

贵阳地区育龄人群 HbA₂ 和 HbF 参考范围的研究*

韩文平^{1**}, 王树辉², 杨楠楠¹, 徐 琴¹, 韩媛媛¹, 黄 凌², 黄盛文^{2***},
安邦权^{2***}

(1. 贵州医科大学 医学检验学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州省人民医院 检验科, 贵州 贵阳 550002)

[摘 要] **目的:** 探讨贵阳地区育龄人群血红蛋白 A₂ (HbA₂) 和血红蛋白 F (HbF) 的参考范围。**方法:** 采用毛细管电泳技术, 对 497 例孕妇 (正常孕妇组)、180 例育龄期男性 (正常男性组) 和 155 例育龄期末孕女性 (正常女性组) 的血红蛋白进行测定, 比较各组 HbA₂ 和 HbF 的检测结果和参考范围。**结果:** 整体 HbA₂ 均值为 (2.70 ± 0.21)%, HbF 中位数与四分位间距为 0 (0.3%), 参考范围分别为 2.3% ~ 3.1% 和 < 0.9%; 正常男性组和正常孕妇组的 HbA₂ 的平均值分别为 (2.70 ± 0.23)% 和 (2.70 ± 0.19)%, 显著高于正常女性组的 (2.63 ± 0.21)% ($P < 0.01$), 参考范围分别为 2.3% ~ 3.2%、2.3% ~ 3.1% 和 2.2% ~ 3.0%; 正常男性组、正常女性组和正常孕妇组间的 HbF 分布差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 参考范围分别为 < 0.5%、< 1.1% 和 < 1.0%。**结论:** 贵阳地区育龄人群的 HbA₂ 和 HbF 数值受到性别及妊娠状态的影响。

[关键词] 血红蛋白 A₂; 血红蛋白 F; 参考值; 性别因素; 贵阳

[中图分类号] R556.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2017)10-1117-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2017.10.001

Establishment of the Reference Range of HbA₂ and HbF in Guiyang Population of Reproductive Age

HAN Wenping¹, WANG Shuhui², YANG Nannan¹, XU Qin¹, HAN Yuanyuan¹, HUANG Ling²,
HUANG Shengwen², AN Bangquan²

(1. Department of Medical Laboratory, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Guizhou, Guiyang 550002, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the reference range of HbA₂ and HbF in Guiyang population of reproductive age. **Methods:** Hemoglobin analysis was performed in 497 pregnant women, 180 men of reproductive age and 155 non-pregnant women of reproductive age by using capillary electrophoresis. The value and reference ranges of HbA₂ and HbF of different groups were compared. **Results:** On the whole, the mean value of HbA₂ was (2.70 ± 0.21)%, the median value and interquartile range of HbF were 0 and 0.3%, and the reference ranges of HbA₂ and HbF were 2.3% ~ 3.1% less than 0.9% respectively. The mean values of HbA₂ of normal men and normal pregnant women were (2.70 ± 0.23)% and (2.70 ± 0.19)% respectively, significantly higher than that of normal female (2.63 ± 0.21)% ($P < 0.01$), with the reference ranges were 2.3% ~ 3.2%, 2.3% ~ 3.1% and 2.2% ~ 3.0% respectively. The distributions of HbF in normal male, normal female and normal pregnant women had statistical difference ($P < 0.01$), with the reference ranges less than 0.5%, 1.1% and 1.0% respectively. **Conclusion:** The reference ranges of HbA₂ and HbF in Guiyang population of re-

*[基金项目] 国家自然科学基金(81660023); 贵州省科学技术厅基础计划[黔科合人才团队(2015)4019号]; 贵阳市科技创新平台计划[筑科合同(20161001)35]

** 贵州医科大学 2014 级硕士研究生

*** 通信作者 E-mail: hsw713@sina.com; anhonggao@sina.com

网络出版时间: 2017-10-17 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20171017.2231.015.html>

productive age have been established. Both gender and pregnancy status have a certain effect on the reference range.

[Key words] hemoglobinA₂; hemoglobinF; reference range; gender; Guiyang

临床上常用于地中海贫血(简称地贫)筛查的主要指标有平均红细胞体积(mean corpuscular volume, MCV)和平均红细胞血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)^[1-2],而血红蛋白 A₂(HbA₂)和血红蛋白 F(HbF)是指导地贫分型的两项重要参数^[3]。 α -地贫常表现为 HbA₂ 正常或降低,轻型 β -地贫表现为 HbA₂ 升高,可伴有 HbF 轻度升高,中间型和重型 β -地贫则表现为 HbF 显著升高。HbA₂ 是一种成人型血红蛋白,由 $\alpha_2\delta_2$ 构成,自出生 6~12 个月开始合成,正常参考范围一般为 2.5%~3.5%^[4-6]。HbF 为胎儿型血红蛋白,由 $\alpha_2\gamma_2$ 构成,出生后合成逐渐降低,至 2 岁时接近成人水平,正常成人参考范围在 0~1.0%。由于性别、怀孕、疾病状态、种族区域以及检测方法等因素均可影响 HbA₂ 和 HbF 检测的正常参考范围^[7-10],本研究采用毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)检测方法,建立不同性别及妊娠状态下 HbA₂ 和 HbF 的参考范围,为本地区地贫的筛查提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象

于 2015 年 1 月~2016 年 6 月在本院进行地贫产前筛查的孕妇 497 例(正常孕妇组),孕周 14~22 周,平均(28±3.7)岁。同期健康体检者 335 例,其中男性 180 例(正常男性组),平均(32±6.9)岁;非妊娠女性 155 例(正常女性组),平均(32±6.9)岁。所有受检者均通过血常规检测排除小细胞低色素贫血,排除引起 HbA₂、HbF 异常增高的疾病。本研究通过医院伦理委员会批准并与受检者签署知情同意书。

1.2 样本采集及检测

采集外周静脉血 2 mL, EDTA-Na₂ 抗凝。样本置于 4℃ 冰箱中保存,12 h 内完成红蛋白电泳检测。血红蛋白电泳检测采用 Capillarys 2 全自动毛细血管电泳仪(法国 Sebia 公司),每次进行毛细管电泳分析之前检测同批次的质控品,室内质控检测结果在控后再对标本进行各血红蛋白含量的检测

(Sebia 公司推荐检测正常参考值 HbA₂ 为 2.5%~3.5%、HbF 为 <1.0%)。

1.3 统计学方法

1.3.1 极值的判断 按照美国临床和实验室标准协会(CLSI) C28-A2 文件中的 D/R 规则判断极值是否为同质个体: D = 全部数据最大(小)值 - 邻近最大(小)值, R = 全部数据最大值 - 全部数据最小值;若 D/R < 1/3 则数值保留,证明来源于同质个体;否则,则为极值应删除,以此类推对邻近值进行处理^[11]。

1.3.2 参考范围确定 根据 HbA₂ 和 HbF 在人群中分布的特点, HbA₂ 采用双侧参考范围, HbF 采用单侧上限参考范围。检测数据经正态性检验, 正态性数据采用正态分布法, 偏态性数据采用百分位数法制定参考范围, 两者均取 95% 百分界限。

1.3.3 数据处理 组间差异性比较正态性数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 组间的均值比较采用单因素方差(One-way ANOVA)分析; 偏态性数据以中位数与四分位间距(M, Q)表示, 组间差异比较采用非参数 Mann-Whitney 检验。所有统计分析均采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 正态性检验

极值检测发现, 各指标 D/R < 1/3, 未出现离群值; 正态性检验和方差齐性检验发现各组 HbA₂ 均属正态性分布且方差齐, 而 HbF 则为偏态性分布, 对其进行数据转换后仍不呈正态性分布。

2.2 HbA₂ 和 HbF 比较

整体 HbA₂ 均值为(2.70±0.21)%, HbF 的中位数为 0, 四分位间距数为 0.3%; 正常女性组 HbA₂ 均值低于正常男性组和正常孕妇组, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 而正常男性组和正常孕妇组比较, 差异无统计学意义($P < 0.05$)。3 组 HbF 的中位数均为 0, 但正常男性组的四分位间距数仍为 0, HbF > 0 的比例为 8.9% (16/180); 而正常女性组和正常孕妇组的四分位间距数均为 0.4%, HbF > 0 的比例分别为 31.6% (49/155) 和 29.9%

(149/497);经非参数检验,正常男性组与正常女性组和正常孕妇组间 HbF 的分布差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

2.3 HbA₂ 和 HbF 参考范围

各组 HbA₂ 和 HbF 的 95% 百分界限见表 1。由于 Sebia 电泳仪血红蛋白检测结果仅保留小数

点后 1 位,根据表 1 得出正常男性组、正常女性组和正常孕妇组的 HbA₂ 参考范围分别为 2.3% ~ 3.2%、2.2% ~ 3.0% 和 2.3% ~ 3.1%,HbF 参考范围分别为 <0.5%、<1.1% 和 <1.0%。整体的 HbA₂ 参考范围为 2.3% ~ 3.1%,HbF 参考范围为 <0.9%。

表 1 各组被检者 HbA₂ 和 HbF 比较(%)
Tab. 1 HbA₂ and HbF in each group

组别	n	HbA ₂		HbF	
		$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm 1.96 s$	$M(Q)$	P_{95}
正常男性组	180	2.70 ± 0.23	2.25 ~ 3.15	0.0(0.0)	~0.50
正常女性组	155	2.63 ± 0.21 ⁽¹⁾	2.22 ~ 3.04	0.0(0.4) ⁽¹⁾	~1.11
正常孕妇组	497	2.70 ± 0.19 ⁽²⁾	2.33 ~ 3.07	0.0(0.4) ⁽¹⁾	~1.00
整体	832	2.70 ± 0.21	2.29 ~ 3.11	0.0(0.3)	~0.90

M 表示中位数,Q 表示四分位间距数;⁽¹⁾与正常男性组比较, $P<0.01$;⁽²⁾与正常女性组比较, $P<0.01$

3 讨论

HbA₂ 和 HbF 是筛查地贫的重要指标,但在正常人群中的参考范围还没有统一的标准,这可能是因为性别、种族地域、妊娠状态、检测方法等因素对这两个指标的检测结果有一定的影响。国内不同实验室的 HbA₂ 和 HbF 的参考范围主要采用仪器厂商提供的参考值,如 Sebia 公司推荐检测正常参考值 HbA₂ 为 2.5% ~ 3.5%,HbF 为 <1.0%,针对中国人群的参考范围的报道较少。为使 HbA₂ 和 HbF 更好地用于地贫筛查,有必要制定本地区 HbA₂ 和 HbF 的参考范围。

本研究以贵阳地区育龄人群为研究对象,调查 HbA₂ 和 HbF 的参考范围。总体而言,贵阳地区育龄人群 HbA₂ 参考范围为 2.3% ~ 3.1%,与同样采用 CE 建立的广西南宁地区和马来西亚人群^[12]的参考范围(均为 2.3% ~ 3.3%)接近,但与 Sebia 公司推荐的参考范围(2.5% ~ 3.5%)有一定差异。Sebia 公司的参考范围是以西方人群为基础建立的,与加拿大人群的参考范围(2.3% ~ 3.4%)接近^[13],说明不同地域和人群的 HbA₂ 参考范围会有所差别。不同实验室的 HbF 参考范围主要由不同的检测方法而定,通常 CE 的参考范围为 <1.0%,而高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)的参考范围为 <2.0%^[14],没有明显的地域和人群的差别。采用 HPLC 检测时,糖化血红蛋白(HbA1c)与 HbF 的出峰位置会有部分重叠,从而导致 HPLC 的检测结果较 CE 偏

高^[15]。国内尚未见 HbF 参考范围的文献报道,本研究整体的 HbF 参考范围为 <0.9%,与其余采用 CE 方法的实验室和人群基本一致。

本研究还对性别和妊娠状态对 HbA₂ 和 HbF 参考范围的影响进行探讨,结果显示正常男性组、正常女性组和正常孕妇组的 HbA₂ 参考范围分别为 2.3% ~ 3.2%、2.2% ~ 3.0% 和 2.3% ~ 3.1%,没有明显的差异,与广西南宁地区的男性参考范围(2.32% ~ 3.26%)和女性参考范围(2.25% ~ 3.15%)基本一致。但本研究中正常男性组和正常孕妇组的 HbA₂ 均值(2.7%)显著高于正常女性组(2.63%),说明性别和妊娠状态对 HbA₂ 的含量有一定影响,这与 3 组参考范围的趋势基本一致,说明妊娠状态对 HbA₂ 的参考范围有一定的影响。本研究结果还显示 HbF 的含量在人群中呈偏态分布,且正常男性组 HbF > 0 的比例显著低于与正常女性组和正常孕妇组($P<0.01$)。正常男性组 HbF 的参考范围 P_{95} 值(0.5%)显著低于正常女性组(1.1%)和正常孕妇组(1.0%),说明女性 HbF 的血浆水平高于男性,妊娠状态对 HbF 的含量无显著影响。

综上所述,建议不同地区 and 不同实验室应根据所采用的检测方法,建立本地区和本实验室的 HbA₂ 和 HbF 参考范围,并综合考虑性别等因素的影响,能在一定程度上提高地贫的筛查的准确性。

4 参考文献

[1] 邓捷, 王莉, 潘阳, 等. 应用平均红细胞体积测定法及

- 红细胞脆性—管定量法筛查地中海贫血[J]. 中华妇产科杂志, 2000(10):610-613.
- [2]何雅军, 杨小华, 马福广, 等. 红细胞平均体积和脆性及血红蛋白电泳联合检测在地中海贫血诊断中的价值[J]. 中华医学检验杂志, 2005(3):244-246.
- [3]陈忠领, 魏新燕, 范美珍, 等. 血红蛋白电泳在地中海贫血筛查中的应用价值[J]. 现代预防医学, 2007(6):1132-1134.
- [4]邓俊耀, 龙安翼, 李慧. 桂林市城镇育龄人群地中海贫血现况调查[J]. 中华流行病学杂志, 2009(2):156-158.
- [5]熊符, 孙曼娜, 娄季武, 等. 广西壮族自治区人群血红蛋白病的分子流行病学调查[J]. 国际遗传学杂志, 2009(4):64-65.
- [6]李莉艳, 李强, 宋兰林, 等. MCV、MCH 和血红蛋白 A2 检测在地中海贫血筛查中的价值[J]. 中华妇产科杂志, 2012(2):96-100.
- [7]Ji hong HU, Jun GAO, Jian bo LI. Sex and age discrepancy of HbA1c and fetal hemoglobin determined by HPLC in a large Chinese Han population[J]. Journal of Diabetes, 2017(40). 12544-12548.
- [8]Stephan M, Chad G, Helen R, et al. HbA2 levels in normal adults are influenced by two distinct genetic mechanisms[J]. British Journal of haematology, 2012(160):101-105.
- [9]Akanni EO, Oseni BS, Bamisaye EO, et al. Hemoglobin F level in different hemoglobin variants[J]. Korean J Hematol, 2011(46):118-122.
- [10]Paula JG, Paola S, Heather E, et al. The genetics of hemoglobin A2 regulation in sickle cell anemia[J]. Am J Hematol, 2014(11):1019-1023.
- [11]National committee for clinical Laboratory stangards. C28-A2 How to define and reference intervals in the clinical laboratory[S]. NCCLS, 2000.
- [12]李友琼, 劳忠婵, 覃桂芳, 等. 南宁地区健康成人 HbA2 和 HbA 参考范围调查[J]. 国际检验医学杂志, 2012(9):2083-2084.
- [13]Karina RC, Trefor NH. Incidence of hemoglobinopathies and thalasemias in northern alberta. establishment of reference intervals for HbF and HbA₂ [J]. Clinical Biochemistry, 2015(48):698-702.
- [14]BTan G, Aw TC, Dunstan RA, et al. Evaluation of high performance liquid chromatography for routine estimation of hemoglobins A2 and F[J]. Clin Pathol, 1993(46):852-856.
- [15]Alauddin, Yusoff, Aidifitrina, et al. HbA2 levels in normal, β -thalassemia and hemoglobin E carriers by capillary electrophoresis[J]. Malaysian J Pathol, 2012(2):161-164.

(2017-08-05 收稿, 2017-09-17 修回)
中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 丁廷森