

巴氏水肿胎的血红蛋白电泳特点及基因分析

韦金花, 万里凯, 李友琼, 蓝 雪

基金项目: 广西卫计委科研课题(编号:Z2013353)

作者单位: 532700 广西,隆安县妇幼保健院检验科(韦金花); 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院生殖与遗传中心(万里凯,李友琼); 530700 广西,都安县妇幼保健院检验科(蓝 雪)

作者简介: 韦金花(1980-),女,大学本科,医学学士,主管技师,研究方向:地中海贫血筛查与地贫基因诊断。E-mail:740559590@qq.com

通讯作者: 李友琼(1979-),男,医学硕士,副主任技师,研究方向:血红蛋白病发病机制及检测方法。E-mail:liyouqiong327@163.com

[摘要] **目的** 了解巴氏水肿胎的血红蛋白电泳特点。**方法** 回顾分析用毛细管电泳仪检出的巴氏水肿胎 39 例,并进行地贫基因分析。分别按照孕 24~28 周、孕 29~32 周、孕 33~38 周分组进行统计分析。**结果** HbBart's 和 HbPortland 含量在孕 24~28 周、孕 29~32 周、孕 33~38 周组中分别是 $(78.2 \pm 2.5)\%$ 、 $(14.3 \pm 2.5)\%$ 、 $(79.9 \pm 4.8)\%$ 和 $(12.7 \pm 4.0)\%$ 、 $(84.0 \pm 2.1)\%$ 和 $(9.3 \pm 2.5)\%$,三组比较,HbBart's 和 HbPortland 含量差异有统计学意义($P < 0.05$)。基因型除了 1 例为泰国型合并东南亚型缺失外,余均为东南亚型缺失纯合子。**结论** 巴氏水肿胎血红蛋白主要成分是 HbBart's 和 HbPortland,而毛细管电泳可作为快速诊断巴氏水肿胎的有效手段。

[关键词] 巴氏水肿胎; 毛细管电泳; 地中海贫血

[中图分类号] R 446 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2016)07-0578-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2016.07.06

Characteristics of hemoglobin electrophoresis in HbBart's hydrops syndrome WEI Jin-hua, WAN Li-kai, LI You-qiong, et al. Department of Clinical Laboratory, Maternity and Child Healthcare Hospital of Long'an County, Guangxi 532700, China

[Abstract] **Objective** To study the characteristics of hemoglobin electrophoresis in HbBart's hydrops syndrome. **Methods** HbBart's hydrops syndrome was checked out in 39 patients by capillary electrophoresis, and their thalassemia genes were analyzed. The patients were divided into three groups according to different gestational weeks: 24~28 pregnant weeks group, 29~32 pregnant weeks group and 33~38 pregnant weeks group. The contents of HbBart's and HbPortland were detected and compared among the three groups. **Results** The values of HbBart's and HbPortland were $(78.2 \pm 2.5)\%$, $(14.3 \pm 2.5)\%$, $(79.9 \pm 4.8)\%$ and $(12.7 \pm 4.0)\%$, $(84.0 \pm 2.1)\%$, $(9.3 \pm 2.5)\%$ in the 24~28 pregnant weeks group, the 29~32 pregnant weeks group, and the 33~38 pregnant weeks group, respectively. There were significant differences in the contents of HbBart's and HbPortland among the three groups($P < 0.05$). All cases were homozygous Southeast Asian(SEA) type deletion except that one was Thailand combined SEA type deletion. **Conclusion** HbBart's and HbPortland are the main components of HbBart's hydrops syndrome, and capillary electrophoresis is a diagnostic method for HbBart's hydrops syndrome.

[Key words] HbBart's hydrops syndrome; Capillary electrophoresis; Thalassemia

水肿胎儿通常指 B 超显示胎儿胸、腹水,心胸比例扩大,全身皮肤水肿,淋巴水囊肿,胎盘增厚、羊水异常等结构异常,是常见的胎儿发育异常之一^[1]。水肿胎分有两种类型:免疫性和非免疫性。其中巴氏水肿胎属于非免疫性,是重型 α 地中海贫血,多

于妊娠晚期或产后数小时内死亡。广西最常见的水肿胎是巴氏水肿胎,是因为广西是地中海贫血(简称地贫)发生率最高的地区^[2]。对于巴氏水肿胎的研究资料有限,国内外尚未见有其血红蛋白电泳特点的报道。本文回顾分析我院 2011-01~2015-02 使

用毛细管电泳法检出的 39 例巴氏水肿胎,总结巴氏水肿胎血红蛋白电泳的特点,并探讨毛细管电泳在巴氏水肿胎中的检测和鉴别价值,为临床提供准确的诊断信息。

1 材料与方法

1.1 标本采集 取自在广西壮族自治区人民医院 B 超检测提示可疑为水肿胎儿的 39 例孕妇脐带血,年龄 23 ~ 34 (26.9 ± 3.1) 岁,孕周 24 ~ 38 (29.8 ± 3.8) 周。标本由产科医生在 B 超介导下进行母腹脐静脉穿刺采集胎儿脐带血各 5 ml,注入 EDTA (用于地贫基因分析) 和枸橼酸盐 (用于血红蛋白电泳) 抗凝管混匀后,送实验室检测。

1.2 仪器和试剂 主要仪器有 Capillarys 2 型毛细管电泳仪及配套试剂 (法国 Sebia 公司); C-1000 型 PCR 扩增仪、GelDoc™ XR+ 型凝胶成像仪、PowerPac Basic 型水平电泳仪 (美国 BIO-RAD 公司); HL-2000 型分子杂交仪 (美国 UPV 公司); 全血基因组 DNA 抽提试剂盒、PCR 及反向斑点杂交试剂盒 (深圳益生堂生物公司和深圳亚能生物公司)。

1.3 毛细管电泳 将送检的样本进行 3 000 r/min 离心 5 min,弃上层血浆。按照毛细管电泳仪 SOP 文件进行操作,定位检测通过后,用 HbA2 质控样品保证仪器运行良好,样本检测均在 4 h 内完成。以电泳所得 Hb 所有条带的峰值为 100%,各个条带峰值所占比例表示含量。观察的指标有 HbH、HbBart's、HbEpsilon、HbGower1、HbPortland。

1.4 地贫基因分析 地贫基因分析是巴氏水肿胎的确诊方法。本试剂盒检测中国南方人群最常见突变包含 3 种 α 缺失型和 3 种 α 非缺失型突变 (点突变)、17 种 β 地贫点突变。将提取的全血基因组 DNA 按照 PCR 试剂盒说明书扩增体系和扩增条件进行上机扩增,α 缺失型地贫扩增参数为 95 ℃ 预变性 5 min; 95 ℃ 40 s, 66 ℃ 30 s, 72 ℃ 70 s, 共 33 个循环, 72 ℃ 延伸 7 min; α 非缺失地贫和 β 地贫点突变扩增参数为 95 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 30 s, 66 ℃ 30 s, 72 ℃ 150 s, 共 35 个循环; 72 ℃ 延伸 7 min。按照试剂说明书,将扩增产物进行斑点杂交,洗膜,显色。判断 α 缺失型地贫: 将扩增产物 2 μl 上样到 10 g/L 的琼脂糖凝胶中进行电泳,根据试剂说明书的判断标准,综合是否扩增出片段及片段长度进行判定 α 地贫缺失类型。判断 α 非缺失地贫和 β 地贫点突变: 若膜条对照点显色,突变点不显色为该位点阴性结

果; 若膜条对照点显色,突变点也显色为该位点突变杂合子; 若膜条对照点不显色,突变点显色则为该位点突变纯合子; 若膜条的对照点均不显色或有些位点的对照点不显色,则为实验失败,需要重做。

1.5 统计学方法 应用 SPSS17.0 统计软件进行分析。为了分组方便,将孕周 + 4 d 及以上归入下一个孕周,孕周 + 3 d 以下归为本孕周。按照孕周进行分组统计,分为孕 24 ~ 28 周 (17 例)、孕 29 ~ 32 周 (9 例) 和孕 33 ~ 38 周 (13 例) 共 3 组,组间各指标进行单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血红蛋白电泳结果 39 例均电泳出 HbH、HbBart's、HbEpsilon、HbGower1、HbPortland 条带,由于没有 HbA2,常无分区背景图 (软件分析是根据 HbA2 定位进行分区),见图 1。以 HbBart's 为主要组分,其最低含量为 72.2%,最高含量为 90.9%,其次为 HbPortland。

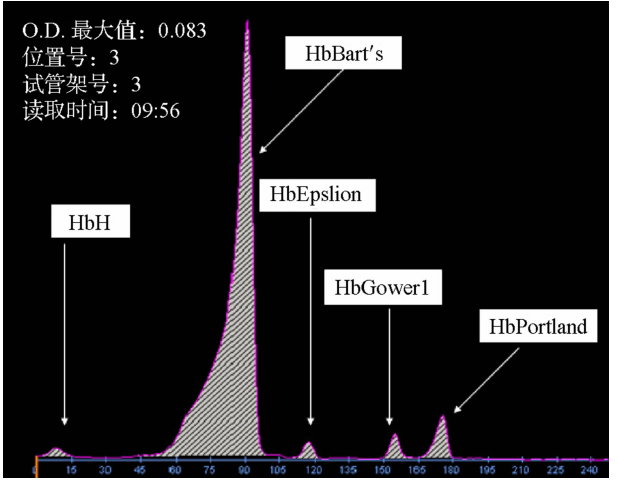


图 1 巴氏水肿胎儿毛细电泳血红蛋白结果图

2.2 孕周分组的血红蛋白电泳结果比较 孕 24 ~ 28 周组的 HbBart's 平均含量为 (78.2 ± 2.5)%, 孕 29 ~ 32 周组平均含量为 (79.9 ± 4.8)%, 孕 33 ~ 38 周组平均含量为 (84.0 ± 2.1)%, 具体各指标含量见表 1。组间比较, HbBart's 和 HbPortland 含量差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 余差异无统计学意义。组间两两比较, 孕 24 ~ 28 周组与孕 29 ~ 32 周组各指标含量差异均无统计学意义, 孕 33 ~ 38 周组与另外两组的 HbBart's 和 HbPortland 含量差异均有统计学意义 (*P* < 0.05), 余差异无统计学意义。

表 1 孕周分组的血红蛋白电泳结果比较[($\bar{x} \pm s$), (%)]

组 别	例数	HbH	HbBart's	HbEpsilon	HbGower1	HbPortland
孕 24 ~ 28 周组	17	1.0 ± 0.6	78.2 ± 2.5	2.0 ± 0.5	4.3 ± 1.0	14.3 ± 2.5
孕 29 ~ 32 周组	9	1.3 ± 0.8	79.9 ± 4.8	1.9 ± 0.8	4.2 ± 2.1	12.7 ± 4.0
孕 33 ~ 38 周组	13	1.7 ± 0.8	84.0 ± 2.1 [△]	2.0 ± 0.6	3.1 ± 1.1	9.3 ± 2.5 [△]
<i>F</i>	—	1.486	10.976	0.089	1.793	9.432
<i>P</i>	—	0.242	0.000	0.915	0.183	0.000

注:与孕 24 ~ 28 周组或孕 29 ~ 32 周组比较, [△]*P* < 0.05

2.3 地贫基因分析结果 39 例样本除 1 例为泰国型合并东南亚型缺失外(基因型为--^{Thai}/--^{SEA}),余均为东南亚型缺失纯合子(基因型为--^{SEA}/--^{SEA})。该患者孕周为 26 周,HbH 为 1.0%、HbBart's 为 90.9%、HbEpsilon 为 1.5%、HbGower1 为 2.1%、HbPortland 为 4.5%。另外,除有 1 例为东南亚型缺失纯合子合并了 β 地贫基因 41 ~ 42 位点突变外,余未见有 β 地贫基因突变。

3 讨论

3.1 巴氏水肿胎是由于 α 珠蛋白肽链缺失了 4 个 α 基因,导致 HbF 不能合成,HbBart's 则成为主要血红蛋白组分,该组分具有高氧亲和力,从而使红细胞不能够传递氧造成严重溶血性贫血^[3]。目前针对水肿胎的检查主要使用 B 超,但是其不能将巴氏水肿胎和其他原因导致的水肿胎鉴别诊断。由于巴氏水肿胎中 HbBart's 含量非常高,在广西,临床上一般会通过抽取脐带血进行血红蛋白电泳来排除是否是巴氏水肿胎。因此,电泳分析是巴氏水肿胎最为简便的检测技术。而相对于琼脂糖凝胶电泳和高效液相色谱技术,毛细管电泳在血红蛋白病诊断中更具有优势^[4,5]。

3.2 本研究中,39 例样本均电泳出 HbH(β4)、HbBart's(γ)、HbEpsilon(ε)、HbGower1(ζ2ε2)、HbPortland(ζ2γ2)条带。其中 HbEpsilon、HbGower1 属于胚胎早期血红蛋白,当巴氏水肿胎时,这几种血红蛋白在孕中晚期均可检出,可认为是巴氏水肿胎电泳的标志性血红蛋白。另一个重要的特点是 HbBart's 含量非常高,本研究的最低含量为 72.2%,远远高于 H 病的 HbBart's 含量(32.1 ± 3.1)%^[6]。表 1 显示,随着孕周的增大,HbBart's 含量增高,而 HbPortland 含量降低。HbBart's 含量越高,胎儿缺氧情况更严重,胎儿就越容易早期死亡。而 HbPortland 有少量的氧分离和向胎儿提供氧的能力,HbPortland 含量越高,胎儿存活时间将得到延长。在中国南方人群,巴氏水肿胎基因型主要是东南亚型缺失纯合

子,本研究中的泰国型合并东南亚型缺失导致的巴氏水肿胎,是较罕见的类型^[7,8]。当孕周为 26 周时,其 HbBart's 已经达到 90.9%,也是本研究中含 量最高的病例。本病例不但 HbBart's 含量高于同孕周(26 孕周)的东南亚型缺失纯合子(78.1 ± 1.7)%,而且 HbPortland 含量也低于同孕周的东南亚型缺失纯合子(14.3 ± 1.9)%,提示泰国型合并东南亚型缺失导致的巴氏水肿胎将较东南亚型缺失纯合子导致的巴氏水肿胎更容易流产。

3.3 由于没有泰国型缺失纯合子引起的巴氏水肿胎资料,无法确切知道它的电泳特点,但是可以推测出其 HbBart's 含量将更高,HbPortland 含量将更低。同时,我们也没有获得孕 24 周以前的样本,因此,还无法得出孕早期的 HbBart's 含量,也就无法得出孕早期巴氏水肿胎确切的截距值。但是可以明确的是孕中晚期的 HbBart's 含量常 > 70%。

3.4 水肿胎可引起严重的妊娠并发症,威胁母胎健康,导致不良围产结局,需要早诊断、早引产^[9]。如上所述,毛细管电泳不但可以快速鉴定出巴氏水肿胎,而且可以提示巴氏水肿胎的类型。因此,毛细管电泳可以作为一种快速诊断巴氏水肿胎的手段,不需要等待检测时间较久的地贫基因分析结果。

参考文献

1 魏 然,钟燕芳,曾 丽,等. 水肿胎儿血液生化指标分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2008,16(4):58-59.
2 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.
3 Yang Y, Li DZ. Early onset of fetal hydrops associated with the alpha-thalassemia——(THAI) deletion [J]. Hemoglobin, 2014, 38(6):431-434.
4 李友琼,覃桂芳,阳文辉,等. 毛细管电泳与血红蛋白分析仪在血红蛋白病检测中的比较[J]. 临床检验杂志,2012,30(11):887-889.
5 唐海深,满婷婷,江 陵,等. 琼脂糖凝胶电泳、毛细管电泳及高分辨率熔解曲线技术在 α-地中海贫血新生儿筛查中的应用[J]. 中国产前诊断杂志(电子版),2013,5(2):7-11.

6 Munkongdee T, Pichanun D, Butthep P, et al. Quantitative analysis of Hb Bart's in cord blood by capillary electrophoresis system[J]. Ann Hematol,2011,90(7):741-746.

7 黄海龙,林娜,徐两蒲,等. 产前诊断泰国缺失型 α 地中海贫血 1 引起的胎儿巴氏水肿[J]. 中华妇产科杂志,2010,45(7):531-533.

8 李友琼,周莹,覃桂芳,等. 利用 Gap-PCR 技术鉴定 1 例罕见的巴氏水肿胎儿[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(14):312-314.

9 孟会,何平. 水肿胎成因及围产结局(附 68 例临床病例分析)[J]. 中国妇幼保健,2008,23(10):1339-1341.

[收稿日期 2016-01-05][本文编辑 韦所苏]

课题研究 · 论著

丙泊酚联合顺式阿曲库铵用于小儿纤支镜检查的肌松效果观察

梁淑敏, 林颖, 唐貌

基金项目: 广西卫计委科研课题(编号:Z2014678)

作者单位: 545005 广西,广西医科大学第四附属医院(柳州市工人医院)麻醉科
作者简介: 梁淑敏(1973-),女,大学本科,学士学位,主治医师,研究方向:手术麻醉、重症监测及疼痛治疗。E-mail:307261709@qq.com

[摘要] **目的** 观察丙泊酚联合顺式阿曲库铵在喉罩通气全麻下用于小儿纤支镜检查的肌松效果。**方法** 回顾性分析 2013-01~2014-12 住院行纤支镜检查的 68 例儿科患者的临床资料,根据麻醉用药的不同分为丙泊酚联合顺式阿曲库铵组(A组)36 例和丙泊酚联合氯胺酮组(B组)32 例,比较两组的麻醉起效时间、阻滞维持时间、临床作用时间、体内作用时间以及肌松恢复指数。**结果** A 组麻醉起效时间明显比 B 组短,而 A 组的阻滞维持时间、临床作用时间、体内作用时间和肌松恢复指数均比 B 组高,两组比较差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。**结论** 丙泊酚联合顺式阿曲库铵应用于喉罩通气全麻下小儿纤支镜检查能取得比丙泊酚联合氯胺酮更好的肌松效果,值得推广。

[关键词] 肌松效果; 顺式阿曲库铵; 纤支镜; 小儿

[中图分类号] R 614 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2016)07-0581-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2016.07.07

Effect of propofol combined with cis-atracurium on muscle relaxation in pediatric patients with fiberoptic bronchoscopy LIANG Shu-min, LIN Ying, TANG Mao. Department of Anesthesiology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou Workers' Hospital, Guangxi 545005, China

[Abstract] **Objective** To observe the effect of propofol combined with cis-atracurium on muscle relaxation in pediatric patients with fiberoptic bronchoscopy. **Methods** The clinical data of 68 pediatric patients with fiberoptic bronchoscopy were collected from January 2013 to December 2014 and were retrospectively analyzed. They were divided into group A and group B according to the different anesthetic medications. Group A($n=36$) was given propofol combined with cis-atracurium ammonium and group B($n=32$) was given propofol combined with ketamine. The time of producing effectiveness, the block maintenance time, the duration of action and the recovery index were compared between the two groups. **Results** The time of producing effectiveness was significantly less in group A than that in group B. The block maintenance time and the duration of action were significantly longer in group A than those in group B. The recovery indexes of muscle relaxation in group A were significantly elevated than those in group B($P<0.01$). **Conclusion** Propofol combined with cis-atracurium has better effect of muscle relaxation than propofol combined with ketamine in anesthesia for pediatric patients with fiberoptic bronchoscopy.

[Key words] Effect of muscle relaxation; Cis-atracurium; Fiberoptic bronchoscopy; Pediatric patients