

α -珠蛋白生成障碍性贫血干预效果分析

何 升,李东明,赖允丽,张 强,阙 婷,唐燕青(广西壮族自治区妇幼保健院遗传代谢中心实验室 530003)

【摘要】 目的 探讨 α -珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断在降低出生缺陷中的效果。**方法** 选择 2003 年 1 月至 2012 年 7 月进行 α -珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断的妊娠 1 037 例,采用聚合酶链反应结合琼脂糖凝胶电泳和反向点杂交技术对脐带血和原位培养后的羊水或绒毛组织检测 α 珠蛋白基因,同时对合并 β -珠蛋白生成障碍贫血者进行 β -珠蛋白基因检测。**结果** 1 037 例妊娠中 α -珠蛋白生成障碍性贫血检出率为 79.27%,其中血红蛋白 H (Hb Bart's) 胎儿水肿综合征 292 例, HbH 病 45 例;同时检出中间型、重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血 5 例, β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子 28 例,包括 α 复合 β -珠蛋白生成障碍性贫血 26 例,终止妊娠 339 例。**结论** α -珠蛋白生成障碍性贫血产前干预是防止该类患儿出生的有效措施,同时应加强复合型珠蛋白生成障碍性贫血的干预。

【关键词】 α -珠蛋白生成障碍性贫血; 出生缺陷; 产前诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.16.021 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)16-2106-02

Analysis of the intervention effect of α -thalassemia HE Sheng, LI Dong-ming, LAI Yong-li, ZHANG Qiang, QUE Ting, TAN Yan-qing (Genetic and Metabolic Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530003, China)

【Abstract】 Objective To investigate the value of reducing birth defects by using prenatal diagnosis of α -thalassemia (thal). **Methods** From 2003 January to 2012 July, 1 037 cases of pregnancy prenatal diagnosis of α -thal were collected. Cord blood, amniotic fluid cells and villus in situ cultivation were used to detect the α globin genotypes, polymerase chain reaction followed by restriction enzyme analysis or by reverse dot blot hybridization. **Results** Hb Bart's hydrops fetalis syndrome 292, Hb H disease 45, severe or β -thal 5 and heterozygous β -thal 28 were detected among 1 037 specimens, and there were 26 fetuses compounded with heterozygous β -thal. **Conclusion** To reduce the persons born, α -thal need to be controlled, especially prenatally. Meanwhile, Should strengthen the anemia composite globin dyspoiesis.

【Key words】 α thalassemia; birth defects; prenatal diagnosis

广西地区育龄人群中 α -珠蛋白生成障碍性贫血的发生率高达 15.37% 居全国之首^[1], 长期以来胎儿水肿综合征始终是本地区主要出生缺陷。因此, 对夫妇均为东南亚缺失型 α -珠蛋白基因携带者或血红蛋白 H (HbH) 病患者的妊娠进行出生前干预是防止该类患者出生的有效措施, 这对降低该地区出生缺陷的发生率有着重大意义。2003 年 1 月至 2012 年 7 月, 笔者对本地区高危妊娠 1 037 例进行 α -珠蛋白产前诊断, 并根据诊断结果进行干预, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2003 年 1 月至 2012 年 7 月在广西壮族自治区妇幼保健院进行 α -珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断的妊娠 1 037 例, 孕 8~38 周, 其中 83 例有重型 α -珠蛋白生成障碍性贫血患儿孕育史, 一方或双方 HbH 病 137 例, 夫妇合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子 104 例, 双方合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子 21 例。

1.2 方法

1.2.1 标本来源 在 B 超引导下, 于孕 8~13 周时经腹负压吸取绒毛组织 221 例, 于孕 13~28 周时行羊膜腔穿刺术取羊水 607 例, 于孕 28~38 周时经腹行脐带穿刺取脐静脉血 209 例, 按常规方法进行绒毛组织、羊水细胞培养, 对脐血进行血细胞和血红蛋白分析, 均排除母体细胞污染^[2-3]。

1.2.2 基因检测 采用单管多重 PCR 体系扩增结合琼脂糖凝胶电泳和反向点杂交技术, 对培养细胞、脐带血进行 α -珠蛋白基因 3 种常见缺失型基因 (-sea、- α 3.7 及 - α 4.2) 及 3 个突变型基因 CS (CD142TAA→CAA)、WS (CD122CAA→CAG) 及 QS (125CTG→CCG) 检测, 对合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血者进行 β -珠蛋白基因 17 种突变: CD41-42 (-TCTT), IVS-2-654 (C→T), CD17 (A→T), -28 (A→G), CD26 (G→A), CD71-72 (+A), CD43 (G→T), -29 (A→G), 起始密码子 ATG→AGG, CD14-15 (+G), CD27-28 (+C), -32 (C→A), -30 (T→C), IVS-1-1 (G→T), IVS-1-5 (G→C), CD31 (-C), CAP + 40 + 43 (-AAAC) 检测, 试剂盒购于深圳益生堂生物公司, 按试剂盒说明书进行操作、质量控制及结果判断, 对部分可疑罕见珠蛋白生成障碍性贫血者送深圳益生堂生物公司进行基因序列分析。

2 结 果

2.1 α -珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断 1 037 例妊娠中, 检出 7 种 α -珠蛋白等位基因、12 个基因型 822 例, 检出率为 79.27% (822/1037), 其中 Hb Bart's 水肿胎 292 例, HbH 病 45 例, 标准型 α -珠蛋白生成障碍性贫血 449 例, 静止型 α -珠蛋白生成障碍性贫血 36 例, 见表 1。

2.2 β -珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断 双方合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子的 21 例妊娠中检出 β -珠蛋白生成障碍

性贫血纯合子 3 例,包括 2 例复合 Hb Bart's 水肿胎;双重杂合子 5 例,包括复合 Hb Bart's 水肿胎和 HbH 病各 1 例;杂合子 7 例,共检出合并 α -珠蛋白生成障碍性贫血 14 例。另在知情同意的情况下,对一方合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子的妊娠 62 例进行 β -珠蛋白生成障碍性贫血检测,共检出 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子 18 例,包括合并 α -珠蛋白生成障碍性贫血 12 例。

表 1 各类型标本 α -珠蛋白生成障碍性贫血检出情况及基因型(n)

基因型	绒毛(n=221)	羊水(n=607)	脐血(n=209)	合计
--sea/--sea	55	164	73	292
- α 4.2/- α 3.7	0	1	0	1
--sea /- α 4.2	0	8	0	8
--sea /- α 3.7	2	15	5	22
--sea /- α CS	1	7	1	9
--sea /- α WS	0	4	2	6
- α 4.2/ $\alpha\alpha$	3	4	1	8
- α 3.7/ $\alpha\alpha$	1	11	3	15
- α WS/ $\alpha\alpha$	0	5	1	6
- α CS/ $\alpha\alpha$	2	3	1	6
-thai / $\alpha\alpha$	1	0	0	1
--sea / $\alpha\alpha$	111	257	80	448
合计	176	479	167	822

2.3 出生干预 341 例中间型、重型珠蛋白生成障碍性贫血胎儿的妊娠中共终止妊娠 339 例,其中 292 例 Hb Bart's 水肿胎,包括合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血纯合子 2 例,双重杂合子 1 例;42 例 HbH 病,包括 1 例合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血双重杂合子; β -珠蛋白生成障碍性贫血纯合子 1 例,双重杂合子 3 例;另 2 例 α -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子同时诊断为唐氏综合征。部分胎儿引产后或分娩后取脐带血或外周血行血红蛋白分析或基因诊断,符合率 100%,随访 628 例未见异常。

3 讨 论

珠蛋白基因缺陷的杂合子类型表现为小细胞低色素,并无临床症状;但多种基因复合,尤其是复合东南亚缺失杂合子时,将会导致临床综合症或症状。在成人、新生儿、儿童及妊娠期均能对各类型的珠蛋白生成障碍贫血进行诊断,在成人期主要是对疾病的治疗、预防和控制,新生儿及儿童则为下一次妊娠和临床选择治疗方案提供依据,而产前诊断是为防止重型珠蛋白生成障碍贫血儿出生重要措施^[4-6]。

本研究结果发现 Hb Bart's 胎儿水肿综合征 292 例,检出率为 28.13%,其中绒毛、羊水和脐带血检出率依次为 24.89%、27.02%和 34.93%,脐带血中检出率高于绒毛和羊水,这与本地区尤其是农村地区人群对珠蛋白生成障碍性贫血的认识不够有关^[7],部分患者在进行孕期检查时,因胎儿水肿而进一步到本院就诊发现,而重型 α -珠蛋白生成障碍性贫血导致的水肿多发生在孕中、晚期,尤其是在孕晚期;而孕早期进行产前诊断的多为重型珠蛋白生成障碍性贫血儿孕育史或城市高危人群。检出 HbH 病胎儿 45 例,与本研究 HbH 病患者所占比例 13.21%较高有关,也是本研究中珠蛋白生成障碍性贫血检出

率较高原因之一。所有 Hb Bart's 胎儿水肿综合征及 43 例 Hb H 病妊娠者终止妊娠,其余 2 例 HbH 病妊娠者曾孕育 Hb Bart's 胎儿水肿综合征地贫儿,选择继续妊娠。

其中 1 例夫妇因生育水肿胎儿就诊,均表现为 α -珠蛋白生成障碍性贫血血液学特点,经常见缺失型及突变型 α -珠蛋白生成障碍性贫血检测发现一方为东南亚缺失一方为 CS 点突变,进一步进行基因序列分析发现一方为泰国缺失型合并 Hb CS 点突变,此次胎儿诊断为泰国缺失型杂合子。这表明对血液学筛查异常,排除内分泌及其他原因导致的贫血后^[8],应进行基因序列分析,以发现罕见珠蛋白生成障碍性贫血或基因突变导致的重型珠蛋白生成障碍性贫血儿的出生。研究表明 α 合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者血液学表现为 β -珠蛋白生成障碍性贫血特点^[9],因此对已确诊 β -珠蛋白生成障碍性贫血的患者应进行 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,以检出 α 合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血。本研究中 1 037 对夫妇中有 104 例合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子,双方合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子 21 例。在 21 例妊娠中,共检出中间型和重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血 8 例,其中合并 Hb Bart's 胎儿水肿综合征和 HbH 病分别为 3 例和 1 例,共检出合并 α -珠蛋白生成障碍性贫血 14 例,这表明对一方确诊为 α -珠蛋白生成障碍性贫血,另一方确诊为 β -珠蛋白生成障碍性贫血的患者有必要进行 α -珠蛋白基因检测,以防止中间型、重型 α -珠蛋白生成障碍性贫血患儿的出生。另在一方合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合子的 62 例妊娠中检出 β -珠蛋白生成障碍性贫血 18 例,其中合并 α -珠蛋白生成障碍性贫血 12 例。

产前诊断作为出生前干预的最后一道防线有着重大意义。目前用于珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断的标本主要为绒毛、羊水和脐带血,而产前诊断相关事实表明取材过程中难以避免母体细胞的污染,而进行再次采样;当仅有极少量母体细胞污染时,尤其是肉眼或常规检查仍不可见时,易导致误诊^[3,10]。本研究对分离绒毛组织、羊水细胞进行原位培养,去除母体细胞污染的同时增加了细胞量,有效地提高产前诊断的准确性,同时培养的细胞还可进一步进行其他生化或分子生物学检测;分析脐带血血液学、血红蛋白组分,即使少量母体血细胞导致产前基因诊断误诊,通过临床综合分析相关检测结果,可有效的发现,并通过进一步的检测进行确诊。随访 628 例妊娠结局,并对部分引产后或分娩后胎儿取脐带血或外周血再次行血红蛋白分析或基因诊断,未发现中间型或重型地贫儿出生。

广西地区珠蛋白生成障碍性贫血发生率较高,政府部门应加强防治力度及深度,进一步建立完善的流行病学资料和高危人群跟踪体系,对高危夫妇进行产前诊断,采用培养后细胞进行珠蛋白基因诊断或对脐带血细胞进行血液学分析,可以避免或发现母体细胞污染导致的误诊,提高产前诊断重型珠蛋白生成障碍性贫血胎儿的检出率和准确性,是降低出生缺陷的有效措施。

参考文献

[1] 吕福通,谢丹尼,陈美佳,等.地中海贫血干预的跟踪随访工作探讨[J].中国计划生育学杂志,2009,17(5):308.
[2] 李东明,蒙达华.改良绒毛细胞原位培养染色体制备的临床应用[J].广西医学,2009,31(9):1314-1315.
[3] 卢秋维,李东明.697 例羊水细胞 α -地中(下转第 2109 页)

2.2 两组母婴并发症结果 对照组孕妇发生妊娠高血压综合征、羊水过多、剖宫产发生率分别为 31.3%(25/80)、37.5%(30/80)、40.0%(32/80);观察组孕妇为 8.8%(7/80)、26.3%(21/80)、18.8%(15/80),两组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组新生儿发生高胆红素血症、呼吸窘迫综合征、巨大儿的概率为 51.3%(41/80)、40.0%(32/80)、41.3%(33/80);观察组为 10.0%(8/80)、8.8%(7/80)、8.8%(7/80),两组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

妊娠期随着孕周的增加,孕妇体内各种激素不断升高,胰岛素受体相应减少,对胰岛素敏感性下降,引起胰岛素相对分泌不足,出现糖代谢紊乱。孕妇血糖控制不理想,引起酮症酸中毒的发生率显著升高,而孕妇的血糖持续经胎盘到达胎儿体内,刺激胎儿胰岛 β 细胞增生,继而发生高胰岛素血症,导致胎儿血糖水平升高。

妊娠期间胎盘分泌大量的雌、孕激素在患者外周血中存在胰岛素抵抗的作用,使孕妇血糖控制困难。分次皮下注射胰岛素易发生低血糖反应,血糖达标时间长,且因注射时疼痛,患者治疗依从性差。胰岛素泵模拟人体胰岛素的分泌模式,24 h 内持续向机体输注微量胰岛素,符合人体生理胰岛素分泌曲线^[2-4]。有效地抑制肝糖元分解,使空腹血糖、餐后血糖及夜间血糖得到良好控制^[5-6]。由于使用胰岛素泵治疗时将向体内输注全天胰岛素总量一半的基础量,减少每餐前胰岛素用量,降低了血中高胰岛素含量,减少餐前低血糖的发生。孕妇妊娠期常常需要每日多餐,使用胰岛素泵治疗的患者可以将三餐前追加的胰岛素分次小剂量追加,从而避免了多次皮下注射的痛苦。胰岛素泵治疗时胰岛素吸收率相对恒定,每日胰岛素供给具有良好的重复性,可有效避免低血糖、酮症酸中毒的发生,减少胰岛素用量^[7]。同时胰岛素泵治疗模式更具备个体化,避免了胰岛素在不同部位存在吸收差异的问题,可有效平稳地降糖。按照不同的速率在不同时段将胰岛素连续输入体内,增加清晨的基础率设定,可有效控制清晨的高血糖,能有效地解决黎明现象^[8-9]。餐前输注胰岛素可调整餐中摄入的碳水化合物量,

能更快更有效地控制餐后高血糖,使血糖在较少的时期内接近正常波动,本研究结果也证实,胰岛素泵比分次皮下注射胰岛素更有效地控制孕妇血糖。

综上所述,妊娠糖尿病患者使用胰岛素泵降糖达标时间快,血糖平稳,且安全性高,值得在临床推广使用。

参考文献

- [1] Robert E, Ratner C, Christophi B, et al. Prevention of diabetes in women with a history of gestational diabetes: effects of metformin and lifestyle interventions[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(12): 4774-4779.
- [2] 黄文锋. 胰岛素泵在 2 型糖尿病患者围手术期的应用[J]. 广东医学, 2010, 31(10): 1322-1323.
- [3] 吕忠勤, 王文能, 夏国珍. 胰岛素泵在糖尿病酮症患者中的应用与护理[J]. 河北医科大学学报, 2013, 54(1): 12-14.
- [4] 李鸿宇. 胰岛素泵治疗糖尿病的临床分析[J]. 吉林医学, 2013, 34(3): 407-408.
- [5] 汪凌霄, 任延巍, 孔园珍, 等. 胰岛素泵治疗妊娠糖尿病对妊娠结局的影响[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(11): 1798-1799.
- [6] 刘俊英. 胰岛素泵治疗妊娠糖尿病对妊娠结局的影响观察[J]. 中国医药指南, 2012, 10(32): 227-228.
- [7] 温和艳. 胰岛素泵治疗妊娠期糖尿病观察及对妊娠结局的影响[J]. 中外医疗, 2011, 30(33): 81.
- [8] 李娜, 张宏武, 蒋升. 妊娠期糖尿病患者围手术期胰岛素泵治疗疗效观察[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(12): 2845-2846.
- [9] 周德甫, 吴晓君. 胰岛素泵在糖尿病患者围手术期应用的疗效观察[J]. 实用糖尿病杂志, 2012, 8(6): 42-43.

(收稿日期: 2013-01-05 修回日期: 2013-04-26)

(上接第 2107 页)

- 海贫血的基因检测[J]. 山东医药, 2010, 50(32): 93-94.
- [4] 覃日吉, 范微, 李建新. 广西柳江县婚检人群珠蛋白生成障碍性贫血发病率调查[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(23): 2907-2908.
 - [5] 肖奇志, 周玉球, 张永良, 等. 单管多重 PCR 结合 RDB 技术在 α -地贫产前诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(3): 271-273.
 - [6] 姚莉琴, 徐咏梅, 张毅, 等. 血液学参数对儿童珠蛋白生成障碍性贫血筛查的价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(20): 2560-2562, 2564.
 - [7] 朱茂灵, 周艳洁, 梁立阳. 广西南宁市地中海贫血干预工作实施体会[J]. 中国计划生育学杂志, 2011, 19(4): 242-243.
 - [8] Giambona A, Passarello C, Renda D, et al. The signifi-

cance of the hemoglobin A(2) value in screening for hemoglobinopathies[J]. Clin Biochem, 2009, 42(18): 1786-1796.

- [9] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China[J]. Clin Genet, 2010, 78(2): 139-148.
- [10] Yokoyama M, Itano Y, Katayama H, et al. The effects of continuous epidural anesthesia and analgesia on stress response and immune function in patients undergoing radical esophagectomy[J]. Anesth Analg, 2005, 101(5): 1521-1527.

(收稿日期: 2012-12-26 修回日期: 2013-04-26)