

广元地区新生儿黄疸葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因突变分析

张博林(四川省广元市中心医院检验科 628000)

【摘要】 目的 探讨广元地区新生儿黄疸的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)活性及 G6PD 常见基因突变,为临床诊断及治疗提供一定的依据。**方法** 选取广元市中心医院 2013 年 1 月至 2014 年 6 月儿科收治的新生儿黄疸患儿 126 例,进行 G6PD 荧光斑点定性试验初筛及 G6PD 活性测定确诊,然后对确诊为 G6PD 缺乏的患儿进行常见基因分型,检测其突变基因。**结果** 126 例新生儿黄疸患儿中, G6PD 常见基因突变 31 例,发病率为 24.6%,突变以 G1388A(G-A)为主,共 23 例,占基因突变比例为 74.2%(23/31),而 G1376T(G-T)和 A95G(A-G)突变各占 12.9%。**结论** 广元地区新生儿患 G6PD 缺乏症者多数为 G1388A(G-A)突变,亦属于 G6PD 缺乏症高发地区。

【关键词】 新生儿黄疸; 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶; 基因突变

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.22.058 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)22-3432-02

新生儿高胆红素血症是儿科常见病,是由于新生儿期体内胆红素积累过多而引起的皮肤黏膜或组织器官的黄染,近年来发病率渐增,可发生于 50% 的足月儿和 80% 的早产儿,其形成原因较为复杂,若不能及时发现和治疗可对神经系统造成永久性损害,导致新生儿智力明显降低,严重者可致死亡^[1-2]。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症是导致新生儿黄疸的一个重要病因,G6PD 缺乏是一种 X 性染色体连锁不完全显性遗传的红细胞酶的缺陷病,本病在全球广泛分布,不同地区民族有显著差异。本文探讨广元地区新生儿黄疸患儿的 G6PD 活性及 G6PD 常见基因突变,为临床诊断及治疗提供一定的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取广元市中心医院 2013 年 1 月至 2014 年 6 月儿科收治的新生儿黄疸 126 例,其中男 72 例、女 54 例,平均年龄 1~28 d。新生儿病理性黄疸判断标准:血液 24 h 胆红素水平大于 102.6 μmol/L,48 h 胆红素水平大于 154.0 μmol/L,3 d 以上胆红素水平大于 220.6 μmol/L,排除其他因素(母婴血型不合、红细胞增多、先天畸形等)。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有病例均采集乙二胺四乙酸三钾(EDTA-K₃)抗凝静脉血 2~3 mL。分离血浆于一 20 ℃ 保存。

1.2.2 筛查 (1)G6PD 荧光斑点定性试验:采用广州米基公司生产的荧光斑点法试剂盒进行筛查,按照说明书标准操作。结果判断标准: <10 min 内出现强荧光为活性正常; 10~30 min 出现荧光为中度缺乏; >30 min 不出现荧光为重度缺乏或者完全缺乏。(2)G6PD 酶活性测定:采用广东中山天洋公司生产的 G6PD/6PGD 定量比值法检测试剂盒检测 G6PD 活性,按照标准操作。G6PD/6PGD 结果判定参考范围: G6PD/6PGD ≥ 1.1 为 G6PD 正常; >0.6~<1.1 为中度缺乏; ≤ 0.6 为重度缺乏。

1.2.3 基因分型 (1)基因组 DNA 制备。取经荧光斑点定性试验初筛及酶活性测定确诊为 G6PD 缺乏的全血标本,按照常规方法处理,蛋白酶 K 进行 56 ℃ 消化,酚-异戊醇-氯仿抽提 DNA,乙醇沉淀,TE 溶解。(2)G6PD 常见基因检测。本试验仅检测常见的 G6PD 基因 G1388A(G-A)、G1376T(G-T)和 A95G(A-G)突变。检测 1388 突变上游引物: 5'-ACA CTC TCT CCC TCA CA-3'; 下游引物: 5'-GTG CAG CAG TGG GGT GAA CAT-3'。检测 1376 突变上游引物: 5'-ACA CTC

TCT CCC TCA CA-3'; 下游引物: 5'-TGA AAA TAC GCC AGG CCT CG-3'。检测 95 突变上游引物: 5'-TGC TCT CCT GTT CTT CTG CC-3'; 下游引物: 5'-CGA TGC ACC CAT GAT ATG AGC ATG-3'。PCR 扩增体系为 25 μL,含模板 DNA 1 μL,缓冲液(Tris-HCl 10 mmol/L, pH9.0 KCl 0.5 mmol/L, MgCl₂ 15 mmol/L),dNTP 各 200 μmol/L,两对引物各 200 nmol/L, Taq 酶 2 U,加一滴石蜡油 95 ℃ 变性 5 min 后进入循环: 95 ℃ 变性 30 s, 60 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 共循环 30 次,最后于 73 ℃ 保温延伸 5 min。取 8 μL PCR 产物在 2.5% 琼脂糖凝胶上电泳,用溴酚蓝染液染色鉴定,在紫外成像仪下显色照相。

2 结果

2.1 G6PD 筛查结果 126 例新生儿黄疸患儿中, G6PD 荧光斑点定性试验 G6PD 活性中度缺乏 26 例,其中男 16 例,女 10 例; G6PD 活性重度缺乏 8 例,其中男 6 例,女 2 例; G6PD 酶活性测定中度缺乏 22 例,其中男 13 例,女 9 例; G6PD 酶活性测定重度缺乏 9 例,其中男 7 例,女 2 例。见表 1。

表 1 126 例新生儿黄疸患儿 G6PD 筛查结果(n)

项目	G6PD 荧光斑点定性试验			G6PD 酶活性测定		
	活性正常	中度缺乏	重度缺乏	正常	中度缺乏	重度缺乏
男	50	16	6	52	13	7
女	42	10	2	43	9	2
合计	92	26	8	95	22	9

2.2 G6PD 常见基因检测 G6PD 常见基因突变共 31 例,发病率为 24.6%。其中 G6PD 酶活性测定确诊为中度缺乏的患儿中 G1388A 突变 22 例(男 13 例,女 9 例); G6PD 酶活性测定确诊为重度缺乏的患儿中 G1388A 突变 7 例(男 5 例,女 2 例), G1376T 突变 1 例(为男性), A95G 突变 1 例(为男性)。突变以 G1388A(G-A)为主,共 23 例,占基因突变比例为 74.2%(23/31),而 G1376T(G-T)和 A95G(A-G)突变各占 12.9%。

3 讨论

新生儿黄疸成因较为复杂, G6PD 缺乏是原因之一,是一种红细胞酶的缺陷病,由红细胞内磷酸戊糖旁路的遗传性缺陷造成^[3]。属于 X 染色体显性遗传,男性半合子和女性纯合子

表现为 G6PD 严重缺乏,而女性杂合子部分表现为 G6PD 缺乏,部分表型正常,故男性发病率明显高于女性,我国处于 G6PD 缺乏高发区,发病率分布南方高北方低,各地发病率报道不一^[4-8]。由 G6PD 缺乏导致核黄疸的发生率比新生儿 ABO 溶血更高,且可在血清胆红素较低的水平时发生,是新生儿的急症之一^[9]。黄疸严重时可引起神经系统损害甚至引起死亡。

中国人群 G6PD 基因突变以 G1388A(G-A)、G1376T(G-T) 和 A95G(A-G) 突变最为常见。广元地区地处四川盆地北部,秦岭以南,与陕西及甘肃接壤,从地理分布上来说属于南方。气候条件也偏南方,从本次检测来看,广元地区 126 例新生儿黄疸患儿中发生 G6PD 基因突变 31 例,发病率为 24.6%,突变以 G1388A(G-A) 为主,共 23 例,占基因突变比为 74.2% (23/31),而 G1376T(G-T) 和 A95G(A-G) 突变各占 12.9%。本资料显示广元地区新生儿患 G6PD 缺乏症者多数为 G1388A(G-A) 突变,亦属于 G6PD 缺乏症高发地区,与重庆 G6PD 基因突变稍有不同^[10],可能是由于本资料样本量少,且本资料因试剂问题未涉及其他稀有突变类型,故实际 G6PD 缺陷发生率应高于本次的检测值。

荧光斑点法能 100% 检出 G6PD 活性正常或者重度缺乏者,但会遗漏相当大比例的部分缺乏女性病例,对杂合子检出率不足;G6PD 酶活性测定法应用 G6PD/6PDG 是临床确定 G6PD 性价比最优的方法;本资料显示荧光斑点法检测阳性率为 26.98%,而酶活性测定阳性率为 24.60%,荧光斑点法出现了 3 例假阳性,可能原因是血片室温和高温保存能使 G6PD 酶活性降低^[11]。而对 G6PD/6PDG 测定确诊为 G6PD 缺陷的病例进行基因检测,能进一步确诊女性缺乏者属于半合子还是纯合子,为临床诊治提供更强有力的依据。

参考文献

[1] 江剑辉,李蓓,曹伟锋,等. 广州市 19 年新生儿代谢病筛

查结果分析[J]. 广东医学,2008,29(3):351-353.

[2] 赵应斌,刘刚毅,李丽敏,等. 612 例新生儿黄疸葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的测定[J]. 中原医刊,2006,35(21):86-87.
 [3] 徐小兰,王枫,杨蓉,等. 南昌地区 10 972 例新生儿 G6PD 缺乏者筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2005,13(8):85.
 [4] Pan M, Lin M, Yang LY, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) gene mutations detection by improve high-resolution DNA melting assay[J]. Mol Biol Rep, 2013,40(4):3073-3082.
 [5] 许洪平,王燕敏,田国力. 上海市新生儿葡萄糖 6-磷酸脱氢酶缺乏症筛查[J]. 上海预防医学,2008,20(6):285-286.
 [6] 余永雄,陈唯,陈洁,等. 梧州市新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症筛查结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(16):1970-1971.
 [7] 徐芸,罗建明. 我国 G6PD 缺乏症基因突变的研究现状[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2009,14(4):143-145.
 [8] 黄涛,潘虹,蔡坤,等. 海南地区高胆红素血症新生儿 G6PD 缺乏的发生率及其特点[J]. 海南医学,2010,21(18):1-2.
 [9] 胡静云,陈善昌. 新生儿脐带血 G6PD 检测的临床意义[J]. 当代医学,2009,15(27):36-37.
 [10] 王付丽,徐西华,邓兵,等. 重庆市 22 例新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 3 种基因突变型分析[J]. 重庆医学,2003,32(4):437-438.
 [11] 卜晓萍,杨绪庆. 新生儿 G6PD 缺乏症筛查中标本储存条件对结果的影响[J]. 中国优生与遗传杂志,2004,12(6):97-100.

(收稿日期:2015-03-25 修回日期:2015-08-11)

• 临床探讨 •

神经刺激仪应用于高龄患者髋部手术的麻醉体会

徐 锋,杨玉珍(重庆市东南医院麻醉科 401336)

【摘要】 目的 观察在神经刺激仪定位下行腰丛-坐骨神经联合阻滞在高龄患者髋部手术的麻醉效果。**方法** 选择 70 岁以上的择期行单侧髋部手术的高龄患者 60 例,ASA II~III 级,分为神经阻滞组(试验组)和硬膜外麻醉组(对照组),每组 30 例,试验组在神经刺激仪定位下行腰丛-坐骨神经联合阻滞麻醉,对照组行硬膜外麻醉并记录生命体征的变化和不良反应的发生率。**结果** 两组患者均阻滞完善,麻醉效果满意。麻醉前两组血压差异无统计学意义($P>0.05$),但麻醉后对照组血压明显低于试验组及麻醉前($P<0.05$)。**结论** 应用神经刺激仪定位下行腰丛-坐骨神经阻滞对于老年患者是安全、有效、比较理想的麻醉方法。

【关键词】 腰丛-坐骨神经阻滞; 神经刺激仪; 高龄患者; 髋部手术

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.22.059 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)22-3433-02

随着社会经济的发展,我国已逐渐进入老年社会,手术患者中老年患者也越来越多,特别是下肢外伤是老年人最常见的损伤,且多合并有多系统器官的退行性改变。传统的硬膜外麻醉对于老年患者来说存在穿刺难度增加、并发症较多等问题。而在神经刺激仪定位下行外周神经阻滞对人体生理干扰小,特别适合合并多种疾病的老年患者。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 1~12 月在本院择期行髋部手术的 70 岁以上的患者 60 例,ASA II~III 级,其中男 38 例、女 22 例,年龄 70~80 岁,合并有高血压 26 例,慢性支气管炎及肺气肿 8 例,糖尿病 7 例,冠心病 3 例。所有患者分为试验组和对照组,每组 30 例。试验组为神经刺激仪定位下行腰丛-坐