

· 临床论著 ·

成人葡萄糖 6-磷酸脱氢酶活性值增高 在地中海贫血诊断中的意义

陈亮 钟志成 周伟宁 梁驹卿 秦丹卿 骆明勇 何天文

【摘要】 目的 分析成人地中海贫血常见基因型患者葡萄糖 6-磷酸脱氢酶(G6PD)酶活性改变情况,探讨 G6PD 酶活性改变在地中海贫血诊断的意义。方法 用速率法检测 G6PD 酶活性,用 GAP-PCR 法检测 α 地中海贫血基因,反向点杂交(RDB)法检测 β 地中海贫血基因。结果 不同基因型地中海贫血其 G6PD 酶活性增高不同。与正常人群平均值相比,其中 α 地中海贫血中静止型增高 1.1 倍,轻型增高 1.3 倍,中间型(血红蛋白 H 病)增高 1.8 倍。 β 地中海贫血中 IVS-II-654/ β A、 β CD17/ β A、 β CD71-72/ β A、 β CD41-42/ β A 四种突变类型其 G6PD 酶升高增高 1.5 倍, β -28/ β A、 β 26/ β A(血红蛋白 E 病)基因突变类型其 G6PD 酶活性增高 1.2 倍。结论 成人地中海贫血患者的 G6PD 酶活性明显增高,G6PD 酶活性增高可作为地中海贫血辅助诊断的参考指标。

【关键词】 地中海贫血; G6PD 酶活性; GAP-PCR; 反向点杂交

The diagnosis value of thalassemia on an increased G6PD enzyme activity in adult Chen Liang, Zhong Zhicheng, Zhou Weining, Liang Juqing, Qin Danqing, Luo Mingyong, He Tianwen. The Prenatal Diagnosis Center of Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, China
Corresponding author: He Tianwen, Email: love830415@126.com

【Abstract】 Objective Through analyzing variety of adult G6PD enzyme activity among common thalassemia gene result, to find a relationship between thalassemia and G6PD enzyme activity. **Methods** G6PD enzyme activity result was tested with kinetic rate method, and the α thalassemia and β thalassemia samples were confirmed by GAP-PCR or reverse dot blotting method. **Results** The enzyme activity range of G6PD varied among different thalassemia genes. Compare to the normal group test result, the stationary, minor and intermediate α thalassemia group had a 1.1, 1.3 and 1.8 fold increase respectively, and the gene type of β IVS-II-654/ β A, β CD17/ β A, β CD71-72/ β A, β CD41-42/ β A among β thalassemia had a 1.5 fold increase, the gene type of β -28/ β A, β 26/ β A among β thalassemia had an increase of 1.2 fold. **Conclusion** G6PD enzyme activity test result among adult has a significant increase than normal group. A variety of increase G6PD enzyme activity in adult could be a reference value to α or β thalassemia.

【Key words】 Thalassemia; G6PD enzyme activity; GAP-PCR; Reverse dot blotting

地中海贫血是一种常见的因珠蛋白合成障碍所导致的遗传性溶血性疾病。临床上根据合成肽链的不同,大致把地中海贫血分为 α 地中海贫血和 β 地中海贫血两大类,在我国南方人群中比较常见^[1]。广东省是地中海贫血的高发区,据最新数据调查显示,广东省育龄夫妇中 α 地中海贫血基因携带率是 12.66%, β 地中海贫血基因携带率是 4.63%, α 合并 β 地中海贫血的患者在临床上也较常见,约占地中

海贫血的 3.75%。而各种单纯地中海贫血患者的葡萄糖 6-磷酸脱氢酶(G6PD)酶活性有不同程度的增高,根据 G6PD 酶活性增高的程度可辅助诊断地中海贫血^[2]。我们总结了 840 例经基因确诊的单纯地中海贫血患者的 G6PD 酶活性病例,现报道如下。

资料与方法

1. 研究对象: 840 例地中海贫血患者(排除合并 G6PD 缺陷)均来自本院门诊及住院患者(年龄 20~40 岁),其中 α 地中海贫血 549 例, β 地中海贫血 260 例, α 合并 β 地中海贫血 31 例。正常对照组 140 例(男、女各 70 例)为本院健康管理科体

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.03.007

作者单位: 511442 广州,广东省妇幼保健院产前诊断与遗传病诊疗中心

通讯作者: 何天文, Email: love830415@126.com

检健康者(无地中海贫血及其他血液病), 年龄 20~35 岁。

2. G6PD 酶活性测定: 采用 Senlo8008 全自动生化分析仪测定 G6PD 的活性, 试剂由广州科方生物技术有限公司提供(速率法)。样本取 ACD 抗凝全血 10 μl 压积红细胞加入到 500 μl 溶解液, 待红细胞完全溶解后, 25 min 内上机测定。

3. 地中海贫血基因检测: 采用多重跨越断裂 PCR 技术(GAP-PCR)诊断 3 种常见缺失型 α 地中海贫血: --sea/, -α^{3.7}/, -α^{4.2}/, 用反向斑点杂交技术(RDB)诊断 3 种突变型 α 地中海贫血: α^{QS}α/、α^{CS}α/、α^{WS}α/; 采用 RDB 法检测 17 种常见突变型 β 地中海贫血, 基因检测试剂由(深圳)亚能生物技术有限公司提供。

4. 诊断标准: G6PD 酶活性测定: 成人 1 300~3 600 U/L, >3 600 U/L 为升高。地中海贫血诊断: 经常规地中海贫血基因检测证实基因类型。

5. 统计学方法: 采用统计软件 SPSS 13.0 进行 t 检验分析。

结 果

1. 各种地中海贫血组与正常组的 G6PD 酶活性结果比较: 各地中海贫血组 G6PD 酶活性均比正常组(无地中海贫血及其他血液相关疾病)明显增高, 其结果有显著性差别 ($P < 0.01$), 结果见表 1。

表 1 各种地中海贫血组与正常组的 G6PD 酶活性结果比较 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | G6PD 酶活性 |
|---------------|-----|-----------------|
| α 地中海贫血组 | 549 | 3 124.72±454.96 |
| β 地中海贫血组 | 260 | 3 594.76±550.33 |
| α 合并 β 地中海贫血组 | 31 | 3 129.68±507.38 |
| 正常组 | 140 | 2 465.47±313.46 |

2. 六种常见的 β 地中海贫血基因突变类型与正常组的 G6PD 酶活性比较: 六种常见地中海贫血基因类型其 G6PD 酶活性平均值均明显比正常组增高, 结果有显著性差别 ($P < 0.01$)。其中 βIVS-II-654/βA、βCD17/βA、βCD71-72/βA、βCD41-42/βA 四种突变类型其 G6PD 增高达 1.5 倍, β-28/βA、β26/βA(血红蛋白 E 病)基因突变类型其 G6PD 增高达 1.2 倍, 结果见表 2。

3. 三种 α 地中海贫血临床分型与正常组的 G6PD 酶活性比较: 三种 α 地中海贫血临床分型其 G6PD 酶活性均比正常组的 G6PD 酶活性明显增高,

结果有显著差别 ($P < 0.01$)。其中静止型 α 地中海贫血增高 1.1 倍, 轻型 α 地中海贫血增高 1.3 倍, 中间型 α 地中海贫血(血红蛋白 H 病)增高 1.8 倍, 结果见表 3。

表 2 六种常见 β 地中海贫血基因突变类型与正常组的 G6PD 酶活性结果比较 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

| 基因突变类型 | 例数 | G6PD 酶活性 |
|------------------|-----|-----------------|
| βIVS-II-654/βA | 73 | 3 788.00±438.23 |
| βCD17/βA | 27 | 3 750.74±547.92 |
| βCD71-72/βA | 17 | 3 853.50±371.75 |
| β-28/βA | 40 | 3 051.63±299.63 |
| βCD41-42/βA | 89 | 3 630.20±581.41 |
| β26/βA(血红蛋白 E 病) | 14 | 3 140.75±247.33 |
| 正常对照组 | 140 | 2 465.47±313.46 |

表 3 三种 α 地中海贫血分型与正常组的 G6PD 酶活性结果比较 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

| 基因突变类型 | 例数 | G6PD 酶活性 |
|-----------------------|-----|-----------------|
| 静止型 α 地中海贫血 | 120 | 2 715.46±275.08 |
| 轻型 α 地中海贫血 | 413 | 3 213.89±351.57 |
| 中间型 α 地中海贫血(血红蛋白 H 病) | 16 | 4 395.62±649.41 |
| 正常对照组 | 140 | 2 465.47±313.46 |

讨 论

地中海贫血是一种因珠蛋白基因缺失或突变导致珠蛋白肽链合成障碍或不平衡的遗传性血红蛋白病。是最常见和发病率最高的单基因遗传性溶血性疾病。在世界范围内广为流行, 全球携带该突变基因的人约 1.8 亿^[3], 广东省是除广西以外的第二高发区, 最新数据显示广东育龄夫妇人群中该基因的携带率高达 16.8%。地中海贫血的常规筛查方法有很多, 如血常规中的平均红细胞体积(MCV)、平均血红蛋白(MCH)、红细胞分布宽度(RDW)、红细胞脆性、血红蛋白电泳、异丙醇试验等^[4]。但对于一些轻型地中海贫血, 单一、常规的筛查方法存在漏诊, 多指标联合筛查地中海贫血有助于降低其漏诊率。

G6PD 是一种存在于人体内红细胞内, 协助葡萄糖进行新陈代谢的酵素, 在这代谢过程中产生的 NADPH(还原型辅酶 II)的物质能保护红细胞免受氧化物质的威胁^[5]。G6PD 缺乏或活性降低势必影响 NADPH 的生成, 失去保护的红细胞易受氧化性损伤, 发生急性溶血反应^[6]。本研究提示, 地中

海贫血患者的G6PD酶活性明显比正常组增高, 差异有显著性, 见表1。单纯 α 地中海贫血患者G6PD酶活性、单纯 β 地中海贫血患者G6PD酶活性, α 合并 β 地中海贫血患者G6PD酶活性与正常对照组比较均有显著差异。这可能是因为G6PD酶是一种红细胞年龄依赖酶, 年轻的红细胞G6PD酶活性较高而衰老的红细胞其G6PD酶活性降低^[7], 所以正常新生儿的G6PD酶活性比成人的高。而地中海贫血患者体内存在慢性溶血, 刺激机体代偿更多的年轻新生红细胞释放入外周血, 从而导致G6PD酶活性增高^[8]。

本研究发现广东人群中六种常见的 β 地中海贫血基因突变类型与周剑英等^[9]的报道类似。其中 β IVS-II-654/ β A、 β CD17/ β A、 β CD71-72/ β A、 β CD41-42/ β A四种突变类型其G6PD酶活性增高高达1.5倍, β -28/ β A、 β 26/ β A(血红蛋白E病)基因突变类型其G6PD酶活性增高只有1.2倍。三种 α 地中海贫血临床分型中静止型 α 地中海贫血G6PD酶活性增高1.1倍, 轻型 α 地中海贫血G6PD酶活性增高1.3倍, 中间型 α 地中海贫血(血红蛋白H病)G6PD酶活性增高1.8倍。这是因为不同地中海贫血基因突变类型患者体内慢性溶血程度不同^[10], 所以其体内新生的红细胞比例也不一, 导致G6PD酶活性增高程度不同。综合地中海贫血临床病情轻重程度的不同与表2和3的结果可知, G6PD酶活性增高的程度与地中海贫血临床病情轻重程度成正相关。目前, 国内用于明确地中海贫血诊断的方法是基因诊断。但是基因诊断技术要求高、费用昂贵, 一般的基层单位难以开展, 而常用的地中海贫血筛查方法对于一些静止型或轻型的地中海贫血患者由于其贫血症状较轻, 可能会存在漏诊^[5]。多指标联合筛

查有助于提高地中海贫血的检出率。从本研究结果来看, G6PD酶活性检测也可作为地中海贫血筛查的一个经济、简单的检验项目, 在诊断G6PD缺陷症的同时还能有效地减少地中海贫血的漏诊现象。

本次研究中, 由于考虑到G6PD酶活性是细胞年龄依赖酶, 所以只对成年阶段中(20~40岁)的地中海贫血基因携带者作研究, 样本取样有一定局限性。鉴于广东省均为G6PD和地中海贫血的高发区(G6PD发病率5.8%, 地中海贫血基因携带率16.8%), 应用速率法定量检测G6PD酶活性对于筛查G6PD酶缺陷症及地中海贫血具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 王霞, 江帆, 陈跃琼, 等. 地中海贫血合并G6PD缺陷患者的血液学特点及G6PD活性的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(2): 24-26.
- [2] 陈冬, 陈和平, 梁玲, 等. G6PD活性检测在地中海贫血诊断中的意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007, 15(1): 27-28.
- [3] 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.
- [4] 莫超越. MCV、RDW、G6PD和红细胞脆性联合检测在地中海贫血筛查的临床意义分析[J]. 中国医疗前沿, 2013, 8(14): 114091-114092.
- [5] 周道平. G6PD升高与地中海贫血的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 13(3): 57-58.
- [6] 程正江, 田兴亚, 余果宇. G6PD缺乏患者红细胞膜蛋白质的改变[J]. 中华血液学杂志, 2001, 22(4): 211-212.
- [7] 张春荣, 黄翠波, 吴斯. 地中海贫血患者的G6PD活性检测[J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(3): 145.
- [8] 李颖莉. 地中海贫血与G6PD活性检测与红细胞参数的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(16): 2195-2290.
- [9] 周剑英, 谢杏梅, 李东至, 等. 广州地区产前检查人群地中海贫血流行病学分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(2): 68-69.
- [10] 黄霜, 朱文彪, 陈秋霞. G6PD活性与地中海贫血的关系[J]. 中华全科医学, 2012, 10(7): 1140-1141.

(收稿日期: 2013-12-31)

(本文编辑: 戚红丹)