 ····○··· 电位法测定羊水上清液均值曲线;
 —○—○— 电位法测定羊水混悬液均值曲线;
 -△-△-△ 比色法测定羊水上清液均值曲线;
 -×-×-× 比色法测定羊水混悬液均值曲线。

从图 1 中可明显看出以下 3 点: (1) 各曲线虽有波动, 但总的趋势是随着孕期增长而 pH 值下降; (2) 电位法 pH 值在各周均高于比色法; (3) 电位法和比色法的上清液 pH 值均高

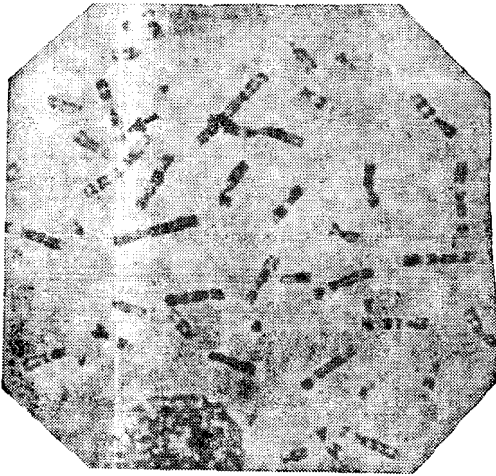


图3 患者染色体核型分析

有一条正常的9号，还有一条类似3号大小的异常染色体，其长臂的带型同正常9号一样，其短臂上多出的一段与9号短臂的带型完全相

同。我们做了C带，这条异常染色体的长臂近着丝点处有次缢痕，证实为9号染色体。为了进一步确定短臂重复区的断裂点，我们用过量胸腺嘧啶核苷同步化做了高分辨，由于染色体的增长，可以明显看出重复是从9号短臂的一区一带开始至末端。因此，该患者的核型是46, XX, -9, +dup(9)(pter → p11: pter → qter) (图3)。至于短臂末端与重复段相接处是否有微小的缺失，这是高分辨也难以确定的。

讨 论

自1973年 Rethore 等首先发现9p三体之后，至今国外已有60多例报道了，但在国内所见报道仅有吴立甫^[1]和邱信芳两例^[2]，其中邱信芳介绍的患者是在巴黎，核型增加部分9p13 → 9pter 易位于7号短臂上。本例与这两例都不完全相同，除细胞遗传学证实以外，其临床表现基本附合 Mace, S. E. etc. 在1978年对25例9p三体、9三体 and 9q三体所作的比较，9p三体综合征的表现：智力迟钝，小头，眼距宽，先天性心脏病，耳位低，发际低，指趾骨畸形，通关手，箕纹多，生存期较长。因此，此例是9号短臂重复，它为临床基因定位提供了依据。

参 考 文 献

- [1] 吴立甫：1980. 遗传学报, 7(3): 268—270.
- [2] 邱信芳等：1981. 同上, 8(1): 122—125.
- [3] 余泽缓摘译：1979. 国外医学遗传学分册, 2(1): 50—51.
- [4] 张思仲摘译：1978. 国外医学遗传学分册, 1(1): 10—16.
- [5] Jorge J. Yunis: 1974. In Human Chromosome Methodology, 2d. ed., Academic Press, New York & London, p. 202.

(上接 32 页)

参 考 文 献

- [1] 高锦声等：1981. 人类染色体方法学手册，第二版，江苏省医学情报研究所出版，南京，第47页。
- [2] 鄂征主编：1982. 组织培养技术，第一版，人民卫生出版社，北京，第183页。
- [3] 辜士扬等：1981. 天津医药, 9(8): 495.
- [4] 李锦震等：1983. 遗传, 5(3): 42.
- [5] 孙念枯：1980. 国外医学计划生育妇产科分册, 3:

- 92.
- [6] 王继贵主编：1981. 临床生化检验，第一版，湖南科学技术出版社，长沙，第161页。
- [7] Centerfor Disease Control. Training Manual: 1981: Amniotic Fluid cell culture, Third edition, CDC, Atlanta Georgia, U. S. p.22.
- [8] Johnell, H. E. et al.: 1971. Acta Obstet. Gynec. Scand., 50:183.
- [9] Seeds, A.E. et al.: 1968. Amer. J. Obstet. Gynec., 101:257.