

珠蛋白生成障碍性贫血筛查指标的应用评价

张振洪, 梁栋伟, 黄 勤 (广东省佛山市南海区第二人民医院检验科 528251)

【摘要】 目的 找出珠蛋白生成障碍性贫血筛查中各常用实验指标的截断点 (cut off point), 并探讨其联合应用价值。**方法** 对经基因诊断确诊的 146 例 α 珠蛋白生成障碍性贫血、278 例非 α 珠蛋白生成障碍性贫血、98 例 β 珠蛋白生成障碍性贫血和 326 例非 β 珠蛋白生成障碍性贫血标本进行 Hb 电泳与血细胞分析。用 ROC 曲线找出血红蛋白 A₂ (HbA₂)、MI (Mentzer 指数)、红细胞平均体积 (MCV) 和红细胞平均血红蛋白含量 (MCH) 的截断点并将 HbA₂ 与另 3 个指标进行联合应用, 统计各自的灵敏度、特异度、正确率、阳性预测值和阴性预测值。**结果** 单项指标以 HbA₂ 诊断 α 珠蛋白生成障碍性贫血的诊断准确性最好 (截断值: 2.49%), 与 MI、MCV 和 MCH 的平行联合试验可将灵敏度提高至 91% 以上, 系列联合试验可明显提升诊断准确性; 单项 HbA₂ 含量升高 (截断值: 3.60%), 足以满足 β 珠蛋白生成障碍性贫血筛查的需要。**结论** HbA₂ 含量是 β 珠蛋白生成障碍性贫血筛查的理想指标; 在 α 珠蛋白生成障碍性贫血的筛查诊断中, 可通过 HbA₂ 含量与 MI、MCV 和 MCH 的联合试验来达到筛查或诊断的目的。

【关键词】 珠蛋白生成障碍性贫血; 血红蛋白; 红细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.06.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)06-0654-03

Application evaluation on thalassemia screening indicators ZHANG Zhen-hong, LIANG Dong-wei, HUANG Qin (Department of Clinical Laboratory, Nanhai District Second People's Hospital, Foshan, Guangdong 528251, China)

【Abstract】 Objective To find out the cut off points of the commonly used experimental indicators in thalassemia screening and to explore the application value of these indicators combination. **Methods** The hemoglobin electrophoresis and blood cell analysis were performed in 146 cases of α -thalassemia, 278 cases of non- α -thalassemia, 98 cases of β -thalassemia and 326 cases of non- β -thalassemia confirmed by molecular biology techniques. The cut off points of HbA₂, MI (Mentzer index), MCV and MCH were analyzed by ROC curves. The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value were respectively counted by HbA₂ combined with other three indicators. **Results** Among all indicators, single indicator HbA₂ (cut off value: 2.49%) had the best diagnostic accuracy in the diagnosis of α -thalassemia. The sensitivity could be increased to more than 91% by the parallel combined test of HbA₂ and other three indicators. The series combined test could significantly improve the diagnostic accuracy. The increasing of the single indicator HbA₂ level (cut off value: 3.60%) could meet the needs of the β -thalassemia screening. **Conclusion** The HbA₂ level is an ideal indicator of β -thalassemia screening. In the screening and diagnosis of α -thalassemia, it is necessary to combine HbA₂ with other three indicators in order to achieve a better result of screening or diagnosis.

【Key words】 thalassemia; hemoglobin; erythrocyte

珠蛋白生成障碍性贫血 (又称: 地中海贫血) 是由于珠蛋白基因的缺失或突变导致某种珠蛋白肽链合成速率降低, 造成肽链合成不平衡, 进而影响血红蛋白 (Hb) 的正常合成, 引起以慢性溶血性贫血为主要表现的一种遗传性疾病。其中最为常见的是 α 珠蛋白生成障碍性贫血和 β 珠蛋白生成障碍性贫血。由于珠蛋白生成障碍性贫血特别是轻型珠蛋白生成障碍性贫血缺乏明显的临床症状, 因而常靠实验室检查来辅助诊断。目前常用方法有基因诊断、Hb 电泳和血细胞分析等, 其中以基因诊断技术最为准确, 是目前诊断珠蛋白生成障碍性贫血的“金标准”, 但由基因诊断技术要求条件高, 方法繁琐, 尚不能广泛应用于各个医院特别是基层医院。因此, 如何利用比较普及的试验来更有效地筛查和诊断珠蛋白生成障碍性贫血, 是一个值得探讨的问题。本试验选择经基因诊断技术确诊的 146 例 α 珠蛋白生成障碍性贫血和 278 例非 α 珠蛋白生成障碍性贫血, 98 例 β 珠蛋白生成障碍性贫血和 326 例非 β 珠蛋白生成障

碍性贫血标本分别进行 Hb 电泳和血细胞分析, 并将所得数据进行统计分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取 2008 年 10 月至 2011 年 12 月本院住院患者及门诊产检和健康体检者共 424 例, 年龄 1~57 岁。全部标本均进行了珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断、Hb 电泳和血细胞计数分析, 其中包括 146 例 α 珠蛋白生成障碍性贫血和 278 例非 α 珠蛋白生成障碍性贫血; 98 例 β 珠蛋白生成障碍性贫血和 326 例非 β 珠蛋白生成障碍性贫血。

1.2 检查方法

1.2.1 珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断 采用中山医科大学达安公司的试剂。检测 α 珠蛋白生成障碍性贫血 3 种常见基因缺失 (SEA 型、3.7 型和 4.2 型); β 珠蛋白生成障碍性贫血用反向点杂交法检测 β 珠蛋白基因突变类型。

1.2.2 Hb 电泳 采用美国 Helena 公司 SAS-3 型全自动电

泳分析系统进行琼脂糖凝胶电泳。试剂、标准品和质控等均系原装配套产品。主要记录血红蛋白 A2(HbA2)含量。

1.2.3 血细胞分析 采用 Sysmex XS-800i 全自动血细胞分析仪和相关配套试剂进行血细胞分析。记录红细胞数(RBC)、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白含量(MCH)和红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)。

1.3 资料分析

1.3.1 分组情况 分 α 珠蛋白生成障碍性贫血(α 珠蛋白生成障碍性贫血 146 例和非 α 珠蛋白生成障碍性贫血 278 例)和 β 珠蛋白生成障碍性贫血(β 珠蛋白生成障碍性贫血 98 例和非 β 珠蛋白生成障碍性贫血 326 例)两组。

1.3.2 联合试验 平行联合试验:采用平行联合试验判定原则,即两个试验中任何一个试验出现阳性结果就判为平行试验阳性。系列联合试验:采用系列联合试验判定原则,即两个试验同时出现阳性结果才判为系列试验阳性。

1.3.3 统计学方法 采用 IBM SPSS Statistics 19.0 进行统计学分析。以 ROC 曲线对 HbA2、MI(Mentzer 指数, MI=MCV/RBC)^[1]、MCV、MCH 和 MCHC 进行分析,找出曲线下

面积与 0.5 相比差异有统计学意义($P<0.05$)的指标,取 Youden 指数^[2]最大处的检测值为最佳诊断截断点(cut off point),并对这些指标进行联合试验,计算各单项与多项联合指标的灵敏度、特异度、正确率、阳性预测值和阴性预测值。各单项与多项联合指标在灵敏度、特异度、正确率、阳性预测值和阴性预测值上的差异用 χ^2 检验进行比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 α 珠蛋白生成障碍性贫血组 ROC 曲线分析 见图 1。从该组的曲线下面积(表 1)可知,除 MCHC 外, HbA2、MI、MCV 和 MCH 的曲线下面积与 0.5 相比差异均有统计学意义($P<0.05$)。HbA2 曲线下面积是 0.775,表示它在诊断 α 珠蛋白生成障碍性贫血时诊断准确度为中等。MI、MCV 和 MCH 的曲线下面积为 0.597~0.677,表示它们在 α 珠蛋白生成障碍性贫血的诊断中价值较低。MI、MCV 和 MCH 的 95%置信区间有相互重叠现象,提示它们曲线下面积之间的差异无统计学意义($P>0.05$);HbA2 的 95%置信区间与其他项目没有重叠现象,提示 HbA2 的曲线下面积与其他项目相比存在差异($P<0.05$)。

表 1 两组的 ROC 曲线下面积

检验结果变量	α 珠蛋白生成障碍性贫血组曲线下的面积					β 珠蛋白生成障碍性贫血组曲线下的面积				
	面积	标准误	渐进 Sig.	渐近 95%置信区间		面积	标准误	渐进 Sig.	渐近 95%置信区间	
				下限	上限				下限	上限
HbA2	0.775	0.022	0.000	0.732	0.818	0.993	0.004	0.000	0.986	1.000
MI	0.677	0.026	0.000	0.626	0.728	0.795	0.023	0.000	0.750	0.840
MCV	0.617	0.027	0.000	0.565	0.670	0.842	0.020	0.000	0.803	0.881
MCH	0.597	0.027	0.001	0.544	0.650	0.787	0.023	0.000	0.742	0.831
MCHC	0.510	0.028	0.738	0.454	0.566	0.473	0.032	0.409	0.411	0.534

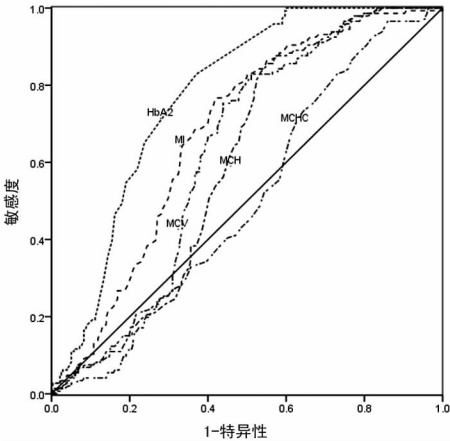


图 1 α 珠蛋白生成障碍性贫血各血液学指标的 ROC 曲线图

2.2 β 珠蛋白生成障碍性贫血组 ROC 曲线分析 见图 2。从该组的曲线下面积(表 1)可知,除 MCHC 外, HbA2、MI、MCV 和 MCH 的曲线下面积与 0.5 相比差异均有统计学意义($P<0.05$)。HbA2 曲线下面积是 0.993,表示他在诊断 β 珠蛋白生成障碍性贫血时诊断准确度较高。MI、MCV 和 MCH 的曲线下面积为 0.787~0.842,表示他们在诊断 β 珠蛋白生成障碍性贫血时诊断准确度为中等。MI、MCV 和 MCH 的 95%置信区间有相互重叠现象,提示它们曲线下面积之间的差异无统计学意义($P>0.05$);HbA2 的 95%置信区间与其他项目没有重

叠现象,提示 HbA2 的曲线下面积与其他项目相比存在差异($P<0.05$)。

2.3 截断值及诊断试验的评价 分析两组的 ROC 曲线图,剔除无统计学意义的 MCHC,分别找出在诊断 α 珠蛋白生成障碍性贫血和 β 珠蛋白生成障碍性贫血时 HbA2、MI、MCV 和 MCH 的截断值。以 HbA2 代表 Hb 电泳,MI、MCV 和 MCH 代表血细胞分析,将 Hb 电泳与血细胞计数分析进行联合试验。统计所有单项指标和联合指标的灵敏度、特异度、正确率、阳性预测值和阴性预测值。结果见表 2。

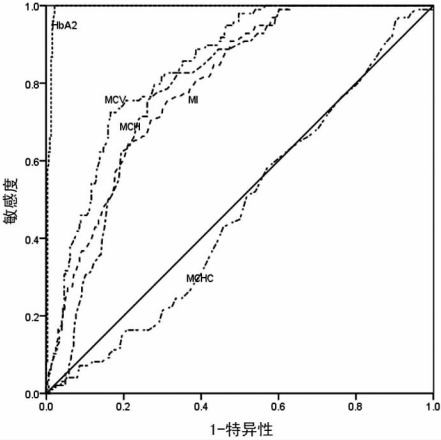


图 2 β 珠蛋白生成障碍性贫血各血液学指标的 ROC 曲线图

表 2 两组血液学指标的截断值及诊断试验的评价指标

分组	处理方式	项目	截断值	灵敏度(%)	特异性(%)	正确率(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
α 珠蛋白生成障碍性贫血组	单指标	HbA2	2.49%	82.88	62.82	69.74	54.02	87.44
		MI	16.7	76.71	57.76	64.30	48.91	82.47
		MCV	74.4 fL	82.88	48.70	60.52	46.01	84.38
		MCH	23.9 pg	85.62	44.77	58.87	44.96	85.52
	平行联合	HbA2 or MI	—	91.78	29.96	51.30	40.85	87.37
		HbA2 or MCV	—	91.10	25.99	48.46	39.35	84.71
		HbA2 or MCH	—	91.10	27.08	49.17	39.70	85.23
	系列联合	HbA2 and MI	—	67.81	90.61	82.74	79.20	84.23
		HbA2 and MCV	—	74.66	85.56	81.80	73.15	86.50
		HbA2 and MCH	—	77.40	80.51	79.43	67.66	87.11
β 珠蛋白生成障碍性贫血组	单指标	HbA2	3.60%	100.00	97.85	98.35	93.33	100.00
		MI	15.2	75.51	68.71	70.28	42.05	90.32
		MCV	65.7 fL	72.45	83.44	80.90	56.80	90.97
		MCH	21.6 pg	75.51	73.93	74.29	46.54	90.94
	平行联合	HbA2 or MI	—	100.00	67.48	75.00	48.04	100.00
		HbA2 or MCV	—	100.00	81.60	85.85	62.03	100.00
		HbA2 or MCH	—	100.00	72.39	78.77	52.13	100.00
	系列联合	HbA2 and MI	—	75.51	99.39	93.87	97.37	93.10
		HbA2 and MCV	—	72.45	99.69	93.40	98.61	92.33
		HbA2 and MCH	—	75.51	99.39	93.87	97.37	93.10

注：—表示无数据。

3 讨 论

α 珠蛋白生成障碍性贫血是由于第 16 号染色体短臂末端 α 珠蛋白基因缺陷所致,分缺失型和非缺失型两种,其中缺失型是我国 α 珠蛋白生成障碍性贫血的主要类型,包括 3 种缺失,即东南亚型缺失 $\alpha^{--SEA}/\alpha\alpha$ 、右侧缺失 $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和左侧缺失 $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ [3]。有文献报道在中国的南方地区,α 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率为 10.3%,成为主要的出生缺陷性疾病 [4]。α 珠蛋白基因缺失或突变,导致 α 珠蛋白肽链合成障碍,相对过剩的非 α 肽链可聚合成 HbH、HbBar'S 等异常 Hb,但更多的基因携带者临床上仅表现为 HbA2 含量的降低和轻微的红细胞形态学上的改变。这些变化可通过 Hb 电泳与血细胞分析进行检测。比较几个单项指标,以 HbA2 诊断 α 珠蛋白生成障碍性贫血的诊断准确性最好(截断值:2.49%,正确率:69.74%),灵敏度 82.88%,特异性 62.82%。HbA2 与代表血细胞分析的 MI、MCV 和 MCH 之中的任意一项的平行联合试验可将灵敏度提高到 91% 以上,但诊断准确性有较明显下降。平行联合各组间的灵敏度差异无统计学意义 ($P>0.05$),此方法可用于基因诊断前的筛查。系列联合试验使诊断准确性有了明显提升,同时灵敏度下降不多,在 67.81%~77.40%。如果不打算进一步做 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断,可以用系列联合试验来提高诊断的正确率。

β 珠蛋白生成障碍性贫血是由于 β 珠蛋白基因突变导致 β 珠蛋白肽链缺如(β0)或合成不足(β+)所致 [5]。我国南方是高发区,其人群中 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率达 2.8% [6]。轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血临床可无症状或仅轻度贫血,特征性表现为 HbA2 增高。琼脂糖电泳分辨率极高,

能够分辨出极微量异常 Hb,准确定量 HbA2,为诊断提供可靠的数据。在 β 珠蛋白生成障碍性贫血组统计分析中,以单项 HbA2 的诊断效能最高(截断值:3.60%,灵敏度:100%,特异性:97.85%,正确率:98.35%,阳性预测值:93.33%,阴性预测值:100%),无论与其他单项试验还是与其他单项的联合试验相比,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。HbA2 与 MI、MCV 和 MCH 的联合试验只会使特异性或灵敏度有明显的下降,进而降低了诊断的准确性。据此认为,以 3.60% 为截断值检测 HbA2 含量,足以满足 β 珠蛋白生成障碍性贫血筛查的需要,没有必要再联合 MI、MCV 和 MCH 等结果进行分析。

综上所述,Hb 电泳在珠蛋白生成障碍性贫血筛查中意义重大。HbA2 含量是 β 珠蛋白生成障碍性贫血筛查的一项理想指标。在 α 珠蛋白生成障碍性贫血诊断中,只要电泳图谱中出现 HbH 和 HbBar'S 区带,即可确诊为 α 珠蛋白生成障碍性贫血。新生儿脐血 Hb 电泳可分离到这些区带,但这些区带在出生后的几个月内将逐渐消失。轻型 α 珠蛋白生成障碍性贫血(静止型和标准型)患者在儿童期后将难以在其电泳图谱中见到这些区带。因此,现在普遍认为新生儿脐血 Hb 电泳,测定其中的 HbBar'S 含量乃是当前筛查、诊断 α 珠蛋白生成障碍性贫血简便、快捷、经济、可靠的方法 [7-9]。本文所统计的 α 珠蛋白生成障碍性贫血标本年龄在 1~57 岁,95.2% (139/146) 的人没出现 HbH 和 HbBar'S 区带,筛查诊断只能靠 Hb 电泳中 HbA2 含量的降低和血细胞分析中的一些指标。其中,MCHC 不能作为珠蛋白生成障碍性贫血筛查诊断指标,另外的 MI、MCV 和 MCH 在 α 珠蛋白生成障碍性贫血筛查诊断中无明显差异,可任选其中之一与 HbA2 进行(下转第 658 页)

($r=-0.141$)呈显著负相关性。

表 1 两组精子头部未着色率、尾部低渗肿胀率及精子活率的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	精子头部 未着色率(%)	尾部低渗 肿胀率(%)	精子活率(%)
研究组	102	45.89±9.81	47.43±4.04	37.69±9.19
对照组	100	69.32±9.75▲	64.58±4.27▲	73.21±9.21△

注:与对照组比较,▲ $P<0.05$,△ $P<0.01$ 。

3 讨 论

精子膜作为精子外部界膜,其对于外界的各种物质刺激可直接感知,从而影响精子的正常活动与新陈代谢,其功能的优劣程度可直接反映精子的功能状态,因此,其完整性是受精过程完成的必备条件^[4]。现今,精子尾部低渗肿胀率试验在精子功能的评价方面已得到广泛应用,尤以精子膜功能完整性的评价具有显著意义^[5]。因此,伊红-Y 水试验以其不仅可检测精子尾部肿胀率,进而反映精子膜功能完整性,而且还可通过检测精子头部未着色率评估精子头部膜结构的完整性^[6]广泛应用于临床检测之中。

精液常规分析则是评价男性生育力的最基本方法,主要是指综合精子密度、精子活率、精子活力以及精子形态这 4 项而言^[7]。但是精液常规分析虽然在一定程度上可作为反映男性的生育能力的指标,但其与实际生育能力不尽一致,有报道认为其准确性仅有 70%,而且缺少严格的对精子运动能力判断的量化指标^[8]。而由于细胞的物质交换和新陈代谢活动依靠细胞膜进行,而精子亦不例外地在男、女性生殖道中极易受到各种化学物质影响,从而影响精子膜对这些物质的传递能力,进而直接影响精子的活力和新陈代谢,从而关系到能否获能以及完成受精的全过程。同样,精子膜功能优劣直接反映精子的功能状况。自 Jeyendran 等建立精子尾部低渗肿胀试验以来,虽然此方法在评价精子功能方面已得到广泛应用,尤其对精子膜功能的完整性评价具有重要意义^[9]。然而由于精子头部膜与尾部膜对低渗液顺应性存在不一致,从而在低渗肿胀试验中,精子头部并不能准确表现出明显的肿胀现象,即不能反映精子头部膜功能。

有鉴于此,本研究采用伊红-Y 水试验对 102 例不育患者

的精液进行检测,并以 100 例生育男性的精液作为对照性研究,结果发现:与对照组比较,研究组的精子头部未着色率、尾部低渗肿胀率均明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),精子活率则相对对照组,明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$);相关性分析可见,精子尾部膨胀率与精子密度($r=0.251$)、活力($r=0.529$)、活率($r=0.592$)呈显著正相关性,与精液白细胞浓度($r=-0.141$)呈显著负相关性。精子膜功能可能与精液参数密切相关,可将其作为评价男性生育能力的重要指标之一应用于临床。

参考文献

[1] 郭航,郑海笋,王瑞雪,等. 人精子膜功能完整性与精液参数的关系[J]. 基础医学与临床,2007,27(1):53-56.

[2] 王瑞雪,刘睿智. 精子形态与精子功能关系研究进展[J]. 中华男科学杂志,2007,13(4):348-351.

[3] WHO. WHO 人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册[M]. 谷翊群,陈振文,于和鸣,等,译. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2001:3-61.

[4] 岳林. 精子膜完整性与精子功能评估的相关性研究[J]. 中国计划生育学杂志,2005,13(6):363-364.

[5] 胡海翔,马建伟,支艳,等. 不育症患者精子头部及尾部超微结构的研究[J]. 中国男科学杂志,2006,20(5):24-25.

[6] 张清健,郑立新,田佩玲,等. 染色体变异对男性生育能力影响的分析[J]. 中国男科学杂志,2006,20(5):13-20.

[7] Bahamondes L,Fazano F,De Lucio MA,et al. Evaluation of human sperm membrane integrity using the water test and the hyposmotic test[J]. Andrologia,2001,33(2):75-77.

[8] 马远方,王玉兰,白慧玲,等. 精子膜功能完整性与精液各参数关系的研究[J]. 中华男科学杂志,2002,8(2):103-105.

[9] 熊承良,吴明章,刘继红,等. 人类精子学[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2002:414.

(收稿日期:2012-09-28 修回日期:2012-12-10)

(上接第 656 页)

联合试验以达到筛查或诊断的预期目的。

参考文献

[1] Mentzer WC. Differentiation of iron deficiency from thalassemia trait[J]. Lancet,1973,4(21):882.

[2] 申子瑜,李萍. 临床实验室管理学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2007:162.

[3] 毛锦江,黄伟媚,甘冰,等. 脐血蛋白电泳在 α 地中海贫血基因诊断的价值[J]. 中国妇幼健康研究,2011,22(4):484-487.

[4] Deng J,Peng W L,Li J,et al. Successful preimplantation genetic diagnosis for alpha- and beta-thalassemia in China [J]. Prenat Diagn,2006,26(11):1021-1028.

[5] 黄欣秋. 21 例 β^0 地中海贫血的基因类型与临床表现分析[J]. 广西医学,2009,31(4):497-498.

[6] Naseem S,Ahmed S,Vahidy F. Impediments to prenatal diagnosis for beta thalassemia:experiences from Pakistan [J]. Prenat Diagn,2008,28(12):1116-1118.

[7] 欧阳辉,邓杨富. 脐血血红蛋白电泳在地中海贫血诊断中的应用[J]. 检验医学与临床,2009,6(9):729.

[8] 唐宁,杨金玲,黄丽华,等. 15373 例新生儿脐血 α 地中海贫血的筛查分析[J]. 检验医学与临床,2009,6(11):877.

[9] 黄作群,唐萍,易菲,等. 1422 例新生儿脐血 α 地中海贫血筛查[J]. 广西医学,2006,28(12):1941-1942.

(收稿日期:2012-09-07 修回日期:2012-12-10)