

血红蛋白电泳联合地中海贫血基因检测在地中海贫血早期诊断中的价值

王先玉 邹爱军

作者单位: 410007 湖南长沙, 湖南省儿童医院检验中心

通信作者: 王先玉, Email: 506594040@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.02.009

【摘要】 目的 探讨血红蛋白(Hb)电泳联合地中海贫血基因检测在地中海贫血早期诊断中的应用价值。**方法** 选取2017年1月—2019年3月湖南省儿童医院收治的地中海贫血儿童作为地中海贫血组,另选本院同期参加体检的健康儿童作为健康对照组。对地中海贫血组进行Hb电泳联合地中海贫血基因检测,对健康对照组仅进行Hb电泳诊断,对比两组的HbA、HbA2和HbF的浓度以及不同类型地中海贫血的有效检测率。**结果** 共纳入205例受检者,包括地中海贫血组患儿155例(α -地中海贫血组87例, β -地中海贫血组68例)和健康对照组儿童50例。健康对照组、 α -地中海贫血组、 β -地中海贫血组的HbA呈逐步降低趋势,HbF呈逐步升高趋势; α -地中海贫血组和 β -地中海贫血组患儿的HbA、HbA2和HbF与健康对照组比较差异均有统计学意义[HbA(%): 95.85 ± 2.94 、 94.35 ± 2.45 比 97.81 ± 1.76 ,HbA2(%): 1.65 ± 0.61 、 4.03 ± 1.09 比 2.76 ± 0.55 ,HbF(%): 1.42 ± 0.40 、 2.69 ± 1.38 比 0.85 ± 0.24 ,均 $P < 0.05$];与 α -地中海贫血组比较, β -地中海贫血组患儿的HbA明显降低(%: 94.35 ± 2.45 比 95.85 ± 2.94 , $P < 0.05$),HbA2和HbF明显升高[HbA2(%): 4.03 ± 1.09 比 1.65 ± 0.61 ,HbF(%): 2.69 ± 1.38 比 1.42 ± 0.40 ,均 $P < 0.05$]。Hb电泳联合地中海贫血基因检测对 α -地中海贫血和 β -地中海贫血的检出率[98.95% (86/87)和 92.65% (63/68)]以及地中海贫血的总检出率[96.13% (149/155)],均明显高于单一Hb电泳检测[分别为 25.29% (22/87)、 22.06% (15/68)和 23.87% (37/155)],均 $P < 0.05$]。**结论** Hb电泳联合地中海贫血基因检测地中海贫血效果明显,可作为早期诊断的有效指标。

【关键词】 血红蛋白电泳; 地中海贫血; 基因检测; 诊断

The value of hemoglobin electrophoresis combined with thalassemia gene detection in early diagnosis of children with thalassemia

Wang Xianyu, Zou Aijun. Department of Clinical Laboratory, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, Hunan, China

Corresponding author: Wang Xianyu, Email: 506594040@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the value of hemoglobin (Hb) electrophoresis combined with thalassemia gene detection in the early diagnosis of thalassemia. **Methods** The thalassemia children admitted to Hunan Children's Hospital from January 2017 to March 2019 were selected as a thalassemia group, and the healthy children who took part in physical examinations at the same time were assigned in a healthy control group. Hb electrophoresis combined with thalassemia gene detection was performed in thalassemia group, and only Hb electrophoresis diagnosis alone was made in healthy control group. The concentrations of HbA, HbA2 and HbF and the effective detection rates of different types of thalassemia were observed and compared between the two groups. **Results** A total of 205 subjects were enrolled, including 155 children in the thalassemia group (87 in the α -thalassemia group and 68 in the β -thalassemia group) and 50 children in the healthy control group. The levels of HbA in healthy control group, α -thalassemia group and β -thalassemia group had a tendency of gradual decreasing, while the levels of HbF were gradually increasing; compared with those in the healthy control group, the differences in levels of HbA, HbA2 and HbF in children with α -thalassemia group and β -thalassemia group had statistical significances [HbA (%): 95.85 ± 2.94 , 94.35 ± 2.45 vs. 97.81 ± 1.76 , HbA2 (%): 1.65 ± 0.61 , 4.03 ± 1.09 vs. 2.76 ± 0.55 , HbF (%): 1.42 ± 0.40 , 2.69 ± 1.38 vs. 0.85 ± 0.24 , all $P < 0.05$]; compared with α -thalassemia group, HbA was significantly decreased in β -thalassemia group (%: 94.35 ± 2.45 vs. 95.85 ± 2.94), and HbA2 and HbF were obviously increased in β -thalassemia group [HbA2 (%): 4.03 ± 1.09 vs. 1.65 ± 0.61 , HbF (%): 2.69 ± 1.38 vs. 1.42 ± 0.40 , all $P < 0.05$]. The detection rates of α -thalassemia and β -thalassemia by Hb electrophoresis combined with thalassemia

gene detection [98.95% (86/87) and 92.65% (63/68)] and total detection rates of thalassemia [96.13% (149/155)] were all significantly higher than those by single Hb electrophoresis alone [25.29% (22/87), 22.06% (15/68) and 23.87% (37/155), all $P < 0.05$]. **Conclusion** Hb electrophoresis combined with thalassemia gene detection is a markedly effective method for early diagnosis of thalassemia.

【Key words】 Hemoglobin electrophoresis; Thalassemia; Gene detection; Diagnosis

地中海贫血是一组由珠蛋白基因表达障碍导致肽链合成受限或完全抑制引起的常染色体不完全显性遗传性溶血性疾病,具有分布范围广、发病率高、危害严重等特点,越来越受到临床的重视^[1-2]。迄今为止,临床尚无有效方法治疗地中海贫血,尤其是重型患儿,要靠规范化终身输血联合祛铁治疗维持生命,不仅造成医疗卫生资源的巨大浪费,终身输血还可能导致患儿出现铁超载等相关并发症,生存质量降低^[3-4]。因此,做好地中海贫血的筛查和早期诊断对阻止重型患儿的出生具有重要意义。为此,本研究分析血红蛋白(hemoglobin, Hb)电泳联合地中海贫血基因检测对地中海贫血早期诊断的应用价值,旨在为该病的防治提供依据,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象及分组 选取 2017 年 1 月—2019 年 3 月本院收治的地中海贫血的儿童作为地中海贫血组,另选同期参加体检的健康儿童作为健康对照组。排除其他类型溶血性贫血(如小细胞低色素性贫血、自身免疫性溶血性贫血、遗传性球形细胞增多症、镰状细胞贫血等),近期接受输血治疗以及合并其他系统疾病者。本研究符合医学伦理学标准,对患儿所采取的检测方法得到过患儿监护人的知情同意。

1.2 检测方法 两组受检者均进行 Hb 电泳诊断,地中海贫血组同时进行地中海贫血基因检测。

1.2.1 Hb 电泳 采集受检者的空腹静脉血 5 mL,乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)抗凝后以 5 000 r/min 的速度离心 5 min(离心半径 13.5 cm),采用 10 倍体积 0.9% 氯化钠注射液洗涤红细胞 3 次去血浆;取 10 μ L 红细胞加入 130 μ L 溶血液中震荡 10 s 混匀,室温培育 5 min。采用全自动 Hb 电泳仪、扫描仪和分析系统检测 Hb 指标(包括 HbA、HbA2 和 HbF)并打印图谱。正常参考值: HbA 为 97%~98%, HbA2 为 2.0%~3.5%, HbF 为 0%~1.0%,且无异常 Hb(如 HbH、HbBarts)。

1.2.2 基因检测 取受检者外周静脉血 3~5 mL,注入含 EDTA 抗凝的无菌离心管中,轻轻颠倒试管混匀几次后密闭送检。按照操作说明书用人体细胞 DNA 提取试剂盒提取血液样本 DNA,采用缺口-

聚合酶链反应(gap-polymerase chain reaction, Gap-PCR)技术检测 3 种常见缺失型 α 地中海贫血基因,采用 PCR-反向斑点杂交(PCR-reverse dot blot, PCR-RDB)基因芯片技术检测 17 种常见 β -地中海贫血基因突变位点。检测严格按照 α -地中海贫血和 β -地中海贫血基因诊断试剂盒说明书操作。

1.3 观察指标 记录地中海贫血组以及健康对照组的 HbA、HbA2 和 HbF 浓度,统计单一 Hb 电泳或 Hb 电泳联合地中海贫血基因检测对不同地中海贫血类型的有效检出情况。

1.4 统计学方法 采用 Excel 2003 建立数据库,整理数据录入计算机。用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析,检验标准 $\alpha = 0.05$ 。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以例(率)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 共纳入 205 例受检者。其中地中海贫血组儿童 155 例,男性 96 例,女性 59 例;年龄 1 个月~12 岁,平均(2.94 \pm 1.89)岁; α -地中海贫血 87 例, β -地中海贫血 68 例。健康对照组儿童 50 例,男性 32 例,女性 18 例;年龄 1 个月~12 岁,平均(3.06 \pm 1.93)岁。两组性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 不同标本 Hb 指标的比较 健康对照组、 α -地中海贫血组、 β -地中海贫血组的 HbA 呈逐步降低趋势, HbF 呈逐步升高趋势,各组之间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);与 α -地中海贫血组比较, β -地中海贫血组患儿 HbA 明显降低, HbA2 和 HbF 明显升高(均 $P < 0.05$)。地中海贫血组患儿 HbA、HbA2 和 HbF 与健康对照组比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同标本中 Hb 指标的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	HbA (%)	HbA2 (%)	HbF (%)
健康对照组	50	97.81 \pm 1.76	2.76 \pm 0.55	0.85 \pm 0.24
α -地中海贫血组	87	95.85 \pm 2.94 ^a	1.65 \pm 0.61 ^a	1.42 \pm 0.40 ^a
β -地中海贫血组	68	94.35 \pm 2.45 ^{ab}	4.03 \pm 1.09 ^{ab}	2.69 \pm 1.38 ^{ab}

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与 α -地中海贫血组比较,^b $P < 0.05$;

2.3 不同检测方法对地中海贫血检出率比较 健康对照组儿童经 Hb 电泳检查均未发现异常。Hb 电泳联合地中海贫血基因检测对 α -地中海贫血和 β -地中海贫血的检出率以及总检出率均明显高于单一 Hb 电泳检测(均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同检测方法对 α -地中海贫血组与 β -地中海贫血组患儿的检出率比较

组别	例数(例)	检出率[% (例)]		χ^2 值	P 值
		单一 Hb 电泳检测	Hb 电泳联合基因检测		
α -地中海贫血组	87	25.29 (22)	98.95 (86)	99.986	< 0.05
β -地中海贫血组	68	22.06 (15)	92.65 (63)	69.263	< 0.05
合计	155	23.87 (37)	96.13 (149)	168.602	< 0.05

3 讨论

地中海贫血是一组单基因遗传性疾病,根据珠蛋白基因缺失情况可分为 α -地中海贫血、 β -地中海贫血、 γ -地中海贫血、 δ -地中海贫血等类型,以前两种最常见^[5]。该病发病率高,危害严重,且尚无特效治疗手段,中重型地中海贫血患者仅能通过输血、祛铁、药物等维持生命,但预后不佳,易出现不良反应和并发症等,增加患儿的痛苦及家庭负担^[6]。由于地中海贫血具有遗传性,因此做好早期筛查和诊断对减少缺陷患儿的出生有重要意义。

目前,我国临床诊断地中海贫血主要依据临床表现、实验室检查和基因诊断^[7]。但地中海贫血的临床表现多样,轻者可无明显症状,多体检时发现;重者在出生数日内即可出现贫血症状,表现为黄疸、肝脾肿大、头大、眼距增宽等,并伴发育不良、残疾,甚至死亡^[8-9]。因此,仅通过单一方法进行地中海贫血诊断存在明显局限性。目前,Hb 电泳以快速、简便、敏感度和特异度高等优点成为地中海贫血诊断的常用手段^[10]。电泳测试能够准确定量检测 HbA、HbA2 和 HbF,从而将患者初步分类为 α -地中海贫血和 β -地中海贫血,还能检测其他 Hb 指标的异常,有助于临床确诊。但该方法的准确性易受多种因素影响(如标本处理、检测时间、操作水平等),误诊、漏诊率较高。基因检测能更精准地诊断地中海贫血,是诊断该病唯一的“金标准”^[11],随着 PCR 技术的逐渐成熟,基因检测可较为准确地诊断相关基因的突变和缺失,无论在地中海贫血确诊还是产前诊断方面,基因检测均具有极高的应用价值。

本研究将上述两种检测方法联合用于地中海贫血的早期诊断,结果表明,地中海贫血组患儿 HbA、

HbA2 和 HbF 与健康对照组比较差异均有统计学意义;其中 HbA 在健康对照组中最高, α -地中海贫血患儿次之, β -地中海贫血患儿最低;而 HbA2 在 β -地中海贫血患儿中最高,健康对照组次之, α -地中海贫血患儿最低;HbF 则在 β -地中海贫血患儿中最高, α -地中海贫血患儿次之,健康对照组最低。提示 Hb 电泳检测能够对地中海贫血进行筛查,且在分型方面具有一定的应用价值。本研究还显示,Hb 电泳联合地中海贫血基因检测对 α -地中海贫血和 β -地中海贫血的检出率以及总检出率分别为 98.95%、92.65% 和 96.13%,均明显高于单一 Hb 电泳检测(分别为 25.29%、22.06% 和 23.87%)。由此可见,Hb 电泳联合地中海贫血基因检测对地中海贫血的检出效果显著,可作为早期诊断的有效指标。

综上所述,Hb 电泳与地中海贫血基因检测均是地中海贫血的常用诊断方法,前者操作方便、快捷,但漏诊率较高,二者联合检测准确率较高。但基因检测相对复杂、成本高,在大样本筛查中推广难度大。因此,在临床工作中应结合医院实际情况和患者需求等选择合适的检测手段,以节约医疗资源。

参考文献

- 1 林业辉,潘志伟,周杏,等. 广东佛山地区儿童地中海贫血基因型分析[J]. 贵州医药,2015,39(10):931-932. DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2015.10.035
- 2 Miskin H, Yaniv I, Berant M, et al. Reversal of cardiac complications in thalassemia major by long-term intermittent daily intensive iron chelation [J]. Eur J Haematol, 2003, 70(6): 398-403.
- 3 陈秋如,郑虹,王威,等. 输血和去铁治疗依从性对重型 β -地中海贫血患者心脏功能的影响分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(9): 1302-1304. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.09.035.
- 4 Moirangthem A, Phadke SR. Socio-demographic profile and economic burden of treatment of transfusion dependent thalassemia [J]. Indian J Pediatr, 2018, 85(2): 102-107. DOI: 10.1007/s12098-017-2478-y.
- 5 阙婷,李东明,李旺,等. 香港型 α -地中海贫血杂合子地中海贫血基因分析和分子机制[J]. 中国优生与遗传杂志,2014,22(12): 19-20. DOI: 10.13404/j.cnki.cjbh.2014.12.007.
- 6 付月. 四川泸州地区 228 例 0-18 岁地中海贫血患儿基因型分析[D]. 泸州:西南医科大学,2018.
- 7 梁洪煊. 血常规红细胞参数检验在地中海贫血和缺铁性贫血鉴别诊断中的应用价值[J]. 实用检验医师杂志, 2015, 7(4): 241-242, 215. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.04.011.
- 8 胡志恒,石玉玲,李林海,等. 地中海贫血筛查及基因检查的结果分析[J]. 华南国防医学杂志, 2010, 24(1): 63-64.
- 9 张艳芳,谢丰华,万志丹,等. 血红蛋白电泳联合地中海贫血基因检测对地中海贫血患者的诊断价值[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(5): 33-35. DOI: 10.13404/j.cnki.cjbh.2017.05.013.
- 10 肖贞. 血红蛋白电泳在婴儿地中海贫血筛查中的应用价值和临床研究[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(6): 964-967.
- 11 Breveglieri G, Travan A, D'Aversa E, et al. Postnatal and non-invasive prenatal detection of β -thalassemia mutations based on Taqman genotyping assays [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172756. DOI: 10.1371/journal.pone.0172756.

(收稿日期: 2019-05-27)

(本文编辑: 张耘菲)