

• 论 著 •

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性分析对新生儿珠蛋白生成障碍性贫血的诊断价值

薛雄燕, 李炜焯

(广东省佛山市第一人民医院检验科 528000)

摘要:目的 探讨葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)活性对新生儿珠蛋白生成障碍性贫血(THal)的诊断价值。方法 将 26 例新生儿 THal 患者分为 α -THal 组和 β -THal 组,以健康新生儿作为对照组,分别检测红细胞平均体积(MCV)、红细胞分布宽度(RDW)、红细胞脆性(EF)及 G6PD 活性。结果 与对照组比较, α -THal 组和 β -THal 组 MCV 与 EF 降低,RDW 和 G6PD 活性增高($P<0.05$); α -THal 组与 β -THal 组各指标比较差异无统计学意义($P>0.05$)。MCV、EF 和 G6PD 活性诊断 THal 的准确率分别为 92.9%、89.7%和 81.7%;G6PD 活性诊断 THal 准确率与 MCV 比较差异有统计学意义($P<0.05$),与 EF 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 G6PD 活性可作为新生儿 THal 的辅助诊断指标,检测简单快捷、费用低,易于临床应用。

关键词: 婴儿, 新生; 地中海贫血; 研究

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.12.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)12-1285-02

The analysis of neonate THalassemia and the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase

Xue Xiongyan, Li Weixuan

(Department of Clinical Laboratory, The First People's Hospital of Foshan, Guangdong 528000, China)

Abstract: Objective To explore the clinical value of the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) in the diagnosis of the neonate THalassemia (THal). **Methods** 126 cases of neonates with THal were divided into α -THal and β -THal group, and healthy neonates were enrolled as control group. All enrolled subjects were detected for mean corpuscular volume (MCV), red blood cell distribution width (RDW), erythrocyte fragility (EF) and the activity of G6PD. **Results** Compared with control group, the levels of MCV and EF in α -THal and β -THal groups both decreased obviously, RDW and the activity of G6PD increased observably ($P<0.05$), but no statistical differences of these indexes were found between α -THal and β -THal group ($P>0.05$). The diagnostic accuracy rates of MCV and EF were 92.9% and 89.7% respectively, and that of G6PD was 81.7%, which has statistically difference with that of MCV ($P<0.05$). **Conclusion** The activity of G6PD could be used as a subsidiary indicator in the diagnosis of neonate THal. The measurement of G6PD is quick, cheap and easy for clinical utilization.

Key words: infants, newborn; Thalassaemia; research

珠蛋白生成障碍性贫血(thalassaemia, THal)是中国常见的一种遗传性疾病,尤以南方地区高发,可以分为 α 和 β 两类(即 α -THal 和 β -THal);目前尚无有效治疗方法,严重的 THal 患儿需长期靠输血维持生命。因此,尽早发现 THal 携带者并对其生长、发育进行长期监测,对提高其生命质量有重要意义。基因诊断是诊断 THal 的金标准,但因耗时长、费用高等原因临床应用受限。THal 可导致葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)活性增高, G6PD 活性检测可用于 THal 的辅助诊断。本研究对新生儿 THal 患者 G6PD 活性检测结果进行分析,旨在探讨 G6PD 在 THal 诊断中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 12 月至 2010 年 12 月于本院出生的活产新生儿 126 例,均经基因诊断确诊为 THal 患者,男婴 71 例,女婴 55 例,体质量 2 000~4 500 g,平均(3 500 \pm 500)g;足月儿 103 例,胎龄 37~42 周,平均 39 周,早产儿 23 例,胎龄 29~36 周,平均 33 周;剖宫产 46 例,顺产 80 例; α -THal 58 例, β -THal 68 例。同期于本院出生的体检健康新生儿 50 例(对照组),常规 THal 筛查未见异常,胎龄 38~42 周,平均 40 周。两组对象日龄、性别、产式、体质量等差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 THal 基因检测 采用单管多重聚合酶链反应(GAP-polymerase chain reaction, GAP-PCR)检测 α -THal 基因, PCR 结合反向斑点杂交(PCR-reverse dot blot, PCR-RDB)检测 β -

THal 基因。严格按说明书设置测定参数和操作,仪器经校准与质控在控后进行标本测定。试剂盒购自广州米基医疗器械有限公司,PCR 仪购自杭州太和热磁电子有限公司。

1.2.2 G6PD 检测 采用硝基四氮唑蓝定量法(nitro blue tetrazolium, NBT)测定红细胞 G6PD 与 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, 6PGD)比值(G6PD/6PGD)。采用岛津 UV-2100 分光光度计,相关试剂购自美国 SIGMA 公司。严格按说明书设置测定参数和操作,仪器经校准与质控在控后进行标本测定;参考值范围:6.8~20.5 NBT 单位。

1.2.3 血液学指标检测 YSMEX-5000 血细胞计数仪检测红细胞平均体积(mean corpuscular volume, MCV)和红细胞体积分布宽度(red blood cells distribution width, RDW)。红细胞脆性(erythrocyte fragility, EF)采用细胞渗透性一管法定量检测,采用广州米基公司 EF 检测试剂盒。严格按说明书设置测定参数和操作,仪器经校准与质控在控后进行标本测定;参考值范围:MCV 82~94 fL, RDW 11~16 fL, EF>60%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS10.0 软件进行数据统计学分析。MCV、EF、RDW 及 G6PD 活性组间比较采用 t 检验,准确率比较采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血液学指标及 G6PD 活性比较 见表 1。

2.2 各种指标诊断结果比较 MCV、EF 和 G6PD 诊断 THal 的准确率分别为 92.9%(117/126)、89.7%(113/126)和 81.7%(103/

126),EF 诊断准确率与 MCV 比较差异有统计学意义($P<0.05$),与 EF 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 各组血液学指标、红细胞脆性及 G6PD 活性比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	MCV(fl)	RDW(fl)	EF(%)	G6PD 活性(NBT 单位)
对照组	50	85.3±3.7	13.2±0.7	83.1±5.2	2.4±0.4
α-THal 组	58	65.2±6.88*	15.2±2.1*	31.5±16.4*	3.7±1.1*
β-THal 组	68	64.1±5.4*#	16.4±2.5*#	28.3±15.9*#	4.5±1.3*#

*: $P<0.05$,与对照组比较;#: $P>0.05$,与 α-THal 组比较。

3 讨 论

THal 是因基因突变或缺失而导致珠蛋白链合成障碍的遗传性血红蛋白疾病,在全球范围内广为流行^[1-5]。广东省是该病的高发区,发病率约为 13%。多数新生儿 THal 患者出生时或初生后早期缺乏特异性表现,最常见的表现是新生儿溶血和病理性黄疸,发生贫血的概率较小^[6],故容易导致漏诊或误诊。

随着分子生物学检验技术的成熟与发展,THal 的基因诊断已逐渐应用于临床,是目前诊断 THal 的金标准,但由于方法复杂、耗时长、设备要求高、费用昂贵等原因,尚不能用于临床筛查或作为常规诊断手段。THal 传统诊断指标有 MCV、RDW 及 EF 等。随着血细胞分析仪的普及应用,MCV、RDW 等红细胞参数在 THal 诊断或筛查中的作用日益受到重视。MCV、RDW 结果在血细胞分析时可一次获取,符合初筛指标的原则。EF 检测操作简单且费用低,准确率较高。目前比较普遍应用 MCV 筛查 THal 基因携带者^[7]。但除了 THal 外,缺铁性贫血也可引起 MCV 降低,因而 MCV 诊断 THal 缺乏特异性。本研究结果显示,α-THal 组和 β-THal 组 MCV 与 EF 显著降低,RDW 显著升高,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

THal 患者 G6PD 活性均有不同程度的升高。G6PD 编码基因是典型的管家基因,可分布于多种细胞和组织,且在不同部位其活性表现各不相同;G6PD 的表达也受多种因素的影响,如感染、肿瘤,尤其是各种贫血(溶血性、缺铁性等)都可导致其表达增多。THal 患者体内慢性进行性溶血造成新生红细胞增多,从而导致 G6PD 活性代偿性增高。由于 G6PD 是红细胞葡萄糖磷酸戊糖旁路代谢中不可或缺的脱氢酶,可使 6-磷酸葡萄糖释放出氢离子,使烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate,NADP)还原成还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate,NADPH),而 NADPH 是红细胞内抗氧化的重要物质;THal 患者体内珠蛋白肽链合成失去平衡,过多的肽链沉积于在红细胞膜上造成过氧化损伤^[8];为抵抗该过氧化损伤,修复损伤的脂蛋白和膜蛋白,G6PD 代偿性增高^[9-10]。本研究显示,THal 患儿 G6PD 活性高于对照组($P<0.05$);G6PD 活性诊断 THal 的准确率为 81.7%,低于 MCV 的 92.9%($P<0.05$),而与 EF 的 89.7%比较差异无统

计学意义($P>0.05$),提示 G6PD 活性检测可作为 THal 的辅助诊断指标。

综上所述,G6PD 活性作为新的 THal 筛查或诊断指标,联合 MCV、RDW 及 EF 可对 THal 进行初步诊断。同时其具有检测简单、快捷、费用低等优点,易于在临床广泛应用。笔者认为,联合检测更有助于为优生优育和遗传咨询提供基础和有效预防重症 THal 患儿的出生。

参考文献

[1] 张宏秀,单可人,惠春林,等.应用 PCR-RDB 技术对 β 地中海贫血进行快速产前基因诊断[J].中华围产医学杂志,2002,5(4):248-250.

[2] Hartevelt CL,Higgs DR. Alpha-thalassaemia[J/OL]. Orphanet J Rare Dis, 2010 [2011-03-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20507641>.

[3] Galanello R,Origa R. Beta-thalassemia[J/OL]. Orphanet J Rare Dis, 2010 [2011-03-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20492708>.

[4] Sankaran VG,Nathan DG. Thalassemia;an overview of 50 years of clinical research[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2010,24(6):1005-1020.

[5] Mukherjee M,Nadkarni A,Gorakshakar A,et al. Clinical, hematology and molecular variability of sickle cell-β thalassemia in western India[J]. Indian J Hum Genet,2010,16(3):154-158.

[6] 董晓莉,高武红.新生儿地中海贫血 32 例临床分析[J].现代医药卫生,2004,20(18):1877-1878.

[7] 蔡捻,梁昕,潘丽珍,等.血液学指标在育龄人群地贫筛查中的诊断价值[J].中国优生与遗传杂志,2003,11(1):129-132.

[8] 何俊,赵美英.红细胞参数、红细胞脆性试验及 G6PD 活性检测在地中海贫血诊断中的应用[J].中国医药导刊,2010,12(6):1031-1032.

[9] ScottMD. H₂O₂ injury in beta thalassemic erythrocytes:protective role of catalase and the prooxidant effects of GSH[J]. Free Radic Biol Med,2006,40(7):1264-1272.

[10] 陈玉芹.两种血红蛋白病的分子生物学基础的比较[J].生物学通报,2003,38(10):21-23.

(收稿日期:2011-05-17)

(上接第 1284 页)

[8] Ju SQ,Ni J,Su JY,et al. Ischemia-modified albumin is increased in patients with unstable angina;a new potential diagnostic biomarker of this acute coronary syndrome[J]. LabMediscine, 2008,39(11):668-670.

[9] 史连义,吴宝水,张继领.缺血修饰白蛋白临床应用研究进展[J].医学综述,2009,15(21):3239-3241.

[10] Shen XL,Lin CJ,Han LL,et al. Assessment of ischemia-modified albumin levels for emergency room diagnosis of acute coronary

syndrome[J]. Int J Cardiol,2011,149(3):296-298.

[11] 安亚平,刘志琴,黄山.急性冠脉综合征患者血清缺血修饰白蛋白的变化及其临床意义[J].临床内科杂志,2009,26(9):626-628.

[12] 周志芳.高胆固醇血症患者缺血修饰白蛋白、血脂与炎症标志物水平关系的研究[J].中国现代医学杂志,2010,20(10):1502-1506,1511.

(收稿日期:2011-03-16)