

地中海贫血 和其他血红蛋白病的预防

第一卷

Renzo Galanello
Androulla Eleftheriou
John Old
Joanne Traeger-Synodinos
Mary Petrou
Michael Angastiniotis

田佩玲 译

曾瑞萍 校

国际地中海贫血联合会出版物 (3)

地中海贫血和其他血红蛋白病的预防

国际地中海贫血联合会出版

ISBN 9963-623-39--5

2003 team up Creations Ltd

尼科西亚 1016, Othonos 街 14 号

版权所有

未经 TIF 及编者的书面允许, 此书任何一部分均禁止复制、禁止可以恢复的系统保存、或以任何形式翻译、或以电子、机械、拍照复制、小电影、录音或其它形式的利用

印刷 塞浦路斯 尼科西亚

封面: 纯合子 β 地中海贫血患者的外周血照片, 由塞浦路斯尼科西亚地中海贫血筛查实验室主任 Mrs.A.Kyrii 惠赠

编者

Renzo Galanello (co-ordinating editor)

Head of paediatric Thalassaemia Centre, Ospedale Regionale Microcitemie,

Via Jenner (sn), 09121 Cagliari, Italy

e-mail: renzo.galanello@mcweb.unica.it tel: 0039-0706 095508, fax: 0039-0706 095509

Androulla Eleftheriou

Head Virus Reference laboratory, Medical & Public Health Services, Ministry of Health,

TIF Scientific co-ordinator, Nicosia, Cyprus

e-mail: tifhg@spidernet.com.cy tel: 00357 22319129, fax: 00357 22314552

Joanne Traeger-Synodinos

Medical Genetics, Athens University, St. Sophia's Children's Hospital, Athens 11527, Greece

e-mail: jtraeger@cc.uoa.gr tel: +30 210 746 7461, fax: +30 210 779 5553

John Old

National Haemoglobinopathy Reference laboratory, Oxford Haemophilia Centre

The Churchill Hospital Oxford OX3 7LJ

e-mail: john.old@orh.nhs.uk tel: 01865 225329

Mary Petrou

Head Perinatal Centre: Haemoglobinopathy Genetics

University College London Medical School and University College London Hospital NHS

Trust Department of Obstetrics & Gynaecology, 86-96 Chenies Mews, London WC1E 6HX

e-mail: Petrou@ucl.ac.uk tel: +207388 9246, fax: +207380 9864

Michael Angastiniotis

Cyprus Thalassaemia Centre, WHO Collaborating Centre, TIF Scientific collaborator

Acropolis Avenue, Nicosia, Cyprus

e-mail: m.angastiniotis@cytanet.com.cy tel: 00357 22319129, fax: 00357 22314552

誌谢

Franca Rose Demartis of Ospedale Regionale Microcitemie and Dr Helen Perry of the Thalassaemia International Federation are greatly acknowledged for their assistance in editing.

投稿人

Aphrodite Ioutradi

Head of WHO Centre Collaborating Centre on Prevention of Haemoglobinopathies,
Laikon General Hospital Centre for Thalassaemia, 16 Sevastopoulos Street,
11528 Athens, Greece
tel:0030 21 07777116/03613241/fax:0030 21 07757442/03614087

Ashraf Samavat

Head of Genetic office, Disease Management Centre,
Ministry of Health and Medical Education, Tehran/Iran
tel:009821-8822145/fax:009821-83000444

Bernadette Modell

Emeritus Professor of Community Genetics University College London,
RF & UC Medical School Dept. of Primary Care & Population Sciences,
And UCL Centre for Health Informatics and Multiprofessional Educational (CHIME),
Holborn Union Building, Whittington Campus, Highgate Hill, London N19 5 LW, UK
e-mail:b.model@pcps.ucl.ac.uk tel:0044 207 2885733/ fax:(0)020 7281 8004

Eric Jauniaux Mary Petrou

Professor of Obstetrics and Fetal Medicine, University College London Medical
School, Department of Obstetrics & Gynaecology, 86-96 Chenies Mews,
London WC1E 6HX

Gamal Serour

Director of International Islamic Center for Population Studies and Research, Al-Azhar
University, Cairo, Egypt

Piero Giordano

Clinical Geneticist, Haemoglobinopathies, & red cell diagnostics,
Dept. of Human and Clinical Genetics, Leiden University Medical Centre
Wassenaarseweg 72, 2333 AL, Leiden, The Netherlands
Tel:0031 0715276064/ fax:0031 0715276075

P.G.Natrajan

HEAD, Department of Prenatal Medicine, Nanavati Hospital,
S.V. Road, Vile Parle (W) Mumbai 400 056 India
e-mail:b.natking@vsnl.com /tel:+91 22 2 611 8000/ fax:+91 22 2 6119923

Suhaid Ahmed

Department of Pathology, PNS Shifa, Karachi, Pakistan
e-mail:suhaib@bol.edu.pk

Suthat Fucharoen

Institute of Science and Technology for Research, Mahidol University,
Salaya Campus, 25/25 M.3, Puttamonthon 4 Road, Puttamonthon,
Nakoenpathom 73170, Thailand
Tel:00662 8892555/8/4419003(ext.1314)/fax:00662 8892559/4122624

目录

序

前言

关于出版者

其它 TIF 出版物

第一章 预防的目的

第二章 流行病学

第三章 卫生教育

第四章 血红蛋白病的筛查及诊断

第五章 遗传咨询

第六章 血红蛋白病的胎儿标本取样

第七章 产前诊断

第八章 产前诊断的新进展

第九章 监督

附录 I 全球流行病学数据表

附录 II β 地中海贫血突变数据表：频率及分布

附录 III α 地中海贫血突变数据表：频率及分布

序

地中海贫血和血红蛋白病是一个与健康有关的严重问题，它给全世界数以百万计的患者带来思想上、心理上及经济上的不可估量的负担。在西方，对于地中海贫血病理学的认识及治疗已有了长足的进展。但地中海贫血的治疗目前仍是一个费用高、难度大的过程。对于众多的患者尤其是贫困国家的患者来说，更重要的问题仍然是他们对这种疾病的了解还很欠缺，治疗仍是一种不可承受的奢望。

这些问题在预防的原则一章中找到最好的答案。

25 年来，一些欧洲国家已经出现了患儿出生率大幅下降的现象，这是由于实施卫生教育、大规模筛查及遗传咨询预防方案的结果。这些国家的经验为许多地中海贫血高发的地区提供了有价值的实际操作经验。根据这些经验，其它国家也能——实际上也必须——降低发病率。本书提出了一个贯穿于“预防”之中的整体思路，它的确标志着朝向国际地中海贫血联合会（TIF）的目标迈出了重要的一步，即在全世界所有的国家建立一个与这些先进经验同样高标准的预防方案。

遗传学方面的成就已使预防成为了一个放之四海而皆准的可行选择。TIF 决定不仅要鼓励预防方案，而且还要保证已取得的经验不被遗忘——TIF 决定对那些至少能负担得起一段时间的尝试及挫折的国家提供建立一个有效的预防方案所必需的知识。

当然，预防的问题是一个困难的、涉及了道德与伦理的复杂问题。但没有人会坚称一揽子方案能通用于各地，每个国家都应先冷静分析无所作为带来的经济支出，然后再根据完善的国际准则对当地情况进行可行性研究。与疾病作战总是需要付出代价的，无论在时间上还是资源上都是如此。对 TIF 来说，重要的问题是应该支持患者家庭寻找一种方法以避免在对付严重遗传病的过程中出现的负担和痛苦……这可不是那么容易避免的小事。

作为 TIF 的主席，我对这本透彻而全面的书为 TIF 的工作做出的贡献表示欢迎，对这本书成为该领域所有相关工作的极其宝贵的资源表示欢迎。我们都欣然期待着与第一卷互为姊妹篇的下一本出版物问世，该书将介绍建立预防方案所必需的详细的实验室程序。我很乐意地代表 TIF 理事会向作者们在编纂这本出版物的过程中所付出的辛勤劳动和奉献表示最诚挚的感谢。这本书是各个领域的作者们数月努力的结晶，它反映了他们丰富的专业知识所达成的共识。

TIF 主席

Panos Englezos

前言

血红蛋白病是全球最常见的具有严重临床症状的单基因病，每年估计有 30 万患儿出生，其中大约有 6~7 万为重型 β 地中海贫血患者。然而，这些数据仅仅是一个推测。在全球许多地区由于有深度的、可靠的地中海贫血发病率流行病学研究较少，故这些数据可能是被低估及不准确的。

尽管世界上几乎所有受累的国家都建立了地中海贫血分子变异的详细分析方法，但令人遗憾的是，很多人群的纯基因频率仍难以获得。当然，这本书除了指出如何预防受累胎儿的出生之外，更重要的是要通过评估地中海贫血在不同地区流行的试点研究来提高对这种病的认识，以此达到预防的目的。

过去 25 年间，预防方案的益处在地中海沿岸许多国家已经得到很清楚的证明。本书旨在利用这些相关经验，并进一步阐明预防罹患血红蛋白病的胎儿出生所涉及的问题及方法。

作者介绍了建立预防方案的优点，概述了使得此方案真正行之有效所必需的手段——了解这种病有关的流行病学，以及建立一种符合于流行文化及宗教准则的适用的卫生教育方案。

随着对遗传病研究的继续深入，包括产前诊断在内的血红蛋白病的筛查和诊断已日益展现出预防重要性的一面。当今父母经常接触并得到既权威又复杂的信息，极大地影响了他们对遗传咨询和医务人员的需求。本书对这些观点包括与血红蛋白病筛查有关的问题做了详细介绍。

我们希望本书与其即将面世的姐妹篇、详细介绍实验室程序的第二卷一起成为公共卫生专业人员、决策者们及致力于降低单基因疾病带来的危害的科学家们有益的资料来源。当然，预防问题目前还是个棘手的问题。本书作者对这个事实持敏感态度，他们并不希望简化或极度轻视所涉及问题的重要性。

更确切地说，我们希望本书将对这个问题的讨论有建设性的贡献，同时对在预防领域里正在进行的开创性工作以鼓励。

编者

关于出版者

国际地中海贫血联合会（TIF）是一个非政府、非盈利的组织，行政人员来自世界卫生组织（WHO），代表着 91 个国家，总部在塞浦路斯尼科西亚。

TIF 对于促进公众及卫生专业人员对地中海贫血的认识起着举足轻重的作用。同时也促进了地中海贫血预防和医疗策略的制定和完善。TIF 对于国家地中海贫血协会的资助及其对地中海贫血有关的科学家及医务人员的定期的系列教育课程已在完成联合会的目标上起到了关键的作用。

作为教育课程的一部份，TIF 印制了一些针对地中海贫血的控制和临床治疗等各方面的科技资料，并译为数种语言。每年有 4 万以上的 TIF 出版物印刷品分发到各成员组织以及全世界各医疗中心的科学合作者，以及各医学院、各国卫生部门及 WHO 办公室。

除 WHO 遗传疾病实验室以外，TIF 也与国际输血协会（ISBT）、国际血液安全协会（ICBS）和 WHO 血液安全全球合作机构（GCBC）保持官方联系。

TIF 其他出版物

- 地中海贫血临床管理准则（英文、希腊文、西班牙文、阿拉伯文）
- 什么是地中海贫血（英文、希腊文、法文、西班牙文）
- 铁螯合并发症的去铁灵治疗（英文、希腊文、西班牙文、意大利文、阿拉伯文）
- 血液用具（英文）
- TIF 杂志（季刊）（英文）
- 关于地中海贫血（英文）

即将出版的 TIF 出版物

- 地中海贫血和其他血红蛋白病的预防（第 2 卷）

关于如何免费获得上述出版物的信息，请联系 TIF：

电话：+3572231929 传真：+35722314552

或 E-mail: thalassaemia@cytanet.com.cy

亦可在 TIF 网站 WWW.org.cy 免费下载上述出版物。

TIF 可提供世界各地国家地中海贫血协会及地中海贫血治疗医学中心的详细资料。

第一章 为什么要预防地中海贫血

Michael Angasfinitis

血红蛋白病是全球最常见的具有严重临床症状的单基因遗传病。据估计每年超过 30 万受累新生儿出生。其中大部分为镰状细胞病，约 6~7 万为重型 β 地中海贫血。大多数患儿出生在穷于应付由于感染和营养不良造成的胎儿和儿童高死亡率的资源匮乏的国家^[1]。所以，遗传病并未引起高度重视，患儿没有得到应有的治疗而死于孩童时期。而遗传病常被认为是不能根治的、“绝望”的疾病，治疗费用极其昂贵。地中海贫血（以下简称地贫）患者可能处于一种从未治疗的状态（实际上他们往往尚未得到诊断即已死亡）或者并未受到仔细的治疗。同时，治疗的质量与生存率和生活质量也有密切的关系。

下面几个原因说明了建立预防 β 地贫方案的重要之处：

- 在某些人群中发病率高
- 避免未经治疗的 β 地贫带来致命的威胁
- 很难为病人提供最适治疗方案，而且极其昂贵，给病人、家庭及国家的卫生服务机构带来负担

1.1 治疗与生存

地贫的最适治疗方案已经建立了多年^[2, 3, 4]，包括如下几点：

- 定期输血，使血红蛋白水平保持在 10g/dl 以上。这首先需要足够的血液供应，其次血液必须筛查以便最大限度地降低副作用及防止病毒及其他污染物的传播。这就是血库必须保持高标准的重要性所在。
- 定期螯合治疗，每周至少用药 5 天，通常皮下注射去铁灵 10 小时能获得最好的结果。这种治疗的麻烦不便是众所周知的。此外，去铁灵是昂贵的，所必需的配件也一样昂贵（如注射泵）。
- 其他支持疗法（包括心理疗法）。
- 对成年地贫患者的治疗可以预防和对付一些重要器官例如内分泌腺、肝脏和心脏的并发症。

治疗质量和治疗次数与地贫的性质与患者寿命有直接关系，然而仅有少数国家具有为患者提供这样一些治疗的资源（见图 1.1）。

重型地贫患者的可能发展途径主要有三种（见图 1.2）^[5, 6, 7, 8]。

1. 接受最适方案的治疗，如像 TIF 的“地贫临床治疗准则”一书所描述的那样。这种治疗制度可得到较长的生存期及良好的生活质量，表现为地贫人群中成年人口数量增加（见图 1-3）。这些病人现在都能自食其力、结婚及生育^[9]。然而这种治疗模式仅可见于那些自上个世纪 70 年代中期以来已能免费提供最适治疗方案的一些国家。

2. 根本未进行治疗：重型地贫导致患童早期死亡。

3. 采取过一些措施，但未彻底治疗。这种地贫患者面对的最常见的情形是不充分及不安全的输血以及未进行或进行过不充分整合治疗。对这种疾病以“折衷方案”处理在很多缺乏经费以治疗大量病人的发展中国家都是很常见的。这种方案同样会带来严重后果，包括：

- 存活期延长比较有限，通常在青春期或成年早期死亡
- 并发症增多，例如重度器官损伤和输血导致的间接感染，在这些情况下这些并发症也出现得较早
- 生活质量低下及心理负担增加
- 总的来说，提供无必要的不充分治疗或经济问题将长期困扰着患者本人、家庭和卫生部门。然而未遵从最适治疗方案，但实行起来较困难的治疗途径也一样有着这些困扰^[10]

1.2 最适治疗方案所需的经费

医疗机构总是尽最大的努力来治疗病人，但是这些都需要经费以及对已知疾病的预防知识。为重型地贫患者制定一个详细的治疗服务计划，必须具备必要的流行病学信息，包括：

- 全国的患者数量
- 患者的年龄分布
- 每年出生的新增患者的数量

如果由于更多的患童的出生，患者的数量每年均在增加，那么仅为现有的患者提供经费是不够的。另外，由于接受了充分的治疗，病人存活的比率增加了，接受资助的病人的数量也出现了累积的增加。

地贫治疗的主要要求之一是输血。在人口少、地贫发病率相对较高的塞浦路斯的那些没有预防措施的地方，将面临如何获取充足的血液供应的问题，这是一个很典型的例子。目前，塞浦路斯总人口 60 万，约有 600 个输血依赖型的患者（即千分之一的人口）。目前这 600

个几乎都是成年人的患者，每年约消耗 2 万单位的血液。假如最新的预防措施不适当，塞浦路斯估计每年将出生 50 个罹患地贫的婴儿。其结果是在 20 年的时间内，需要 4 万 6 千单位的血液才能满足地贫患者的需要，额外多需要 2 万 4 千单位。这就是说，到 2021 年将总计需要 7 万单位的血液——即在 40 万献血者中可能有 17.5% 的献血者至少每年需要献血一次才能满足需求（见表 1.1 如何计算血液需求计划增加的实例）。

简单来说，在目前预防措施未建立的情况下，塞浦路斯将来将没有充足的血液供应给需要最适治疗的地贫患者——而且用于整合的费用或治疗的总费用，也同样是超出预算的。意大利、希腊和塞浦路斯等在上个世纪 70 年代建立起来的预防措施已经收到了立竿见影的效果，今天，很多正在开始着手治疗地贫患者的发展中国家也经历着同样的体验。

预防的最基本的原因之一就是为了使重型地贫患者能够健康存活。

1.3 说明预防措施必要性的更多理由

然而不能满足现有患者需要的忧虑还不是证明预防措施重要性的唯一理由，其他的理由还有：

1.3.1 公共卫生

预防是良好的公共卫生做法。1978 年，140 个国家的卫生部长签署了阿拉木图声明：“2000 年健康就是一切”。声明公认存在着对包括预防和控制“区域性地方性疾病”的初级卫生保健机构在内的需求。这就包括例如遗传性疾病在内的非传染病。声明敦促各国政府制定国家政策、战略和行动计划，以发起及维持作为综合公共卫生设施的部分初级卫生保健。卫生当局已进一步召开了关于以地贫为地方病的地区如何预防地贫的正式会议。

阿拉木图声明强调应通过初级保健公共设施来进行有效的遗传预防。为此，任何个人或每一对夫妇都有关于自己可能有罹患地贫的风险的知情权。综上所述，做出与这些风险有关的知情选择是他们的权力^[1]。然而，做出知情选择的能力取决于下列因素：

- 卫生教育（见第 1 章所述）
- 筛查（见第 4 章所述），筛查应在每对育龄夫妇的生育期早期进行，以便实施一级预防
- 遗传咨询（见第 5 章所述）
- 产前诊断（见第 6 章所述），该措施可增加受检夫妇的选择范围

在大多数国家，一级卫生保健机构缺乏基础，尤其是缺乏经过培训的、能有效进行遗传预防工作的工作人员。然而，这些机构的发展将保证风险夫妇能纳入干预的范围并且得到公

正的保健。

1.3.2 成本效益

预防是一种付出小而效益大的措施。塞浦路斯几年前的计算结果表明，对于地贫人群来说，8周的预防费用相当于1周的治疗费用^[12]。人群筛查的策略可以通过费用比较低廉的血液学技术实施，如第4章所述。通过分子技术进行的产前诊断可能费用较高，但仅有少数夫妇需要这种服务（见第7章）。

成本效益分析是一种能促进推广预防性原则和计划服务的有用方法，一个有用的例子是以色列卫生部提交的报告^[13]，该报告核算出一个地贫患者出生后生存期内的卫生保健费用相对于一个全国性筛查方案的费用之比为4.22:1。

WHO提供了血红蛋白病的治疗和预防费用估算简易方法^[14]；其中很多细则非常实用^[15-16]。

1.3.3 家庭的负担

减轻地贫高发地区家庭负担的决定是促进最早期预防措施建立的关键。必须记住，在管理措施（包括治疗和预防）建立之前，很多家庭不得不为失去孩子而哀痛。很多母亲由于担心再次怀上一个罹患地贫的孩子而终止妊娠——而这些被终止的妊娠中有3/4是健康的后代^[17]。另外，当没有建立足够的卫生设施以满足患者的全部需要时，家庭成员的心理负担也加重了。——例如，在没有充足的自愿献血系统的地方，允许地贫家庭自发寻找献血者，甚至给献血者报酬。

25年前在地中海沿岸的一些国家引入的预防措施已被证实在限制患儿出生数量方面十分有益。最主要的受益人还是地贫患者，他们的生活质量和寿命均有极大的改观。

图 1.1 按人头计算的卫生支出，以国际金融市场美元价格计

**数据来自 2000 世界卫生报告，显示了健康支出上的巨大差异，这必然会
影响保健的质量。**

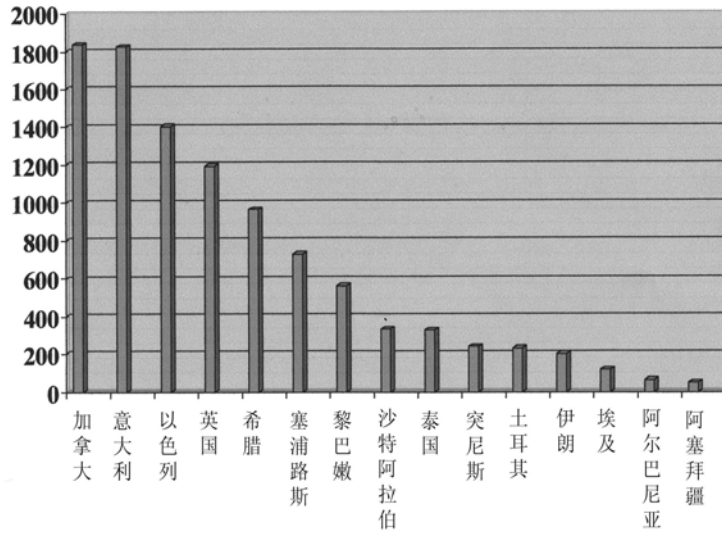


图 1.2 生存曲线 (由 Modell 等资料复制, 1992)

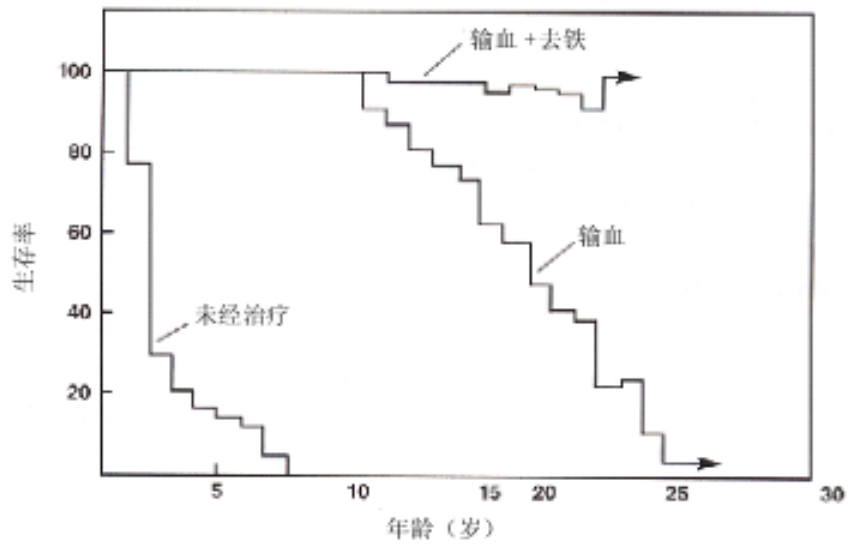
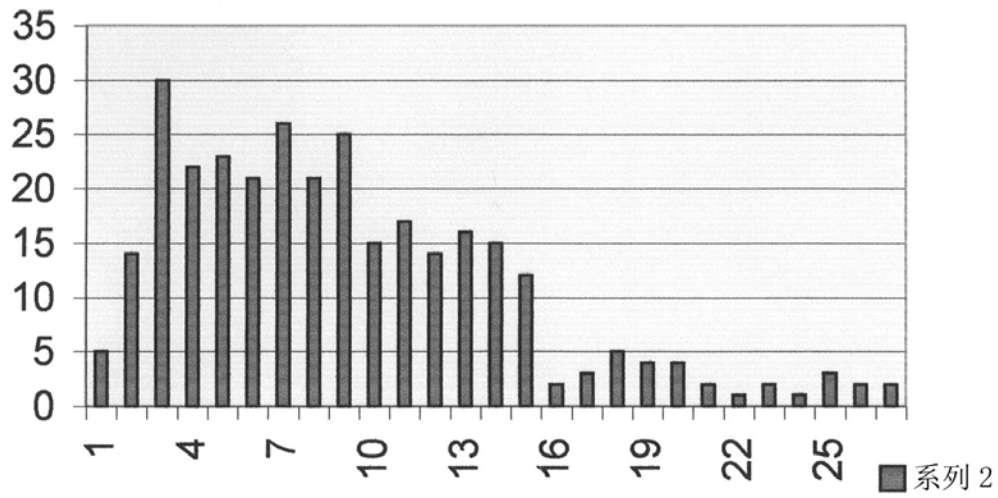
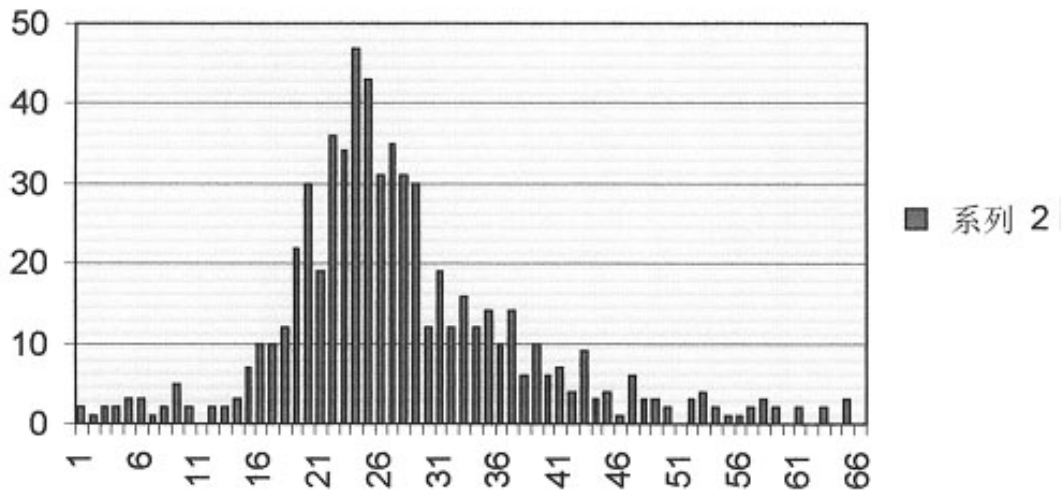


图 1.3

未采取预防措施的地贫年龄分布



具有充分治疗和预防措施的国家地贫年龄分布



由第 1 个图可知患者主要为婴幼儿（无预防措施）或儿童（早期死亡）。

由第 2 个图可知峰值出现在早期，大部分患者为 25 岁左右。

图 1.4 血液需求 单位/年

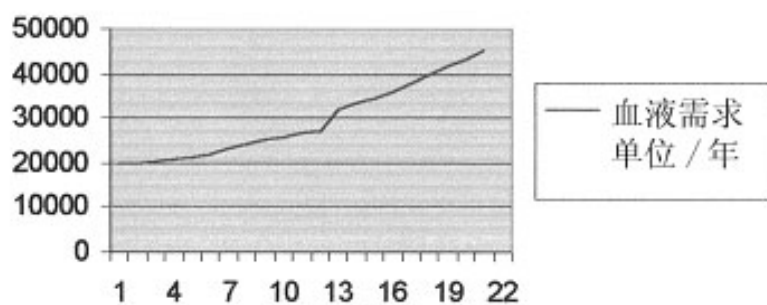


表 1.1 随着病人的累积增加，将来所需血液的简单计算方法

无预防措施的地贫人群增加的血液需求

Year	Yearly Demand	Yearly Demand	Yearly Demand	Yearly Demand	Yearly Demand	Total Demand
2001	600					20000
2002	650					20000
2003	700	50				20500
2004	750	100				21000
2005	800	150				21500
2006	850	200				22000
2007	900	250	50			23350
2008	950	250	100			24200
2009	1000	250	150			25050
2010	1050	250	200			25900
2011	1100	250	250			26750
2012	1150	250	250	50		27350
2013	1200	250	250	100		31950
2014	1250	250	250	150		33300
2015	1300	250	250	200		34650
2016	1350	250	250	250		36000
2017	1400	250	250	250	50	38000
2018	1450	250	250	250	100	40000
2019	1500	250	250	250	150	42000
2020	1550	250	250	250	200	44000
2021	1600	250	250	250	250	46000

参考文献

1. Weatherall D.J., Clegg J.B.: 'Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem'. *Bulletin of the World Health Organisation* 2001, 79(8):704-12
2. Modell B.: 'Total management of Thalassaemia major'. *Archives of Diseases of Childhood* 1977, 52:485-500
3. Guidelines for the Clinical management of Thalassaemia. Thalassaemia International Federation. April 2000
4. Wonke B.: 'Clinical management of beta Thalassaemia major'. *Seminars Hematology* 2001, 38(4):350-9
5. Modell B., Letsky E.A., Flynn D.M., et al.: 'Survival and desferrioxamine in Thalassaemia major'. *British Medical Journal* 1982, 284:1081-4
6. Borgna-Pignatta C., Rugolotto S., De Stefano P., et al.: 'Survival and disease complication in Thalassaemia major'. *Annals of the New York Academy of Science* 1998, 850:227-231
7. Calleja E.M., Shen J.y., Lesser M., et al.: 'Survival and morbidity in transfusion dependent Thalassaemia patients on subcutaneous deferoxamine chelation: nearly two decades of experience'. *Annals of the New York Academy of Science* 1998, 850:472-3
8. Gabutti V., Piga A.: 'Results of long term iron chelation therapy'. *Acta Haematologica* 1996, 95:26-36
9. Skordis N., Christou S., Koliou M., et al.: 'Fertility in Female Patients with Thalassaemia'. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism* 1998, 11:935-43
10. Modell B., Khan M., Darlison M.: 'Survival in beta- Thalassaemia major in the UK: data from the UK Thalassaemia Register'. *The Lancet* 2000, 35:2051-2
11. Modell B., Harris R., Lane B., et al.: 'informed choice in genetic screening for Thalassaemia during pregnancy: audit from a national confidential inquiry'. *British Medical Journal* 2000, 320:325-90
12. Angastiniotis M., Kyriakidou S., Hadjiminis M.: 'How Thalassaemia was controlled in Cyprus'. *World Health Forum* 1986, 7:291-7
13. Ginsberg G., Tulchinsky T., Filon D., et al.: 'Cost-benefit analysis of a national Thalassaemia Prevention Programme in Israel'. *Journal of Medical Screening* 1998, 5:120-6
14. Guidelines for the control of haemoglobin disorders. World Health Organisation Hereditary Disease Programme. 1994
15. Modell B., Kuliev A.: 'Scientific basis for Cost-benefit analysis of genetic services'. *Trends in Genetics* 1993, 9:46-52
16. Karnon J., Zenner D., Brown J., et al.: 'Lifetime Treatment costs of α -Thalassaemia major'. *Clinical Laboratory Hematology* 1999, 21(6):377-85
17. Modell B., Ward R.H.T., Fairweather D.V.I., 'Effect of introducing antenatal diagnosis on the reproductive behaviour of families at risk for Thalassaemia major'. *British Medical Journal* 1980, 280(6228):1347-50

第二章 流行病学

Michael Angastiniotis

为了建立地贫患者的治疗和预防设施，必须制定一个完善周密的全国性公共设施计划。例如一个包括说服卫生部门成立受控于其管理及计划的地贫机构，并且给予获得国家专款的政策支持^[1]。

然而，在一个对地贫毫无认识的国家或地区建立一个有效的服务机构是不可能的：因为流行病学资料必须在最早期获得。

在一些国家，为了满足患者需求，已经出现了一些地方性服务机构和措施——即医疗服务机构或大学临床部。这些机构也许可作为提供地贫资料的有用来源地，并可作为一个完善的服务机构的起点。然而，最终的目标应该是制定一个能惠及全国地贫患者的全国性方案。

2.1 常见血红蛋白病的世界分布

β 地贫

β 地贫是由于基因突变导致 β 珠蛋白链合成减少或不能合成所引起的。目前约有 170 种这类突变被确定（见附录 II）。大部分纯合子症状严重，需要定期输血才能维持生命。这就使得 β 地贫成为全球性最大的单基因病之一。

据估计世界人口的 1.5% 即至少 8 千万至 9 千万人是 β 地贫的携带者，这样每年就有 6 万个新生患儿出生。然而根据 TIF 资料，全世界仅有 10 万个存活的地贫患者登记在册且接受治疗。这说明大部分重型 β 地贫患儿未经诊断就死于儿童期，这就反映了一个这样的事实，即大部分病例发生在世界上那些无法提供完善的治疗服务的地区。

东南亚地区（该地区包括印度、泰国和印度尼西亚）的地贫携带者约占全世界携带者的 50%——约有 4 千万人——几乎一半为纯合子。在发达国家，欧洲和美国的携带者仅占全球携带者的 10~13%!

α^+ 地贫

全球约有两万五千万 α^+ 地贫携带者，发病率最高为印度、东南亚和非洲（或者祖籍非洲的人群）。在巴布亚新几内亚至北部沿岸和 Andhra Pradesh 的印第安州的部落社区流行率超过 80%。

在北欧 α^+ 地贫携带者没有地中海沿岸和中东地区那么常见，发病率大约只有 5-10%，只能发现散在病例（ $\cong 1/1000$ ）。

全球约有两千六百万 α^0 地贫携带者——主要分布于东南亚地区的人群中，发病率为 5-10%。 α^0 地贫在地中海地区（主要在塞浦路斯、希腊、土耳其和意大利南部）和中东的部分地区也有发生，发病率约为 1%，而在北欧则非常少见。

确定 α^+ 地贫和/或 α^0 地贫携带者的地区性相对发病率是任何预防措施的重要部分，可以预测可能流行的 α 地贫的表现类型。在 α^+ 地贫和 α^0 地贫双重携带者人群中，如东南亚很多地区、中东和地中海沿岸，可见到 HbH 病患者。然而这种病在印度、非洲地区和北欧却是罕见的。当地 α^0 地贫携带者亦罕见。

在 α^0 地贫携带者最常见的东南亚地区，有大量的 Hb Bart's 水肿胎儿综合征的记录，然而，HbBart's 水肿胎儿综合征在 α^0 地贫携带者较少见的地区——包括中东和地中海沿岸却仅有偶发的病例报道。

HbS（血红蛋白 S 病）

HbS 在非洲的部分地区（喀麦隆、几内亚、扎伊尔、乌干达和肯尼亚）、沙特阿拉伯东部的 Quafif 绿洲和印度的部分地区，发生的基因频率达到 20%。镰状细胞基因在尼泊尔、地中海沿岸一些国家，如土耳其、黎巴嫩、叙利亚和希腊、葡萄牙和北非、中东和伊朗，据报道以 5% 的较低基因频率出现。

HbS 突变也发生在包括了另一种错义突变而导致产生一种具有 2 个被替换氨基酸的变异血红蛋白 β 基因。目前已知 6 种这样的变异：

即 HbS Antilles、HbC Ziquinchor、HbC Harlem、HbS Providence、HbS Oman 和 HbS Travis，这些变异仍保留其镰状地贫特性，有的病例则有不同于 HbS 的电泳泳带。

HbE

血红蛋白 E（HbE）是东南亚的特点，也是最具地区局限性的一种病。HbE 是东南亚最常见的异常血红蛋白，尤其在高棉人、老挝人、说 Mou/高棉语的人、中华人民共和国广西壮族人以及印度人和斯里兰卡人。然而，HbE 发病最集中的地方在泰国、老挝及柬埔寨之间的边境地区，该地区被称为 HbE 的三角地带^[12]，据估计约有 3 千万东南亚人为 HbE 杂合子，一百万人为 HbE 纯合子。

2.2 制定预防方案需要什么样的流行病学资料

提出正确的问题和获取建立一个合理的服务机构所需的资料是很重要的。

Modell^[2]使用了“服务指南”这一术语来描述流行病学数据，这些数据有助于计划携带者的筛查、咨询、产前诊断及治疗服务。这些指南以调查所获得的资料为基础，这个调查中最重要的是被调查人群的地贫基因频率及任何其他有意义的血红蛋白病基因频率。

为了描述方便起见，这些资料可以分为四个类型方面：

- (i) 整体统计学数据
- (ii) 流行病学调查——基因频率、变异、血液学数据
- (iii) 预防服务指南
- (iv) 建立患者服务机构的指南

2.3 整体统计学数据

一个国家的整体统计学数据对于监控方案（预防和治疗）的各方面是非常有用的，最有用的基本数据是：

- 人口数
- 人口特征——即是同一种族的人群还是有着不同地贫基因频率及对监控方案有着不同反应的少数民族、宗教群体或社团组织？
- 原始生育率（每 1000 人的生育数）——这是一个有助于纯合子出生率预测及产前筛查、产前诊断和新生儿筛查服务计划的综合指标。
- 婴儿死亡率（IMR——婴儿死亡率指同一年中每 1000 个活产婴儿在生命的第一年中死亡的比率）。这一指数受医疗服务机构的效力和质量以及社会经济因素的影响，如果婴儿死亡率高，卫生部门就趋向于优先考虑死亡率高的更突出的原因，例如感染。而当 IMR 降低至 40/1000 左右时，遗传病和地贫才被引起重视。所以当卫生部门处理事务时对这一指数是心中有数^[3]。
- 财政因素，例如人均收入、国内生产总值（GDP）、人均 GDP、国民生产总值（GNP）及人均 GNP 的增长等。用于卫生事业的总支出占 GDP 的百分比及人均卫生保健总支出也应该心中有数。这些指数有助于了解一个国家处理地贫问题的能力（见图 1-1）。
- 人群中近亲率是非常重要的，近亲结婚成为习俗的地区导致隐性遗传病发病率升高。这个问题在阿拉伯国家（按 WHO 行政分区的地中海东部地区）及南亚地区尤其重要，在南亚地区，第一代表亲之间结婚占 30%，总的近亲结婚率约为 60%。

如何获取这些资料

政府年度报告公布每年的人口统计学数据，这些数据亦可从官方的报告或国际机构例如世界卫生组织获得。

2.4 流行病学调查

在有能力的血液学实验室的帮助下，可以通过检查收集到最主要的数据。检查得到的原始数据用于建立人群的异常基因频率。其次包括获取更完整的图像，如：

- “微观图”，如果该人群不是同种族的，此图非常重要。
- β 地贫携带者血液学特征。很多人群存在着不同基因的相互作用，这种作用可能会改变杂合子的惯常血液学表现。见第四章所述。

上述资料可使携带者的发生率得到更准确的评估。这些资料也对筛查方案中特殊目标人群中携带者的血液学参数检测提供了一个指导。流行病学调查是鉴定一个人群血液学特征率的唯一的良机。所以，为了发现携带者所有可能的血液学变异而检测足够数量的标本也是很重要的（例如，如果人群的 3% 是携带者，那么 1/1000 的标本正好是 30 个病例，反之，即 3000 个标本中将出现 90 个携带者）。

样本

很多人群的调查已经实施，大多数情况下样本量为 1000 或稍少。但样本量越小，越可能带来选样误差。同样地，样本选择的“偏差”并不能代表整体人群。由于目标人群选择的方便性和易获得，这种偏差常会出现，以取代反映整体人群特性的亲缘关系程度。例如，如果研究团队出于易于接近的原因挑选了大学生作研究对象，那么就应认真考虑并保证这个被选择的人群具有种族的和/或社会地位的代表性。

目标样本人群应根据其能否充分地代表整体人群来界定。使用根据容易接近——例如由调查范围内所包括的所有地区的学校提供的 17-18 岁的中学毕业生做为内定标准，这个做法是可接受的。部队的士兵或者献血者如果来自社会的不同阶层也可作为样本人群。在一些只有同族人群的小国，如塞浦路斯、马耳他等选择 1000 人的随机样本即可。而在大的、多人种的国家，目标人群应详细限定为几个亚群（此过程称为分层），从每一个亚群中选择独立的随机样本，最后，由确实能代表该人群的每一个亚群按比例构成总样本。这一技术既可提供总人群的资料，又可提供每个亚群之间的差异。

例子：

在阿曼这个 150 万人口的国家，75% 的地贫病例发现于当地 200 年前来自 Baluchistan 的少数民族成员之中。这种情形就是一个关于分层地区如何有助于建立合理的直接筛查方案的很好的例子^[4]。

然而，在北欧和北美的一些大国，情形就复杂得多。在那里，地贫和血红蛋白病并非本

土人群的特征，而是由较近代的移民所传入的。但是，经济、宗教、文化和其他因素常使得这些移民尤其是第一代的移民不能够充分地利用东道国的卫生服务设施。精确的流行病学信息的需求应该放在首位，因为在该亚群中存在着由于新生患儿累积而必须发展相应服务机构的问题。

纯合子出生率

一旦携带者频率被确定，地贫患者的出生率即可使用单基因隐性遗传病的 Hardy-weinberg 等式来计算。该等式依赖于下列假设：

- a. 该人群是随机婚配的，即非近亲结婚。
- b. 未经人工选择（例如一个进行中的预防方案），未出现遗传漂变或频繁的自发突变。

如果上述假设成立，则等式如下：

p = 地贫基因频率（1/2 携带者频率）

q = HbA 基因频率 = $1 - p$

p^2 = 纯合子出生频率

$2pq$ = 杂合子频率

q^2 = 纯合子正态频率

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

例如： 在一个携带者频率为 3% 的国家，基因频率为 1.5% 或 0.015

- $p = 0.015$ $q = 1 - 0.015 = 0.985$
- 纯合子出生率 = p^2
 $p^2 = 0.000225 = 0.0225\%$ 或 $0.225/1000$
- $2pq$ = 携带者出生率 $0.02955 \sim 3\%$
- 正态出生率 = $q^2 = 97\%$
- $p^2 + 2pq + q^2 = 0.000225 + 0.02955 + 0.970225 = 1$

如果该国每年有 50 万人出生，那么每年将出生 112.5 个纯合子个体。

一种粗略的计算方法是：

携带者 = 人群的 3% 或 1/33

携带者之间婚配= $1/33 \times 1/33 = 1/1089$

患胎= $1/1089 \times 1/4 = 1/4356$

$500000 \times 1/4356$ 114.8 出生新生患胎/每年

在两种情况下这些计算方法必须修正：

1、两种血红蛋白病在人群中可能相互共存，例如 β 地贫和 HbS 病或 β 地贫和 HbE 共存。

在两种疾病共存的病例中，Hardy-weinberg 等式仍是适用的。可使用携带者频率的总和来计算。例如，当 β 地贫与 HbE 共存时， $P = \beta$ 地贫联合 HbE 的频率（例如，如果 $\beta = 3\%$ ，HbE=3.5%。那么 $P=6.5\%$ ）。利用这个规则，发展了名为 noruosrown 的修正计算方法（图 2.1，复制于 WHO 出版物“血红蛋白病控制准则”1994，B.Modell）。

2、在血缘关系繁杂的地方。在这些地方近亲结婚很常见，出生纯合子的频率在已知携带者频率的基础上增加了，血缘的重要性与基因频率负相关。如果突变是罕见的，那么一个携带者与自己家族的另一成员结婚，后者很可能是一个来自共同祖先的具有罕见遗传特性的携带者。而来自一般人群的配偶，则不太可能带有同样的罕见基因^[7-8]。

如果突变是常见的（就象地贫在阿拉伯人群中那样），那么一个携带者很可能在整体人群中挑选到的配偶也是携带者，所以近亲结婚对纯合子出生率的影响并不明显。了解被研究的人群中近亲结婚频率对校准预期新生患儿的计算是很重要的。为了有助于这些计算，Modell 已经绘制了携带者频率与第一代表亲婚配盛行地随机婚配所致患胎间的关系表现图（见图 2.2 和 2.3）。

在一些近亲结婚习俗成为惯例而非例外的一些地区，尤其是以农业或游牧业为主的地区，要考虑世俗的近亲结婚习惯，这个问题必须引起注意。随着时间的推移，在另一些国家中，由于都市化和妇女独立性的增强所带来的社会变革可能意味着近亲结婚率降低。然而，在此期间无论如何也没有理由干涉这种遗传背景下的习俗。在希腊和塞浦路斯，甚至二级血缘关系婚配都是忌讳的，但这两个国家地贫发病率却比任何一个以近亲结婚习俗为惯例的阿拉伯国家要高得多。实际上，家族群体聚居的情况事实上对很多功能有一种易化效应，包括：

- a) 咨询——配偶之间将熟悉纯合子状态所以能更好地了解赋于他们夫妇选择的重要性
- b) 筛查——通过寻找罹患个体家系中的携带者（水平筛查），接受咨询的个人或配偶的收获将更大
- c) 为骨髓移植寻找 HLA 匹配供体的几率将更大

2.5 预防服务机构指南

人口统计学数据和基因频率应允许其他的服务指导机构获取，这对于预防方案的规划将

是有用的。例如：

- 每年的出生数量：这将预示着每一年龄段中有多少个体将进行年度筛查——无论是新生儿镰状细胞病筛查还是青年成人/毕业生β地贫筛查（见第4章）。
- 每年妊娠总数：如果采用产前临床筛查政策，这一点是很重要的。
- 每年携带者年度出生率和携带者年度妊娠率。这些数据可由基因频率得出并可提示需要进行多少人次的咨询，对大人群来说，这种咨询在个别的面对面（一对一）场合并不易完成。其他方式包括媒体、散发传单或广告，在进行胎儿期临床筛查时都是发现携带者所需要的。
- 年度风险夫妇和风险妊娠，可提示专家咨询和产前诊断的需求。每一对风险夫妇均需在专用的场所与一位专家进行咨询。这意味着需要足够数量的专家和足够的咨询时间。
- 年度产前诊断例数，可通过国家登记处获得，有助于计划将来的服务机构及监测目前的服务，事实上就是一个服务机构的经费预算。

2.6 关于建立患者服务机构的信息

地贫患者的生存率和生活质量取决于最适治疗的有效性，这可由一个有计划的、结构合理的服务机构里的各方面的专家团队提供。这样一个服务机构的合理组建需要下列信息：

- a. 每一个国家的地贫患者总数。
- b. 地贫纯合子及其他因血红蛋白分子异常而导致的重型综合症的年度出生率。这将预示着在缺乏预防方案的情况下为了满足逐年增加的需求而需要增加的机构比率。如果建立了预防方案，每年记录的受累新生儿数将有助于评估履行策略的效力，如果没有适当的预防方案，就可通过将受累新生儿数与预期数进行比较来完成。
- c. 患者所在地区——患者可能集中在某个地域或人群，所以应建立相应的诊所。
- d. 患者的种族及语言特征——在一些国家中某些族群比其他人群更易受影响（例如阿曼的 Belusnis 及英国的塞浦路斯移民和巴基斯坦移民）。
- e. 患者年龄分布——这是有助于评价临床服务机构是否充足及预防是否有效的一个非常重要的指征（在较年青的群体中没有或很少病人），第一章图 1.3 显示了没有服务机构的国家及一个有充分的控制方案的国家的患者年龄段之间的区别。

如何获得信息？

上述所有数据均可取自国家或地方的患者登记处^[10]，这些登记处可提供每一患者的基

本资料，例如姓名、地址、治疗地、出生日期及种族等等。此外，还有如象输血前 Hb 水平，输血的比率，螯合剂治疗及基因型频率（如果能获得）等资料也将是临床职责评估的重要帮助。

在很多的国家，大部分患者未到中心专业诊所进行登记。在这些情况下，必须通过相当大的努力来建立一个国家级的登记处，这可能需要卫生部门的协助，需要使用一些收集于发到周边医院、诊断实验室和血库的问卷资料的数据。登记处一经建立，就必须认真维持并使之现代化，记录所有的新病例及死亡病例（包括死亡的年龄和原因）。

其他与患者的治疗质量及对监测服务效果有关的资料包括：

- a. 全国总的年度费用、去铁灵的用量及其他螯合剂的用量。螯合与输血是治疗地贫最昂贵的方面。上述年度资金支出可以预算当前及将来的费用。
- b. 年度供血总量及地贫患者使用量的比例。
- c. 因输血而感染病毒例如乙肝、丙肝及 HIV 的供血者及患者的全国流行病学数据统计——这是需要改善供血技术及改良血库设施的一个有用的指标。
- d. 随着越来越多的病人选择了更具安全性的治疗方案——如造血干细胞移植、骨髓移植及脐血移植，甚至目前已开始使用的外周血移植，故移植登记也是必须的。移植感染的病人结局和此后的数据均包括在患者的登记内容里。

图 2.1 基因频率与纯合子出生之间的关系，无血缘关系配偶或 100%第一代表亲配偶

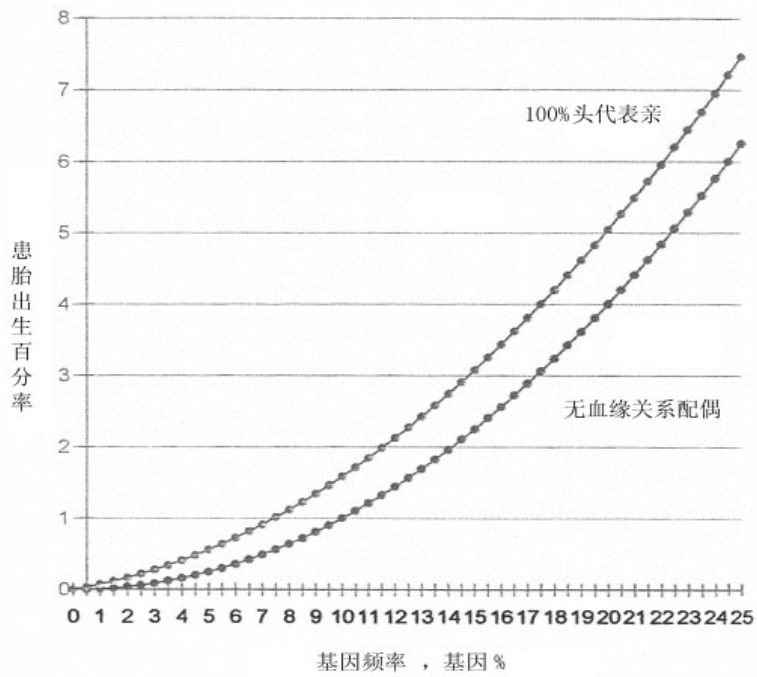


图 2.2 携带者频率和患胎出生率：少见隐性

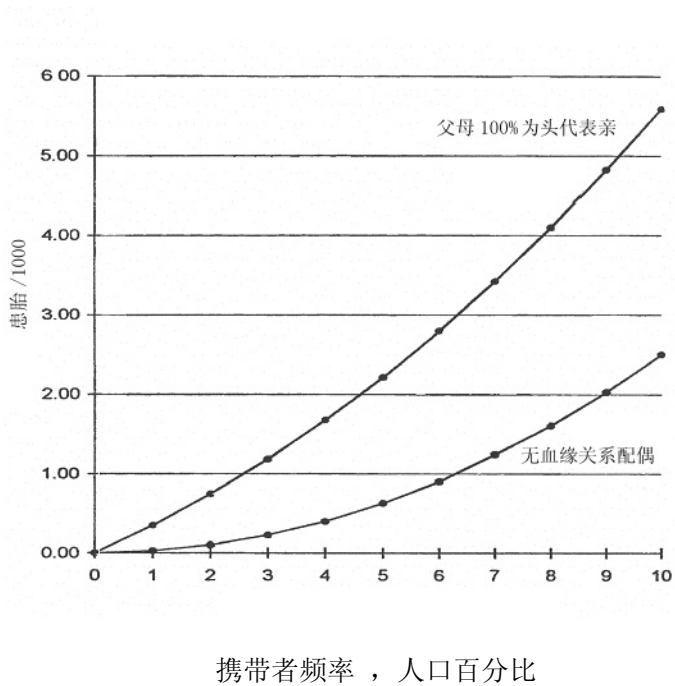
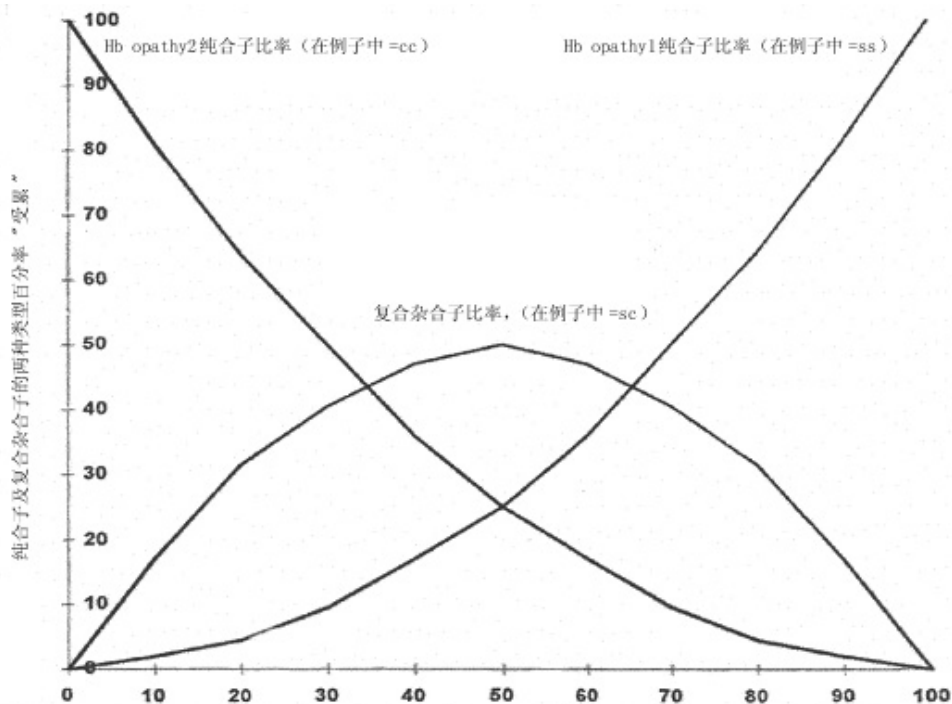


图 2.3 纯合子相关频率及人群中存在 2 种血红蛋白病基因的复合杂合子相对频率



参考文献

1. Angastiniotis M., Kyriakidou S., Hadjiminis M.: 'How Thalassaemia was controlled in Cyprus' World Health Forum 1986,7:291-7
2. Angastiniotis M., Modell B., 'Global Epidemiology of haemoglobin disorders.' Annals of the New York Academy of Science 1998, 850:251-69
3. Primary health care approaches for Prevention and control of congenital and genetic disorders. Report of WHO meeting, Cairo, Egypt, 6-8 Dec. 1999. WHO/HGN/WG/00.1
4. White J.M., Christie B.S., Nam D., et al: "Frequency and clinical significance of erythrocyte genetic abnormalities in Omanis". Journal Medical genetics 1993,30:396-400
5. Petrou M.: "The UK control Programme for the haemoglobin disorders". Foetal and Maternal Medicine Review 1994,6:191-201
6. Modell B. et al: "Audit of prenatal diagnosis for haemoglobin disorders in the United Kingdom: the first 20 years". British Medical Journal 1997,315:779-84
7. Modell B., Kuliev A.M.: "Social and genetic implications of customary consanguineous marriage among British Pakistanis". Galton institute Occasional Papers, Second Series 1992,4:
8. Bittles A.H.: "The role and significance of consanguinity as a demographic variable". Population and development Review 1994,20:561-83
9. Ala'din A., Modell B.: Community Control of Genetic and Congenital Disorders". EMRO Technical Publications 1994 Series 24
10. Modell B., et al: A national register for surveillance of inherited disorder: beta- Thalassaemia in United Kingdom" Bulletin of the World Health Organisation 2001,79:1006-13
11. Weatherall D.J.: The thalassaemia syndromes. Oxford: Blackwell Science, 2001
12. Geographic distribution of hemoglobin variants in human population, vol.2, Florida: CRC Press

Inc.,1986;111-27

第三章 卫生教育

Androulla Eleftheriou

卫生教育在任何疾病预防措施中，都起着重要的作用。如象那些最先进的地贫筛查方案，以加拿大（蒙特利尔）、撒丁岛、希腊和塞浦路斯为例，这些方案获得成功很大程度上得益于与之同步的良好的卫生教育^[1]。

蒙特利尔的地贫预防方案是非常成功的。它建立在遗传咨询及家族性黑蒙性痴呆的公众知情方案的有关经验之上。在这方面同样成功的地中海沿岸国家中，地贫预防方案则以筛查、充分的教育和咨询为基础^[2]。例如撒丁岛筛查方案，包括一个主要的公众教育启蒙。在这之后据报道大部分配偶对地贫有了充分的认识——通过大众媒体了解（约 44%）；通过全科医生了解（31%）或通过产科医生了解（23%）。

在为期一周的年度地贫专题系列活动开展的同时，类似的公共教育方案已在塞浦路斯建立起来。包括内科医生、儿科医师、妇产科医生、家庭计划协会以及社会工作者在内的大量卫生工作者的参与，显然这是公众知情方案取得成功的重要因素。

与此相比，在那些没有经过充分的公众教育就推广筛查项目的地方——譬如美国就直接以立法的形式规定了镰状细胞病的筛查——其结果是公众对这些疾病产生了极大的恐慌，它们被视为不光彩的事情，而且患者无论在求职方面或是购买健康保险方面都受到了不公正的待遇。

目前所面临的最大挑战是如何制定和实施卫生教育政策，我们不仅需要认真参考那些在这方面得到认可的国家在预防重型地贫方面取得的经验，还需要参考当地文化、宗教和社会因素。事实上，要在英国、德国或是美国这样的工业化国家实行成功的公众教育将会困难得多，那里罹患重型地贫的人群正趋向多种族化，因此教育方案应该对那些不同语言、不同宗教信仰、不同区域以及不同文化水平的人均适用。对于某一特定人群，不同的教育程度和文化水平——甚至是不同的方言——都有可能极大地影响方案实施的效果，这就导致服务机构往往不能直接接触到所有的罹患人群。人们越来越多地把教育方式从书面资料转变成适当的语言和方言，制作视听材料及建立工作站，以试图消除这些人群的筛查和产前诊断方案参与率的差异。

地中海沿岸很多国家的经验证明成功的血红蛋白病控制方案应该留出方案总预算的 10%左右用于教育材料的制作、发行、发放及专业继续教育培训^[1]。

过去只有少数发展中国家支持社区教育和专业人员教育方案的预防措施。

然而，近年来由于很多发展中国家的公共卫生服务的改进，尤其在严重传染性疾病的控制方面的改进，促使国家和卫生部门对预防遗传病的重要性提高了认识。这些年来，世界卫生组织（WHO）和国际地贫联合会（TIF）把时间和重要的财政资源重点放在有关促进和支持这些与国家卫生部门和地贫协会合作的方案之上。这些方案的成功很大程度上取决于政府及宗教领袖、教育组织如大学、中学和学院以及——在协会存在的地方——地方患者/父母地贫协会和作为一个整体的社会的积极参与。一个有效的卫生教育方案目的应该在于以一个清晰的、可行的计划来对重型地贫的预防和临床治疗提供可靠的、准确的最新信息。成功管理方案的关键除了筛查、遗传咨询和产前诊断之外就是卫生教育。当然，在地贫这种疾病相当常见的、人口相对较少的、种族单一的人群中建立一个有效的方案是比较容易的。而在多民族的大国建立一个全国性的方案则困难得多。所以，建立一个有效的方案需要国家卫生部门、卫生工作者和专家中心通力合作^[5, 6, 7, 8]。

3.1 专业教育

关于卫生教育，专业人员们创立了成功的管理方案的原则——让公众知情并及时给政府和公共卫生官员提出有关的当地需求以及在 WHO 准则和国际经验的基础上建立预防方案的方式的建议。接受专业遗传病培训的卫生专业人员的范围，无论是部分的应届毕业生和/或历届毕业生和/或在职人员培训都应包括在内，由此而决定了信息能在很大程度上传递到其他的群体。

最近几年间的分子遗传学及相关技术的突飞猛进已使人们对该病的遗传因素有了相当的了解。其结果是，巨大的推动力保证了新的发现为卫生专家们所接受，而反过来专家们又能使有关的目标人群知情。

何时开始遗传学培训？

很多发达国家最近已着手回顾医学院校的遗传学教学，透露了一些差异及对主题的不够重视^[9]。在一些案例中，现已开始采取措施充实及更新课程。在发展中国家，遗传病作为公共卫生问题已迅速地暴露出来。在遗传学这个迅速发展的领域落实可行的培训仍是迫切的任务。

医学遗传学课程的目标应该在于为医科学生提供基础知识和洞察力，包括：

- (a) 健康与疾病的遗传机理，应用于诊断、预防及治疗的新技术
- (b) 当地人群中常见遗传病的流行现状及管理和预防的策略
- (c) 社区内能获得的遗传学服务、运作方式及这些服务的改进
- (d) 遗传咨询的基本原则和方法，包括直接与间接咨询

(e) 目前预防措施的伦理及实践的方方面面。这可能包括初级筛查、产前筛查及新生儿筛查及产前诊断。

除了医生之外，很多其他的卫生专家常常充当咨询者的角色，同时为社区成员提供心理帮助。所以，如何将遗传学知识融合到能在将可靠而最新的信息传播给公众的过程中起着关键作用的护士、助产士等卫生工作者的核心课程之中，是一个不可动摇的主题。

为大学遗传学专业毕业生提供继续教育也很重要。但是，目前能提供这种培训——即使是血红蛋白病专科医生提供这种培训的国家也很少(著名的例子包括英国、尼日利亚及南非)^[10]。在那些已意识到重型地贫及其他严重遗传病是严重且紧迫的主要公共卫生负担的国家，国家卫生部门应当投入特别的精力来为卫生专业人员建立适当的在职教育培训，可通过地方大学和研究机构，也可通过 WHO 或 TIF 运作的教育方案来进行。此外，还应建立适当的渠道以保证在国外专业中心受训的卫生专业人员，将知识和经验传给本国的其他卫生工作者。

产前诊断日益增加的可获得性和可接受性对于与卫生工作者——包括产科医生、全科医生和家庭计划专家在内——的专业教育结合在一起的预防的重要的一面起到了促进作用。最理想的是，每一个有专业知识的医生都应该了解基本的遗传学知识和预防遗传病的重要性，目的在于将可靠的信息最大限度地传播给公众。塞浦路斯的预防策略被证实是很成功的优秀范例。然而，类似的努力在卫生服务设施不完善的多种族大人中可能还很少成功^[11]。

3.2 让公众知情

目的在于控制遗传病的预防措施依赖于在敏感问题范围内与公众的有效联络，这些敏感问题包括结婚、离婚、生育和终止妊娠。因此，要确保人们能够容易获得清晰、准确的信息，同时要致力于多学科的方法，从而能使卫生部、教育部、国家父母/患者协会、媒体、更重要的是宗教领袖走到一起。应该向 WHO 和/或 TIF 及地贫医学咨询中心、尤其是地中海沿岸那些控制方案非常成功的国家咨询中心寻求指导、支持及专业知识和技能。

遗传学在学校

遗传学方面的公众教育可以从学校开始，根据年龄来调整课程并把重点放在本国或本地区最流行的遗传病上。例如，在当地孟德尔障碍最常见的地方，就应该提倡有关隐性遗传模式的特殊教学。在希腊和塞浦路斯，关于遗传性贫血的正式教育已经引入了 15 岁以上孩子的教程。

大众传媒

大众传媒在科技信息的迅速传播上起着重要的作用——不仅对卫生专业人士，而且也许更重要的是对公众。然而，了解了传播准确、真实的信息的重要性，就必须做出所有的努力

以确保媒体使用可靠的原始资料——无论是来自医学专家还是来自国家地贫协会的知情个体。不正确、误解、或不真实的信息可对公众观点带来严重的影响，导致对疾病的错误结论——无论是过度乐观还是过度悲观。

3.3 让决策者知情

最后同样重要的是，政府的承诺是预防措施成功的基础。高层决策者需要把目标定位于本国重型地贫状况可靠的、最新的资料之上。官方也应该在数据缺乏的地方鼓励推动旨在提供更多有关基因频率的精确数据、制定重型地贫范围及给公众健康带来疾病负担的预测的科学引导性研究。WHO 和/或 TIF 可以协助任何国家建立和/或执行一个适当的疾病控制方案，包括卫生教育策划试点研究和制定准则。

3.4 少数民族国家面临的问题

在北欧国家，尽管有着高标准的公共卫生保健，但在少数民族中，为预防血红蛋白病而做出的努力非常有限。在英国，一次地贫产前筛查服务的审计显示尽管具有很高的筛查和咨询标准，但与英籍塞浦路斯人群可获得的良好服务相比，英籍巴基斯坦和英籍孟加拉国人群所得到的服务则是不充分、不公平的^[12]。英籍欧洲人的低理解力导致了风险检测的服务供给不足、意识缺乏、交流及孕早期诊断优先权的缺乏。这些人群也趋向于难以接近，对遗传学和有关风险的一般知识了解较少。这些发现强调了以恰当的语言提供卫生教育的重要性。同时，公共信息的渠道和咨询也应该认真选择以避免当事人有羞耻感，并允许其自主地接近和选择预防方法。最后，应该建立跨越社会、教育、语言和文化隔阂的服务设施的全国性政策。

北欧国家的次要问题是在卫生保健中血红蛋白病遗传和在第一代不同携带者诊断方面的知识不充足。在荷兰，已采取一系列的行动来改善携带者诊断、转诊和通知病人。所有的实验室都已引进标准的检测方法，标准资料将与实验结果合并送回有关诊所。除产前诊断和专业的携带者检测中心标准实验室外，专家中心网络也已建立。

全科医生接受定期的学科教育，并为他们提供不同地贫诊断流程图。同样地，旨在教育产科医生有关早期妊娠诊断问题的方案也已建立。最后，一个有献身精神的血液学团队已经建立，以提供建议和支持。这些开创性工作为少数民族众多的国家实施预防方案提供了一种实用的方法。

3.5 TIF 与地方患者/父母协会的作用

过去 20 年，很多关于重型地贫和其他严重血红蛋白病的预防的科技资料和信息已能以印刷品形式或通过网络获得。WHO 的非传染性遗传病机构和 TIF 的科技发展专家组多年来已

积极参与多种语言的教育资料的制作与免费发放，包括简讯、小册子、海报、专业资料及大众公共读物。这些材料大多可从WHO和TIF网站——www.who.int和 www.thalassaemia.org.cy 获得。地贫协会和卫生专业人员也建立了一个提供数据和携带者比率、诊断、风险解释及由Bernadette Modell教授领导的一个正在进行的计划中收集的产前诊断、遗传咨询详细资料的计算机信息系统（见 www.chimee.ucl.ac.uk/ApoGI）。

在与重型地贫的战斗中，患者和父母双方往往是提供第一手疾病经历和疾病控制重要性的最好的支持者。父母双方和患者也是传播有关疾病信息——包括制作可使用的以当地和国际专家提供的准则为基础的文字简练的资料——的最恰当的人群。但更重要的是，国家患者/父母协会构成了一个具有极大影响力的组织，对国家卫生当局实施和促进对这一严重遗传性疾病的预防和临床治疗方案起到推动作用。

TIF 由一些国家地贫协会的代表在 1987 年成立，支持和促进国家患者/父母协会是 TIF 的主要目的。已证实这个团体显然对控制地贫策略的有效性做出了极大的贡献。从这个机构成立以来，TIF 已在世界各地帮助建立了无数的国家地贫协会，同时推进了这一疾病的控制方案，包括卫生教育政策。

像本章先前所提及的那样，有科技顾问小组支持的 TIF 积极参与重型地贫的预防和临床治疗有关的为卫生专业工作者所制定的准则以及旨在教育公众的其他资料的制作工作。这些资料的翻译和免费发放对其在世界各地的最大限度的使用已做出了极大的贡献。

另外，TIF 也在 WHO 支持下安排年度国际研讨会。重点为医生、科学家和护士提供关于重型地贫的预防和临床保健方法的可靠科技信息，正如当前国际地贫专家所推荐的那样。

TIF 每年也安排一些地方和地区性的研讨会，尽可能广泛地推行其教育方案。举行地方研讨会的决定根据 WHO 或 TIF 所关注的问题而定，即个别的国家或地区需要个别处理，或者也可以应某些国家或地区自己的要求而举行。举行地方研讨会的目的是为了确定那些地贫数据收集不充分或没有可靠数据的地区的地贫发病率。这些教育研讨会受 WHO 总部和/或地区办事处及国家卫生当局支持，通常在当地地贫医学专家及国家地贫协会紧密协作下组织召开。

在这些地区性研讨会的课程中，TIF 邀请国际知名专家讨论关键问题，而地方的医生则重点讨论当地数据、问题、困难和需求。这些研讨会的具体目的是为当地的专业人员提供培训，然后这些专业人员又负责培训他们的同事。

从 1993 年开始，经 WHO 同意，TIF 将每年的 5 月 8 日确定为国际地贫日。同时卫生部和国家地贫协会应该全年开展促进公众意识活动。国际地贫日对于旨在提高该病的公众意

识而组织的活动、会议及媒体新闻报道来说是一个特别的机会。

总的来说，每个国家都应该有一个血红蛋白病的卫生教育委任咨询中心，配备有能够制作并定期更新的参考资料的资源。这些中心也应该能够制作一系列的血红蛋白病治疗和预防的高质量资料，并提供下列信息：

- (a) 提高公众对存在问题、重要性、筛查价值的意识。
- (b) 为携带者的检查提供可获得的详细实验室和筛查试验，包括有关试验结果解释的清晰建议。
- (c) 向经鉴定为携带者的个体提供专门的、正确的信息。

中心还需要不断更新地贫各方面的信息（包括录像资料）来满足人群的变化需要，与日益增加的对疾病的了解保持一致并提升公众意识。这一过程部分包括全体工作人员通过参加国际研讨会及世界性会议接受的继续教育，例如由 TIF 和/或 WHO 组织的会议。

许多世界性的宗教组织还在为阐明他们在遗传学诊断和终止妊娠问题上的观点进行着斗争，所以教育资料应该认真地设计。即使在那些宗教领袖们成功地发现在这个有争议的问题上他们的想法有着共同点的地方，在很多社区中大多数人达成同样的结论也还要花一些时间——尤其在那些文化水平比率低、有着强大的附加文化和宗教约束的国家。显然，如果控制这种疾病的方法不涉及终止妊娠，例如使用即将可广泛获得服务的植入前诊断（PGD）那就更好。然而，PGD 迟早会成为足够可靠和廉价的方法以供更广泛的应用。开发更好的治疗方法需要一些时间，在新的一千年里那些地贫造成了主要挑战的国家应该严肃地考虑这种类型的预防方案对于他们的情形是否是最适合的。每一个国家都需要建立一个有个性的策略，适合于当地的地贫流行病学现状、宗教及文化特征、现行的服务机构和经济资源。

参考文献

1. Guidelines for the control of Haemoglobin Disorder, WHO Hereditary Disease Programme 1994 (WHO/HDP/HB/GL/94.1)
2. Weatherall D.J., Clegg J.B., The thalassaemia syndromes. Blackwell Science, 2001
3. Angastiniotis M.A., Hadjiminias M.G.: "Prevention of Thalassaemia in Cyprus". The Lancet 1981, 1:369-70
4. Angastiniotis M., Modell B., 'Global epidemiology of haemoglobin disorders.' Annals of the New York Academy of Science 1998, 850:251-69
5. WHO 1985-Report of the third and Fourth Annual Meetings of the WHO in Europe, WHO Regional Publications, European Series No.38, WHO Working Group for the Community Control of Hereditary Anaemias-(HNG/WG/85.8)
6. WHO 1987-Report of the Vth WHO Working Group for the Feasibility Study on Hereditary Disease Community Control Programmes Herakleion, Crete, 24-25 October 1987 (WHO/HDP/WG/HA/87.5)
7. WHO 1989-Report of the Vth WHO Working Group for the Feasibility Study on Hereditary Disease Community Control Programmes (Hereditary Anaemias), Cagliari, Sardinia, 1989 (WHO/HDP/WG/HA/89.2)
8. WHO 1993-Report of a joint WHO/TIF Meeting on the Prevention and Control of haemoglobinopathies, Nicosia, Cyprus, 3-4 April 1993 (WHO/HDP/TIF/WG/93.1)
9. Community Control of Genetic and Congenital Disorders, WHO, EMRO region, 1997
10. Akinyanju O.O., Anionwu E.N.: "Training of Counsellors on Sickle Cell Disorders in Africa". The Lancet 1989, 1:653-4
11. Angastiniotis M.A., Kyriakidou S., Hadjiminias M.: "How Thalassaemia was controlled in Cyprus" World Health Forum 1986, 7:291-7
12. Harris R., Modell B., Lane B., et al: "Informed choice in genetic screening for Thalassaemia during pregnancy: audit from the National Confidential Enquiry". British Medical Journal 2000, 320:337-41

第四章 血红蛋白病的筛查与诊断

Renzo Galanello

血红蛋白病包括涉及与血红蛋白合成有关的基因发生突变而导致的量变和/或质变的遗传病。根据受累基因和缺失的类型，血红蛋白病可以大致分为地贫（ α 、 β 、 $\delta\beta$ ）和异常结构变异。然而，亦有导致地贫表现型的结构变异。遗传性胎儿血红蛋白持续升高症（HPFH）这一术语习惯于定义以成人 HbF 水平增高为特征的一组状态。这一情形是由于出生后 γ -珠蛋白链合成一直持续而导致的，但不具任何临床意义或血液学表现。

血红蛋白病这一术语指常染色体隐性疾病，而单纯的或遗传性复合状态导致了严重程度不同的各种具临床意义的表现型（例如重型地贫、中间型地贫、镰状细胞综合征、HbE 综合征）。杂合子是无症状的，但有其可供鉴定的血液学特征，大部分常见的血红蛋白杂合状态概述于表 4.1。

4.1 筛查策略

筛查（或携带者检查）的目的是为了进一步评价育有严重地贫患儿夫妇的风险而鉴定血红蛋白病携带者并提供关于如何避免这样一种不测事件的有效选择。在孕前进行筛查是最理想的^[1]。筛查有几种可能的策略，取决于疾病频率、遗传缺陷的异质性、可用的资源以及社会文化和宗教等因素。

了解目标人群的血红蛋白病发病频率和异质性是制定携带者鉴定及最适实验室方法学选择（见下文）策略的关键前提。此外，而技术设备、基础结构及可获取的财政资源都影响着策略和携带者鉴别的方法学选择。

筛查方式有两种：大人群筛查，适合育龄及育龄前人群。目标筛查，仅限于特殊人群，例如准备结婚的、孕前或孕早期的夫妇。

大人群筛查比目标人群筛查更为需要组织性，因前者需要详细的计划及完善的技术及财力。在地贫高发的地方，技术是最适用的，当孕妇们首次面临产前保健时尤其重要。然而，已知的实验室方法相当昂贵（电子仪器测定 RBC 指数，高效液相色谱法测定血红蛋白），并且携带者鉴定的操作流程是费力的并且需要包括一些复杂的方法，例如珠蛋白链合成和 DNA 检测。对于资源匮乏的国家来说，大人群筛查应该使用廉价的方法（如象单管渗透脆性试验、电泳或层析之后 Hb 洗脱以测定 HbA₂）以及不太复杂的操作流程。

筛查可以是“回顾性的”——亦即当一对夫妇已经有一个受累患儿时为回顾性筛查，或者是“前瞻性的”——例如在携带者娩出患儿之前就被确诊。回顾性筛查常在地贫发病率

低的人群中进行，或在发病率高的人群中其预防措施开始实行时进行。筛查方法相对廉价和简单，因为它仅限于部分人群。但降低受累患儿出生数的效果是有限的，因为未检测出镰状细胞病的夫妇亦能生出镰状地贫患儿。由于这一原因，前瞻性的携带者鉴定对于地贫高发人群来说更为合适。

4.2 何时筛查

筛查可定位于不同年龄段（见表 4.2），同时根据接受筛查的个体或目标人群的年龄进行遗传咨询校准。目前，新生儿筛查仅限于镰状细胞贫血病，由于这种疾病早期识别可预防出生后第一个月内由于细菌性败血症和死骨形成危象引起的死亡和发病。 β 地贫的新生儿筛查较少进行，因其需要昂贵的 DNA 测定。将来分子生物学和生物技术的发展也许能提供更快速的和更低廉的血红蛋白病及其他遗传学疾病和性状（如囊状纤维变性、G6PD 缺乏症、进行性痘状核变性等）的新生儿筛查方法（例如微芯片）。然而，即使新生儿携带者鉴定有可行性，提供遗传咨询和相关信息的问题还得通过存活下来的成人。

青少年筛查的经验告诉我们接受率是较高的（通常高于 80%），并且资料都易理解和接受^[2, 3]，Galanello et al 未发表）。在学校进行筛查的优点包括能涉及到大部分人群并且给那些被鉴定为携带者的人提供对多种选择的识别力（例如不与另一个携带者成婚）。但是，这一方法需要认真而且组织完善的教育措施，并依赖于目的明确的教师和专业的遗传学咨询师。

婚前筛查已在一些地中海沿岸国家（希腊、意大利和塞浦路斯）实施。然而那些在婚前已实行遗传学风险鉴定的国家可能给当事人带来歧视，对妇女尤其如此，故是不合适的。

预筛查可指导夫妇计划妊娠，而产前筛查的焦点在于孕妇。孕期筛查对于风险病例可能是不利的，因为唯一的选择是产前诊断。进一步说，携带者鉴定可能太迟了以致不能做产前诊断，结果导致明显的情感压力。

所有的筛查方案都应在自愿的基础上实施。在塞浦路斯教堂要求取得携带者检查的证明才能举行婚礼。诱导筛查（亦称为级联筛查或家庭扩展检查）包括已知携带者和/或患者的亲属的检查。这是一种提高携带者鉴定效率的有力措施。在遥远的撒丁岛，由于这一政策使得仅占总人口 15% 的成人中计划需检查的风险夫妇的 90% 进行了检查。

4.3 β 地贫和 $\delta \beta$ 地贫的特征

地贫在分子水平来说多数是杂合的，具有 200 多种突变及被描述为不同严重程度的缺失（附录 II）（^[5]<http://globin.cse.psu.edu/>）。总的来说严重的程度与有缺陷的 β 珠蛋白基因产物量的多少相符合。相应地， β 地贫突变被分类为重型、轻型和静止型（附录 II）。这样，

β 地贫纯合子(或复合杂合子)和携带者由于不同分子缺陷产生了不同严重程度的临床和血液学表型。 β 地贫(重型地贫和中间型地贫)具有临床意义的类型见第七章所述。

无论是重型 β^0 或 β^+ 型的 β 地贫携带者的红细胞指数、血红蛋白类型和珠蛋白链合成比率均有其固有的特征。红细胞计数相对高,同时红细胞平均容积(MCV)和红细胞平均血红蛋白(MCH)则显著的降低(MCV60-70fl, MCH19-23pg)。平均血红蛋白水平可比正常人低 2g/dl 以上,但变异范围很大。红细胞形态发生改变并且包括很典型的小细胞、低色素和细胞大小及红细胞形态(异形红细胞)的变异、靶细胞和嗜碱点状颗粒。与 β 地贫性状有关的最具血液学特征的是 HbA₂ 水平升高,一般在 4-6%之间。偶尔, β 地贫携带者可能有不同寻常的 HbA₂ 水平升高(>6.5%)。这些携带者总的来说具有包括 β 地贫基因 5'端启动区域缺失。在 30%的携带者中 HbF 可有轻微的升高(1-3%),珠蛋白链合成检测显示 α/β 珠蛋白链比率失调,其值在 1.5-2.5 范围内。最后,渗透脆性降低是 β 地贫患者血液学所见的另一个特征。

轻型 β 地贫突变的杂合子(即-88C→T, -87C→G, -30T→A, -29A→G, cd19A→C, cd24T→A, cd27G→T, IVS1-6T→C, PolyAAACA AAA, AATGAA)与重型 β^0 和 β^+ 突变的 β 地贫杂合子相比,总的来说有较高的 MCV 和 MCH。HbA₂ 水平变化范围可由临界值到轻微的升高,如 IVS1-6 T→C 携带者(3.4-4%)。在轻型 β 基因启动子突变携带者, HbA₂ 水平有明显地增高(4.5-6%)。

在很轻型或静止型的 β 地贫等位基因携带者(即-101C→T, -92C→T, IVS2-884C→G5'和 3'UTR 突变), β 珠蛋白链轻度减少与任何惯常的或有意义的表现型无关。在大部分病例中, MCV、MCH、HbA₂、总血红蛋白,甚至 α/β 珠蛋白链合成比率均在正常范围内,尽管有时可发现 HbA₂ 和/或红细胞指数在临界值,这表明地贫等位基因的存在,这种情况需要进一步研究。

$\delta\beta$ 地贫可根据受累染色体的 δ 和 β 珠蛋白链残余合成量而分为 $(\delta\beta)^+$ 和 $(\delta\beta)^0$ [6]。 $(\delta\beta)^+$ 地贫包括 Hb Lepore 和在同一类 β 基因簇中存在的两种不同突变所导致的更复杂的失调(Corfu 和中国 $\delta\beta$ 地贫)。 $(\delta\beta)^0$ 地贫包括 $\epsilon\gamma\delta\beta$ 基因簇大的缺失, δ 和 β 基因缺失但留下了一个或两个完整的 γ 基因。

Hb Lepore 是一种由 δ 和 β 珠蛋白基因之间的非同源交换而产生的血红蛋白变异。这种产物是一种杂种 δ 和 β 珠蛋白链。目前为止已鉴定出 Hb Lepore 的三种类型(Hb Lepore Boston、Hollandia 和 Baltimore),它们之间的区别在于交换发生点不同。这 3 种类型有着相同的电泳和层析特征,在碱性 PH 条件下朝向阳极的 HbS 泳动。在 Hb Lepore 携带者中

这种异常血红蛋白部分占总血红蛋白的 5-15%，同时伴随 HbA₂ 水平减低（大约 2%）及 HbF 轻微增高（2-5%）。其血液学特点以轻微贫血（Hb11-13g/dl）、小细胞（MCV 70-75fl）和低色素（MCH 20-24pg）为特征。平均 α /非 α 比率约为 1.5。

Corfu δ β 地贫是由于在同一染色体上（顺式）存在两种不同突变而导致的： δ 基因的部分缺失和 IVS1-5G \rightarrow A β 地贫突变。这种 (δ β)⁺地贫类型的携带者与 β 地贫性状相比有其血液学所见，但 HbA₂ 可正常或轻微的降低。

撒丁岛 δ β 地贫是一种非缺失型的等位基因，其特征是在顺式 A γ 珠蛋白的第 196 位 C \rightarrow T，而常见是 β 39C \rightarrow T 无意突变。撒丁岛 δ β 地贫杂合子表现出典型但很轻微的地贫血液学变化，HbA₂ 处于正常水平（2-3%）。但 HbF 水升高（10-20%）。 α 珠蛋白链与非 α 珠蛋白链的合成比率仅有轻微的失衡（约为 1.5）。

(δ β)^o 地贫缺失携带者与 β 地贫性状相比其特征是有较轻微的血液学改变。Hb 水平可能正常或轻微降低，红细胞的改变（即小细胞、低色素）是轻微的（MCV70fl、MCH24pg）。HbA₂ 正常或轻度降低，但 HbF 的特征是增高（5-20%）且在红细胞中有杂合分布。珠蛋白链失衡较轻微（ α /非 α 比率约 1.5）。

非典型的 β 地贫携带者

杂合子 β 地贫的典型表型，尤其是以 MCV 和 MCH 降低和 HbA₂ 升高为特征的 β 地贫，可以通过一些遗传决定因素来修饰，因此可能会在携带者鉴定中出现一些潜在的问题。有相应表现型的非典型携带者最常见的类型概括于表 4.3。非典型 β 地贫携带者的种类包括具有异常严重的血液学和临床表型的 β 地贫杂合子。

杂合子 β 地贫与纯合子 α ⁺地贫（- α /- α ）共同遗传或杂合性 β 地贫与杂合性 α ^o 地贫（-/ α α ）共同遗传时，红细胞指数特别是 MCV 和 MCH 可能是正常的。 α ⁺地贫杂合子（- α / α α ）相互作用的效果通常没有明显特征（图 4.1）。这些双重杂合子的一个共同特征是 HbA₂ 水平在 β 地贫携带者的水平范围内保持升高，如果在筛查方案中全都进行 HbA₂ 的测定，那么实际上 β 和 α 地贫双重杂合子就不会漏诊。另一方面，使用红细胞指数为初筛指标而仅在 MCV 和 MCH 减低的个体测定 HbA₂ 可能导致双重杂合子漏诊。

有的 β 地贫患者 HbA₂ 处于正常或临界值而 MCV 和 MCH 处于典型的携带者范围。这类携带者包括一些突变的杂合子，例如 IVS1-6T \rightarrow C、 δ 和 β 地贫双重杂合子（顺式或反式）、Corfu δ β 地贫等位基因以及很罕见的 ϵ γ δ β 地贫等，它们都包括了类 β 基因簇的大片段缺失而剩下 β 基因（西班牙型、英国型、荷兰型）。为了将这些非典型的 β 地贫携带者与 α 地贫杂合子区分开来，有必要进行家系调查和/或珠蛋白链合成和/或珠蛋白基因检测。

第三类非典型携带者为极轻微的 β 基因突变（与大量剩余的 β 珠蛋白链合成有关）。这些携带者的红细胞指数和HbA₂水平在临界值或正常。非典型携带者也包括具有3个 α 珠蛋白基因排列携带者（ $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ），这些携带者过量的 α 珠蛋白链合成水平与极轻型 β 地贫等位基因者相等。静止型携带者的鉴定通常都是对轻型中间型地贫患者的双亲进行的回顾性鉴定。但是，如果一个静止型携带者因其红细胞指数和/或HbA₂水平在临界值附近而被认为可疑，则需要进行珠蛋白链合成测定（有时可能有轻微的不平衡）或者通过DNA检测突变性质来确诊。在人群筛查方案中这些携带者由于其表现型很轻微而可能漏诊。然而，这并不会带来具危象的后果，由于极轻型和静止型突变导致的纯合子、或者轻型甚至严重 β 地贫突变的复合型杂合子，通常导致出现危害较轻的中间型地贫^[7]。

有一种极端的例子，一种复杂的地贫基因组合为 α 、 δ 和 β 地贫等位基因，其遗传尽管很罕见，但在携带者诊断中能导致静止型的表现型^[8]。

在一些罕见的例子中， β 地贫携带者可能有具临床意义的表现型。杂合子 β 地贫和3个 α 基因排列（ $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 或 $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha$ ）共遗传通常导致轻型的中间型地贫^[9、10]，另一方面，HbH病基因型（ $--/-\alpha$ 或 $--/\alpha^{\text{N}}\alpha$ ）在与杂合子 β 地贫共存的相互作用下可由中间型地贫转为重型贫血（Hb8-10g/dl）及显著的小细胞（MCV<60fl）、低色素（MCH<19pg）。但应指出其HbA₂通常在 β 地贫携带者范围内，而且存在HbH包涵体^[11、12]。

一些罕见的 β 基因的分子损伤，通常在第3外显子，可产生高度不稳定的 β 珠蛋白肽链的变异，由于变异的珠蛋白肽链不能聚合成有功能的四聚体而沉淀于红骨髓前质中。这一结果导致了无效红细胞生成及以HbA₂升高和 α/β 比率不平衡为特征的临床表型。由于早前红细胞中有沉淀， β 珠蛋白链变异在外周血中通常无法检出。由于单个 β 地贫等位基因遗传导致明显的临床表型，故这些类型也被称为显性 β 地贫^[13]。

4.4 α 地贫的特征

α 地贫通常由 α 珠蛋白基因突变而导致受累及基因 α 珠蛋白链合成量减少（ α^+ ）或完全不合成（ α^0 ）引起。 α 地贫最常见是由部分或全部 α 珠蛋白基因的缺失导致。因 α 珠蛋白基因复制发生的核苷酸改变引起的突变（即所谓的非缺失型）较少见，而更少见的一种是包括HS-40区段的缺失而 α 基因仍完整（附录III）。

α^+ 地贫性状（ α 地贫-2）

α^+ 地贫是一种1个 α 珠蛋白基因丧失功能的无症状携带者状态。红细胞不呈小细胞状态，HbA₂和HbF水平亦正常。在新生儿期电泳可检测到少量的（1-3%）HbBart's（ γ_4 ）。 α^+ 地贫性状的确诊只能通过DNA分析检测到。

α° 地贫性状 (α 地贫-1)

当两个 α 珠蛋白基因丧失功能时则导致 α° 地贫性状。 α° 地贫性状通常与血红蛋白浓度和红细胞指数 (MCV、MCH 和 MCHC) 的轻度降低、低色素、小细胞和异形细胞有关。红细胞脆性降低、HbA₂ 水平降低或在正常值下限 (1.5-2.5%) 水平。 α/β 珠蛋白链合成比率平均为 0.7。在新生儿期, HbBart's 升高 (3-8%), 脐血红细胞为小细胞。在 DNA 水平, α 地贫-1 的表现由同一条染色体上的两个 α 基因缺失 (α° 缺失) 或 α^{+} 地贫纯合子缺失所致。

临床症状分型

HbH 病

当 α 珠蛋白链合成降低为正常水平的四分之一时便发生了 HbH 病。其特征是存在异常血红蛋白成份 HbH, 一种 β -珠蛋白链的聚合物 (β_4)。用新鲜制备的溶血液在碱性或中性 PH 中电泳时, 可检出 HbH, 典型的 HbH 占血红蛋白总量的 3-30%。HbH 病的临床表现变异范围很广, 从轻型的无症状贫血到需要输血的重型贫血均有存在。除了贫血之外, 还可能有黄疸和肝脾肿大。

在 DNA 水平, 最常见的 HbH 是由缺失型 α° 地贫和 α^{+} 地贫共同遗传引起。一个缺失型 α° 地贫和一个非缺失 α 地贫等位基因相互作用或非缺失型 α 基因突变共遗传也可能引起 HbH 病。有关血液学、生化和临床所见与基因型的相关性研究已表明非缺失型 α 地贫突变的 HbH 病患者有着更严重的临床表现。最严重的表现型通常有 α 地贫 (高度不稳定的) 珠蛋白链变异^[14-16]。表现型的严重性并非仅与 α 珠蛋白链缺失有关, 此外, HbH 病还不能释放氧到组织中; HbH 是很不稳定的, 容易沉淀于红细胞中。所以, 高水平的 HbH 可能因对组织的氧合作用的负面影响而使 HbH 患者贫血加剧, 而 HbH 和 α 地贫极不稳定的血红蛋白变异都显示出红细胞在骨髓和循环中的存活率降低^[16]。

综上所述, 大部分 HbH 病患者都有中等程度的溶血性贫血, 在生病发热时贫血会加重。然而与重型 β 地贫患者相比, 他们的无效红细胞较少。产前诊断可检出一种很罕见的异常严重的 HbH 病水肿胎, 将在第七章描述。

HbBart' s 水肿胎

这是 α 地贫中最严重的一类, 将在第七章讨论。

α 地贫携带者的诊断策略

这部分内容将包括人群中 α^{+} 地贫和 α° 地贫发病率的评估。可由 α 地贫常见的 (HbH 和/或 Hb Bart' s) 症状型反映出来。

HbH 病并不包括在血红蛋白病预防的目标内。然而, 已生育一个 HbBart' s 水肿胎的风

险夫妇需要接受检测,且这些病例也总是需要进行产前诊断以避免常发生于孕有水肿胎的妊娠中的严重毒血症并发症,这种并发症对妊娠母体是有潜在危害的。HbBart's 水肿胎的产前诊断方法见第七章所述。

为了避免不必要的(昂贵的)研究及给患者造成忧虑,必须牢记,为了确诊 α^0 地贫性状而进行DNA检测只能在夫妇**双方** MCH<25pg、且排除了缺铁性贫血时实施。

应该注意 β 地贫性状的存在可能会掩盖了患者同时存在的 α^0 地贫性状。所以,在某些种族人群(例如中国),已有详细的研究表明,如果夫妇一方有 β 地贫性状,另一方有可能是一个 α^0 地贫携带者。

4.5 HbS 综合征

无症状的镰状贫血病包括镰状细胞性状(HbAS)和HbS与遗传性血红蛋白持续升高症的双重杂合子(HbS/HPFH)^[17]。有症状的镰状细胞病可分为轻型和重型(见表4.4)。较轻型包括HbSC病、HbS/ δ β 地贫、HbS/ β^+ 地贫和与阿拉伯-印第安 β 珠蛋白链单体型的纯合子HbSS(或镰状细胞贫血)。重型镰状细胞病是HbSS以及与卡麦隆、Benin和班图 β 珠蛋白单体型的双杂合HbS/ β 地贫。最后,与 β 珠蛋白链HbS性状变异体HbD Punjab、HbOArab结合的HbS性状是罕见的双重取代变异。

无症状型

HbS 性状

HbS杂合子通常是无症状的。虽然镰状细胞形成而导致的小血管堵塞在某些特定的条件下可能发生供氧不足,例如在高海拔地区或麻醉状态下。无合并 α 地贫的HbAS个体HbS占30-40%。合并 α 地贫者由于 α 地贫的相互作用,降低了HbS的百分率及红细胞指数(见表4.5)。HbA₂水平常稍高于正常(3.5-4%)。但如 β 地贫基因存在时并无上述现象,除非HbS高于总血红蛋白的50%。

HbS/HPFH

HbS和遗传性胎儿血红蛋白持续升高症(HPFH)双重杂合子患者可以是无症状的,也可作为镰状细胞的极轻类型。通常无贫血,尽管曾报道有轻微的骨痛,但病人极少出现镰状细胞危象。这种状况在非洲曾有报道,或者同时有HbS性状合并黑盒子(尚未弄清其本质)HPFH1或加纳人HPFH2缺失及印第安人的HPFH3缺失。患者红细胞接近正常。20-30%HbF呈全细胞分布。然而,这种状态的血液学诊断可能会很困难,因为很多患者由于同时存在 α 地贫而红细胞指数降低。

症状型

纯合子状态的 HbS 或者合并 HbC、HbOArab、HbD Punjab 及 β 地贫则导致镰状细胞贫血病。HbS 在去氧合状态下可溶性比正常血红蛋白差，故结晶为长纤维形的聚合物，这种聚合物可引起红细胞变形为典型的镰刀状。镰状细胞比正常红细胞僵硬，有堵塞小动脉的倾向，从而导致组织和器官的供氧不足。另外，镰状细胞寿命较短，导致终身的溶血性贫血。镰状细胞病基因型之间的相互作用将在第七章讨论。

4.6 HbE 综合征

1954 年^[19]通过血红蛋白电泳鉴定的 HbE 是第四种异常血红蛋白。1961 年鉴定为其 β 珠蛋白链的第 26 位赖氨酸被谷氨酸所取代^[20]。已发现 HbE 综合征有许多种类型，与 α 地贫、 β 地贫或者其他血红蛋白变异合并出现不同的相互作用。

HbE 的症状型和非症状型小结于表 4.6 和 4.7，应考虑行产前诊断的类型在第七章讨论。

无症状型

HbE 杂合子在临床很常见，血球计数和红细胞指数有微小的改变。红细胞形态与轻型地贫相似，红细胞正常或轻微小红细胞（ $MCV 84 \pm 5$ fl）。在血液涂片中可见少量靶细胞。渗透脆性曲线可在正常值极限或稍偏于正常，表示渗透脆性轻微降低。血红蛋白电泳见 HbA 和 HbE 两条带。HbE 定量是 HbE 和其他遗传性异常血红蛋白或非遗传因素的相互作用引起的 HbE 综合征的诊断决定因素（见表 4.6）。单纯的 HbE 性状或 HbE 复合 α 地贫杂合子的 HbE 占溶血产物的 25-30%，一般来说这种情形无法通过血液学筛查检出。与 α^0 地贫共遗传时 HbE 水平减低为 19-21%，而 HbE 杂合子和 HbH 病（HbAE Bart's 病综合征）共遗传的个体其 HbE 显著降低至 13-15%^[22]。HbE 水平在 39%左右预示为 β 地贫复合 HbE。缺铁性 HbE 杂合子在缺铁情况下 HbE 含量也降低，且 MCV 及 MCH 也较低，取决于铁缺乏的程度。

纯合子 HbE

HbE 纯合子通常有正常的血红蛋白水平（尽管有的可能为轻度贫血），临床症状如象黄疸和肝脾肿大则是罕见的。没有骨骼的改变，网织红细胞一般正常，循环中无有核红细胞，但其特征是有 20-80%的靶细胞及渗透脆性降低（见表 4.7）。血红蛋白检测呈现 85-90%的 HbE 及残余的 HbF。所有的纯合子 HbE 均有带缺陷的 β^E 珠蛋白链合成， α /非 α 珠蛋白链的比率平均为 2，此比率与 β^+ 地贫杂合子相等^[23]。缺陷 β^E 链的合成是由于 β^E mRNA 产量降低，这是由于 HbE 突变导致的异常 RNA 剪接的结果^[24, 25]。

4.7 携带者鉴定的常用技术

携带者鉴定的策略应该保证不漏检。 β 地贫携带者筛查有两种可行的技术方法：

a) 初筛检查红细胞指数，然后对 MCV 和/或 MCH 降低的受检者进行包括血红蛋白在内的

进一步筛查。

- b) 完整的筛查取决于所有受检者从红细胞指数、血红蛋白分析及 HbA₂ 开始检测。在地贫低发和杂合子有限的国家宜推荐初筛法，而在 α 地贫和 β 地贫很常见的地方以及在 α 地贫复合 β 地贫相互作用使红细胞指数正常而导致漏诊的地方宜推荐完整的筛查方法。

惯常使用的高风险地区携带者鉴定的策略流程图表示于 4.2。所推荐的方法的阈值指标总结于表 4.8。这些阈值指数使用广泛，然而每一人群都应该有自己独立的适当参考值。因为根据地贫等位基因的存在类型，不同的人群可能存在轻微的差异。此外，应该有规范的质控措施以监控实验室结果的准确性。

红细胞指数

MCV 和 MCH 使用可靠的电子自动计数仪测定。由于此法费用昂贵，一些中心使用 0.36% NaCl 一管法渗透脆性试验作为地贫性状的初筛方法^[26]。然而，这种试验很难标准化且易出现假阳性，更重要的是会出现假阴性结果。所以这一技术不宜在咨询中心使用。使用电子自动计数仪测定的红细胞参数衍生的几种精确的指数，已被推荐用于鉴别缺铁性贫血和 β 地贫性状 (Mentzer, Shrivastava, England and Fraser; Shine and Lal)。然而，这些指数仅对 80-90% 的患者是可靠的^[27]。故这些方法的使用是令人沮丧的。

HbA₂

HbA₂ 定量最常用的方法包括醋酸纤维素电泳洗脱、DE-52 微柱层析及高效液相色谱。这些方法定量准确，但醋纤膜电泳洗脱和 DE-52 微柱层析耗时而不适合大规模筛查。而高效液相色谱 (HPLC) 速度快但费用昂贵^[28]。必须指出电泳后测光密度计算 HbA₂ 并非定量 HbA₂ 的准确可靠的方法。

Hb 类型检测

Hb 电泳常用于检测 HbF 增高受检者 (这类人可能是 δ β 地贫或 HPFH 的携带者) 或异常血红蛋白受检者。尤其是血红蛋白变异体 (例如 HbS、HbD Punjab、HbC、HbE 和 HbOArab)，这些血红蛋白变异体可与 β 地贫相互作用或血红蛋白变异体本身之间相互作用。血红蛋白电泳通常在碱性 PH 条件下在醋酸纤维素薄膜上进行。但也有其他方法可选择使用 (如等电聚焦)。HPLC 能够定量 HbA₂ 和 HbF，也能一步同时检测和定量血红蛋白变异^[28]。此技术准确且快速，在大约 6 分钟内可很便利地完成血红蛋白定性和定量分析。然而，应该注意，通过电泳、层析 (甚至 HPLC) 鉴定的任何血红蛋白变异均是推测的，最后的确诊需要更复杂的方法，包括 DNA (或蛋白质) 分析 (见图 4.3)。唯一的例外是 HbS (和类似的变异)，可通过简单得多的镰状细胞试验来鉴定。

HbF

一些以碱变性法为基础的生化技术可用于测定 HbF 的相对含量。当 HbF 水平在低至中等水平 (0.5-40%) 时, 2 分钟碱变性技术可得到准确的结果^[29]。HbF 水平高于 40% 时需要用 Jonxis 和 Visser^[30] 进行更准确的检测。HPLC 也能分离及定量 HbF 并能给出 $\delta\beta^0$ 地贫携带者范围内 (5-40%) 的可靠结果。放免扩散法是一种检测溶血液中 HbF 的简单方法, 虽然此法未被广泛应用。HbF 在红细胞中的分布可用在 Kleihauer 等的方法之上发展起来的碱变性法进行评估, 或用单克隆抗体经免疫荧光染色后固定血液涂片或激光激活细胞分类仪来进行更准确的检测。尽管后两种方法在常规携带者筛查中是不必要的。

4.8 特殊诊断技术

珠蛋白链合成

用外周血网织红细胞进行珠蛋白链合成检测在地贫的类型尚未清楚的病例是一种较麻烦但很有用的方法。即使 DNA 检测能阐明大部分的诊断疑难问题, 但珠蛋白链的生物合成仍是证实 β 地贫是否存在的一种有价值的方法。珠蛋白链合成检测有助于诊断疑难问题的例子见于 α 和 $\delta\beta^+$ 地贫性状之间、 $\delta\beta^0$ 地贫和 HPFH 之间、轻型 β 地贫突变携带者之间、复杂的复合型地贫 (即 α 、 δ 和 β 地贫共同作用) 的鉴别诊断及血红蛋白变异的研究。DNA 检测仅能给出基因及突变方面信息, 而珠蛋白链生物合成则探索了珠蛋白基因的总产量且可能揭示出隐藏的或被掩饰的珠蛋白基因缺失。最好的例子就是一种与珠蛋白基因簇无关联的罕见的静止型 β 地贫, 这种地贫所有的血液学参数都完全正常 (MCV、MCH、HbA2 及 HbF), 但 α/β 生物合成的比例是失衡的。由于该技术的复杂性, 珠蛋白生物合成需要操作人员接受良好的培训, 而这种培训可在咨询中心获得。传统的脲化甲基纤维素层析 (CMC) 方案是很可靠的且具可重复性, 尽管这种方法需要 2 天以上才能完成^[6]。另一种可选择的快速方法是基于反相 HPLC 的标记珠蛋白链分离法。但需要考虑从这一步骤中获取有意义的、准确的结果的一些细节^[34]。

尽管在正常与 α^+ 地贫性状之间、 α^+ 地贫与 α^0 地贫性状之间存在着需要注意的一些数值范围的交叉重合, 但珠蛋白链生物合成研究可能有助于鉴别正常个体 (α/β 珠蛋白合成为 0.9-1.1) 与 α^+ 地贫 (α/β 比率平均为 0.75) 或 α^0 地贫性状 (α/β 比率平均为 0.5)。

HbH 包涵体

α 地贫的另一个试验是外周血涂片用煌焦油染色后孵育。煌焦油能显示带 HbH 包涵体的稀有红血球。尽管 HbH 包涵体缺乏不能排除 α 地贫携带者状况, 但这个试验对于 HbH 病的

诊断还是非常灵敏的^[36]。

DCIP 试验

蓝色染料二氯二氟苯酚 (DCIP) 可用于 HbE 的筛查试验。HbE 的 $\alpha_1\beta_1$ 聚合较弱。HbE 在 37°C 的染料中孵育时将游离并沉淀出来。在纯合子 HbE、HbH 病和 HbE/ β 地贫, HbE 的沉淀形成了云状物或者出现外观为微粒的均匀分布。

DNA 法

基因型的定性对于鉴别诊断是必需的。DNA 检测法对于申请产前诊断的病例来说同样是必需的。详细描述见第七章。

家系研究

尽管 DNA 检测能确定地贫的基因类型, 但该方法有时对于为了阐明复杂的相互作用及达到表现型诊断的目的而研究患者双亲 (可能还包括其他的家庭成员) 的血液学来说则过于简单了。

4.9 血红蛋白病筛查的问题

血红蛋白病筛查方案 20 年来在很多国家已完善地建立。尽管已积累了大量的关于这个问题的知识, 但在关于携带者鉴定方面仍存在问题。最常见的问题就是在 HbA₂ 和 HbF 正常状况下的小细胞现象, 这可以归因于缺铁性贫血、 α 地贫性状或 $\delta\beta^+$ 地贫 (见图 4.2)。缺铁性贫血引发大范围的红细胞变异 (MCV、MCH 和 Hb 水平降低, RBC 升高)。其严重性与血液学检测的时间有关。由于这一原因, 缺铁性贫血容易跟某些类型的地贫杂合子混淆。除了缺铁之外, 相似的血液学改变与 α 地贫和 $\delta\beta^+$ 地贫有关联。铁缺乏可通过锌血卟啉 (ZnPP) 的增加及血清铁的减少鉴定、输血饱和及血清铁蛋白降低而与 α 地贫和 $\delta\beta^+$ 地贫类型相鉴别。 α/β 珠蛋白链合成比率失衡则导致了 α 地贫 (α/β 比率 < 9.1) 或 $\delta\beta^+$ 地贫 (α/β 比率 > 1.2)。总的来说, 家系研究有助于鉴别诊断。

在极少数情况下, 当 β 地贫携带者合并缺铁性贫血时, HbA₂ 水平是降低的, 尽管通常仍保持在 β 地贫携带者范围内。在罕见的病例中 β 地贫携带者严重缺铁, HbA₂ 水平可能落在正常范围内。实际上, 如果一个个体是 HbA₂ 正常的缺铁性贫血, 在重新检测 HbA₂ 之前应先治疗病人的缺铁来纠正贫血^[38]。

在筛查的过程中诊断 β 地贫携带者, 并不难发现 HbA₂ 处于临界水平 (3.2-3.5%) 和正常水平或红细胞指数轻度降低的个体^[39]。HbA₂ 处于临界水平和红细胞指数正常的大多数病例均有正常的 β 和 α 珠蛋白基因, 临界的 HbA₂ 水平可解释为 HbA₂ 正常范围内的极端分布。然而, 这些病例有时是静止型 β 地贫突变 (-101C→T、IVS2 884 C→G、+1480C→G、+33C

→G) 的携带者或者是一个三重 α 基因座位的携带者。HbA₂ 值位于临界 (3.4-3.8%) 及 MCV、MCH 降低的个体通常是轻型 β 地贫等位基因 (例如 IVS1-6T→C、CAP+1 A→C、poly A T→C) 的携带者或者是 δ 和 β 地贫的复合杂合子。诊断这些非典型的携带者包括家系研究和/或珠蛋白链合成和/或 DNA 检测。需要注意的是 β 地贫等位基因的存在可包括在任何具有 HbA₂ 临床值的受检者, 尤其是如果他们的配偶是一个典型的 β 地贫携带者时 (见图 4.4)。 $\delta\beta^0$ 地贫的最常见形式及 HPFH 可通过正常的 HbA₂ 和增高的 HbF 水平来定性。HPFH 的红细胞指数与 β^0 地贫携带者相比是正常的而后者的 MCV、MCH 通常轻微降低。 $\delta\beta^0$ 和 HPFH 两者可通过珠蛋白链合成 (HPFH 的 α/β 链合成比率正常或极轻微的失衡, 而 $\delta\beta^0$ 地贫的 α/β 链合成比率为 1.4-2, 为轻至中度的失衡) 或 DNA 检测来进行鉴别。HPFH 的 HbF 在红细胞内的分布据报道是纯合型的或称全细胞分布。而在 $\delta\beta^0$ 地贫则是杂合型或称不平衡分布。即使使用最敏感的免疫学方法, 这种分布仍未能了解得很清楚。在遗传咨询的过程中弄清楚 HPFH 和 $\delta\beta^0$ 的区别也是很重要的: β 地贫和 HPFH 遗传复合体导致静止型或非常轻型的临床表现型, 同时 $\delta\beta^0$ 携带者与典型的 β 地贫患者结合时存在出生重型地贫的风险。

血红蛋白结构变异携带者通常在血红蛋白病的筛查程序中被检出。这种鉴别有赖于一系列特殊的试验, 这些试验总结于图 4.3。简单的镰状试验可得出 HbS 的正确诊断。而所有其他的变异均可通过一些实验室方法 (例如相对电泳泳动、层析洗脱次数、珠蛋白链定量分析) 来诊断。DNA 诊断仍是提供精确鉴别的唯一方法。最后, 由于 α 地贫共存现象对血红蛋白病参数导致的影响, 有时仅依靠患者的血液学评价来准确诊断 HbSS、HbS/ β^0 地贫、HbS/ $\delta\beta$ 地贫和 HbS/HPFH 的表现型是有困难的。所以推荐家系研究方法。

表 4.1 最常见的血液学携带者分类

√ β 地贫
• 典型的
• 非典型的（见表III）
√ α 地贫
• 典型的：纯合子和 α^+ 杂合子、 α^0 杂合子、非缺失缺陷
• 静止型： α^+ 杂合子
√ $\delta\beta$ 地贫
• $\delta\beta^+$
• $\delta\beta^0$
√ 胎儿血红蛋白持续升高症
• 全细胞的
• 异种细胞的
√ 血红蛋白变异
• 常见变异（HbS、HbE、HbC）
• 不稳定血红蛋白
• 氧亲和力的改变
• M 血红蛋白
• 无症状型

表 4.2 血液学筛查时间表

新生儿
青春期
婚前
孕前
出生前

表 4.3 非典型 β 地贫携带者

表现型	基因型
正常 MCV 及 MCH	- α 地贫共遗传
临界/正常 HbA ₂	- 某些轻型 β 地贫等位基因 - δ 地贫共遗传 - $\epsilon \gamma \delta \beta$ 地贫 - Corfu $\delta \beta$ 地贫
正常 MCV、MCH 及 HbA ₂ (静止型携带者)	- 极轻型/静止型等位基因 - 三倍 α 珠蛋白等位基因
有明显临床意义的表现型	- α 珠蛋白基因缺失共遗传 - 三倍 α 基因、HbH 病基因型 (--/- α) - 超不稳定珠蛋白链 (显性 β 地贫)

表 4.4 某些镰状病的一般血液学所见

严重程度	状况	Hb	MCV	HbA ₂	HbF	HbS
无症状	HbAS	14.3	87	3.6	0.8	38
	HbS/ HPFH	14.0	86	2.1	35.9	62
轻型	HbS/ $\delta \beta$ 地贫	11.4	74	2.2	28.8	69
	HbS/ β^+ 地贫	10.3	71	4.8	5.0	67
	HbSS (Arab/Indian)	9.3	70	2.1	20.0	77
重型	HbS/ β^0 地贫	8.6	69	5.0	6.5	89
	HbSS (非洲)	7.8	90	2.8	5.3	92

表 4.5 合并 α^+ 地贫及无 α^+ 地贫 HbS 个体的 HbS 百分含量及 MCV 值

	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	$-\alpha/\alpha\alpha$	$-\alpha/-\alpha$
HbS (%)	35-39	29-34	24-28
MCV (fl)	80-90	75-85	70-75

表 4.6 常见 HbE 综合征小结

表现型	基因型	贫血	鉴别特征
<u>无症状型</u>			
HbE 杂合子	β^N/β^E	无	HbsE(25-30%)+A
HbE α 地贫-2 杂合子	$\beta^N/\beta^E-\alpha^N/\alpha^{\text{地贫-2}}$	无	HbsE(25-30%)+A
HbE α 地贫-1 杂合子	$\beta^N/\beta^E-\alpha^N/\alpha^{\text{地贫-1}}$	无	HbsE(19-21%)+A
HbE 纯合子	β^N/β^E	无	HbE
HbE 纯合子/ α 地贫-1 杂合子	$\beta^E/\beta^E-\alpha^N/\alpha^{\text{地贫}}$	无	HbE
HbE/HbC	β^E/β^C	无	HbE (32%) +HbC (56%)
<u>症状型</u>			
HbE 纯合子/HbCS 纯合子	$\beta^E/\beta^E-\text{HbCS}/\text{HbCS}$	轻型	HbsE ($\alpha 2\beta 2^E$) + $\alpha 2^{\text{CS}}\beta 2^E$
HbE- β^0 地贫	β^0/β^E	中至重型	HbsE+F
HbE- β^+ 地贫	β^+/β^E	轻型	HbsE+F+A
EA Barts			
-HbH 病合并 HbE 杂合子	α 地贫-1/ α 地贫-2-- β^N/β^E	中型	HbsE +A+ Barts
-HbH-CS 病合并 HbE 杂合子	α 地贫-1/HbCS-- β^N/β^E	中型	HbCS+E +A+ Barts
EF Barts			
-HbH 病合并 HbE 纯合子	α 地贫-1/ α 地贫-2-- β^N/β^E	中至重型	HbsE +F+ Barts
-HbH-CS 病合并 HbE 纯合子	α 地贫-1/HbCS-- β^E/β^E	中至重型	HbCS+E +F+ Barts
-HbH 病合并 HbE- β 地贫病	α 地贫-1/ α 地贫-2-- β^0/β^E	中至重型	HbsE +F+ Barts
-HbH-CS 病合并 HbE- β 地贫病	α 地贫-1/HbCS-- β^0/β^E	中至重型	HbCS+E +F+ Barts

表 4.7 变异型 HbE 综合征的血液学数据

	Hb(g/dl)	MCV(fl)	MCH(pg)	渗透脆性	DCIP	Hb 类型
正常	M19.5±0.9 F 12.5±2.0	87±6	31±1.1	N	-	A2 (2.5±0.2%) +A
HbE 性状	12.8±1.5	84±5	30±2.4	N 或 D	+	E (29.4±2.3%) +A
HbE α 地贫-2	13.1±1.4	88±4	ND	N 或 D	+	E(28.5±1.5%) +A
HbE α 地贫-1	12.5±1.4	77±5	23±1.1	D	+	E(20.7±1.2%) +A
纯合子 HbE	11.4±1.8	70±4	22±1.9	D	+	EE(E87.7±5.9)
HbE-β ^E 地贫	7.8±2.6	67±6	19±3.6	D	+	E(58±11.5%) +F
EA Barts 病						
HbE α 地贫 1/地贫 2	9.1±1.1	60±3	17±2	D	+	E(13.0±2.1%) +A+ Barts(2.2±1.8%)
HbE α 地贫 1/HbCS	8.0±0.9	67±4	19±2	D	+	CS(1.1±0.4%) +E(13.9±1.8%) +A+Barts(3.9±1.5%)
EF Barts 病	8.0±1.3	63±6	18±2	D	+	E(80%) +F+Barts(5%) 或 CS (1.9±0.9%) + E (86.4±8%) +F+Barts (3.7±1.9%)

ND,未检测; N,正常; D,降低

表 4.8 β 地贫携带者筛查: 推荐方法及阈值

指标	方法	携带者阈值
MCV	电子检测	<78fl
MCH	电子检测	<27pg
HBA2	电泳后洗提 DE-52 微柱层析 HPLC	>3.6%
Hb 分析	醋酸纤维膜电泳 HPLC IEF	HbF 增高 (>5.0%) 有异常带
HbF (定量)	碱变性 HPLC	>5%*
α / β 珠蛋白链合成率	CMC 层析 HPLC	>1.2

* δ β 地贫携带者

图 4.1 β 地贫携带者与各种 α 等位基因共遗传效应

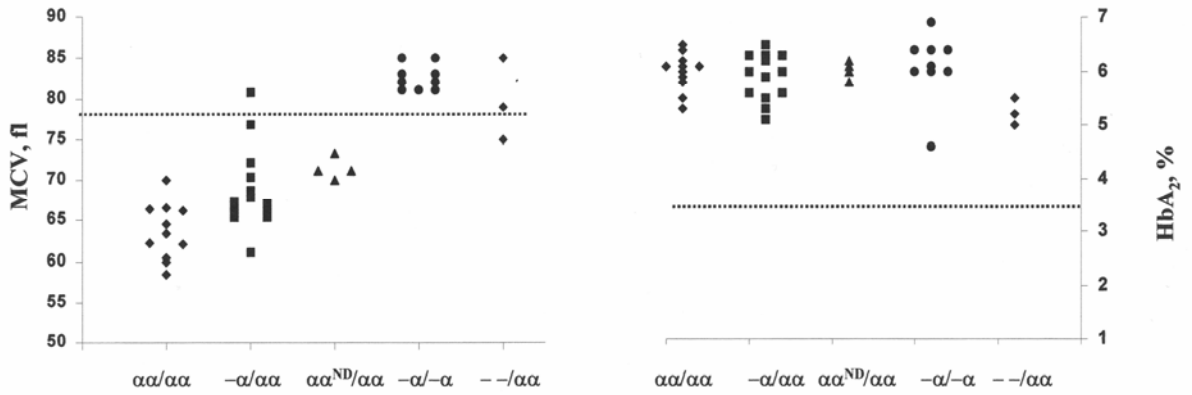


图 4.2 地贫筛查流程

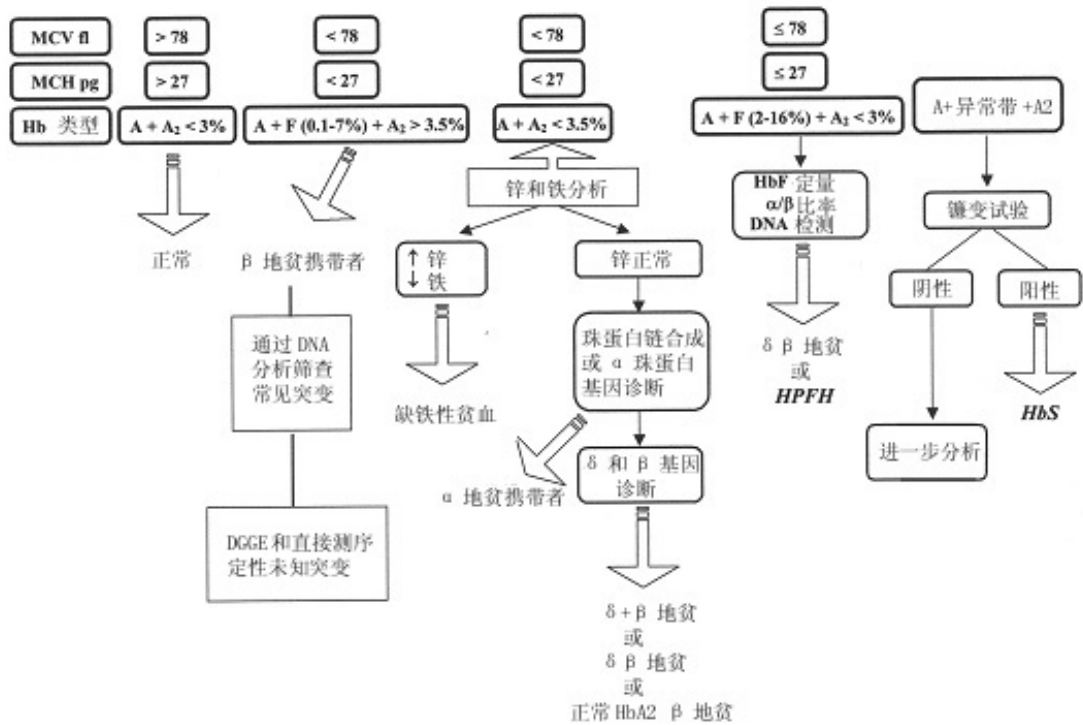


图 4.3 血红蛋白变异鉴定流程

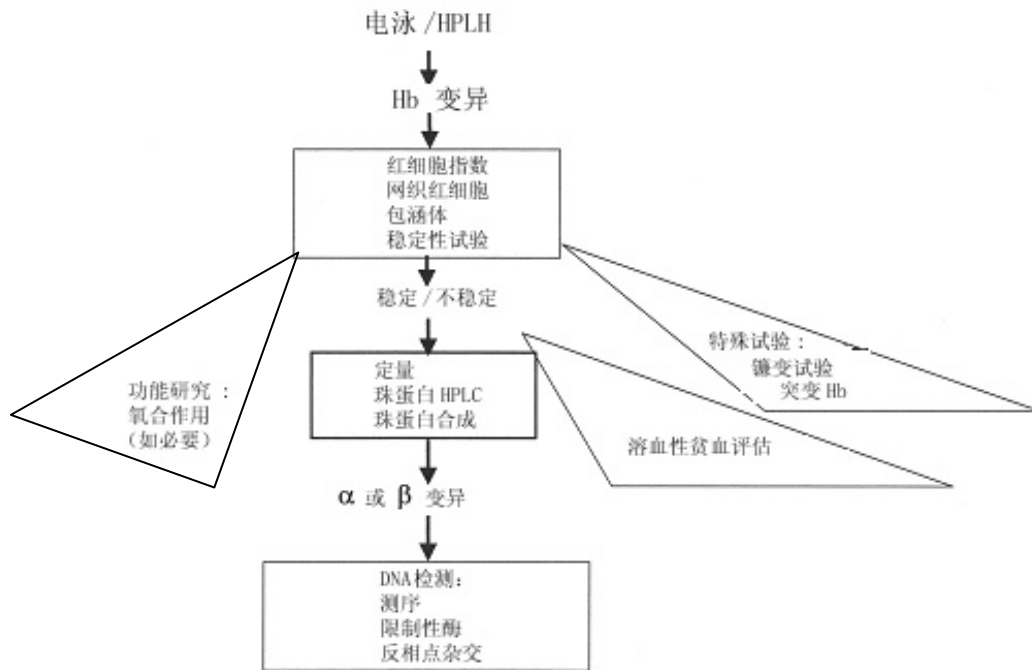
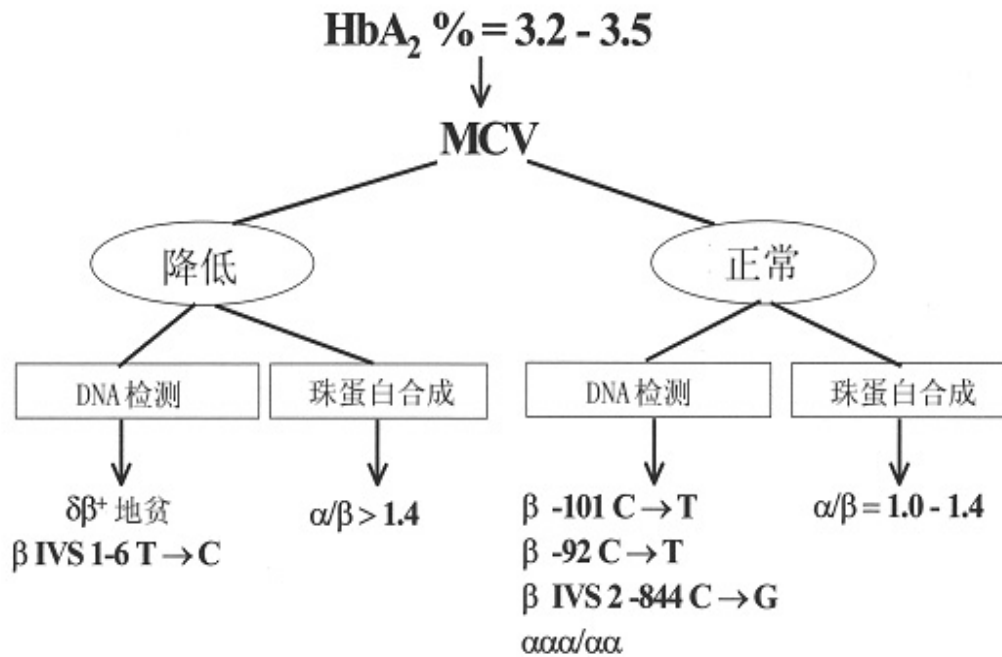


图 4.4 β 地贫携带者与不同 α 地贫等位基因共遗传效应



参考文献

1. WHO Guidelines for the control of haemoglobin disorders. Report of the VI Annual Meeting of the WHO Working Group on Haemoglobinopathies, Cagliari, Sardinia, 8-9 April, 1989. World Health Organization, Geneva 1994
2. Angastiniotis M.A., Hadjiminis M.G.: "Prevention of thalassaemia in Cyprus". *The Lancet* 1981, 1:369-71
3. Bianco I., Graziani B., Lerone M., et al: "Prevention of thalassaemia major in Latium (Italy)". *The Lancet* 1985, 2:888-9
4. Cao A., Galanello R., Rosatelli M.C.: "Prenatal diagnosis and screening of the haemoglobinopathies". *Baillieres Clinical Haematol* 1998; 11:215-38
5. Huisman T.H., Carver M.F.: "The beta- and delta-thalassaemia repository". *Haemoglobin* 1998, 2:169-95
6. Weatherall D.J. and Clegg J.B.: *The thalassaemia syndromes*. Oxford: Blackwell Science, 2001.
7. Bianco I., Lerone M., Foglietta E., et al: "Phenotypes of individuals with a beta thal classical allele associated either with a beta thal silent allele or with alpha globin gene triplication". *Haematologica* 1997, 82:513-25
8. Galanello R., Paglietti M.E., Addis M., et al: "Pitfalls in genetic counselling for beta-thalassaemia: an individual with 4 different thalassaemia mutations". *Clinical Genetics* 1988, 33:151-5
9. Galanello R., Ruggeri R., Paglietti E., et al: "A family with segregating triplicated alpha globin loci and beta thalassaemia". *Blood* 1983, 62:1035-40
10. Traeger-Synodinos J, Kanavakis E, Vrettou C, Maragoudaki E, Michael Th, Metaxotou-Mavromati A, Kattamis C.: "The triplicated alpha globin gene locus in β -thalassaemia heterozygotes: clinical, haematological, biosynthetic and molecular studies". *British Journal of Haematology*, 1996, 95: 467-71.
11. Traeger-Synodinos J, Papassotiriou I, Vrettou C, Skarmoutsou C, Stamoulakatou A, Kanavakis E.: "Erythroid marrow activity and functional anaemia in patients with the rare interaction of a single functional α -globin and $[\beta\text{-thalassaemia}]$ gene". *Haematologica*, 86: 363-7, 2001.
12. Galanello R., Paglietti E., Melis M.A., et al: "Interaction of heterozygous $[\beta\text{-thalassaemia}]$ with single functional α -globin gene". *American Journal of Haematology* 1998, 29:63-66
13. Thein S.L., Hesketh C., Taylor P., et al: "Molecular basis for dominantly inherited inclusion body beta-thalassaemia". *Proceedings National Academy of Science USA* 1990, 87:3924-3928
14. Galanello R., Aru B., Dessi C., et al: "HbH disease in Sardinia: molecular, haematological and clinical aspects". *Acta Haematologica* 1992, 88:1-6
15. Fucharoen S., Winichagoon P., Pootrakul P., et al: "Difference between two types of HbH disease, α -thalassaemia 1/ α -thalassaemia 2 and α -thalassaemia 1/Hb Constant Spring". *Birth Defects Original Article Series* 1988, 23:309-315
16. Kanavakis E., Papassotiriou I., Karagiorga M., et al: "Phenotypic and molecular diversity of haemoglobin H disease: a Greek experience". *British Journal of Haematology* 2000, 111: 915-923
17. Steinberg M.H.: *Sickle Cell Trait*. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, and Nagel RL, ed. *Disorders of Haemoglobin: Genetics, pathophysiology, and clinical management*, Cambridge: University Press 2001; 811-830
18. Nagel R.L., Steinberg M.H.: *Haemoglobin SC disease and HbC disorders*. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, and Nagel RL, ed. *Disorders of Haemoglobin: Genetics, pathophysiology,*

- and clinical management, Cambridge: University Press 2001; 756-785
19. Itano H.A., Bergren W.R., Sturgeon P.: "Identification of a fourth abnormal human haemoglobin". *Journal of the American Chemistry Society* 1954, 76:2278-2282
 20. Hunt J.A., Ingram V.M.: "Abnormal human haemoglobins". VI. The chemical difference between Hb A and E. *Biochimica et Biophysica Acta* 1961, 49:520-546
 21. Fucharoen S., Winichagoon P., Thonglairoam V.: "[β]-Thalassaemia associated with α -thalassaemia in Thailand". *Hemoglobin* 1988, 12:581-592
 22. Fucharoen S., Winichagoon P., Prayoonwivat W., et al: "Clinical and haematologic manifestations of AE Barr's disease". *Birth Defects* 1988, 23:327-332
 23. Wasi P., Winichagoon P., Baramée T., et al: "Globin chain synthesis in heterozygous and homozygous haemoglobin E". *Hemoglobin* 1982, 6:75-78
 24. Traeger J., Wood W.G., Clegg J.B., et al: "Defective synthesis of Hb E is due to reduced levels of [β E mRNA". *Nature* 1980, 289:497-499
 25. Orkin S.H., Kazazian H.H., Jr. Antonarakis S.E., et al: "Abnormal RNA processing due to the exon mutation of the [β E-globin gene". *Nature* 1982, 300:768-769
 26. Manglani M., Lokeshwar M.R., Vani V.G., et al: "'NESTROFT'-- an effective screening test for beta thalassaemia trait". *Indian Journal of Pediatrics* 1997; 34:702-7
 27. D'Onofrio G., Zini G., Ricerca B.M., et al: "Automated measurement of red blood cell microcytosis and hypochromia in iron deficiency and beta-thalassaemia trait". *Archives Pathology Laboratory Medicine* 1992,116:84-89
 28. Galanello R., Barella S., Gasperini D., et al: "Evaluation of a new automatic HPLC analyser for thalassaemia and haemoglobin variants screening". *Journal of Automated Chemistry* 1995, 1 7:73-76
 29. Pembrey M.E., McWade P., Weatherall D.J.: "Reliable routine estimation of small amounts of foetal haemoglobin by alkali denaturation". *Journal of Clinical Pathology* 1972, 25:738-740
 30. Jonxis J.H.P., Visser H.K.A.: "Determination of low percentages of fetal hemoglobin in blood of normal children". *American Journal Diseases of Children* 1965, 92:588-591
 31. Kleihauer E., Braun H., Betke K.: "Demonstration von fetalem Hamoglobin in deu erythrocyten lines blu tausstrichs". *Klinische Wochen Schrift* 1957, 35:637-641
 32. Thein S.L., Reittie J.E.: "F cells by immunofluorescent staining of erythrocyte smears". *Hemoglobin* 1998, 22:41 5-41 7
 33. Thorpe S.J., Thein S.L., Sampietro M., et al: "Immunochemical estimation of haemoglobin types in red blood cells by FACS analysis". *British Journal of Haematology* 1994, 87:125-132
 34. Galanello R., Satta S., Pirroni M.G., et al: "Globin chain synthesis analysis by high performance liquid chromatography in the screening of thalassaemia syndromes". *Hemoglobin* 1998, 22:501-508
 35. Galanello R., Paglietti E., Melis M.A., et al: "Haemoglobin inclusions in heterozygous α -thalassemia according to their α -globin genotype". *Acta Haematologica* 1984, 72:34-36
 36. Weatherall D.J.: "Hematologic methods" in *Methods in haematology: The thalassemiias*. Weatherall DJ ed. Churchill Livingstone. 1983; 6:27-30
 37. Frischer H., Bowman J.: "Hemoglobin E, an oxidatively unstable mutation". *Journal Laboratory and Clinical Medicine* 1975, 85:531-539
 38. Galanello R., Ruggeri R., Addis M., et al: "Haemoglobin A2 in iron deficient [β -thalassemia heterozygotes" *Hemoglobin* 1981; 5:61 3-618

39. Galanello R., Barella S., Ideo A., et al: "Genotype of subjects with borderline haemoglobin A2 levels: implication for beta-thalassaemia carrier screening". *American Journal of Hematology* 1994, 46:79-81

第五章 遗传咨询

Mary Petrou

遗传咨询是预防措施中最复杂及最具社会重要性的方面。尽管下面的讨论范围较广，但其聚焦于父母知情选择权有关的问题而不是集中于信息的问题之上，所以它还远不完整。

遗传咨询与遗传诊断是不可分割的，其目的在于以正确的信息来取代对于遗传病起因的误解，通过了解可用的诊断、治疗和预防的资源来提高其自身及家庭健康的控制能力。尽管在很多医学会诊中咨询也起着作用，但在医学遗传学中由于常常需要预测遗传信息的本质、预测其他家庭成员的遗传问题，有时需要做出很困难的选择，也包括重要的伦理问题。这时遗传咨询就显得尤其重要了。

遗传咨询的定义是：

“向患者或可能有遗传风险的亲属提出关于疾病结果的推测、疾病发展和遗传的概率以及预防和改善症状的方式的建议”^[1]。

这个定义需要：

- 对现有的家庭成员的正确诊断
- 对疾病性质和预后的解释、可获得的治疗及在何处治疗
- 双亲及家庭成员的遗传风险预测。这需要画一个家谱树，也可召集其他的家庭成员做个调查。
- 遗传风险的传播和避免遗传风险的可能选择，包括配偶双方及其他家庭成员将疾病传给后代的机会及风险的解释。
- 避免进一步遗传给孩子的选择必须介绍清楚，包括产前诊断技术和相关问题、误诊和并发症的风险。
- 帮助当事人或配偶双方做出正确的决定。
- 建立长期的联系：风险人群在其一生中的某些时刻常常需要咨询和支援。

为满足以上要求，需要专门的遗传学知识，并进行咨询技巧、时间、与医学遗传学家或经培训的咨询师交流及反馈能力的培训。

5.1 遗传咨询中的问题

医学培训很少为医生提供充分的遗传咨询和为了帮助患者做出决定而与患者讨论疑难问题的训练。遗传咨询所包含的责任不应该被低估。由于以上所属各种条件的巨大差异及误诊和错误的信息可对个体或他们的家庭导致灾难性的后果，故遗传诊断常常是很困难的。

例如，地贫的杂合子表现型意味着遗传咨询者必须懂得地贫的分子遗传学知识，以便其能了解地贫的分子机制，并把这些信息与当事家庭交流。例如，当夫妇双方均携带 β -88 (C→T) 轻型 β^+ 地贫突变，临床表型很轻，他们应该考虑做产前诊断 (PND) 吗？同样地，轻型中间型地贫面临影响妊娠结局的伦理窘境。有的静止型突变如 -101 (C→T) 能在纯合的状态下，或即使与重型 β 地贫突变如 IVS1-110 (G→A) 相互作用均产生轻型或极轻型临床表现型。在这种病例或者配偶之一携带 β 地贫性状和另一方携带三重 α 基因 ($\alpha\alpha\alpha$) 或者 HPFH 的情况都将不必考虑产前诊断。还有其他改善因素也应纳入考虑，例如轻型 β 地贫突变 (如 IVS1-6 (T→C) 或 Cap+1 (A→C))，这种与 α 地贫共遗传或增加 HbF 的产量的决定因素。然而，这些因素对临床表现型的效应是不太一致的。咨询者应该有足够的经验和专业知识以便将这些信息及可能的结果告知患者。事实上，随着引起地贫的分子机制知识的继续积累，这个领域将会变得更复杂。

来咨询的镰状细胞病风险配偶常简单地认为自己仅是患者的亲属，但由于镰状细胞严重程度的范围极宽，可从极轻到极重，事实上这种情形是相当复杂的。其结果，患者面临着需要考虑是否要求做产前诊断的难题。一项在伦敦进行的研究表明，家族中镰状细胞病的经历极大地影响着当事人的决定：一对已有一个患儿的夫妇比起无这种经历的夫妇更愿意进行产前诊断及选择性终止患胎妊娠。该研究也发现，对产前诊断的理解常受诊治时间安排的影响：一个在孕中期来看医生的妇女往往不太愿意进行产前诊断^[2]。

相比之下，来咨询的 α 地贫水肿胎风险夫妇通常由于对患胎的预后不抱希望以及母亲将要终身面临产科风险的威胁而更直截了当^[3]。在这些病例中风险夫妇极少拒绝做产前诊断。然而，即使这样，由于开创了患胎宫内输血的可能，使得诊断可在足够早的时期进行，从而带来了新的难题^[4]。但是，关于结果和提供这一服务 (如果需要) 的方式等更多资料是需要的——最好通过国际间的合作研究来收集所有的宫内输血数据，包括所提供的胎儿治疗和结果，以形成一个最成功的方法准则。在宫内输血法能规范应用之前这些资料是必需的。在此之前，这一方法仅能用于基础研究。宫内输血治疗存活下来的婴儿的主要问题是严重的智力和身体的缺陷，尽管有的病例看来还不错。然而，问题是，如果这种方法证明能提供一种拯救 α 地贫患胎生命的服务，那么也可创造与重型 β 地贫治疗例如定期输血和铁螯合治疗等有关的一切挑战。所以，遗传咨询应包括在社会认可之前已被充分考虑的因遗传学技术的迅速发展而创造的新的医学可能性。最明显的例子与患胎的产前诊断的可接受性或不可接受性及选择性流产有关。

实际上，人们的观念受某个时期的重大影响，在该时期他们了解了他们面临的风险以

及是否应该做产前诊断，如果该风险在结婚之前已经发现，人们的观念是保持独身状态；不与另一个携带者成婚；或者与一个无症状的携带者身份的人结婚。如果在婚后才发现有风险，人们的观念有以下几种：离婚并找一个非携带者伴侣；少生或不生孩子；争取机会照常生育孩子；或者进行产前诊断及选择性终止妊娠——如果可提供这项服务而且是受欢迎的。

除非一个现行的携带者筛查方案是适当的，否则一对夫妇极少在婚前或着手组织家庭前知道他们将面临生育一个患血红蛋白病的孩子的风险。在那些未能提供婚前筛查和产前筛查的国家，大部分夫妇仅在他们的一个患儿确诊时才了解他们面临的风险，这也限制了他们的选择。

所以遗传咨询包含了一些挑战，因为所有可能的选择都包括艰难的道德和社会问题，在大多数情况下没有所谓的“正确答案”。但另一方面，一旦人们清楚了自己的风险，他们就不得不做出选择。即使不想选择也成了一种选择。

在大多数西方国家，血红蛋白病风险夫妇均可获得产前诊断，并有选择性流产的观念。人们意识到选择性流产并非是一个理想的或容易的解决方法。早期产前诊断比晚期产前诊断更好。并非所有可能孕育地贫患儿的风险夫妇都认为产前诊断对他们来说是一个正确的选择。然而，自从产前诊断首次实施以来，这些看法仅在十年间就已逐步发生了改变。在早期，接不接受产前诊断在不同的西方国家极大程度地依赖于家庭计划的状况及每一个国家现存的关于流产的法律。

要人们处理产前诊断的问题是很困难的，除非他们已经有习惯于控制自己生育行为的观念。而这是一个需要时间的社会变革。在 20 世纪 50 年代刚开始建立遗传诊断时，有生育风险的夫妇可得到遗传诊断选择这一信息被忽视，他们希望最好保持独身或离婚，或者通过家庭计划来限制生育（即与无法获得产前诊断的国家的夫妇面临同样的选择）。目前家庭计划已在西方国家被广泛地接受，当选择受限时，大多数人都很快清楚不是选择避免风险就是选择忽视风险，或者限制家庭的规模^[5, 6]。

5.2 具遗传学风险的人群可获得的选择

对具遗传学生育风险的人群尽可能做详细检查是有益的。

地贫携带者可在婚前和婚后被检出并知情这一事实开创了风险夫妇广阔的选择范围。实际上人们在进行选择时有着多种多样的经历。但是如何获得那些对特殊人群来说可以接受或不可接受的方法的信息呢？一个可能是通过公众会议、讨论和寄调查表给有关专业人员及普通公民。但是，这是以公众知情预测为先决条件的——一个目前发现于极少数国家的先决条件——所以需要大量普及公众教育。这种磋商的最广泛的应用已在 20 世纪 90 年代早期加拿

大皇家委员会的生殖新技术中实施^[7]。

这一调查的结果就象很多其他类似的调查一样表明了大部分人、包括很多因其自身的宗教或其他的原因不能利用这种服务的人，对严重的遗传病进行产前诊断及终止妊娠持赞成态度。

另一种可能是征求本身具遗传风险的知情人群的观点。但是，当他们不得不做出选择时，在他们认为应该做的与他们真正去做的事情之间可能存在着相当大的差异。一种更客观的方法是观察并报道风险人群真正做出的选择。通过上面所有的方式获得的数据将在下面的讨论中涉及。

在欧洲（包括塞浦路斯）尽管以社区为基础的血红蛋白病预防措施已包括了产前诊断和选择性流产的选择，而携带者筛查和遗传咨询已被一些已能进行产前诊断^[8, 9, 10]或产前诊断已取得合法地位^[10]的国家所引入。在欧洲和塞浦路斯，这些早期的经验对于一些可供选择的方法提供了有用的信息。

初级筛查

通常认为如果风险夫妇在婚前被鉴定出来，假定他们那时决定分手而重新寻找非携带者配偶即可避免患胎出生。然而，有多少能有效地在遗传信息的干涉下进行配偶挑选而发生的有效婚姻，我们却所知甚少。在很多社区中，婚姻是一种包括除未来的夫妇以外的很多其他家庭成员的复杂社会现象，成婚的配偶之间通常由于一种强硬的个人优先权或者有法律效应的家庭和传统的原因、或者是这三种意义的融合而被选择。

当一桩已计划的婚姻被取消时，通常引起社交窘迫或者给年轻人及家庭带来耻辱——但如果新的配偶也被发现是携带者那么风险问题将再次出现（例如，如果人群携带频率是 6%，那么异国人或者其他新配偶将有 12% 的机会是携带者，如果新的潜在的配偶是其亲属的话频率甚至更高）。

第二个可能是有计划地结婚，但互相间应避免生育。这在一个以家庭为中心的观念极强的社会中常常是一种很困难的选择并且是不现实的。这也有技术上的困难，除非能够很容易地实行高质量的家庭计划。对于已婚风险夫妇来说更现实的选择是限制其家庭规模。如果他们限制自己仅生两个孩子，那么有 56% 的夫妇将不会生育患儿。在出现这种结果的地方，这些夫妇可能会觉得他们的决定很正确。

要避免生育一个有已知遗传病患儿的其他选择，例如通过供体行人工授精、卵子捐赠或收养，已被证实到目前为止在所有的社会状况下都还不能普及，且在很多社区都不被接受。

另一种可能是先不结婚及成立家庭，直到能获得适当的预防方法为止。例如，当塞浦路

斯风险夫妇被通知即将可获得产前诊断时,很多夫妇都将怀孕时间延迟到他们能够获得这项服务之时^[8]。

最后一个可能是照常结婚及组成家庭,会不会生育患儿只能靠老天爷保佑了。这在别无选择的情况下似乎是常见的选择。

在产前诊断真正可行之前,希腊的阿特地区进行了一项关于已被通知为携带者状况的青年人在选择结婚伴侣问题上的效应研究。该地区人群的 20%为地贫或镰状细胞性状。所有处于婚龄的年轻人都接受筛查和咨询,并在咨询后 2 年内仍保持联系。当联系期末检测这些人的婚姻模式时,发现对于伴侣的选择来说,筛查并不具备可检测效应^[9]。

在同一时期,塞浦路斯用类似的方法尝试对携带者之间通婚的情形进行积极的劝阻。但这一方法证明并不被公众所接受并“由于逃避”而放弃了^[8]。一旦地贫产前诊断成为可能,人们将从塞浦路斯的卫生服务机构中获得这项服务。不久的将来,可信度极高的初级筛查由希腊东正教会教堂授权向希腊的塞浦路斯人推出。在土耳其的塞浦路斯人则由民政局负责。尽管塞浦路斯父母们对于其子女的配偶选择有着很大的影响,但发现 98%的未婚风险夫妇在婚前曾受检但仍结了婚。然而,在塞浦路斯,由于配偶们以各种方式利用了关于遗传风险的信息,使得重型地贫患儿的出生率几乎降为零。已有报道重型地贫出生率低于 5%。这归因于已订婚的未婚夫妇分手,同时约有 80%应归因于产前诊断和选择性流产。剩下的人中,以平均数计,其结果是风险夫妇比非风险夫妇的孩子为少^[11]。

在塞浦路斯和撒丁岛,人们目前已对地贫非常了解并对道德预防控制措施、包括少许强制性措施增加了信心。对高中学生目前增加了携带者检查的普遍要求,以便青年人及其家庭成员能在挑选婚姻伴侣的早期就开始重视携带者状况的信息^[12]。地中海地区的这些实践所得出的结果将给其他人带来极大的影响并效仿之。

在加拿大,关于家族黑蒙性痴呆和地贫的资料方案及携带者筛查已在马托雷尔高级中学中证实具有很高的可接受性并为人们尝试如何利用遗传资料提供了信息^[13]。对接受筛查的年青人接着进行问卷调查,所包括的问题例如“你认为一对正准备结婚的未婚夫妇发现彼此都是携带者后会改变其结婚计划吗?你会改变你的结婚计划吗”?有趣的是,几乎 80%的被调查者认为其他的未婚夫妇应改变其结婚计划,而仅 10%的被调查者认为他们将改变自己的结婚计划。很明显,不能太容易低估了他人精神生活的重要性。实践经验才是人们如何利用关于遗传风险信息的唯一指导。

所以,及早进行携带者诊断和遗传咨询,以便风险夫妇及家庭成员能知情选择分手还是生活在一起,这似乎是强硬的事实。然而,仅凭遗传风险的知识就改变终身伴侣的选择可能

是不足够的。

在上面提及的国家中，目前已可获得产前诊断的服务，很多其他的国家包括大多数穆斯林国家已开始从医学、宗教和社会观上来评价其实用性。

5.3 遗传咨询的伦理和宗教问题

由于有遗传风险的人群面临的选择可能是如此的困难，后果将影响一生，有经验的遗传咨询者认为知情的个体或夫妇本身就是他们的行为的最佳裁判。所以遗传咨询将是“非指令性”的：即遗传咨询师的主要原则是为风险个体提供完整的信息，给他们充分的时间来考虑这个信息，并帮助他们做出觉得对他们自己最符合道德的决定。

为什么遗传咨询应该是非指令性的，理由如下：

- 风险人群在回答问题时常常对自己的状况有第一手的经历，这一点与大多数顾问不一样。
- 他们必须清楚所有的事实，通盘考虑并做出其今后必需的生活方式的决定。
- 在知情个体实际上能获得的诸多选择中，正确的选择很可能由很多因素来决定。这些因素包括其社会及宗教态度、个人经历、经济及教育水平、家族史及生育史。
- 医生及其他专业人员在通过对遗传风险的意识之上做出的更符合道德的生育方式的选择上并不比患者更有资格。

所以，就象在过去 20 年间在西方已逐步发展起来的那样，遗传咨询的伦理性惯例需要以下条件^[13, 14]：

- (1) 个体或夫妇的自主权
- (2) 他们对于完整资料的权利
- (3) 私密性的最高标准

医学伦理是基于道德、宗教、哲学及人们所生存的社会道义之上的。所以如果发现在英国社会中被接受的伦理在另一个社会中可能并不被接受是不奇怪的。家庭和社会的范畴极广，宗教法律惯例及经济资源均包含于其中。所以说，在中东的不同国家之间可能有不同的结论。如象遗传咨询等科技服务并不能从一个社会原封不动地搬到另一个社会。

真正的道德行为包括个人对有关价值的探索，这些价值使人们能做出受道德启发的抉择。关于监督在第九章中表明了如何获得有关父母知情选择的信息，以及在特殊的社会中如何反映什么才是可接受的伦理。无论是患者还是咨询者，一个个体的伦理态度常常带有其社会倾向的色彩。而社会倾向又受神学家、统计学家、家庭计划管理人、医生、决策者、社会学家、经济学家及法律学家的影响。所有这些团体都将考虑遗传咨询的基本伦理原则，尤其是个体的自主权，并在代表社会做出裁决之前把主要的重点放在知情的父母对风险个体的选择上。

所有的医学措施包括遗传预防措施必须在现行的法律和社会构架下运作。然而，技术的发展是迅速的，而法律、社会和宗教的发展则慢得多。

大多数宗教牵涉到一系列的观点和困境。而意大利、塞浦路斯和希腊对产前诊断的高度理解显示了人们会做出适合于自己的选择。希腊东正教神学者在一份报告中的“遗传咨询伦理”底下加了下划线——即那是没有正确答案的。他复述道：“认识到为什么没有答案吗？在我们的宗教里那被称为智慧的开始”。

一些穆斯林国家正准备为风险夫妇提供产前诊断和选择性流产，或者说这些服务设施正处于不同的发展阶段。这就是到目前为止为何在这些国家里关于这些服务设施可获得的可接受性的信息评论是如此重要的原因了。

对很多穆斯林来说，宗教是日常生活的核心，并影响着很多习惯、观点和实践，包括政策的形成^[15]。要求穆斯林遵循有关规律的日常活动的教育称为伊斯兰教教法，而伊斯兰教教法除了一些例如有关礼拜、仪式和道德法规等规则之外并不是刻板和一成不变的。伊斯兰教的教法容纳不同的诚实主张，只要它们不与其基本源头的精神发生冲突并被引导向着对人类有利的方向发展。在穆斯林社会制定的规则和准则中，利益首先必须容忍伊斯兰教教法的规定和精神，以及当地盛行的社会风气。

穆斯林神学家认为胎儿的发育分为三个发生阶段，每个阶段持续 40 天：精子细胞和卵子、象血凝块一样的团簇及肉团（胎儿）。在这三个阶段的末期，胚胎被赋予了灵魂。然而，仅在 120 天后才具有灵魂这一宗教信仰无法改变生命开始于胚胎发育的更早阶段这一事实。

从穆斯林的观点来看，为保护母亲的生命或健康，或者因为胚胎异常无法生存而进行一次流产是符合伦理的^[16, 17]。然而在认为可容许终止妊娠的这个阶段似乎是充满变数的。有的穆斯林法理学家不允许任何情况下的流产，而另一些地方的穆斯林在对母亲和胎儿有危险的情况下则允许在胎儿生命的头 120 天内流产。允许流产的时间也不一样：有的法律学家仅允许 40 天的胚胎流产而其他的则允许 90 天的胚胎流产。如这个例子：在巴基斯坦，我们通过两个知名的宗教学者在产前诊断之前制定了一个法学家的裁决条款：

1. 在胚胎已经具有灵魂之后（妊娠 120 天之后）即使检出严重的疾病亦是绝对禁止终止妊娠的。终止一个具有灵魂的胚胎等于杀死一个具有灵魂的孩子。无论他有多么严重的疾病，杀死孩子是在任何情况下都不允许的。同样的，在胚胎已具有灵魂时终止妊娠或说服别人终止妊娠也是不允许的。
2. 如果在胚胎尚未具有灵魂之前（妊娠 120 天之前）试验显示胚胎有严重的异常，经有声誉的医生建议终止妊娠，母亲可以答应接受终止妊娠。

穆罕默德. Taqi thmani

Mufti,

Jmaia Dar ul-Uloom, Karachi

大多数穆斯林认为生命并非开始于受孕之时。他们相信人类生命在开始几周需要保护，也许 2 周左右，在原条发育之后^[18, 19]。所以，植入前遗传学诊断（PGD）备受鼓励。在该法可实行的地方，可作为避免终止妊娠的一种方法^[18, 19]。事实上 PGD 的重要性已在开罗的 Al-Azhar 大学国际伊斯兰教人口研究与探索中心的辅助生殖技术国际专题讨论会的有关伦理条文中得到认可。

但是，我们应该承认，对同一问题，从道德和宗教分别论证是会得出不同结论的。因此，我们必须接受这样一种事实，即某一首选结果的追从者，很可能会承认另一首选结果的追从者是在采纳一些方法，这些方法产生的结论不同，但其道义是相同的。

5.4 产前诊断

旨在预防血红蛋白病的服务机构也并非很全面，即使在大多数发达国家亦如此。尽管可提供产前诊断服务，但仍有重型地贫患儿出生。这说明这些患儿的出生大部分并非归因于拒绝产前诊断，而应归因于患者和医生不知道存在的风险及可获得的服务。所以不周全的服务实施是一个关键的伦理问题，因为它使风险夫妇丧失了做出知情选择的能力。

产前筛查正在全球范围内稳定地展开，并在少数已引入携带者筛查的发达国家也能获得这项服务^[20]。下面我们将评价大量已长期开展筛查和预防措施的国家的经验，但这些国家的首要问题是必须解决许多实际的及宗教和伦理的困境。

伊朗：伊朗是地中海东部地区的一个大国，有着能涵盖每一个家庭的全面的初级卫生保健系统。该系统拥有经过训练的固定工作人员。1996 年伊朗的人口超过了六千万，其中大部分是穆斯林。该地区总人口的 1.5-12% 携带 β 地贫，近亲结婚很普遍，每年超过一千个患儿出生。

大部分患儿得到诊断并尽可能努力提供治疗，明显地改善了存活率。结果表明，经过治疗的地贫患者的数目每年增加一千左右，目前二万以上的儿童在治疗中心接受治疗。目前最适治疗^[21]的费用大约每年 1.5 亿，几乎相当于国家卫生总支出的 8%^[22]。如果这种趋势继续下去，将来费用可能升高到目前国家卫生总支出的一半以上。由于这是一个显而易见的无法实施的问题，故伊朗决定提供遗传筛查和咨询。

由于计划结婚的未婚夫妇按惯例要参加管区卫生中心的婚前教育、家庭计划和一些强制性的血液检验，故伊朗的婚前筛查是可行的。在一次细致的试点研究之后，地贫筛查在

1997 年被纳入中心血液检验中。为了费用支出的有效性以及减少对妇女们可能的诬蔑，很多国家首先检查男方，如果男方的结果阳性才检查女方。双方均为携带者的未来夫妇约见经培训的卫生工作者（通常为医生）进行咨询。该程序根据自主的伦理原则、详细的资料和保密性进行。目的在于允许知情选择。

管区卫生中心反馈到卫生部的年度统计结果说明，到 1999 年底为止，共检验了超过 88 万对未婚夫妇，并有 2600 对未婚风险夫妇得到鉴定及咨询。据估计大部分未婚夫妇可能分手，因为婚事通常被调解及需要进行产前诊断。虽然在德黑兰的私人诊所可以获得产前诊断，但费用对大多数家庭来说太昂贵了。但是，有 50%的人仍按婚姻计划进行，而 37%的未婚风险夫妇分了手。当这些数据被收集时其余的人仍在与这个条文进行斗争（SamavatA ., 个人交流）。所以，多数人发现以遗传筛查资料为基础来选择伴侣是不可接受的：故代之以高需求量的产前诊断。

这一结果得到医疗界和政治界最高层的认可，当地的官员们清楚如何代表人民的意志。一个法学家的裁决条例允许一个已证实有严重异常的胚胎在孕早期流产。一个 DNA 实验室国家网络目前正着手建立，以便在国家卫生系统中能获得产前诊断（SamavatA ., 个人交流）。**巴基斯坦：**当地已建立了完善的初级卫生保健系统。如象在伊朗一样，可通过初级保健提供遗传筛查和咨询。然而，同样的，在缺乏强有力的初级卫生保健系统的情况下，可能还需要建立有想象力及经济的方法来进行以社区为基础的遗传咨询，如象在巴基斯坦那样，通过使用定向筛查的技术来对病变蔓延家庭的个体进行筛查^[23]。

地贫是巴基斯坦最常见的单基因病，每年出生患儿超过 3500 个。1994 年产前诊断由 Suhaib Ahmed 医生首次引入巴基斯坦拉瓦尔品第市^[24]。在这项服务引入之前，征求宗教学者的意见被认为是很重要的。两位巴基斯坦著名的宗教学者给出了清楚的裁决，允许经证实有严重异常的胚胎在妊娠 120 天（即在妊娠 17 周或 19 周）前终止妊娠。这段被指定的时间是参考妊娠期还是参考胚胎周龄都是不明确的。但实际操作中时间的上限是由超声波检测确定胎龄来认可的。两位学者都将自己的观点建立在可兰经的诗句和穆罕默德言行录之上。

从 1994 年开始，为了各种遗传病进行了 1000 多例的产前诊断，孕有患胎的妇女 90%终止了妊娠。宗教领域的大部分夫妇选择反对终止妊娠。但是，小部分未终止妊娠者是因为他们负担不起医院的入院费用等问题^[24]。

泰国：泰国是一个具有 6 千万人口的东南亚国家。大部分人是佛教徒。最常见的遗传病是地贫和 G6PD 缺乏症。尤其是地贫在泰国非常流行，造成了公认的公共卫生和社会经济挑战。过去 10 年来地贫的产前诊断及选择性流产已能在许多中心得以完成。尽管佛教不允许流产，

但很多家庭面临着孕育患胎而需要终止妊娠的前景^[25, 26]。

泰国在进行了多年的各种实验模式之后，目前正处于开展全国范围的预防和控制措施的进程之中。例如在该国北部的清迈医院，已经建立了筛查、咨询和产前诊断^[26]。在过去 3 年中没有一例胎儿水肿综合征婴儿出生。

泰国的双亲支持团体在鼓励和允许人民实现社会和政治变革以使公民关注上述问题方面是相当成功的。其结果是，为发展适当的基础而做出的努力目前已获得了政治支持。然而，关于终止妊娠的宗教保留权尚未完全消除。根据佛教的告诫，任何生命的毁灭都是一种罪孽。根据泰国的法律，除非母亲的健康有危险，否则流产是非法的。目前一切努力都集中于宪法的修订。不仅为了对付地贫，而且为了致力于近代生殖技术、胚胎干细胞研究和克隆的提高。可以预期，在新的法律之下，由于地贫而选择性流产将被普遍接受（Fuchareon S., 个人交流）。目前，每一家医院都拥有通常包括产科医生、精神病医生和法医学医生在内的流产部。法医负责流产部的每一例选择性流产病例申请的复审。

印度：印度是一个拥有 10 亿以上人口的东南亚大国。大多数印度人是印度教信仰者，还有大量的穆斯林以及佛教、锡克教、基督教和印度袄教徒。据估计有 1-3% 的人群是 β 地贫携带者，在一些少数民族群体中该统计数高至 17%^[27, 28]。每年约有 6000 个重型地贫儿童出生——在东南亚 30% 以上的新生儿带有严重地贫综合征（Modell B., 个人交流）。

在印度，地贫的治疗至今仍是一个令人绝望的局面。不能正视问题而带来的缺乏计划意味着没有采取预防措施。因此大量的患者很难得到安全的长期的治疗。家庭面临着为了试图应付高费用的治疗而带来的负担。这一支出总数常常占了家庭收入的 20-30%^[29]，而由于无法得到治疗导致很多患儿在早期死亡。

近年来，虽然还没有相应的全国性地贫控制策略，政府机构及非政府组织（NGOs）已引进了处理这一问题的方案。1988 年在 Bai Jerbai Wadia 儿童医院建立了地贫控制措施。该医院位于孟买，是一个公众慈善医院，与伦敦大学医学院产科中心有协作关系，受英国政府海外发展处（ODA，现为 DfID）财政资助。该方案已实施了 1500 多例的产前诊断程序——大部分为回顾性的——通过绒毛膜标本（CVS）和胎血标本，使用分子诊断技术和传统的珠蛋白链合成及层析柱技术^[30]。非政府组织如象 “We Care Trust” 也已经开始了本地区的筛查工作，提供费用很低的检验。

这样的一些努力有助于使医学从业者特别是产科医生的态度趋向于地贫筛查。这反过来也增加了风险夫妇首次妊娠的确诊机会。

在印度，从道德层面来说，根据初级筛查结果来制止联姻的策略并不现实，因为这样一

种政策是将污名强加于携带者妇女身上。包括大学生受检的一些方案目前正在进行中。但是，为了评估这些大学生如何利用携带者状况的信息来挑选他们的婚姻伴侣，需要收集后续的数据。

对于大多数未受过教育的人群来说，接触的信息有限，社会和宗教戒律及家庭的影响仍妨碍着风险夫妇寻求 PND 服务，即使他们已经有了重型地贫的孩子。这就是下文中将要提及的遗传咨询对于风险夫妇选择产前诊断的重要性^[29]。一个实施于 1998 年的地贫控制方案调查说明，一旦风险夫妇接受了咨询并了解了他们的风险，了解了介绍给他们的产前诊断，他们就会接受选择性终止受累妊娠——这是一个横跨社会、宗教和经济群体而存在的情况。这预示着如果有关信息能够传播到相关的人群，那么建立一个有效的预防方案是有可能的。而教育、咨询和产前诊断的设施是任何方案的关键基础。

通过大众媒体例如电视以影响城市和乡村地区的大比例印度人群来形成公众意识，对于将来的控制策略以及建立咨询中心都将起到关键的作用。最后，为了控制已经过度伸延的机构所带来的不断增加的负担而做出的努力，也将开始促进目前正寻求帮助的地贫患儿的治疗。

5.5 近亲结婚

在赞成近亲结婚的社会里如何提供遗传咨询的问题会给家庭和卫生工作者造成同样的困境。理想的遗传学方案应该包括针对这一问题的敏感和现实的方法。

世界人口 20% 的人群居住于赞成近亲结婚的社区中。全球至少 1/12 的孩子在父母是亲属的家庭中出生^[31]。几千年来在世界很多地方表兄妹联姻已成为习俗。尽管这种习俗常与穆斯林宗教有关，但这一习俗在其他的文化背景下也很普遍。事实上，这种普遍、长久的近亲结婚习俗显然有着其重要的社会基础。目前在北欧约有 0.5% 的人群在第一代表兄妹之间婚配。

父母有亲缘关系的家庭绝大多数并没有遭遇不利影响。据报道在这些人群中儿童的平均死亡率和发病率的增高在家庭成员有限的家庭中很大程度归因于相对严重的效应，相对于亚群来说，这些家庭作为一个整体改变了平均指数。所以，为了帮助这些家庭降低遗传问题的医学尝试应该把重点放在特殊的高风险家庭的鉴定及为他们提供遗传咨询和接受适当的服务。

然而，在一些国家，已在努力通过强调有关遗传风险的公众教育方案劝阻近亲结婚。这类方案来源于这样一种观念：隐性遗传病（尤其是罕见和不常见的类型）在这些人群中特别常见，当适当的遗传咨询服务尚未健全或尚不存在时预防的就非常迫切。看来改变人群的习

惯是降低遗传病发病率的唯一可能的途径。

在我们不了解近亲结婚习俗的社会根源和带来的后果的情况下试图降低遗传频率反而会有害无益。当大部分家庭在任何情况下都不会遭遇地贫时再干预世俗的近亲结婚安排。而且，非指令性遗传咨询的概念与反对近亲结婚的运动是不能共存的。与近亲结婚相关的政策应该以对习俗的社会规则的理解及试图干预的可能后果为基础。

英国一些因抵抗近亲结婚^[31, 32]而面临压力的家庭论坛得出了下列结论：

- 反对近亲结婚的压力虽然使他们觉得不自在，但很少能改变人们实际的做法。
- 如果人们被告知因为他们是亲戚而使孩子患病，可引起不必要的巨大苦恼，可能使他们互相疏远而更难以了解事情的真相。
- 在近亲结婚很普遍的地区，人们意识到大多数近亲结婚的夫妇都有完全健康的孩子。如果他们被告知不要与表兄妹结婚否则他们的孩子会生病，他们可能被弄糊涂而对医学建议失去信任。
- 避免近亲结婚并不能保证孩子不得先天性疾病。无亲缘关系的夫妇生育了患儿可能使他们对医学建议失去信任。
- 如果人们认为他们将被批评，他们的文化习俗将受到非难，他们就不会参加遗传咨询会议。

为什么一些社区赞成近亲结婚

很多社区——欧洲除外——有一种父亲亲缘关系模式（姓氏及财产均继承父系）。男人和他们的后代趋向于聚居在一起，尤其当这个家庭拥有土地并与演化出来的家庭成员彼此分担责任时。结婚后，妇女离开自己的家庭而进入丈夫的家庭之中。近亲结婚能调和这一转变的牵连，并通过加强妇女在家庭中的地位和建立女性的关系网而对家庭做出更好的贡献。以下是 A. Darr 和 B. Modell 在最近一次皇家医学会召开的关于“近亲结婚在英国：一种多惩戒的策略”的会议上提出的结论：

- 父母应该对与亲缘连姻的子女保持亲密关系，尤其是对女儿
- 女性应该与继母和睦相处，从孩提时代起她就清楚继母也是婶母、姨母一样的长辈
- 增加了财政保证，因为如果配偶之一死亡，在世的一方仍是这个家庭的成员，有自己的权利
- 演化出来的小家庭需要相等数目的男孩和女孩，所以不应该把女孩当成负担
- 在有性别隔离习俗的社会中，年轻人之间如果是亲戚，婚前可以更容易互相了解
- 可以减少与婚姻有关的开支和财产交换

近亲结婚的习俗使得东亚家庭的遗传咨询特别见效，这有两个主要的原因。首先，在家庭

中可发现所述疾病的非常大量的携带者。这些携带者检查可以使得很多地贫和镰状细胞病风险个体发现于早期，同时对新发现的患病个体接受监督和早期治疗是有益的。其次，当家族中近亲结婚很普遍时，携带者特别是高风险携带者形成了风险婚姻。患儿诊断出来之后的家系研究将鉴定出许多携带者，他们将接受有关自己生育风险的咨询。很多人已经结婚，其中一些可能是风险夫妇，在预期的生育咨询中被及时鉴定出来。很多人还是孩子或尚未成婚，早期的信息可使携带者考虑避免在家系中形成进一步的风险婚姻。这种方法在巴基斯坦试行过^[23]（见上文）。

一般观点与结论

遗传学的道德问题是以这一事实为基础的，即我们所知道的并非真正为人们所透彻了解。这一事实对父母和医疗机构双方都起着一种不容推卸的责任。

遗传风险一旦被知晓，做出决定就是父母的责任。发现有地贫风险的夫妇最常见的反应是：“我们没有选择，如果我们知道的话就不会把孩子带到人世遭罪”。而其余坚持将患儿生下来的人则面临有罪的责任。有证据显示父母愿意承担对生与死的责任。例如在英国，一些妊娠期间未经鉴定及咨询而后来有了重型地贫患儿的风险夫妇希望控告他们的产科医生玩忽职守，认为他们被剥夺了知情权及选择权——因为他们的孩子的遭遇不是一个简单的不幸而是一种不公正待遇。这些父母由于了解了真相，他们坚信，应该有人为他们的患儿的出生负责。这一本应归于父母的可选择权被剥夺了^[33]。

医学专家的责任开始于可提供产前诊断服务之时，所以其后每一个生命都带来了新的社会责任。这一责任只能通过充分的知情和遗传咨询而解除并传递给父母。

影响遗传咨询的伦理原则需要每个国家考虑其当地社会和宗教结构来进行评价。这一点对于围绕着与世俗的近亲结婚有关的产前诊断及咨询问题来说特别重要。

参考文献

1. Harper P. Practical Genetic Counselling Third Edition 1988. Editors: Wright. Publishers: Butterworth & Co. Ltd
2. Petrou M, Brugiattelli M, Ward RHT, Modell B. "Factors affecting the uptake of prenatal diagnosis for sickle cell disease". Journal of Medical Genetics 1992, 2: 820-3
3. Petrou M, Brugiattelli, Old J Ward RHT, Modell B. "Alpha thalassaemia hydrops foetalis in the UK: The importance of screening pregnant women of Chinese, other South East Asian and Mediterranean extraction for Alpha thalassaemia," British Journal of Obstetrics and Gynaecology 1992, 9: 985-89
4. Ng PC, Fok TF, Lee CH, Cheung KL, Li CK, So KW, Wong W, Yuen PM. "Is homozygous Alpha thalassaemia a lethal condition in the 1990s?" Acta Paediatrica 1998, 87: 1197-9
5. Carter CO. "Current states of Genetic Counselling and its assessment" in Birth Defects, Motulsky A. and Lenz W. (eds) Excerpta Medica. Amsterdam. 1974
6. Modell B., Ward R.H.T., Fairweather D.V.I. "Effect of introducing antenatal diagnosis on the reproductive behaviour of families at risk for thalassaemia major". British Medical Journal 1980, 2: 737
7. Proceed with Care. Final report of the (Canadian) Royal Commission on New reproductive Technologies. Canada Communications Group, Ottawa, Canada, 2 vols. 1993
8. Angastiniotis M.A., Hadjiminias M.G. "Prevention of Thalassaemia in Cyprus". The Lancet 1981, 1: 369-70
9. Stamatoyannopoulos G. "Problems of screening and Counselling in the haemoglobinopathies". Birth Defects, Motulsky A. G. and Lenz W. (eds.) Excerpta Medica. Amsterdam. 1974, 268-76
10. Gamberini M.R., Lucci M., Vullo C., et al. "reproductive behaviour of families segregating for Cooley's anaemia before and after the availability of prenatal diagnosis". Journal of Medical Genetics 1991, 28: 523-9
11. Angastiniotis M.A., Kyriakidou S., Hadjiminias M. "How Thalassaemia was controlled in Cyprus" World Health Forum 1986, 7: 291-7
12. WHO 1993. Joint WHO/TIF Meeting on the Prevention and Control of haemoglobinopathies (7th Meeting of the WHO Working Group for the Control of Hereditary Anaemias) Nicosia, Cyprus, 3-4 April 1993 (unpublished report WHO/HDP/TIF/HA/93.1)
13. Zeeaman S., Clow C.L., Cartier L., et al. "A private view of heterozygosity: eight-year follow-up study on carriers of the Tay-Sachs gene detected by high-school screening in Montreal". American Journal of Medical Genetics 1984, 18: 769-78
14. Fletcher J.C. Berg K. Tranoy K.E. "Ethical aspect of Medical Genetics: a proposal for guidelines in genetic Counselling, prenatal diagnosis and screening". Clinical Genetics 1985, 27: 199-205
15. Serour G.I. "Ethical Considerations of Assisted Reproductive Technologies: A Middle Eastern perspective". Middle East Fertility and Sterility Journal 2000, 5: 13-8
16. Glover J. "Ethics of New reproductive Technologies: The Glover Report to the European Commission, Studies in Biomedical Policy, Dekalb, IL: Northern Illinois University
17. Serour G.I. Aboulghar M.A., Mansour R.T. "Bioethics in medically assisted conception in the Muslim world". Journal of Assisted Reproduction and Genetics 1995, 12: 559-65
18. Serour G.I. Dickens B.M. "Assisted reproduction development in the Islamic world". International Journal of Gynecology and Obstetrics 2001, 74: 187-93

19. Serour G.I.: "Attitudes and cultural perspectives on infertility and its alleviation in the Middle East area". Paper presented at the WHO Expert Group Meeting on ART, Geneva, Sept. 2001
20. Petrou M., Modell B.: "Prenatal screening for haemoglobin disorders". *Prenatal Diagnosis* 1995, 15:1275-95
21. Karnon J., Zeuner D., Brown J., et al: "Lifetime treatment costs of beta-thalassaemia major". *Clinical and Laboratory Hematology* 1999, 21:337-85
22. 2000 World Development Indicators. The World Bank, Washington, O.C.
23. Ahmed S., Saleem M., Modell B., et al: "Screening extended families for genetic haemoglobin disorders in Pakistan". Forthcoming, *New England Journal of Medicine*
24. Ahmed S., Saleem M., Sultana N., et al: "Prenatal diagnosis of beta thalassaemia in Pakistan: Experience in a Muslim country". *Prenatal Diagnosis* 2000, 20:378-83
25. Fuchoreon S., Winichagoon P., Thonglairuam V., et al: "Prenatal diagnosis of thalassaemia and haemoglobinopathies in Thailand: Experience of 100 pregnancies". *South East Asian Journal Tropical Medicine Public Health* 1991, 22:16-29
26. Tongsong T., Wanapirak C., Siridatnapa P., et al: "Prenatal control of severe thalassaemia: Chaing Mai Strategy". *Prenatal Diagnosis* 2000, 20:229-34
27. Sukumaran P.K., and Master: "The distribution of abnormal haemoglobins in the Indian population". In *proceedings of the First Conference of the Indian Society of Human Genetics* vol. 1: Human population genetics in India, Bombay, Orient Longman 1973 91-111
28. Modell B., and Petrou M.: "The problem of haemoglobinopathies in India". *Indian Journal of Haematology* 1983 1-5
29. Sangani B., Sukumaran P.K., Mahadik C., Yagnik H., Telang S., Vas F., Oberroi R.A., Modell B., Merchant S.M.: "Thalassaemia in Bombay: The role of medical genetics in developing countries". *Bulletin of the World Health Organization* 1990;68(1):75-81
30. Thakur (Mahadik) C., Vaz F., Banerjee M., et al: "Prenatal diagnosis of beta-thalassaemia and other haemoglobinopathies in India". *Prenatal Diagnosis* 2000, 20:194-201
31. Modell B., Kuliev A.M.: "Social and genetic implications of customary consanguineous marriage among British Pakistanis". *Galton Institute Occasional Papers, Second Series, No 4* The Galton Institute, 1992
32. EMRO Technical Publications Series 24; 1997 Community Control of Genetic and Congenital Disorders
33. Modell B.: "Ethical and social aspects of foetal diagnosis for the haemoglobinopathies: A practical view". In "Prenatal diagnosis thalassaemia and the haemoglobinopathies" Loukopolous D (ed.) CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, 1988.

第六章 血红蛋白病的胎儿标本取样

Eric Jauniaux and Mary Petrou

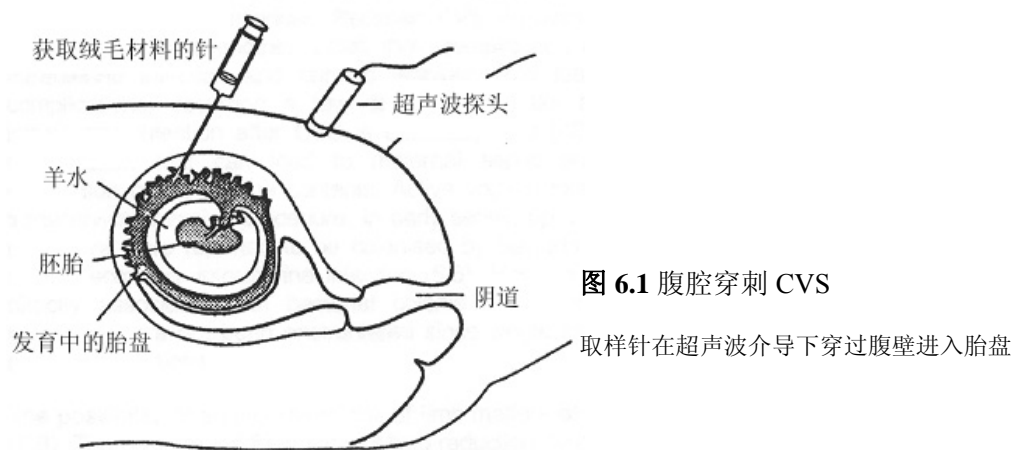
经鉴定的高风险夫妇应该向精通血红蛋白病遗传学、分子学及血红蛋白病治疗的专业遗传咨询医师进行咨询。咨询将是非指令性的，目的在于为风险个体或夫妇提供足够的信息以便他们能够做出自己的生育知情选择（见第 5 章）。产前诊断的详细内容，包括胎儿标本取样、取样后流产或取样失败及误诊的风险等都应该与当事人或夫妇双方详细讨论。

使用最普遍的产前诊断胎儿取样方法是绒毛膜取样（CVS）、羊膜腔穿刺术和胎血取样，每种方法都需在专门的超声波介导下进行。目前，在孕早期只有 CVS 能给出可靠的结果，该法也是血红蛋白病 DNA 诊断首选的取样方法。

6.1 绒毛膜取样（CVS）

CVS 的目的是获得发育中的胎盘的少量样本，胎盘的遗传结构与胎儿的相同。CVS 最早是在妊娠 10-11 周时使用镊子或导管通过宫颈进行^[1]。

近年来，经腹腔穿刺 CVS 已被引入临床实践。此法包括在超声介导下用针穿过腹壁获取胎盘的活组织检查（图 6.1）。少量的绒毛样本就这样被吸出。该技术能在妊娠 11 周前的任何时期进行。



经腹取样法在世界各地产前诊断中心的应用与日俱增。随着高分辨超声波的出现，使用徒手超声波介导单针抽吸技术经腹 CVS 已成为妊娠 6 周直至孕晚期的常规操作。在最近十年间已经做出了一些改进，包括活检钳或双针系统的使用。

优点：CVS 的最大优点是该技术能在孕早期进行，即在许多国家关于流产法律规定的

时间范围内进行。这也减轻了后期产前诊断带来的感情压力及后期终止妊娠出现并发症的风险。另外，在其他人员知道怀孕一事之前整个程序已经完成，保护了父母的隐私。CVS 也有技术上的优点，该技术获得的胎儿细胞比起其他取样方法要多得多。几天后用 DNA 分析法就能得出结果。

与 CVS 有关的胚胎流产的操作风险研究结果较分散，范围从 0.5%至 4.5%。然而，与 CVS 程序有关的事故与操作者的经验，尤其与为了取得足够标本的操作次数有关的说法尚有一些疑问^[2, 3]。简单来说，CVS 需要一个专业的团队，有经验的操作者胚胎流产率为 0.5-1%^[4]，尚无证据表明会增加产科并发症。阴道污染或出血是 CVS 之后最常见的紧急并发症（1-4%的病例），常在经宫颈取样后观察到（最高达 20%的病例）^[1]。子宫——胎盘或脐带——胎盘的小分枝直小静脉损伤也会导致胎盘的渗血和/或绒毛膜下出血并随后流产。妊娠囊内渗血的形成常在操作期间或操作后几分钟内就很明显，因为 CVS 包括妊娠囊的穿刺。羊水过少是另一种罕见的与 CVS 技术有关的并发症，宫内感染和绒毛羊水渗漏是另外两种可能的并发症，发生于 CVS 后几天至 3 周之内。尽管 CVS 后的宫内感染非常罕见（<0.1%的病例），但它能导致母亲败血症休克，需要立刻排出子宫内容物。活动期阴道感染是经宫颈侵入性检查的禁忌症。在早期，据报道操作中使用了导管的病例中高达 30%有细菌菌落，有的病例涉及继发宫内感染^[5, 6]，然而，胚胎流产与宫颈细菌转移并无直接关系。由于重复插入的操作已停止使用单管，所以并不会遭遇有生命危险的感染。

取样增加肢体畸形可能性的讨论目前很广泛^[7, 8]。在整体人群中肢体短缺的频率是很低的，在新生儿中占 0.04-0.06%^[9]。一些研究所见表明极早期的 CVS 可引起肢体短缺及口腔下颌骨——肢体发育不全，总发生率增加 10 倍。Firth 等报道^[10]经 CVS 之后肢体短缺的范围似乎比整体人群中观察到的肢体短缺更为严重，并与妊娠期中 CVS 进行的时间选择有直接关系。然而，应该强调，样本越大，经鉴定的肢体短缺的风险越低（见表 1）。一项世界卫生组织（WHO）关于 CVS 后包括肢体短缺在内的并发症的国际登记表证实，从 1992 年 5 月到 1994 年 5 月，在总数为 138996 个涉及 CVS 的妊娠中，据报道有 77 个胎儿或婴儿有下肢或上肢短缺。这些数据与发现于一些受调查的大人群中的肢体短缺分布相类似，这表明肢体短缺的总频率或分布模式在背景人群和经 CVS 人群之间并无差异。CVS 在妊娠期何时进行与肢体短缺的严重性之间也无相关性。在妊娠第 9 周开始之后增加的任何风险实际上已被排除了^[10, 11]。但有证据表明一些胚胎发育不全与极早期的取样（从未次月经起满 8 周之前）有关^[10, 11, 12]。所以建议 CVS 在妊娠 9 周之后进行，最好是在妊娠 10.5 周进行。

6.2 羊水取样

孕中期（15-19周）行羊膜腔穿刺在20世纪60年代引入，目前仍是胚胎遗传缺陷产前诊断最常用的侵入性技术。

在超声波介导下的羊膜腔穿刺由于提高了安全性而被称为所谓的“经典性羊膜穿刺”，该技术已在世界范围内被迅速认可。羊膜腔穿刺常规在妊娠16周之后进行。该程序包括在连续的超声波介导下用一根小针穿过腹部，从围绕着胚胎的羊膜腔中抽取15-20ml羊水。

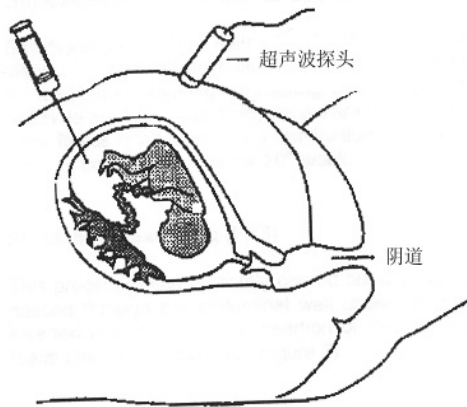


图 6.2 经腹部进针获取羊水

在16周取羊水带来的风险据报道在0.5%至1%范围内，但在经验丰富的诊断中心可能要低得多。超声影像的引入使得操作者能够连续地显示针头的尖端以避免直接损伤胎儿，应该是目前的标准实践^[13]。一个在丹麦公认的有超声介导丰富经验的诊断中心进行的随机质控试验证实，孕中期羊膜腔穿刺与1%的胎儿流产风险有关^[14]。然而，关于羊膜腔穿刺之风险的大部份相关性数据在证据基础医学和随机性试验时期之前已经公布。进一步说，提供这些数据的优秀中心在实施超声介导下侵入性操作方面有着公认的经验。到目前为止，每年少数由超声介导操作经验不足的操作者实施的羊膜腔穿刺有关的风险的资料不多。

最近有一组研究，由经验丰富的操作者使用连续超声介导进行2000例以上的15-16孕周孕妇羊膜腔穿刺结果显示胎儿丢失率和早产与相同孕期末做羊膜腔穿刺的对照组相比较并无差异^[15]。这说明由有能力的经验丰富的工作人员操作时羊膜腔穿刺后的并发风险可以降低到最低限度。如果操作期间能够避开胎盘，那么并发风险多半与羊膜的不成熟破裂有关。与羊膜的自发破裂相比较，羊膜腔穿刺之后的羊膜囊破裂引起的妊娠并发症产期结局较好^[16]。

一般认为孕早期羊膜腔穿刺比孕中期穿刺误诊的风险大。早期的羊膜腔穿刺也与呼吸窘迫和常见轻微可矫正畸形如畸形足等的风险轻微增高有关^[17]。

缺点·羊膜腔穿刺的主要缺点是诊断的时间较晚，羊水标本量也常不足以进行DNA诊断，

需要进行细胞培养以获得足够的细胞以进行检测，推迟了出结果的时间。大部份患者不接受这种延迟，特别是如果胎儿是患胎，要考虑终止妊娠时，诊断可能直到孕 20 周才能出结果。

6.3 胎血取样 (FBS)

在 20 周后这个操作可以安全地进行，在连续超声介导下穿刺针穿过腹壁插入脐带在胎盘上的附着部位，抽出少量胎血标本（见图 6.3）。

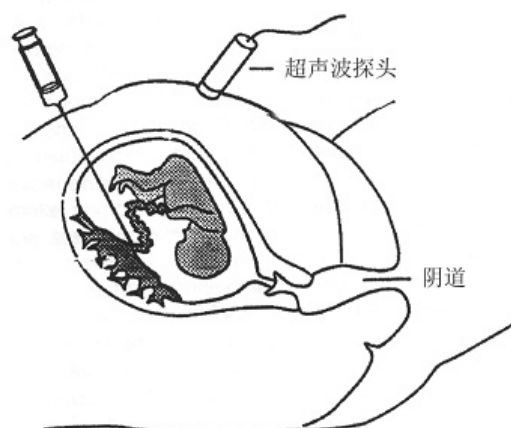


图 6.3 胎血取样

20 年前 Daffos 等^[18]介绍了一种获取纯胎血的新型声像介导技术，这种技术迅速取代了胎儿镜检，在孕早期由于脐索的直径小，脐带穿刺或称经腹取样通常在孕中期进行，胚胎流产率为 1-2%^[19]。然而，胎血取样目前少用，以往在妊娠相应较晚期获取胎血样本是为了快速 DNA 分析或珠蛋白链合成分析。

缺点：胎血取样诊断时间较迟，需要高水平的技能。

6.4 技术思考

从孕 10 周起，子宫就比较坚固且较少转动，可以尝试经子宫肌层进针，双针系统比起单针或导管抽吸可得到质量较好之标本且可能损伤较少。活检钳可获得清洁的 atraumatic 标本，目前使用越来越多。羊膜腔穿刺和 CVS（绒毛取样）两种方法经腹部途径比经宫颈途径更常用，且与继发流血的相关性较小。在胎盘后置或病人肥胖的情况下，经宫颈取样方法可能更安全一些且应该更适合于 CVS。相反，如果计划羊膜腔穿刺而胎盘前置且梗阻，那么经腹 CVS 将会更合适且可能更安全。在每个提供胎儿样本的独立诊断中心，均应对操作者的经验和 / 或超声影像使用熟练程度进行评价，以便准确地测定该诊断中心每种技术与风险的相关性。

羊膜腔穿刺与 CVS

大部份关于妊娠期侵入性操作安全性的临床试验已将进行 CVS 的结局与孕早期及孕中期进行羊膜腔穿刺的结局作了比较，而合并早期羊膜腔穿刺的数据仅在最近才有报道。根据第一个分析^[20, 21]，CVS 与取样时间迟一些的羊膜腔穿刺相比，术后流产风险增加了 0.5~4%。在研究设计上的公认差异、特别是研究中所包括的操作者的人数和经验、研究样本的大小和取样方式的差异都使得这些数据的比较和解释很困难。这些研究中大部份 CVS 取样操作的失败率至少比羊膜腔穿刺高 3 倍，在孕中期进行羊膜腔穿刺取样失败率与操作者经验的直接相关性大于 CVS。此外，CVS 期（9-12 周）与羊膜腔穿刺期（15-17 周）之间的流产率至少为 3%，这个流产率应该在最后的统计中清楚地表示出来，并用妊娠的年龄与母亲的年龄加以校正。其他主要的偏倚包括术后胎儿丢失的定义，包括术后 3 周到妊娠 28 周内的任何致命的并发症。比较早期羊膜腔穿刺与同孕期 CVS 的部份随机试验表明早期羊膜腔穿刺胚胎流产率约为 3%，比同孕期进行的 CVS 要高^[22, 23]。

多胎妊娠

CVS 在多胎妊娠的头三个月是一种有效的产前诊断技术，胚胎流产率并不比单胎妊娠高^[24]。羊膜腔穿刺对双胎妊娠的风险仅在 14 周之后有评价。

表 6.1 目前胎儿取样技术的优缺点小结

方法	成功率 (%)	时间选择 (自末次月经起孕周)	DNA 诊断 时间	胎儿丢失率 ⁽¹⁾
CVS	>99	10 周以上	48 小时	1%
羊膜腔穿刺	>99	15 周以上	2-16 天 ⁽²⁾	0.5-1%
胎血取样	>99	20 周以上	72 小时	2%

⁽¹⁾ 在专业中心 ⁽²⁾可能需要细胞培养

参考文献

1. Ward R.H.T., Modell B., Petrou M., et al: "Method of chorionic villus sampling in the first trimester of pregnancy under guidance of real time ultrasound". *British Medical Journal* 1983, 286:1542-4
2. Rhoads G.G., Jackson L.G., Schlesselman S.A., et al.: "The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities". *New England Journal of Medicine* 1989, 320:609-17
3. Jauniaux, E. Pahal G.S., Rodeck C.: "What invasive procedure to use in early pregnancy". *Bailliere's Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2000, 14:651-62
4. Kuliev A.M., Modell B., Jackson L., et al: "Risk evaluation of CVS". *Prenatal Diagnosis* 13:197-209
5. Hammarstrom M., Marsk L.: "First trimester live pregnancy and subsequent loss: The impact of transcervical CVS and colonization of the cervix". *Gynecologic and Obstetric Investigation* 1990, 30:19-22
6. Silverman N.S., Sullivan M.W., Jungkind D.L., et al: "Incidence of bacteremia associated with chorionic villus sampling". *Obstetrics and Gynecology* 1994, 84:1021-4
7. Boyd P.A., Keeling J.W., Selinger M., et al: "Limb reduction and chorionic villus sampling". *Prenatal Diagnosis* 1990, 10:437-41
8. Firth H.V., Boyd P.A., Chamberlain P., et al: "Analysis of limb reduction defects in babies exposed to chorionic villus sampling". *The Lancet* 1994, 343:1069-71
9. Froster U.G., Jackson L.: "Limb defects and chorionic villus sampling: Results from an international registry, 1992-94". *The Lancet* 1996, 347:489-94
10. Firth H.: "Chorionic villus sampling and limb deficiency: Cause or coincidence?". *Prenatal Diagnosis* 1997, 17:1313-30
11. Rodeck C.H.: "Foetal development after chorionic villus sampling". *The Lancet* 1993, 341:468-9
12. Brambati B., Simoni G., Travi M., et al: "Genetic diagnosis by chorionic villus sampling before 8 gestational weeks: Efficiency, reliability, and risks on 317 completed pregnancies". *Prenatal Diagnosis* 1992, 12:789-99
13. Squier M., Chamberlain P., Zaiwalla Z., et al: "Five cases of brain injury following amniocentesis in mid-term pregnancy". *Developmental Medicine and Child Neurology* 2000, 42:554-60
14. Tabor A., Philip J., Madsen M., et al: "Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women". *The Lancet* 1986, 337:1287-93
15. Tongsong T., Wanapirak C., Sirivatanapa P., et al: "Amniocentesis-related foetal loss: A cohort study". *Obstetrics and Gynecology* 1998, 92:64-7
16. Borgida A.F., Mills A.A., Feldman D.M., et al: "Outcome of pregnancies complicated by ruptured membranes after genetic amniocentesis". *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2000, 183:937-9
17. The Canadian Early and Mid-Trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) group: "Randomised trial to assess safety and foetal outcome of early and mid-trimester amniocentesis". *The Lancet* 1998, 351:242-7
18. Daffos F., Capella-Pavlovsky M., Forestier F.: "A new procedure for fetal blood sampling in utero: Preliminary report of 53 cases". *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1983, 146:985-7
19. Brambati B.: "Genetic disorders: Methods of avoiding the birth of an affected child". *Human Reproduction Update* 1993, 8:1983-2000

20. MRC working party on the evaluation of chorionic villus sampling. Medical research council European trial of chorionic villus sampling. *The Lancet* 1991, 337:1491-9
21. Smidt-Jensen S., Permin M., Philip J.: "Sampling success and risk by transabdominal chorionic villus sampling, transcervical chorionic sampling and amniocentesis: a randomised study". *Ultrasound Obstetrics and Gynecology* 1991, 1:86-90
22. Nicolaides K., Brizot M., Patel F., et al: "Comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis for foetal karyotyping at 10-13 weeks' gestation". *The Lancet* 1994, 344:435-9
23. Nagel H.T.C., Vandebussche F.P.H.A., Keirse M.J.N.C.: "Amniocentesis before 14 completed weeks as an alternative to transabdominal chorionic villous sampling: A controlled trial with infant follow-up". *Prenatal Diagnosis* 1998, 8:465-75
24. Pergament E., Schulman J.D., Copeland K.: "The risk and efficacy of chorionic villus sampling in multiple gestations". *Prenatal Diagnosis* 1992, 12:377-84

第七章 产前诊断

John old

血红蛋白病是第一种在分子水平上了解其特性的遗传病，30 多年来一直被用作几乎每一种突变检测新技术建立的原型。随后发展了很多象文献里描述的以 PCR 为基础的实验技术。这些技术可用于珠蛋白基因突变的产前诊断。建立一个诊断实验室最常用的技术是：等位基因特异寡聚核苷酸探针（ASO）杂交或印迹分析、反向点杂交、扩增不应突变系统（ARMS）、变性梯度凝胶电泳（DGGE）、缺口 RCR、限制性核酸内切酶分析和直接 DNA 测序^[1, 2]。

本章对上述每一种分子诊断方法作一简单描述，同时对不同类型的珠蛋白基因突变及如何通过胎儿 DNA 进行诊断也做一概括介绍。所有已知 β 地贫点突变、缺失及显性突变都列于附录 II，附录 II 中也包括了所有在地中海地区、中东地区、亚洲及东南亚地区各国发现的 β 地贫突变频率列表。然而，本书不对这些突变检测的各种方法做详细介绍，这些方法见附册“地贫和血红蛋白病预防的实验室手册”。

7.1 哪一种分子诊断技术最适合于产前诊断

各种以 DNA 为基础的血红蛋白病诊断技术给希望开展珠蛋白基因突变分子检测的实验室带来了一个问题：什么方法是适合 β 地贫诊断的最好方法呢？ASO（或 RDB）杂交和 ARMS 是世界范围内各实验室应用最广泛的方法。这两种方法均提供了检测多种突变的快速廉价且方便的技术，无论你选择印迹法或反向点杂交法都将取决于一系列因素——例如，要诊断突变的范围，使用放射性技能或需要寻找非同位素方法（这样可考虑使用市售试剂中的一种）。实验室也需要精通一些其他的技术例如缺口 PCR，能够对一些不常见突变的罕见病例的 β 珠蛋白基因进行测序。此外，当这些技术用于产前诊断时，很多预防措施由国外引入，例如当胎儿 DNA 样本被母亲 DNA 污染时的检测需要用不同的方法来证实这个诊断。所以，对这个问题的回答是，每个实验室都必须利用这些方法开展初步的研究，并自行检测这些技术中那一种是最适合自己实验室需要和目标人群的技术。

7.2 血红蛋白病的预防

地贫突变和各种血红蛋白变异相互作用产生了严重程度不等的各种地贫和镰状细胞病。见表 7.1。由于上述相互作用导致需要遗传咨询和产前诊断的病变用黑体字表示。这些病归属于四种类型：重型地贫、HbBart's 水肿胎综合征、镰状细胞病和 HbE 地贫。

重型地贫

大部分 β 地贫纯合子个体有输血依赖史, 称为重型 β 地贫。在出生时, 由于 HbF 的高产量, β 地贫纯合子没有症状, 但随着 HbF 合成的下降, 患儿在其生命的第一年或第二年间出现严重的贫血。治疗以频繁输血以维持血红蛋白水平在 10g/dl 以上, 并结合铁螯合法治疗以控制铁超负荷。象 TIF 准则所介绍的那样, 否则即因心力衰竭导致在二十多岁或三十多岁死亡^[3]。这种治疗方法并不能治愈重型 β 地贫。虽然有的患者现在已健康存活至 40 岁, 有的还结婚有了孩子。由于基因治疗的前景仍很遥远, 可以预见将来治愈 β 地贫方法只有骨髓移植。这种治疗方式虽然已在年幼的儿童身上获得了成功, 但受限于需要同胞兄弟姐妹或亲属 HLA 配型。

β 地贫由至少有 170 种不同的点突变或者是 β 珠蛋白基因内或外围 DNA 序列有插入或大小为 25 bp 至 67 kb 范围不等的 17 种微小基因缺失而导致 (见附录 II)。由 Huisman 等^[4] 公布的每一种突变的描述可在因特网 <http://goblin.cse.pus.edu> 上找到。这些突变都减少了 β 珠蛋白基因 (β^+ 型) 的表达或者导致 β 珠蛋白完全缺失 (β° 型)。

重型 β 地贫由 β° 型纯合子或重型 β^+ 突变所致, 更常见的是由两种不同的 β° 或重型 β^+ 突变的复合杂合子所导致。这些突变是有特殊地区性的, 附录 II 列出了发现于四个主要地区——地中海地区、中东、亚洲和东南亚国家的 β 地贫突变。这些地区的每一个国家都有其自身特点的突变谱, 有少数突变总计超过了总数的 90%。

中间型地贫

一些 β 地贫纯合子个体具有一种叫做中间型地贫的较轻临床状态。这些患者在生命的后期与重型 β 地贫患者后期相似, 无需输血即可维持 6g/dl 以上的血红蛋白水平。中间型地贫象下面所描述的那样, 由范围很宽的基因型变异所导致, 这种疾病占了相当大的临床范围。患者在 2-6 岁期间表现为严重的症状, 尽管他们能够以 5-7g/dl 的血红蛋白水平存活, 但不能正常发育, 需要以最低限度的输血来进行治疗。这个范围的另一个极端是患者在成年前没有症状, 不依赖输血可维持 8-10g/dl 的血红蛋白水平。但是, 甚至这些较轻的患者, 随着年龄的增加, 也有铁累积的趋势。很多中间型患者在三十岁后出现了与铁的超负荷有关的问题。有一个中间型患儿的风险夫妇通常因为无法预知其表现型, 这种情况常需要进行产前诊断, 尤其是在配偶之一携带重型 β 地贫突变基因型的情况下更应如此。

有极少数与轻型表现型有关的 β^+ 地贫突变有时被定名为 β^{++} 型 (见附录 II)。 β^{++} 突变的纯合子中间型地贫患者通常只有极轻微的异常, 且产前诊断通常无法检出这种基因型。然而一个轻度 β^{++} 和重度 β^+ 或 β° 突变的复合, 在某些情况可能导致严重病情, 在已知基因型的基础上预测这种中间型地贫的表型, 还是一个存在问题。其它引起中间型地贫的基因型包

括 β 地贫突变和 $\delta\beta$ 地贫性状、Hb Lepore 或三重、四重 α 基因位点的复合杂合子。中间型地贫由于在外显子 3 发生的一种罕见 β 地贫突变杂合子引起包涵体溶血性贫血。这种贫血有时也叫做显性遗传性 β 地贫。这些突变列于附录 II。最后， α 地贫性状的相互遗传、纯合子 α 地贫或 HPFH 因素、 $\gamma-158(C\rightarrow T)$ 突变也能将重型 β 地贫基因型改善为中间型地贫的表现型。

HbBart' 胎儿水肿综合征

α^0 地贫最严重的类型是 α^0 地贫的纯合子状态，称为 HbBart' s 水肿胎综合征。这种征状是由于 4 个 α 珠蛋白基因全部缺失所导致。患胎完全不能合成 α 珠蛋白链以制造 HbF 或 HbA。胎血中仅含有异常的血红蛋白 HbBart' s (γ_4) 和少量的 Hb Portland (这两种异常血红蛋白通过 HPLC 分析胎血可以很容易做出产前诊断)。胎儿严重贫血结果导致窒息、胎儿水肿、死产和新生儿死亡。产前诊断就是为了避免这些在水肿胎妊娠期经常发生的毒血症并发症。

α^0 地贫由 α 珠蛋白基因簇上两个 α 珠蛋白基因的大范围缺失所导致。目前至少已有 32 种不同的缺失被描述^[4]。虽然有些非常罕见，或是偶发病例。这些达到最高基因频率的缺失是在东南亚和中国南方 ($--^{Sea}$ 缺失突变)、菲律宾岛 ($--^{F11}$)、泰国 ($--^{THAL}$) 和一些地中海国家如希腊和塞浦路斯 ($--^{MED}$ 和 $\alpha^{20.5}$ 缺失) 的一些个体。虽然印度也发现了一种 α^0 地贫突变 ($--^{SA}$)，但及其少见。非洲亚撒哈拉报道了一种没有 α^0 地贫缺失的个体。在北欧虽然在一些英国家庭中报道了一种特殊的 α^0 地贫突变 ($--^{BRIT}$)，因为自然选择的缺乏， α 地贫仅偶有发生。

重型 HbH 病

由于 α^0 地贫和 α^+ 地贫共遗传所致的重型 HbH 病而导致水肿胎的极少病例已有描述^[5]。有三种情况 α^+ 地贫等位基因是 α_2 基因发生突变， α_2 基因的这种突变与高度不稳定的 α 珠蛋白变异有关。其它患者的分子机制尚不清楚。在这些家系中产前诊断可以确诊。

镰状细胞病

镰状细胞病的特征是终身溶血性贫血，这种称为危象的严重恶化的发生及一些并发症的变种是有严重感染增高的倾向和血管反复节段性堵塞的有害效益所引起的。由于积极治疗，预期存活至 20 岁的患者比例约为 90%。该病的病程即使在有血缘关系的个体之间都有很大变异，更不用说不同种族的人群了。镰状细胞病不仅由镰状细胞基因纯合子引起，即 HbS/S，也可以由一些不同的复合基因型引起，即 HbS/C、HbS/ β^0 地贫或 HbS/ β^+ 地贫、HbS/D Punjab、HbS/OArab 和报道过的少数 HbS/C 哈莱姆家系。

纯合子 HbS 的临床变异表现部分可解释为其它因素的相互作用，包括那些可与镰状细胞基因共遗传的遗传因素，虽然准确预言一个个体其病情如何表现是不可能的。主要的修饰遗传学因素包括 α 地贫和 HbF 升高的遗传因子，如与阿拉伯-印度和塞内加尔单倍型相关联的-158^G γ C \rightarrow T 多态性，HbF 水平通常在 5-10%左右，可达 30%。不同 HbF 水平与不同 β 珠蛋白基因单倍型有关：喀麦隆（5-6%）、Beain 和班突（6-7%）、塞内加尔（7-10%）和阿拉伯-印度（10-25%）。

在 HbS/ β 地贫中， β 地贫基因与 β^s 基因相互作用使 HbS 水平增高到 50%以上，甚至可高达 HbSS 个体的水平。镰状细胞病 β 地贫的临床病程变异颇大，范围从与镰状细胞贫血相同到完全无症状状态。血红蛋白的变异从 5 g/dl 到正常范围之内。杂合型大多取决于共遗传的 β 地贫突变类型。在非洲这种类型的症状很轻，这可能是由于与这个种族群体中常见的三种轻型 β^+ 突变（88，C \rightarrow T；29，A \rightarrow G，C24T \rightarrow A）之中的一种共遗传的结果。然而，这些患者共遗传了 β^o 地贫等位基因，其临床症状与镰状细胞贫血相似。HbS/ β 地贫以小红细胞和靶细胞偶然有镰形细胞为特征。血红蛋白电泳显示 HbS 60-90%、HbA 0-30%、HbF 1-20%和在正常以上的 HbA₂ 水平。HbS 和 HbA 的百分率与 β 地贫基因是 β^+ 还是 β^o 型很有关系。HbS/ β 地贫与 α 地贫共存时可使 Hb 浓度、MCV、MCH 增高。

HbS/ δ β 地贫比镰状细胞贫血症状轻，因为 HbF 的高百分率使细胞避免了镰状化。HbS/ δ β 地贫在西西里岛、意大利、希腊、阿拉伯和美国黑人中很常见。患者有轻度贫血，血红蛋白浓度范围为 10-12g/dl，MCV 及 MCH、HbS 及 HbF 明显降低，HbA₂ 水平正常或降低。

HbSC 病是一种具有可变病程的较轻的镰状细胞病。并发症的频率大多数比 HbSS 低。HbC 在与 HbS 共存的西非部分人群中频率达到 0.15%。HbC 突变、 β 6 Glu \rightarrow Lys、GAG \rightarrow AAG 可引起氧合血红蛋白和脱氧血红蛋白的溶解度降低，导致结晶形成而取代了长聚合物。在 HbC 纯合子个体，红细胞脱水而僵硬，引起溶血性贫血，但患者不会发展为镰状细胞症状。

HbS/D Punjab (β 121, Glu \rightarrow Gln) 是一种严重程度中等的镰状细胞病。这种复合杂合子状态已在非洲籍患者和美国中部及南部、印度等地发现，同时也在祖先为地中海地区人和北欧人的个体中发现。患者有轻到中度的溶血性贫血 (Hb 5-10g/dl) 和镰状化危象。

HbS/ HbOArab (β 121 Glu \rightarrow Lys) 是一种严重的镰状细胞病。发现于阿拉伯人、非洲人、加勒比海黑人和美洲黑人中。血红蛋白浓度 6-10g/dl，血涂片与镰状细胞贫血相似。

HbS/Charlem (β 6 Glu \rightarrow Val 和 β 73 Asp \rightarrow Asn) 是一种严重的镰状细胞病。HbCharlem 有两个氨基酸被替换，在碱性 PH 中电泳时泳动速度类似 HbC^[6]。当与 HbS 合并时，即引起严重的镰状细胞病。

HbS Antilles ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Val}$ 和 $\beta 23 \text{ Val} \rightarrow \text{Ile}$) 在法国西部 Indies 的马提尼克岛的一个家系中发现^[6]。它比 HbS 本身更镰化。杂合子状态导致轻型贫血和中度的镰状细胞病。当合并 HbS 时,据报道产生重型的镰状细胞病伴严重的慢性溶血性贫血。HbS 和 HbC Antilles 复合杂合体也导致严重的镰状细胞病。

HbS Oman ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Val}$ 和 $\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$) 在杂合子状态有两种不同的表现型, 取决于患者是否是 α 地贫的杂合子或纯合子(所有带 HbS Oman 基因的患者都有 α 地贫)。具 α^+ 地贫性状的患者有大约 20% 的 HbS 和中度镰状细胞病。血液涂片显示独特的称为“金币帽”的细胞或“纱与编制针细胞”的不可逆转的镰状细胞形态。相反, 具 HbS Oman 性状和纯合子 α 地贫的患者有大约 14% 的 HbS 则无临床症状。HbS 和 HbS Oman 的复合杂合子状态已在一些阿曼患者中有描述。患者有 25% HbS 和 11% HbS Oman 且血液涂片显示金币帽状细胞。患者症状严重, Hb 水平为 7g/dl。

HbS 与不稳定 β 变异能产生轻型的镰状细胞病。已发现了三种这样的变异。命名为 Hb Quebec-Chori、Hb Hofu 和 Hb I Toulouse^[6]。

HbS 合并轻型不稳定 β 变异例如 Hb Hope 或 Hb Siiraj 能引起轻度溶血。

HbE 地贫

HbE 地贫, 这种 HbE 和 β 地贫的复合杂合子状态是一种在泰国和东南亚部分地区常见的疾病。它导致类似 β 地贫纯合子的不同程度的临床表现, 范围从重型地贫到中间型地贫的较轻型, 处于不易区分的状态。已发现的最严重的情形是伴有 β^0 地贫的个体, 通常有大约 40% HbF, 其余为 HbE。HbE 和 β^+ 地贫的复合杂合子病情较轻并且有不同量的 HbA。在特殊情况下以血红蛋白分析难以区分 HbE/ β^0 地贫和纯合子 HbE, 需要进一步研究, 包括家系研究。

HbA E Bart' 病的特征是存在 HbA、HbE 和 Hb Bart's, 这是由于 HbH 病与纯合子 HbE 相互作用产生的。已发现 HbA E Bart's 病的两种常见亚型: α^0 地贫/ α^+ 地贫- β^A/β^E 和 α^0 地贫/Hb Constant Spring - β^A/β^E 。后者比前者的临床症状更为严重。HbE 水平通常为 13-15% (见表 4.8)。 α 地贫的存在是由于 HbE 的产生而导致生成无功能的 α 珠蛋白链所致。这种病的基因型中总是存在有少量 Hb Bart's。红细胞内包涵体 (HbH 包涵体) 已证实占红细胞的 5-6%, 表明有少量的 HbH ($\beta 4$) 存在。电泳时因含量低不易分辨。

Hb E F Bart's 病以 Hb E、HbF 和 Hb Bart's 为特征。Hb E 占溶血产物的 80%, HbF 占 10%, 其余为 Hb Bart's。Hb Bart's 的存在证明 γ 珠蛋白链过剩。然而, 不存在包涵体或有 HbH, 可能因为异常 β^E 珠蛋白链不能形成四聚体。已发现 Hb E F Bart's 病的四种基因型:

HbH 病、 α^0/α^+ 地贫或 α^0 地贫/ Hb Constant Spring 合并纯合子 Hb E 或 Hb E/ α 地贫而形成^[7]。Hb Constant Spring 和少量的 HbA 可在 α^0 地贫/ Hb Constant Spring 和 Hb E/ β^+ 地贫基因型的患者中观察到。为了区分这些基因型，需要进行家系研究和进一步的 DNA 分析研究。

Hb E 纯合子个体和 Hb Constant Spring 纯合子个体已发现有轻型中间型地贫，他们的 MCV 范围从 75-80fl、MCH 在 23-25pg 之间（见表 4.8）。与纯合子 Hb E 相比，有极轻微的红细胞改变。这可能归因于 α 地贫与类 β 地贫相互作用降低了 Hb E 珠蛋白合成量所至。

7.3 基因型与表现型的相互作用

最近 20 年在分子诊断方法和对基因调控及表达机制的了解上已取得了较大的进展。这一进展使得将基因型及表现型联系起来及部分地了解血红蛋白病的临床变异性成为可能。这一工作的目的除了解决这个使人迷惑的问题外，也发表了一些优秀的文章和书籍^[8]。然而，由于从基因型预测表现型对于遗传咨询是十分重要的，有些方面还应该进行讨论。我们应该清楚地讲，尽管有着上面提及的进展，但从基因型预测表现型并不是绝对的。我们建议遗传咨询师认真地参考处理基因型与表现型相关性的文章或者在任何困难或异常的情况下征求该领域专家的建议。

为了给风险夫妇提供遗传咨询以便他们能做出有关产前诊断的决定，在由基因型预测表现型的尝试中还有一些复杂的层面。首先是一些突变个体的表现型没有很明显的特征且突变严重程度分类有困难。第二个复杂性是两种遗传突变之间的相互作用的严重程度是可变的，使得复合体的临床结局的预测很困难。第三层复杂性是其它遗传因素例如 α 地贫和 HPFH 基因的相互作用。最后，很多形式的中间型地贫、尤其是 HbE/ β 地贫的博物学知识的欠缺使得咨询时提供准确的信息有困难。

这些复杂性意味着不可能绝对肯定地预测任何个别病例的临床结局。然而，关于大多数不同分子形式地贫严重性的可能程度，我们有一个明智的意见，总结如下：

α 地贫

所有形式的 α^0 地贫导致纯合子状态的 Hb Bart's 水肿胎综合征。在最近几年，有少数的水肿胎通过胎盘传送定期输血或者从 25 周起在子宫内接受输血后保持存活。尽管这些孩子的长期存活可以计划后期的骨髓移植，但母亲并发症的高风险和胎儿的先天畸形及发育异常的高风险使我们仍坚定地建议风险夫妇应该考虑产前诊断之后终止妊娠。

HbH 病的表现型范围宽且多样化，半数以上的患者是健康的。有的有中间型地贫，但仅最严重的类型即 HbH 水肿胎适合于做产前诊断，见 7.2 节所述。

β 地贫

β 地贫突变被分类为 β^+ 或 β^0 ，大多数有严重的表现型且在纯合子或双重杂合子型导致重型地贫。但是一些 β^+ 表现型为轻型，在遗传咨询时造成问题。在很多病例中，有关其血液学特性、纯合子状态的临床表型及与其它 β 地贫突变相互作用的结果方面的数据发表的极少。我们知道这些为静止型突变（与正常 HbA2 和正常 MCH 有关）的轻型 β^+ 突变中有的在纯合子状态或与重型 β 地贫突变相互作用时，导致轻型或极轻型的临床表现。最常见的类型之一是 -101C→T 突变，甚至在与 $\beta^{39} T \rightarrow C$ 或 $\beta^+ IVSI-110 G \rightarrow A$ 等位基因的遗传复合体中也导致极轻型的临床表象。所以，对具有静止型等位基因的风险夫妇不考虑做产前诊断。同样，对于三体的 α 基因 ($\alpha \alpha \alpha$) 或带有重型 β 地贫等位基因的高 HbF、HPFH（缺失或非缺失）的几类共遗传型也不考虑做产前诊断。但是，其它位置的静止型突变（-92C→T、5' UTR 突变、IVS II -844 C→G、+1480 C→G 和 3'UTR 突变）还不太了解。因为这些轻型突变是极少见的，不存在纯合子型，与其它 β 地贫等位基因共遗传的病例的有关数据完全缺乏。

对于轻型 β 地贫等位基因，例如启动子突变，CAP+1A→ C 和 IVSI-6 T→C，表象更为复杂。在纯合子型突变导致轻型中间型地贫。但是，也有一些例外，例如 IVSI-6 T→C，在一些人群中其纯合子状态显示有多样化的表现型。它们与重型 β 地贫等位基因共存时导致多样的不可预测的表现型。例如，CAP+1A→ C 与重型 β 地贫等位基因相互作用产生范围从中间型到重型的表现型。

对于其它改善遗传因素，例如 α 地贫或增加 HbF 产量的因子共遗传，它们对临床表现型的影响在每个个体病例中很少是一致的。所以在这些病例中的遗传咨询要困难得多。作为一个总的规则，已有研究证实重型 β 地贫等位基因与缺失两个 α 珠蛋白基因的纯合子患者得中间型地贫的机会比重型地贫要大。仅缺失一个 α 珠蛋白基因影响甚微，患者更可能得重型 β 地贫。少数 β 地贫突变中，较大的缺失去掉了启动子区域，似乎自身升高了 HbF 的水平而产生了轻微表现型，与 δ β 地贫缺失突变的方式相同。一个被预测有轻型表现型的纯合子患者，但下一次仅报道为纯合子或一种或两种突变的双重杂合子病例。一些重型突变，例如 β^0 突变 IVS II -1 G→A 和 CD8 (-AA)，可能与增高的遗传因子有联系，通常 -158^G γ C→T 突变导致一种 Xmn1 (+) 多态性。在这些病例中，纯合子表现为中间型地贫，取代了预测中的重型 β 地贫。但是，一些没有 Xmn1 (+) 多态性的患者 HbF 产量增高，所以 Xmn1 (+) 多态性就不是所包括的唯一因素，除非从家系调查中做出推测，否则很难做出轻型表现型的预测。

7.4 胎血取样和胎儿珠蛋白链的分析

血红蛋白病的产前诊断在 1974 年首次通过胎血取样然后通过放射性同位素标记评估珠蛋白链合成相对比例而实施。根据人类胎儿从孕早期开始合成少量 HbA 这一事实, 这种方法直接测定了突变珠蛋白基因的产物。到 18 孕周时, 珠蛋白链合成的 10% 以上是 β 珠蛋白链, 通过胎血样本分析 β 珠蛋白链合成的降低而在宫内诊断纯合子 β 地贫是可能的。

胎血检测

胎血取样的第一种方法包括在超声介导下从胎盘抽取胎血。虽然这种方法是相当成功的, 但得到的是一种含有胎儿细胞和母体细胞混合物的标本。所以必须测定每一种通过犁刀管道系统获得的标本的相应含量, 在很多病例中需要多份的标本直到获得足够数量的胎儿细胞。已建立了一些富集胎儿细胞的方法, 最常用的是 Orskov 程序, 该程序以以下原理为根据: 仅成人细胞含有碳酸酐且在 NH_4Cl 和 NH_4HCO_3 存在的情况下优先溶解。

以后发展了通过胎儿镜采集纯胎儿血标本的直接胎血取样法。最初从绒毛板上的胎儿静脉获取血液, 但后来从脐带基部的胎盘静脉直接抽取胎血效果更好。训练有素者这一操作常规下能获取含 100% 胎儿细胞的样本。这一方法最后改良为脐带穿刺的建立。这种方法通过超声介导穿刺脐带提供了纯净的胎血, 不再需要胎儿镜的直接显示。

珠蛋白链生物合成和分离

胎儿珠蛋白链合成的相关比率的测定是必需的。这可通过在 $[^3\text{H}]$ 亮氨酸中孵育胎血细胞, 再通过羧基甲基纤维素层析来分离珠蛋白, 然后测定与每种类型的珠蛋白结合的放射活性的量。对 β 地贫的诊断来说, 测定 β 链与 γ 链产量的比率即可。在正常的胎儿, β 链的合成约为 γ 链的 10%, β/γ 比率约为 0.1。具 β 地贫性状的胎儿, β 珠蛋白合成量只有正常情况下的一半, β/γ 比率约为 0.06。重型 β 地贫胎儿不能合成胎儿珠蛋白 (如果是 β^0 地贫的纯合子) 或仅能合成微量的 β 珠蛋白 (如果是 β^+ 地贫的纯合子)。这两种病例的 β/γ 比率通常低于 0.025。但是, 在轻型 β^+ 地贫突变的病例中, 要弄清楚 β^+ 地贫纯合子或复合杂合子与一个杂合子的区别是困难的。事实上, 具 β^+ 重型地贫的胎儿产生 β/γ 比率在阈值之上的病例之所以被诊断为杂合子主要是由于技术方法上的失误。

在杂合子与纯合子之间选择阈值点, 在实施这项技术的每一个诊断中心有些许的差异, 所以必须确定本地的阈值, 因为阈值依赖于在特殊的区域内发现的 β 地贫突变的类型及该实验室采用的方法的技术细节。例如用于测定层析峰基线的方法。

其它重要血红蛋白病也可通过这一技术诊断。 α^0 地贫的纯合子状态 (Hb Bart's 水肿胎综合征) 的特征是 α 珠蛋白合成缺乏。如变异的珠蛋白与 β 珠蛋白不同, 结构变异的血红蛋白也能测出。在珠蛋白分馏的标准条件下, 异常珠蛋白如 HbS、HbE、HbC、HbO^{Arab} 和 Hb Lepore

的洗脱特征与 β^A 珠蛋白的位置是不同的。

其它相关技术

虽然应用 CM 纤维素柱层析进行的产前诊断给出了能重复的结果,但它相对昂贵且缓慢。因为许多包括产前诊断的中心在短时间内都必须处理大量的标本,故建立了一些可替换的方法来分离珠蛋白或血红蛋白,包括高效液相色谱、血红蛋白等电聚焦和 Bio-Rex 层析柱。

可靠性

通过胎血取样进行地贫产前诊断被许多国家广泛采用且已证实非常成功,虽然方法学较复杂。事实上,根据 Alter^[9] 主持的从 1974 年 6 月至 1989 年 12 月世界各地 20 多个中心进行的 13921 例登记的病例中,绝大部分的诊断是 β 地贫。纯合子(或复合杂合子)妊娠的诊断率是所有病例的 24.9%,有 63 例记录弄错(为总例数的 0.5%)。总共有 408 个胚胎流失,为总数的 3.1%。这些数据清楚地表明胎儿流失率与诊断失误率在登记后期有了显著的改进(1986-1989),很大程度上归因于引入了脐带穿刺这一常规提供纯胎儿血液标本的技术以及一种更简单的机械化分析技术,即改良高效液相色谱和等电聚焦技术。这些结果显示通过胎血取样进行地贫产前诊断是极其成功的,对经验丰富的人来说是相当安全可靠的。胎儿流失率稳定在 2.5%左右,诊断失误率低于 1%。

DNA 分析的替代

虽然使用胎血进行产前诊断是一个卓越的技术成就,但是它默许了一个缺点,即在 18 孕周之前不能进行胎血取样,这意味着母亲需要长久的等待。如果需要的话,还需要做一个很迟的选择性流产。大部分诊断中心几乎都用突变分析全面取代了胎血取样,这得归因于地贫突变的主要特性、快速 DNA 分析技术的建立及绒毛膜取样方法的引入。

7.5 DNA 的来源

血液

父母双方的 DNA 通常从 5-10ml 外周血制备。外周血用肝素抗凝,或者最好用 EDTA 抗凝。因为肝素可能会干扰 PCR 的过程。DNA 的分离可通过酚-氯仿抽提和乙醇沉淀标准方法进行。或者使用市售的一些盐提取、蛋白质沉淀等原理制作的试剂盒进行。获取足够量的 DNA 以进行分子分析,随后储存在 -20°C 的 DNA 库中。如果不需要 DNA 库,只需很少量的血液即可用于珠蛋白基因病的 PCR 诊断。仅用 1ml 全血即可进行突变分析。通过简单地煮沸并且把它加入到 PCR 反应混合液里^[10]。胎血也是胎儿 DNA 的一个优质来源,所提供的红细胞经证实 100%来自胎儿。

羊水

DNA 可直接从羊水细胞或从经培养后的羊水细胞制备。羊水细胞培养需要 2-3 周的时间, 在一个 25ml 的培养瓶里生长至融合到底部。但培养的优点是可获得大量的 DNA (以我们的经验, 从这样一个培养瓶中可产出 40-45 μ g, 有足够的 DNA 供任何形式的分析)。但是, 大多数情况下并非所有的实验室都能方便地进行选拔培养及使用未经培养的细胞中的 DNA 进行诊断。15ml 羊水大约能获得 5 μ g DNA, 对于任何 PCR 分析法来说都已足够。但是, 通过 Southern 印迹法进行基因型分析的话, 5 μ g 只够一次尝试。所以在失败的情况下应该慎重地留下少量部分进行培养。经培养和未经培养细胞的 DNA 制备方法必须相同, 如同从绒毛膜制备 DNA 的方法一样^[11]。

绒毛膜

绒毛膜取样的两种主要方法——超声介导经宫颈抽吸和超声介导经腹穿刺取样——均可作为胎儿 DNA 诊断提供高质量的标本。获取足够的 DNA 以供珠蛋白基因的 PCR 和 Southern 印迹分析。我们最初进行的 200 例 CVS DNA 诊断, DNA 平均产量是 46 μ g。仅有一例获取量低于 5 μ g^[10]。

胎儿 DNA 来源的主要技术问题是母体 DNA 污染的风险。这是由于有时母体的蜕膜与绒毛膜一起被获取而发生的。然而, 如 Rosatelli 等报道资料显示, 在相差显微镜的帮助下小心分离并移去母体蜕膜来获得纯净的胎儿 DNA 标本, 在意大利人群中 457 例孕早期 β 地中海贫血诊断无误诊^[12]。母体 DNA 污染在大多数情况下可通过扩增高度多态性重复标记获得一个母源性和一个父源性等位基因来排除^[13]。由于母体污染造成的误诊风险可通过单个绒毛叶的 DNA 制备来进一步降低。

7.6 突变检测方法

等位-特异性寡核苷酸杂交

首个被建立的 PCR 技术是特异性等位基因寡核苷酸杂交探针 (ASO's)。用经扩增的基因组 DNA 结合于尼龙膜上。这种 DNA 以点状形式结合于尼龙膜上, 因此有时用点印迹这个术语描述该技术。该方法基于对每一种突变使用两种寡核苷酸探针, 一种与突变 DNA 序列互补, 另一种与在同一位置的正常 β 基因序列互补。探针通常是 5' 端用 ³²P-标记脱氧核苷三磷酸盐、生物素或辣根过氧化物酶标记。DNA 标本的基因型通过与突变特异性探针及正常探针的杂交信号存在与否而确定。该技术已应用于很多实验室并获得了巨大的成功, 对于仅有一种常见突变或有少量罕见突变的人群尤其适用, 如撒丁岛^[14]。

但是, 对于大量不同突变的筛查来说, 这种方法由于需要对每一种突变进行杂交和冲洗而受到限制。在多发突变的筛查中为了克服这一问题, 建立了一种反向点杂交技术。在该

技术中寡核苷酸探针和扩增基因组 DNA 调换了角色^[15]。未标记的寡核苷酸探针与突变的及正常的 DNA 序列互补并以点或狭条的形式固定于尼龙膜条上。经扩增的基因组 DNA 以引物标记末端示踪或与生物素化的 DUTP 内部结合,然后杂交于膜条上。这个过程允许在一次杂交反应中检测多种突变。该技术已被应用于地中海沿岸高加索人^[16]、美国黑人^[17]和泰国人^[18]的 β 地贫突变诊断,实验使用两步操作,一步与常见突变膜条杂交,另一步与少见突变膜条杂交。

引物特异性扩增

目前已建立了一些以引物特异性扩增为根据的技术。这种基于与 PCR 引物配对原理之上的技术在退火与直接伸延上比非配对技术更加高效。这种被广泛应用的技术称为扩增不应突变系统 (ARMS)^[19]。模板 DNA 通过一个普通探针及两个等位基因特异性引物之一来扩增。其中一个与被检测的突变(β 地贫引物) 互补,而另一个与在突变位置上的正常 DNA(正常探针) 互补。一对与 β 珠蛋白基因不同部位互补的引物包括在 PCR 中,同时扩增一个片段作为扩增操作步骤的对照。该技术提供了一个不需要任何形式标记的快速筛查方法,因为扩增产物可方便地通过琼脂糖凝胶电泳及溴化乙锭染色而显现,详细描述见下一节。通过提供与 ARMS 引物成对的同一共有引物^[20],在一次 PCR 反应中(多重的)可以同时筛查一种以上的突变,共有引物的荧光同位素标记可让扩增产物在 DNA 片段自动分析仪上按大小排列^[21]。

在同一个反应中对于一个特殊的突变,如果正常 ARMS 引物及突变 ARMS 引物被共同扩增,它们即彼此都扩增为模板序列而完成扩增。该技术被称为竞争性寡核苷酸引动(COP)且需要两个 ARMS 引物来分别标记。荧光同位素标记可通过颜色互补方式来进行诊断^[22]。这些技术的区别就是使用不同长度的引物而已。所以,可以通过分析两个产物的大小来做出诊断。这种称为诱变分离聚合酶链反应 (MS-PCR) 的技术在台湾已被应用到 β 地贫的产前诊断中^[23]。

扩增产物的限制酶分析

已知有 40 种以上的 β 地贫突变能产生或取消一个限制性内切酶位点。其中大部分可通过扩增 DNA 限制性内切酶分析快速检测。酶识别位点的存在或缺失是由琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶电泳后酶切片段的图谱而确定的。作为一个筛查技术,这种方法可由于 β 地贫突变影响的限制性酶位点的片段小而受限制,同时也由于所使用的一些内切酶非常昂贵而受到限制。没有自发产生或取消限制性位点的突变可通过扩增产生限制性位点技术 (ACRS) 来诊断。这种方法使用的引物是设计在扩增产物中插入新碱基,以在突变序列邻近产生一个的限制酶识别位点。该法可使没有正常改变一个识别位点的已知突变可通过 PCR 产物的限制性

酶消化来进行检测。该技术已应用于地中海沿岸人群的 β 地贫基因诊断^[24]。

缺口 PCR

β 珠蛋白基因序列中的缺失突变可通过在位于缺失侧面的 DNA 区域使用两个与有义链和无义链互补的引物来检测^[25]。对于一些大的缺失，使用侧翼引物的扩增产物只能从缺失的等位基因获得。由于两个引物之间的距离太长而不能扩增正常 DNA。在这种情况下，正常等位基因可使用一对引物，其中一条与缺失序列互补、另一条与侧翼 DNA 互补来扩增跨越断裂点的序列进行检测^[26]。缺失发生在 β 基因簇上而导致的 Hb Lepoer 及很多 $\delta\beta$ 地贫和遗传性持续胎儿血红蛋白增高症（HPFH）突变的缺失性 β 地贫也可用这种方法检测^[27]。

未知突变的 PCR 方法

许多技术已应用于先前还不了解其分子缺陷的 β 地贫突变的检测中。这些方法中应用最广泛的是变性梯度凝胶电泳（DGGE）。该方法根据其融化特性使一个单独的碱基发生变化来分离不同的 DNA 片段^[28]。另一种方法是使用非变性凝胶电泳进行异源双链分析^[29]。其他方法如象错配裂解（CMC）、单链构象多态性分析（SSCP）或蛋白截短试验等也是检测未知突变的有效技术。但这些技术仍未应用于血红蛋白病的诊断。

上述技术可简单地找出扩增模板序列中突变或 DNA 多态性的存在。突变的定位需要进行扩增产物测序。该方法使用 DNA 自动测序仪利用荧光检测技术进行，目前已很有成效。这种技术所需的专用设备目前非常昂贵。但随着更有效的第二代仪器的开发，基本费用的费用将降低，直接 DNA 测序将有可能成为突变检测的基本方法。一旦通过 DNA 测序鉴定出一种罕见的突变，该 DNA 标本将作为建立 ASO 探针或 ARMS 引物的对照，以便在未来的病例中应用。

β 珠蛋白基因单倍型分析

β 珠蛋白基因簇单倍型通常由位于 5' 簇（Hind II/ ϵ 基因; Hind III/ γ 基因; Hind III/ δ 基因; Hind II/3' $\psi\beta$ 和 Hind II/5' $\psi\beta$ ）的 5RFLPs 和两个位于 3' 簇（Ava II/ β 基因和 BamHI/ β 基因）的 RFLPs 构成^[30]。虽然 RFLPs 最初是用 Southern 印迹法检查的，现在除了 BamH 多态性之外，所有的 RFLPs 都能通过 PCR 和限制性酶消化而容易地检出^[31]。BamH I RFLP 位于一个 LI 重复单位之内，出现了扩增的问题。由于已发现这两个 RFLP' s 存在连锁不平衡，正好位于 3' 到 β 珠蛋白基因之间的 HinfI RFLP 通常被取代^[32]。

7.7 特殊疾病的策略

β 地贫突变

在大多数诊断实验室，鉴定 β 地贫突变的策略依赖于了解被筛查个体的种族中常见突

变及罕见突变的结构。常见突变通常首先应用能同时检测多种突变的 PCR 技术进行分析。这种方法将可鉴定 90%以上的常见突变，同时对可能存在的罕见突变进行进一步的筛查，可鉴定其余的大部分缺陷。在第二次筛查之后剩余的未知突变，通常在用非特异性检测方法例如变性梯度凝胶电泳来定位突变位点之后通过直接 DNA 测序分析来定性。尽管种种令人着迷的 PCR 技术已被描述为针对点突变的诊断技术，但大部分实验室目前正使用下面所提及的一种或多种技术。

δ β 地贫、Hb Leopore 和 HPFH 缺失突变

δ β 地贫、Hb Leopore 和 HPFH 缺失突变最初通过限制性酶作图及 Southern 印迹法定性。然后每一种缺失突变可通过跨越缺失断裂点的特征性异常 DNA 片段鉴定而确诊。限制性酶消化和基因探针的正确选择取决于被研究个体的族群鉴定和杂合子状态的表现型特征。通过基于 PCR 基础的缺口 PCR 法进行诊断需要相似的策略。缺口 PCR 目前被应用于 Hb Leopore 和 8 种 δ β 地贫及 HPFH 缺失突变，这些突变断裂点的 DNA 序列已被测出。

α 地贫突变

α 地贫等位基因由 α 珠蛋白基因缺失突变和点突变构成，这些缺失位于 α 珠蛋白基因簇内或 α 珠蛋白基因簇周围，点突变是在两个 α 珠蛋白基因中的一个基因内。这些最常见缺失中的 7 种缺失断裂点目前已被测序，这些等位基因目前可使用缺口 PCR 的技术来诊断。其它缺失的等位基因已可通过 Southern 印迹分析来诊断。该法由于可在一次试验中诊断多个等位基因，故对 α 地贫的分子诊断是很有用的。

缺失突变

两种常见的 α^+ 地贫缺失基因即 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 等位基因与 5 个 α^0 地贫缺失基因即 $-\alpha^{SEA}$ 、 $-\alpha^{THAI}$ 、 $-\alpha^{FIL}$ 、 $-\alpha^{MED}$ 和 $-(\alpha)^{20.5}$ 等位基因一起，可通过缺口 PCR 诊断^[10, 33-36,]。

缺口 PCR 试验对于 β 珠蛋白基因簇的缺失突变扩增是非常好的。然而， α 基因簇的缺失扩增在技术上要困难得多。这可能是由于 α 珠蛋白基因簇序列中高 GC 含量的缘故。一些实验室的经验已经表明已公布的第一对引物中有的并不可靠，偶尔会导致因等位基因脱出而无法预测的扩增失败。然而，最近发表的多重引物似乎已给出了更肯定及可重复的结果。在反应混合液中加入三甲胺乙内酯并应用“热启动”扩增是成功的关键。

点突变

非缺失性 β^+ 地贫突变可通过选择性扩增 α 珠蛋白基因技术的 PCR 分析来鉴定^[37]，然后每个基因的扩增产物通过分析适当的已知突变或已知序列来鉴定新的突变。一些非缺失性突变改变了限制性酶位点，且可通过限制性酶消化来分析，已报道的由于突变产生了异常

变异的 Hb Constant Spring 也是以同样的技术来诊断的^[38]。理论上, 任何直接检测点突变的其它技术例如等位基因特异性寡核苷酸杂交或等位基因特异性引物都可用于非缺失性 α^+ 地贫的诊断。然而, 至今唯一报道的对所有已知点突变诊断策略包括联合应用变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 和单链构象分析 (SSCA), 然后直接进行 DNA 测序^[39]。

Southern 印迹分析

所有常见的 α 地贫缺失突变加上 3 重和 4 重 α 等位基因可通过联合应用限制性酶内切和基因探针的 Southern 印迹分析进行常规诊断。联合应用 BamH I 和 Bgl I II 消化 α 和 ζ 珠蛋白基因杂交可用于诊断除 $-\alpha^{\text{THAI}}$ 和 $-\alpha^{\text{FIL}}$ 之外的所有常见的 α 地贫缺失基因^[31]。Southern 印迹法仍保留为一种检测复杂 α 珠蛋白基因重组的有用技术, 且可以作为产前诊断结果证实的二级方法。

Hb 变异

至今已记载了 700 种以上的血红蛋白变异^[6], 其中需要 DNA 方法常规诊断的最具临床意义的一些变异是 HbS、HbC、HbE、HbD Punjab 和 HbOArab。这 5 种异常血红蛋白突变已可通过以下所述的各种技术来诊断。其它大部分的异常变异尚未在 DNA 水平测序, 虽然这些突变在很多情况下可由氨基酸的改变而推测, 但在其它为了筛查目的所需的诊断方法尚未建立之前, 需要用 DNA 测序来证实核苷酸的改变。

HbS

HbS ($\beta \text{Glu} \rightarrow \text{Val}$) 是由一种 β 珠蛋白基因的第 6 密码子中的第 2 个核苷酸 A \rightarrow T 替换而引起的。这一突变破坏了三个限制性酶的识别位点, 即 Mal I、Del I、和 Mst II。目前后者没有市售品, 只能用一种同功异构酶例如 CvnI、OxaI 或 SanI 来代替使用。Mst II 是应用 Southern 印迹分析检测 β^{S} 等位基因的选择性酶, 因为它偶尔会切断 β 珠蛋白基因的附近部位而产生大的 DNA 片段。然而, Del I 这种酶可用于 PCR 诊断^[40]。Del I 是一种常见的内切酶, 一些连续的位点可包括在扩增的 β 基因片段中可作为扩增产物完全消化的对照。 β^{S} 突变也可以通过各种基于 PCR 的技术例如 ASO/点印迹或 ARMS 方法来诊断。

HbC

HbC ($\beta^{\text{Glu}} \rightarrow \text{Lys}$) 突变是第六密码子上发生了 G \rightarrow A 替换, 内部也存有 Mnl I、Del I、和 Mst II 内部的识别位点。然而, 它并不取消 Del I 或 Mst II 位点, 因为突变累及一个在识别序列中的非特异性核苷酸。所以 Del I 或 Mst II 不能用于检测 β^{C} 突变, 可以使用其他的方法如等位基因特异性寡核苷酸杂交扩增 DNA 或等位基因特异性探针技术。

HbD Punjab 和 HbOArab

引起异常变异的 HbD Punjab ($\beta^{121} \text{Glu} \rightarrow \text{Gln}$) 和 HbO ($\beta^{121} \text{Glu} \rightarrow \text{Lys}$) Arab 的突变均能取消位于密码子 121 的 EcoR I 位点。它们的检测很容易进行。通过扩增包含密码子 121 的片断及用 EcoR I 消化产物, 结合高效液相色谱或电泳数据即可区分这两种密码子 121 变异。由于 β 珠蛋白基因位点的数千个碱基中都不含其它的 EcoR I 位点, 所以应该同时运行合适的 DNA 标本对照。

HbE

HbE 突变是密码子 26 上 G \rightarrow A 突变, 取消了一个 Mnl I 位点, 可通过 PCR 扩增和产物的限制性酶分析来诊断^[41]。然而, 由于 Mnl I 位点附近的消化产物相当小, 故 HbE 突变用 ASO 探针或 ARMS 探针来诊断要好一些。

7.8 最佳实践指南

关于用 PCR 技术进行产前诊断的主要问题是母体 DNA 污染有非常高的敏感性。然而, 英国^[42] 一个 3254 例产前诊断的准确度研究发现一共有 10 例非实验室失误也与胎血取样的技术问题有关 (8 例误诊)、Southern 印迹 (5 例失误) 及 PCR 技术 (2 例失误)。包括非实验室和技术性失误在内的 PCR 方法产前诊断误诊率经计算为 0.41%。证明该法比先前的 Southern 印迹技术 (误诊率 0.73%) 和珠蛋白链合成 (误诊率 1.55%) 更为可靠。

非实验室失误产生于对父母的误诊、父亲身份不明或誊抄笔误。当父母的基因不能通过血液学方法和 DNA 分析证实时而发生误诊。在镰状细胞贫血风险夫妇, 常由于产前诊断时父亲身份不确切而误诊。可以断言, 这种情况就不能依赖其他实验室报道的携带者状态的血液学方法得出的结果。为了在这些病例中把诊断错误的几率降到最低限度, 建议用胎儿 DNA 检测 β^c 及与父母亲所属种群的常见 β 地贫突变, β^s 突变除外。

实验室差错如消化不完全或等位基因脱扣可通过以下方法降到最低限度, 在可能的情况下进行双份标本测试或对一份标本应用两种独立的诊断方法 (例如直接突变检测及 RFLPs; 直接突变检测及经 PCR 或 Southern 印迹进行限制性酶分析)。经 PCR 进行多态性检测被常规应用于排除由于母体 DNA 污染或父亲身份不明导致的错误。英国诊断实验室则使用 ApoB、IgJH 和 Ha-ras 可变数目重复序列 (VNTR) 多态性, 或者短串联重复序列。这些预防措施增加了实验室的费用, 但为了避免产前诊断误诊的严重后果必须这样做。

上述预防措施形成了将任何遗传病的产前遗传学试验的差错降到最低限度的最实际的准则基础。这个准则的具体内容是:

- 1) 必须保证父母血液标本新鲜, 以便检查父母的表现型及为胎儿标本提供新鲜的 DNA 对照。

- 2) 保证绒毛膜标本在显微镜下仔细地分离并移去污染的母体蜕膜。
- 3) 总是与胎儿 DNA 同时检测父母 DNA 及合适的对照 DNA。总是重复胎儿 DNA 分析双份检查结果。
- 4) 在任何可能的情况下，应用另外一种可供选择的方法来证实诊断结果。
- 5) 使用有限的次数进行扩增循环以将母体 DNA 序列的扩增降到最低限度。
- 6) 对每一病例均检查母体 DNA 污染。
- 7) 胎儿 DNA 诊断报告应该详述用于检测的 DNA 类型，并清楚地陈述由于以最新的数据为根据而出现的的技术误差所导致的误诊风险。

表 7.1 地贫、镰状细胞病和各种地贫相互作用产生的表现型

类型	表现型	DNA 诊断
1. 纯合子状态		
α^0 地贫 ($--/--$)	Hb Bart' s 水肿胎	S Bolt/PCR
α^+ 地贫 ($- \alpha / - \alpha$)	无临床症状	S Bolt/PCR
α^+ 地贫 ($\alpha^T \alpha / \alpha^T \alpha$)	HbH 病	S Bolt/PCR
β 地贫		
β^0 或重型 β^+ 突变	重型地贫	PCR
轻型 β^{++} 突变	中间型地贫	PCR
$\delta \beta^0$ 地贫	中间型地贫	S Bolt/PCR
HPFH	无临床症状	S Bolt/PCR
Hb Lepore	可变: 中间型至重型	PCR
HbS	镰状细胞病	PCR
HbC	无临床症状	PCR
HbD	无临床症状	PCR
HbE	无临床症状	PCR
2. 复合杂合子状态		
α^0 地贫/ α^+ 地贫 ($--/- \alpha$)	HbH 病	S Bolt/PCR
α^0 地贫/α^+地贫 ($-- / \alpha^T \alpha$)	重型 HbH 病	S Bolt/PCR
β^0 / 重型 β^+ 地贫	重型地贫	PCR
轻型 β^{++} / β^0 或重型 β^+ 地贫	可变: 中间型至重型	PCR
$\delta \beta^0$ / β^0 或重型 β^+ 地贫	可变: 中间型至重型	S Bolt/PCR
$\delta \beta^0$ / 轻型 β^{++} 地贫	轻型中间型地贫	S Bolt/PCR
$\delta \beta^0$ / Hb Lepore	中间型地贫	S Bolt/PCR
$\alpha \alpha \alpha$ / β^0 或重型 β^+ 地贫	轻型中间型地贫	S Bolt/PCR
Hb Lepore / β^0 或重型 β^+ 地贫	重型地贫	PCR
HbC / β^0 或重型 β^+ 地贫	可变: β 地贫性状至中间型	PCR
HbC / 轻型 β^{++} 地贫	无临床症状	PCR
HbD / β^0 或重型 β^+ 地贫	无临床症状	PCR
HbE / β^0 或重型 β^+ 地贫	可变: 中间型至重型	PCR
HbO Arab / β^0 地贫	重型中间型	PCR
HbS / β^0 或重型 β^+ 地贫	镰状细胞病	PCR
HbS / 轻型 β^{++} 地贫	通常轻型镰状细胞病	PCR
HbS / $\delta \beta$ 地贫	通常轻型镰状细胞病	PCR
HbS / HbC	镰状细胞病, 严重变异	PCR
HbS / HbD Punjab	镰状细胞病	PCR
HbS / HbO Arab	镰状细胞病	PCR
HbS / HPFH	镰状细胞性状	PCR

Bold = 严重临床类型

参考文献

1. Embury S.H.: "Advances in the prenatal and molecular diagnosis of the haemoglobinopathies and thalassaemias". *Hemoglobin* 1995, 19:237-61
2. Old J.: "Haemoglobinopathies". *Prenatal Diagnosis* 1996, 16:1181-6
3. Guidelines for the clinical management of thalassaemia. (Eds.) Cappellini N, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A, Porter J. *Thalassaemia International Federation* 2000
4. Huisman T.H.J., Carver M.F.H., Baysal E.: ~A syllabus of thalassaemia mutations". *The Sickle Cell Anemia Foundation*. Georgia 1997
5. Higgs and Bowden, in *Disorders of Haemoglobin: Genetics, pathophysiology, and clinical management*, (Eds.) Steimberg MH, Forget BG, Higgs DR and Nagel RL, Cambridge University Press, 2001 (p. 431)
6. Huisman T.H.J., Carver M.F.H., Efremov G.D.: "A Syllabus of Human Hemoglobin Variants". (Second ed.) *The Sickle Cell Anemia Foundation*, Augusta, GA, USA 1998
7. Fucharoen S., Winichagoon P., Thonglairuam V. et al: "EF Barr's disease: Interaction of the abnormal α - and β -globin genes". *European Journal of Haematology* 1988, 40:75-8
8. Weatherall D.J.: "Single gene disorders or complex traits: Lessons from the thalassaemias and other monogenic diseases". *British Medical Journal* 2000, 4:111 7-20
9. Alter B.P.: "Antenatal diagnosis, summary of results". *Annals of the New York Academy of Sciences* 1990, 612:237
10. Liu Y.T., Old J.M., Fisher C.A., et al: "Rapid detection of α -thalassaemia deletions and α -globin gene triplication by multiplex polymerase chain reactions". *British Journal of Haematology* 1999, 108:295-9
11. Old J.M.: Foetal DNA analysis. In: *Genetic analysis of the human disease: A practical approach* Davies K.E. (ed.) IRL Press, Oxford, England 1986
12. Rosatelli M.C., Tuveri T., Scalas M.T., et al: "Molecular screening and foetal diagnosis of β -thalassaemia in the Italian population". *Human Genetics* 1992, 89:585-9
13. Decorte R., Cuppens H., Marynen P., et al: "Rapid detection of hypervariable regions by the polymerase chain reaction technique". *DNA Cellular Biology* 1990, 9:461-9
14. Ristaldi M.S., Pirastu M., Rosatelli C., et al: "Prenatal diagnosis of β -thalassaemia in Mediterranean populations by dot blot analysis with DNA amplification and allele specific oligonucleotide probes". *Prenatal Diagnosis* 1989, 9:629-38
15. Saiki R.K., Walsh P.S., Levenson C.H., et al: "Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 1989, 86:6230-4
16. Maggio A., Giambona A., Cai S.P., et al: "Rapid and simultaneous typing of hemoglobin S, hemoglobin C and seven Mediterranean β -thalassaemia mutations by covalent reverse dot-blot analysis: Application to prenatal diagnosis in Sicily". *Blood* 1993, 81:239-42
17. Sutcharitchan P., Saiki R., Huisman T.H.J., et al: "Reverse dot-blot detection of the African-American β -thalassaemia mutations". *Blood* 1995, 86:1580
18. Winichagoon P., Saechan V., Sripanich R., et al: "Prenatal diagnosis of β -thalassaemia by

- reverse dot-blot hybridisation". *Prenatal Diagnosis* 1999, 19:428-35
19. Newton C.R., Graham A., Heptinstall L.E.: "Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS)". *Nucleic Acids Research* 1989, 17:2503-16
 20. Tan J.A.M.A., Tay J.S.H., Lin L.I., et al: "The amplification refractory mutation system (ARMS): a rapid and direct prenatal diagnostic techniques for β -thalassaemia in Singapore". *Prenatal Diagnosis* 1994, 14:1077
 21. Zschocke J., Graham C.A.: "A fluorescent multiplex ARMS method for rapid mutation analysis". *Molecular and Cellular Probes* 1995, 9:447
 22. Chehab F.F., Kan Y.W.: "Detection of specific DNA sequence by fluorescence amplification: A colour complementation assay". *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 1989, 86:91-78
 23. Chang J.G., Lu J.M., Huang J.M., et al: "Rapid diagnosis of β -thalassaemia by mutagenically separated polymerase chain reaction (MS-PCR) and its application to prenatal diagnosis". *British Journal of Haematology* 1995, 91:602
 24. Linderman R., Hu S.P., Volpato F., et al: "Polymerase chain reaction (PCR) mutagenesis enabling rapid non-radioactive detection of common β -thalassaemia mutations in Mediterraneans". *British Journal of Haematology* 1991, 78:100
 25. Faa V., Rosatelli M.C., Sardu R., et al: "A simple electrophoretic procedure for foetal diagnosis of β -thalassaemia due to short deletions". *Prenatal Diagnosis* 1992, 12:903-8
 26. Wayne J.S., Eng B., Hunt J.A., et al: "Filipino β -thalassaemia due to a large deletion: Identification of the deletion endpoints and polymerase chain reaction (PCR)-based diagnosis". *Human Genetics* 1994, 94:530-2
 27. Craig J.E., Barnetson R.A., Prior J., et al: "Rapid detection of deletions causing (β -thalassaemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin by enzymatic amplification". *Blood* 1994, 83: 1673-82
 28. Losekoot M., Fodde R., Harteveld C.L., et al: "Denaturing gradient gel electrophoresis and direct sequencing of PCR amplified genomic DNA: a rapid and reliable diagnostic approach to β -thalassaemia". *British Journal of Haematology* 1991, 76:269-74
 29. Savage D.A., Wood N.A.P., Bidwell J.L., et al: "Detection of β -thalassaemia mutations using DNA heteroduplex generator molecules". *British Journal of Haematology* 1995, 90:564
 30. Old J.M., Petrou M., Modell B., et al: "Feasibility of antenatal diagnosis of β -thalassaemia by DNA polymorphisms in Asian Indians and Cypriot populations". *British Journal of Haematology* 1984, 57:255-63
 31. Old J.M.: Haemoglobinopathies: Community clues to mutation detection. In: *Methods in Molecular Medicine, Molecular Diagnosis of Genetic Diseases* Elles R. (ed.) 1996:169-83 Humana Press Inc., Totowa, NJ.
 32. Semenza G.L., Dowling C.E., Kazazian H.H.Jr.: "Hinf I polymorphisms 3' to the human β -globin gene detected by the polymerase chain reaction (PCR)". *Nucleic Acids Research* 1989, 17:2376
 33. Dode C., Krishnamoorthy R., Lamb J., et al: "Rapid analysis of α -3.7 thalassaemia and anti 3.7 triplication by enzymatic amplification analysis". *British Journal of Haematology* 1992, 82:105
 34. Baysal E., Huisman T.H.J.: "Detection of common deletional α -thalassaemia-2 determinants by PCR". *American Journal of Hematology* 1994, 46:208
 35. Bowden D.K., Vickers M.A., Higgs D.R.: "A PCR-based strategy to detect the common severe determinants of α -thalassaemia". *British Journal of Haematology* 1992, 81:104-8
 36. Ko T.M., Li S.F.: "Molecular characterization of the α -FIL determinant of α -thalassaemia".

American Journal of Hematology 1999, 60:1 73

37. Molchanova T.P., Pobedimskaya D.D., Postnikov Y.V.' "A simplified procedure for sequencing amplified DNA containing the α -2 or α -1 globin gene". Hemoglobin 1994, 18:251
38. Ko T.M., Tseng L.H., Hsieh F.J., et al: "Prenatal diagnosis of HbH disease due to compound heterozygosity for south-east Asian deletion and Hb Constant Spring by polymerase chain reaction". Prenatal Diagnosis 1993, 13:143
39. Hartveld K.L., Heister A.J.G.A.M., Giordano P.C., et al' "Rapid detection of point mutations and polymorphisms of the α -globin genes by DGGE and SSCA". Human Mutation 1996, 7:114-122
40. Old J.M., Thein S.L., Weatherall D.J., et al: "Prenatal diagnosis of the major haemoglobin disorders". Molecular Biology and Medicine 1989, 6:55-63
41. Thein S.L., Lynch J.R., Old J.M., et al: "Direct detection of haemoglobin E with Mnl I". Journal of Medical Genetics 1987, 24:110-1
42. Old J., Petrou M., Varnavides L., et al: "Accuracy of prenatal diagnosis of haemoglobin disorders in the United Kingdom' Twenty-five years' experience". Prenatal Diagnosis 2000, 20:986-91

第八章 产前诊断新进展

Joanne Traeger-Synodinos

产前诊断新进展的方向是改进诊断时间和安全性。一种方法是非侵入性胎儿取样，以存在于妊母外周血循环中的胎儿细胞或游离胎儿 DNA 分析为根据（见 8.1 节）。然而，这种方法仍然包括必要时终止妊娠——产前诊断的一个主要缺点。通过植入前遗传学诊断（PGD）可以解决这个问题。PGD 是一种技术性挑战，需要专业团队的密切合作多步骤的程序，见 8.2 节的描述。

8.1 通过检测母体循环中的胎儿 DNA 或胎儿细胞的非侵入性产前诊断。

几年前发现在孕妇血液中有胎儿细胞循环^[1]，最近对人类妊娠期间的血浆 DNA 进行分子检测带来了一个发现，即母体血浆中含有游离的胎儿 DNA 和母亲 DNA^[2]。胎儿细胞和游离胎儿 DNA 为建立单基因病（和胎儿细胞的染色体异常）的非侵入性产前诊断方案提供了依据。下面将描述的这个方案可应用于血红蛋白病。

应用胎儿细胞进行非侵入性基因诊断

分离胎儿细胞进行胎儿 DNA 检测必须满足两个条件：a) 胎儿细胞必须是本次妊娠所特有的，因为很多年前产后留下的胎儿细胞也能被检测出来；b) 纯净的（胎儿）细胞群对于检测必须是安全可靠的。已经找到 3 种类型的胎儿细胞作为胎儿 DNA 的来源，包括淋巴细胞、滋养层细胞和成红细胞（有核红细胞或 NRBCs）。NRBCs 是胎儿细胞中最适合做非侵入性基因诊断的，因为它们是高度分化（这使得这些细胞的挑选很便利）且产后不再持续（即它们是本次妊娠所特有的）。胎儿 NRBCs 存在数目很低，为母亲有核红细胞的 1/104~1/109，所以，通过孕母静脉穿刺收集 16-24ml 血液仅能收获很少的 NRBCs（数目高可能反映某些异常的产科状态如唐氏综合征等情况）。

富集过程包括正选和/或负选步骤，例如 ficoll 密度离心、荧光激活细胞分选仪（FACS）以及在能将胎儿 NRBC 从母体细胞中区分出来的抗体例如一种胎儿 NRBCs 特有的标记抗体抗 CD71（转铁蛋白受体）的帮助下进行的磁活性细胞分离（MACS）或磁活性细胞结合等。下面的细胞分级富集也能包含胎儿 NRBC，候选的胎儿细胞被沉淀到显微镜玻片上，使用荧光单克隆抗体进行更特异的鉴定。直到最近，抗 ζ 珠蛋白抗体才被认为是一种合适的选择。抗 ζ 珠蛋白抗体比抗 γ -珠蛋白抗体更合适，因为母体在妊娠期间，F 细胞可能升高，特别

当她是一个 β 地贫携带者时，将会混淆细胞挑选和接下来的诊断。但是，最近分子技术已经证明胚胎和胎儿珠蛋白可在成人红细胞的祖细胞中表达，所以有必要寻找一个更为特异的胎儿细胞标记物^[3]。

一旦少量的胎儿有核红细胞通过了阳性鉴定，就可以使用显微分割法将它们从显微镜玻片上收集起来，放到 eppendorf 管里进行后续的 PCR 突变检测程序，就象在镰状细胞贫血和地贫一节所描述的那样^[4]。

整个过程受限于技术方面的困难且费用昂贵、费时，所以该技术虽然最近已可获得服务，但还不能广泛应用。

母体血浆中的胎儿 DNA

母体血浆中胎儿 DNA 的检测要简单得多，且比从母血中检测胎儿有核细胞更有活力^[2]。不需要富集过程，标本制备包括简单的离心过程。离心能保证所有的细胞从血浆部分移出。然后血浆中的 DNA 可以使用市售的 DNA 抽提柱纯化。胎儿 DNA 能在低至 10ml 的母体血浆中检测出，在 11-17 孕周时约占血浆 DNA 总量的 3-4%。产后，胎儿 DNA 迅速从母体血浆中清除，半衰期仅几分钟^[5]。这种清除率动力学与胎儿细胞清除率之间有很大的差异，已证实某些类型的细胞可长期存在。

胎儿 DNA 的检测与分析已应用于恒河猴 D (Rh 血型)、性连锁病和其他父系遗传的遗传病的产前诊断中，对地贫 (和其他隐性单基因病) 的产前诊断的应用将以父系起源的病理性等位基因的排除，即假定该等位基因不同于母亲的突变为基础。然而，由于不可能区别辨认母系起源的等位基因。这就意味着诊断仅 50%有效，在实用条件上局限了临床应用。

8.2 β 地贫及相关血红蛋白病的植入前基因诊断 (PGD)

植入前基因诊断 (PGD) 代表一种最先进的、潜在地避免终止患胎妊娠的需要的操作程序，通过鉴定仅植入由体外受精 (IVF) 育出的未受累的胚胎。PGD 的可行性在二十世纪 80 年代后期由于辅助生殖技术和胚胎学的发展而开始提高，聚合酶链反应 (PCR) 与此同时建立。通过活检和人类植入前胚胎基因诊断首次获得妊娠成功^[6, 7]花费了十年以上的时间。虽然世界上能进行 PGD 的诊断中心的数目在增长，但由于这种技术需要联合生殖医学及分子遗传学和/或细胞遗传学的专家们的合作，故还不能广泛地提供临床服务。此外，单细胞的遗传学诊断需要高超的技术，在这项技术被认为适合于临床应用之前操作方案必须严格标准化。

8.3 PGD 遗传物质的来源

适合做 PGD 检测的细胞有 3 种可能的类型：来源于卵母细胞/合子阶段的极体 (PBS)，

来自卵裂期胚胎的卵裂球和来自囊胚的滋养层细胞^[7]。每种类型细胞的应用都各有优缺点（见下文）。

一个胚胎学家的专业知识是确保成功的活检和维持胚胎存活的基础，任何活检过程的第一阶段都是在围绕着卵母细胞或增长至囊胚阶段的胚胎的透明带上钻一个孔。酸性泰勒氏液钻孔是使用的第一种方法^[8]。但对于极体活检来说，酸性泰勒氏液可能对随后的卵母细胞的发育产生有害影响，以机械方法在透明带上刺一个孔更可取。最新的进展是用激光在透明带上钻孔，可能是最安全及最准确的方法^[7, 9]。

极体活检

最初认为极体活检是最具优点的方法，因为操作涉及的是卵母细胞而不是胚胎。由于取出的遗传物质不会成为发育中的胚胎的组成部分，故该法阻止了关于人类胚胎活检的伦理及安全性的争论。然而，受精后立即进行第二极体的检测以验证第一极体的检测结果、需要双倍的操作次数和分析所需的标本。用极体分析卵母细胞的基因型得到极体的相反诊断（尽管在分析单基因病时由于再次结合事件而被复杂化，见 8.5 节所述），且父亲的等位基因基因型无法得知。尽管如此，仍有少数诊断中心在某些 PGD 周期使用极体活检。

卵裂阶段胚胎活检

在受精后第 3 天，已受精的胚胎通常是 6-8 个细胞（卵裂阶段胚胎）。在此阶段细胞仍然是全能的，胚胎通常还不够坚实。大多数诊断中心更乐意以来自卵裂期的卵裂球的活检来进行 PGD。最早的操作方案由 Hardy 等所描述，图解于 8.1。卵裂球活检的主要缺点之一是为检测而获取的材料数量极其有限。很多 PGD 中心建议从每个卵裂阶段胚胎取出 2 个卵裂球进行活检并重复分析，尽管这种方法常由于亚理想的胚胎质量和/或发育而受限^[9]。

囊胚阶段活检

囊胚是一个包括大约 100 个细胞的腔状结构，在受精后 5-6 天发育而成，囊胚活检较单卵裂球活检有一个潜在的优点，即可取出更多的细胞进行检测。活检的技术性也较卵裂球活检或极体活检简单。滋养外胚层细胞并不参与构成胚胎本身，但最终形成了胎盘和其他特殊的胚胎组织（比如早期的绒毛膜），部分程度上降低了伦理的因素。从滋养外胚层最多移出 10 个细胞并不会改变人类胚胎的早期发育。但是，到目前为止，有关临床 PGD 周期进行囊胚活检的报道非常少，所以评价囊胚活检对改变胚胎发育是否有任何不利影响的有关数据并不充分。而且，使用系列培养基进行胚胎培养可支持胚胎发育到囊胚阶段，在体外并非所有的胚胎都能发育到这个阶段，故限制了这一方法在许多临床 PGD 周期中的实用性^[7]。

8.4 PGD 的遗传学检测

IVF 治疗的结局和活检胚胎的质量取决于很多因素（包括这对夫妻是否有生育力、不育的潜在原因和女方年龄），所有这些因素对于治疗中的病例都是有特异性的——临床应用允许在这些因素中进行小范围的选择。然而，遗传学检测在精确性和可靠性上可能是理想的，尽管单细胞诊断已被证实是 PGD 中技术难度最大的步骤。此外，遗传学诊断必须在有限的时间内完成，以便在胚胎的成活力受危及之前进行胚胎移植。

理论上，任何有足够序列信息并易于设计特异引物和/或探针的遗传病都可应用 PGD。为了建立诊断方法，临床前实验使用单个的淋巴细胞、成纤维细胞、颊细胞或来自研究中的胚胎单个卵裂球来进行。前面这 3 种类型的细胞并不完全代表胚胎的细胞（例如：为了评价以 PCR 为基础的诊断方法之前的细胞裂解方案），但它们有着较易获取并可从研究中的基因中选择有突变个体的优点。另一方面，已完成的 IVF 周期剩余的胚胎有有限供给且有可变因素，遗传学质量常处于亚理想状态，使得比较和实验对照有困难。尽管存在着这些困难，对很多疾病仍建立了有效的方案，然而我们在这里将重点应用在 β 珠蛋白基因突变的 PGD 之上。

自从首例以 PCR 为基础的 PGD 病例实施以来，一些与单细胞 DNA 扩增有关的遗传学困境已经显而易见，包括总 PCR 失败，等位基因脱扣（ADO，当等位基因之一未成功扩增到可检测的水平）和潜在的标本污染，所有这些都应该在任何 PGD 的 PCR 方案临床应用之前将可能的污染降至最低限度。另外，所选择的方法必须能可靠而准确地定性研究中的有关疾病基因型。

单细胞的 PCR 分析需要很多循环的扩增，故要当心预防意外的 DNA 污染。对 PGD 操作过程有特异性的可能的污染包括围绕着卵母细胞的卵丘细胞（母源性的）和随着受精可能嵌入透明带的多余的精子。这样，当构建胚胎时，必须剥离卵母细胞外的卵丘细胞，建议使用胞质内精子注射来使卵母细胞受精^[7, 9]。其他的污染包括实施 IVF/PGD 程序的操作者的细胞，或遗传实验室系统中的 PCR 扩增。由于这些原因，活检和 PCR 反应应该独立进行，在严格的条件下隔离紫外线处理区，使用专用的设备并严格配制试剂，PCR 之前及之后的步骤应严格分离，每一例 PGD 检测的所有阶段都应由阴性质控和空白来监控。

最理想的 PCR 反应应该是最低限度的 PCR 失败和 ADO；在 PCR 预临床实验中，大部分诊断中心接受的单细胞扩增成功率在 90% 以上，ADO 率在 10%，这样的方案即被认为是符合临床应用的。然而 ADO 的原因在遗传学上还是未知的，ADO 似乎受很多影响 PCR 效率的因素所影响，包括 PCR 前的细胞裂解方法、PCR 条件、靶 DNA 的序列和 PCR 产物的大小^[7]。

人类卵裂球遗传物质的可变性和亚理想质量可能也是一个局限性的因素。即使在最佳的以 PCR 为基础的 PGD 方案中, 在临床周期期间的扩增大约有 10% 分离的卵裂球不成功, ADO 对单细胞扩增的影响可能达到 20%^[7, 9]。

PCR 的失败是令人不快的, 但 ADO 由于能导致误诊因而更危险。这些既定的方案对于监控 ADO 的发生是更可取的, 包括能一同扩增相关基因型的两个或更多的连锁位点的多重 PCR 或能同时检测构成基因型的两个等位基因的突变检测方法。例如, 变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 或单链构象多态性分析 (SSCP)。另一种选择, 应用荧光定量 PCR 能比常规 PCR 产物敏感 1000 倍以上, 故该检测能明显地降低 ADO 的发生。这些技术与荧光定量和多重 PCR 方案相结合, 尽管至今尚未有人报道过用这种方法检测 β 珠蛋白基因。

8.5 应用于临床 PGD 周期的对策举例

尽管已经介绍了一些 β 地贫 (和 HbS) PGD 的方法, 但这些方法很少应用到临床周期上。有两种广泛应用于临床 PGD 周期的方法——一种是以使用变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 的单个卵裂球检测为基础, 第二种基于使用 RE-PCR 进行突变分析和一个连接多态性标记的极体分析之上。

基于单卵裂球 DGGE 检测的 PGD

在大多数人群中存在着相当多的 β 地贫杂合性突变, 但这些引起 β 地贫或重度血红蛋白变异 (HbS、C 和 E) 的最常见的突变中大多数都位于 β 珠蛋白基因的前 2/3 处。一个基于 DGGE 检测的方法可以方便地评估在 β 基因区域内的大范围突变, 还可检测大多数可能的重型突变相互作用 (基因型)。DGGE 应用于单细胞基因型的检测是有利的, 因为:

- a) 它可方便地同时检测单个 PCR 片断上的任何突变, 不需要对每一种突变都建立独立的测定方法。
- b) 同时检测构成基因型的两个等位基因, 监控 ADO 的发生。
- c) 检测正常的等位基因 (同时也检测突变基因), 即使在 ADO 发生之后也能阻止患胎的移植。

巢式 PCR/DGGE 分析包括第一轮循环的 PCR (2.5 小时), 随后通过巢式 PCR 进行扩增适合 DGGE 可分析片段 (2.5 小时) 及运行变性梯度凝胶 (5-16 小时)。单卵裂球的基因型诊断代表了胚胎的基因型, 仅有那些具有明确存在的正常等位基因的胚胎才能认为是未受累胎儿, 才能被选为适合移植的胚胎^[10, 11, 12]。

这种方法的缺点包括 DGGE 相对复杂的技术细节以及在卵裂球活检之后完成诊断所需时间较长 (可达 24 小时)。

基于突变及极体连接标记 RE-RCR 检测的 PGD

本对策中突变检测方法包括巢氏 PCR，接着是限制性内切酶消化检测极体中单个突变的存在/不存在，同时通过一个帮助监控 ADO 的连接标记加以证实。迄今这种方法已被应用于相当有限的几个 β 地贫突变的临床 PGD 周期中，但也有可能应用于多种突变。由于这些突变不能通过自然发生的限制性位点来区分，故建立了 PCR 引物诱导限制性位点^[14, 15]。

极体的分析间接地明确了卵母细胞的基因型，但由于如下的事实使这一技术变得复杂： β 珠蛋白基因位于 11 号染色体的一个似乎常发生染色体交换的区域内。第一极体（第一次减数分裂之后）包含有 2 条姐妹染色体的单染色体。如果交换已经在一个杂合子的初级卵母细胞（来自一个杂合子母亲）上发生，那么将存在两个不同的 β 基因且可以检出。在这种情况下，因为第二极体的基因型与卵母细胞的基因型相反，为了确定次级卵母细胞的状况，因此必须对第二极体（IIPB）进行分析。由于单细胞的分析过程中可能发生 ADO，在第一极体上的单个等位基因的检测是有矛盾的，因为它不能区分这个单个等位基因是否代表真正的基因型（没能发生交换），或者是发生了 ADO。所以，事实上只有这一种基因型的卵母细胞/合子才能被可靠的评估，包括那些交换发生在第一极体出现之后的卵母细胞，在分析后可以发出“杂合子”状况的报告。在这些卵母细胞中，第二极体的基因型也有了结果。此外，如象在 8.3 节中提及的，极体分析无法给出父源性遗传的等位基因的任何信息。

8.6 与 PGD 有关的实际问题和伦理问题

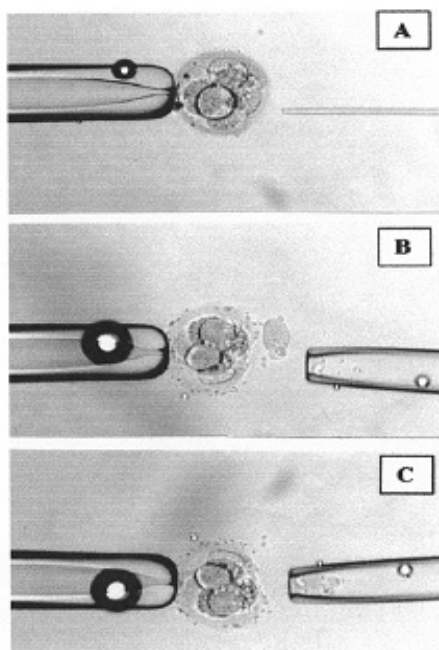
任何 PGD 周期的阳性结果——即出生健康的、未受累的婴儿——依赖于辅助生殖技术的多个步骤中每一步骤的成功，同时也依赖于一个准确的诊断。总的来说，所有收集到的卵母细胞中约有 70% 将会受精且受精的细胞中约有 70% 将发育到卵裂阶段，但并非所有发育的细胞都适合于做活检。PGD 的成功是建立在大约 80~90% 的成功胚胎活检之上。这些胚胎只有一半左右经诊断适合移植（即未受累）。所报道的妊娠率各不相同，但极少超过所有实施周期的 1/3 左右，仅有约 2/3 的最初妊娠能发展到足月^[9, 11, 16]。所以任何把 PGD 当作一个 PND 的替代者的夫妇都应该考虑到 PGD 的总成功率相当低。而且，对于无生育问题的夫妇，PGD 的一个主要实际缺点可能是需要包括体外受精治疗。虽然 PGD 最初的目的是为风险夫妇提供一种可选择的保守的 PND，但它被认为更适合于有遗传一种（重型的）遗传病高风险的夫妇，这些夫妇也有亚生育问题。另一方面，已有选择性终止妊娠 PND 经历的夫妇或已经有一个患儿的夫妇，或那些对终止一个正在进行中的妊娠有伦理、道德或宗教异议的夫妇，可能会发现 PGD 是一个合适的选择。

PGD 对于婴儿出生的安全性是一个主要的忧虑^[9]，但早先对 250 个左右出生于世界各地

的 PGD 婴儿的评估表明该程序对发育没有任何不利的影响^[9、13、17、18]。尽管没有直接出现在本书范围内，但也存在着关于因为社会或优生学的原因而使用 PGD 的公众忧虑^[19]。使用 PGD^[20]进行社会性别^[9]和供体的选择（所谓的设计者婴儿）至今已应用于极少数病例中，但随着日益广泛的应用，有必要建立适当的伦理准则和法律以指导 PGD 的正确应用。

早期的 PGD 概念相当简单，尤其是在建立 DNA 重组方法学之后。但是，十年来的实际应用已证实完全不是这么回事。尽管经验、研究结果及一些方法学的提高，已经导致了許多改进，但 PGD 还遗留了一些技术性的挑战，多步骤、劳动密集型的程序需要专家队伍的密切合作。为了改善方案并使之简单化，尤其是遗传分析，为了建立对付更多疾病的方法，努力在继续着。但目前的技术仍未广泛的应用。然而，尽管有这些障碍，为了很多夫妇得以生育未受累的、健康的婴儿^[11、13、14]， β 地贫和 HbS 的 PGD 已被证实是有价值和值得花精力的程序。

图 8-1: 从一个卵裂期的胚胎进行卵裂球活检。所有操作均在配备加温载物台和显微操作器的倒置显微镜下进行。



A、通过固定吸管（左）的吸附固定胚胎，用透明带钻孔吸管（右）加入酸性泰洛氏液在透明带上穿一个孔。

B、用胚胎活检吸管（右）取代透明带钻孔吸管，一个单卵裂球被轻缓地吸入培养液中。

C、被吸出的单个卵裂球被轻轻地吸入活检吸管，转移到后续的步骤中进行基因分析。

（照片承蒙 Giles Paluer 提供）

参考文献

1. Simpson J.L., Elias S.: "Isolating foetal cells from maternal blood: Advances in prenatal diagnosis through molecular technology". JAMA 1993, 270:2357-61

2. Lo Y.M. "Fetal DNA in maternal plasma". *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000, 906:141-7
3. Lau E.T., Kwok Y.K., Chui D.H.K., et al: "Embryonic and foetal globins are expressed in adult erythroid progenitor cells and in erythroid cell cultures". *Prenatal Diagnosis* 2001, 21:529-39
4. Cheung M.C., Goldberg J.D., Kan Y.W.: "Prenatal diagnosis of sickle cell anaemia and thalassaemia by analysis of foetal cells in maternal blood". *Nature Genetics* 1996, 14:264-8
5. Lo Y.M., Zhang J., Leung T.N., et al: "Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma". *American Journal Human Genetics* 1999, 64:218-24
6. Handyside A.H., Kontogianni E.H., Hardy K., et al: "Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification". *Nature* 1990, 344:769-70
7. Kanavakis E., Traeger-Synodinos J.: "Preimplantation genetic diagnosis in clinical practice". *Journal Medical Genetics* 2002, 39:6-11
8. Hardy K., Martin K.L., Leese H.J., et al: "Human preimplantation development in vitro is not adversely affected by biopsy at the 8-cell stage". *Human Reproduction* 1990, 5:708-14
9. ESHRE PGD Consortium Steering Committee (2002). ESHRE Preimplantation Genetic Diagnosis Consortium: data collection III (May 2001). *Human Reproduction* 17:233-46
10. Vrettou C., Palmer G., Kanavakis E., et al: "A widely applicable strategy for single cell genotyping of β -thalassaemia mutations using DGGE analysis: Application to preimplantation genetic diagnosis". *Prenatal Diagnosis* 1999,19:1209-16
11. Kanavakis E., Vrettou C., Palmer G., et al: "Preimplantation genetic diagnosis in 10 couples at risk for transmitting β -thalassaemia major: Clinical experience including the initiation of six singleton pregnancies". *Prenatal Diagnosis* 1999, 19:121 7-22
12. Palmer G.A., Traeger-Synodinos J., Davies S., et al: "Pregnancies following blastocyst stage transfer in PGD cycles at risk for β -thalassaemic haemoglobinopathies". *Human Reproduction* 2002, 17:25-31
13. Traeger-Synodinos J.R., Vrettou C., Tzetzis M., et al: "Preimplantation genetic diagnosis for thalassaemia major and sickle cell thalassaemia in Greece: Two years' clinical experience". *European Journal Human Genetics* 2001, 9 suppl 1:79
14. Kuliev A., Rechitsky S., Verlinsky O., et al: "Preimplantation diagnosis of thalassaemias". *Journal Assist Reproduction Genetics* 1998, 15:219-25
15. Rechitsky S., Strom C., Verlinsky O., et al: "Accuracy of preimplantation diagnosis of single-gene disorders by polar body analysis of oocytes". *Journal of Assisted Reproduction Genetics* 1999, 16:192-8
16. Flinter F.A.: "Preimplantation genetic diagnosis". *British Medical Journal* 2001, 322:1008-9
17. Bonduelle M., Van Asche E., Sermon K., et al: "Neonatal outcome following preimplantation genetic diagnosis (PGD) as an alternative to prenatal diagnosis". *European Journal Human Genetics* 1999, 7 suppl 1:38
18. Strom C.M., Levin R., Strom S., et al: "Neonatal outcome of preimplantation genetic diagnosis by polar body removal: The first 109 infants". *Pediatrics* 2000, 106:650-3
19. King D.S.: "Preimplantation and the "new" genetics". *Journal of Medical Ethics* 1999, 25:1 76-82
20. Savulescu J., Boyle R.J.: "Ethics of using preimplantation genetic diagnosis to select a stemcell donor for an existing person". *British Medical Journal* 2001, 323:1240-3

第九章 监督

Bernadette Modell & Mary Petrou

一个 WHO 工作小组为血红蛋白病制定了一个控制方案。作为一个完整方案，该方案将尽可能完善的患者保健通过社区信息、携带者筛查、遗传咨询和提供产前诊断而与预防相结合^[1]。在一个完整的方案中，将治疗和预防真正分开监督是不可能的，将地贫携带者筛查与镰状细胞病携带者筛查分开也是不可能的。所以，尽管这本书的重点主要与地贫有关，但本章推荐的内容同样适合于所有血红蛋白病筛查的监督。

9.1 一些定义

预防是风险鉴定和风险处理方案的速记法术语。被鉴定的风险是指有一个重型血红蛋白病的孩子的风险。风险可在人群筛查时“前瞻性”的鉴定，也可在夫妇生了一个患儿后“回顾性”的鉴定。

从遗传学的角度来说，风险处理包括为当事人和/或夫妇提供有关风险的信息，让他们在可获得的选择中及时做出选择以避开风险——即目的是“知情选择”。为了避免和治疗涉及的疾病而选择预期能获得的服务。

监督是 WHO 用来描述获取关于在整个人群层次上针对目标问题的方案之效果的、经过整理的信息。另一个可选用的术语是“监测”和“审计”。监督是一个公共卫生措施的完整的组成部分——事实上，它是方案的眼睛。它是一个进行中的活动，目的在于确认该方案的缺点以便改正这些缺点并确定该方案的目标方向。

9.2 血红蛋白病筛查的监督——基本原理

血红蛋白病携带者人群筛查的实施取决于公共卫生当局对地贫和/或镰状细胞病这一公共卫生问题的认可，对计划的承诺、协调和监督。

携带者筛查是一个复杂的行动，在地方或全国层面均包括四个主要的组成部分。

- (1) 对专业人员和社区的进行性教育。
- (2) 通过例行的血液学实验室以认可的标准和质控进行携带者筛查。
- (3) 遗传咨询，包括风险估计在内的。这需要由地方提供并融合到例行的医疗服务中去，对夫妇双方均带有血红蛋白变异的风险估计是复杂的事，需要专业的 DNA 实验室的全力支持。
- (4) 产前诊断的可行性，这包括产科医生和专业 DNA 实验室的合作。

公共卫生当局为持续进行的筛查方案的监督提供资源是必要的。接下来的问题是，对这样一个复杂的系统进行全面监督的最有效的方法是什么？虽然每一个组成部分都需要其本身的教育方案、服务标准和质量控制方法，全面监督需要能够确认整个方案在地方水平和全国水平的完整运作的方法。

监督的一个关键的需要是对我们所讨论的疾病的流行病学有一个很好的理解（见第二章）。

当 WHO 工作组首次被问及如何衡量一个携带者筛查方案的效果时，工作组指出，一个方案一旦开始运作，患儿的出生只能是父母知情选择的结果，是父母风险测定的失败，或者是父母对风险并不知情。因此工作组推荐了两个监督行动：(a) 观察患儿出生的流行病学资料；(b) 新患儿的出生代表父母对选择方案有抵触，是失败的，检查这种情况的范围^[1]。实际上，这个建议表达了一种建立和保持患者登记及产前诊断的需要，以及检查新患儿出生的周围环境的需要。

患者登记和产前诊断是密切相关的，因为它们涉及高遗传风险家庭中同一人群的个别成员。虽然它们收集数据的方法有相当大的区别，但整体数据提供了一个唯一的全国“诊断登记”，可用来确认：

- 携带者诊断和风险估计的完整性、时效性和准确性；
- 产前诊断的安全性、时效性和准确性；
- 提供给风险夫妇的知情选择范围；
- 方案对于风险夫妇的生育期总的影响；

本章的其余部分讨论保留这些登记表及从登记表可获得的信息的具体事务。

9.3 产前诊断登记

产前诊断登记是建立在实验室基础之上的。血红蛋白病的产前诊断目前基本依赖于 DNA 检测。作为临床分子遗传学实验室的保留良好的记录在每个国家都相当少。原则上，一个全国性的登记在编写上是相当简单的。但是它必需：(a) 包括所有产前诊断的实验室，无论是公立的还是私人行业或合作性质的；(b) 所有产前诊断后的妊娠结果的后续工作；(c) 一个具体的实验室或个人有责任定期收集数据并上报。这些行为应该由卫生当局成文、授权并拨款。

产前诊断登记需要的数据

下面是最低限度的数据组。所有需要的数据都应包括在实验室记录中，无论是记录纸或电子版式。

- 实验室职责；
- 母亲所独有的鉴定号码、出生日期、民族和居住地区；
- 胎儿的风险状况；
- 胎儿取样的妊娠期、产科取样的方法和数据；
- 实验室使用的诊断方法；
- 胎儿的诊断和数据；
- 妊娠的结局及日期；
- 产前诊断的确定，在有地贫风险的新生儿，需要进行 DNA 分析，在 6 个月时或 6 个月后又进行血红蛋白分析即可。

总体数据可以作为全国水平和地方水平的服务质量的下列指针。这些数据每年或每两年收集和报道一次，最好是在全国性会议上报道。

- 风险检测和转诊的及时性（取样的孕周）
- 产科操作的安全性（取样后流产率）
- 实验室诊断的准确性（主要评价实施产前诊断后患胎出生的数目）
- 误诊的原因（例如没有转诊、母体组织的污染、缺乏父亲标本）^[2]
- 由于产前诊断导致的患胎出生数潜在地降低（可将登记数据与流行病学数据相比较而得知）

产前诊断登记仅在确实实施了产前诊断的前提下评价服务质量。而未做产前诊断的风险夫妇，风险检测的及时性和准确性的信息无法给出。这是将产前诊断和患者登记合并在一起的众多原因之一。

9.4 患者登记

坚持患者登记比产前诊断登记要困难得多，因为前者需要治疗患者的所有临床诊所的通力合作，这项工作很难完成，尤其在那些病人分散于各个治疗中心的大国。为了获得成功，应该建立一个双向系统，该系统能帮助参与的医生提供尽可能好的关心——例如：通过送交定期的报告、治疗方案和患者信息资料。患者登记需要一个团队的支持，这个团队包括 (i) 一个有奉献精神的数据管理者，他熟悉参与治疗的医生、可以通过电话和/或访问以有助于获得所需要的资料；(ii) 适当的支持和专业的临床指导，所需要的内容总结于参考文献 3 中。

患者登记有两个主要的作用：(a) 评价患者保健的质量，包括提出有关严重的临床问题的早期警告（例如，通过对存活与死亡病例原因的研究）(b) 评估携带者筛查和遗传咨询的

质量，通过观察患儿出生的数量，知情父母选择的相关作用的鉴定及在这些生育行为中方案的失败。

监测患胎出生的流行病学资料

这需要每年经诊断的患儿数的可靠数据，下面列出所需要的最低限度的数据。最后两项是评价方案对于地区性或民族性的效果之差异所需要的。

- 治疗中心
- 患者的身份证号码及出生日期
- 民族起源
- 居住地区

申请患者总体数据的最好的例子是由 WHO 协作提供，他们的最新结果总结于图 9.1。

评价知情父母选择

患者登记在每一个新患者被登记时可收集到下列数据：

- 在患儿出生之前父母知道有风险吗？（如果不知道，原因是什么？）
- 有人向他们提供产前诊断吗？（如果没有，原因是什么？）
- 提供产前诊断的孕期

当 WHO 正进行上述第一项研究时，一项在意大利、希腊和塞浦路斯进行的新生患儿状况的调查显示大多数与对潜在问题缺乏意识、医生筛查和父母知情失败有关，而不是父母拒绝产前诊断^[4]。这种方法最近在 Sicily^[5]和英国应用时得到相似的结果^[6]。

9.5 联合“诊断”登记

患者登记和产前诊断登记同时使用，可鉴别所有已知的患胎妊娠及其结局。这就提供了一个全面评估筛查方案的特效方法（见图 9.2）

到目前为止所讨论的方案评估方法是基于对人群中患儿出生的总数和产前诊断总数来衡量。但是，遗传学方案的目的是鉴定及通知风险家庭并为他们提供他们可获得的治疗和预防的服务。达到这一目标的程度可以通过使用母亲所独有的身份从产前诊断登记及患者登记那里获取个别的数据来评价（应该注意，当患者的生育力改善时，要求做产前诊断的携带者夫妇的数目增加了）。

到目前为止，为了评价关于夫妇生育期内回顾性风险鉴定的长期效果^[7]和评估在全国性遗传咨询非公开调查中的夫妇知情选择范围，这一方法仅在英国应用过^[6]。图 3 和图 4 总结了在伦敦大学医学院进行产前诊断的夫妇的生育结局。

9.6 应用登记进行全国性监督的例子

上述监督准则适用于所有携带者筛查已成惯例的社区。但每个国家都需要在某种程度上适合于自己的一个准则，该准则综合了地方流行病学、服务机构、经济资源、社会及文化状况。在地贫较常见且拥有一套专门为这种疾病设计的方案的人口较少的地区应用这种推荐的方法就相对简单一些。但在那些筛查和咨询必须纳入综合卫生系统以及包括了大范围的专业人士的大国来说应用这种方法就困难得多，也重要得多^[1]。在地贫已被公认为公共卫生问题的地中海沿岸国家——按人口规模从小至大为塞浦路斯^[8-9]，撒丁岛^[10]，西西里岛^[11]、希腊^[12]和意大利大陆^[13]，这方面的报告已经发表。国家越大，治疗和预防所包含的单位数目越大，报告出台也就越困难。

英国的例子

在英国的背景下，将 WHO 推荐的基本原理付诸实施的报告过程见下文。英国是一个大国（人口超过 5.6 千万）。大约 7% 的居民，13% 的人口出生于有血红蛋白病风险的少数民族群体。这个群体中每年约有 8.8 万妇女怀孕，包括 9 千左右的携带者。约有 1260 个携带者的配偶也同为携带者。导致每年孕育 314 个患胎，这些患胎中约有 84% 有镰状细胞病，同时有 16% Sub-Set（大约 50/年）有重型地贫。

英国是北欧的典型，地贫是一种罕见的病，只是散发于各种少数民族，作为北欧整个人群是没有风险的。这些社区标志着巨大的挑战——如果 WHO 推荐的方法在这样的背景下实施，那么，经过发展后这种方法将适合于几乎任何卫生系统的遗传携带者筛查的监督。此外，英国提供了令人高兴的研究环境，因为它在先天性疾病和遗传性疾病的胎儿期及新生儿期的筛查的发展中扮演了领头的角色，在这个舞台上积累了宝贵的经验，做出了引以为自豪的传统合作研究。

提供地贫产前诊断的 3 个英国实验室自从 1974 年以来，已经建立了包括每一种类型的鉴定的血红蛋白病产前诊断全国性登记。第 2 个登记——英国地贫（患者）登记——作为一个目的在于解释吸引了英国所有已知患者居民的地贫博物学的研究实际上创始于 1966 年^[14]。该研究后来作为一个包括所有从 20 世纪 50 年代开始在英国首次发现的已知患者在内的全国性的患者登记而继续下去。上述两种登记都被认为完成率超过 97%，因而可以鉴定几乎所有曾经发生在英国的孕有重型地贫的胎儿的妊娠。就象大多数为了监督的目的而保持着的登记一样，这两种登记一直由研究基金支持和无偿工作，而不是由中央卫生机构拨款。

英国的携带者筛查

人群筛查的基本概念是“旋转栅门”——一个有关的场所，在这个场所每一个社区成员都例行与卫生系统接触并接受筛查试验。这个目前正在英国用于血红蛋白病筛查的旋转栅

门，就是妊娠（为了生育风险）和分娩（为了镰状细胞病的个人风险）^[14]。

血红蛋白病的胎儿期筛查是一个包括不同团体的卫生工作者和交叉并再交叉的行政分界的复杂、多专业行为（见表 9.1）。血红蛋白病的胎儿期筛查在英国已被认为是规范的实践。然而，关于筛查的国家政策在 2001 年才建立：此政策未出台之前，超过 140 个管理着大范围不同风险人群的地方卫生当局被期待着（相当不现实）发展和实施地方政策^[14]。筛查的串联是复杂的、交叉着行政与专业的分界。事实上，从表 1 可清楚的知道，至今仅定义了诊断实验室的责任。而同时英国还有镰状细胞病和地贫的顾问组，其实他们的作用和培训还有待定义；此外，他们并非在任何情况下均提供服务。很多其他专业人员的责任也有待定义，同时培训和质量控制方案也有待建立。1998 年非公开调查的事实说明所有风险夫妇中实际上仅有一半获得知情选择，筛查的客观性反映了当时部分公共卫生当局缺乏承诺。

9.7 登记在国家审计中的运用

当产前诊断提供给英国来自地中海地区的人群时，受诊断率超过 90%^[15]，然而，在 1985 年及 1997 年两年中，从综合全国性登记的数据表明全国范围内产前诊断利用率仅有 50%^[16]，并显示大部分英籍塞浦路斯父母们的观念倾向于患胎妊娠以终止为结果，而英籍巴基斯坦坦坦大多数父母们（他们在中部及北部人数众多）则倾向于患胎以活产为结果^[6]。这在很大程度上意味着穆斯林夫妇因为宗教反对终止妊娠而拒绝产前诊断。然而，更准确的资料需要通过对新患儿周围的环境做个调查。幸运的是，英国卫生部资助了一个全国性的遗传病咨询非公开调查，由一位与血红蛋白病无关的遗传学家 Rodney Harris 教授主持，由此可见其真正客观的目的^[6]。由于情况可以通过患者登记及产前诊断登记证实，故地贫也包括在非公开调查中^[6]，这个调查的目的是审计风险的发现并提供妊娠期的地贫风险信息。

非公开调查团队回顾了 1990 年至 1994 年间 150 位孕有重型 β 地贫的妇女中的 136 位（88%）的临床记录。其结果在胎儿期风险探测和地贫咨询方面可代表全国的状况。

这些妇女的记录被评价为最低保健标准的对照。产前诊断的提供（选择的先决条件）是选择服务机构的基本指针。对一个真实的知情选择来说，风险夫妇应该在她们开始妊娠之前或在她们首次妊娠的早期接受鉴定。然而，当产前筛查成为被选择的策略时，在首次妊娠中期之前风险是很少被鉴定出来的。所以，保健的选择标准是：（a）在首次妊娠 23 周之前进行风险鉴定并提供产前诊断。（b）在所有以后的妊娠中的孕早期提供产前诊断（假定这个妇女准时就诊）。

这 136 位妇女已有了 485 次妊娠，调查发现仅有 50% 有风险夫妇在首次妊娠时接受鉴定并为了提供产前诊断而及时将风险通知了他们。在 11% 的病例中，由于风险鉴定太迟以至

不能考虑产前诊断，而根本未认识到风险的占 38%。由于风险鉴定的失败是经常发生的，目前 28% 的风险夫妇仅能通过其患儿的诊断发现他们的风险。

对 485 次妊娠中的 126 次妊娠的临床记录分析揭示了服务失败的很多原因。表 9.2 表明大部份失败反映了地方筛查策略的欠缺。

9.8 早期风险鉴定和早期产前诊断的需要

非公开调查的发现可能并不意味着如果所有的夫妇都被鉴定，知情产前诊断的应用就会增加。然而，该调查也揭示了 70% 以上的英籍巴基斯坦人在孕早期要求提供产前诊断，而在孕中期要求产前诊断的人却不到 40%，因此这个非公开调查能够发现目前很少数人群难以表达清楚他们对选择权的需要。当然，所有的妇女都对早期诊断有同样的选择机会，这个结果表明了一个使得所有风险夫妇在每一次妊娠都能获得产前诊断的大致需要。

调查的发现是明显的，携带者筛查作为常规产前保健组成部分不能满足夫妇对早期信息进行产前诊断的需要。遗传学信息和筛查应该在初级保健时提供，无论是孕前还是在刚知晓妊娠时就尽快开始^[6-17]。产前筛查应该成为一种基本的安全网而不是一种选择与方法。因此在登记基础上的审核能够评价目前的服务并指示将来的服务将如何发展。

随着非公开调查结果的公布，证明了调查非公开地进入新生患儿周围环境的合法性及重要性，一个关于知情产前选择的问题已被加进了英国地贫登记的新患者登记表格里。

作为审核结果的一部分，英国卫生服务（2000）国家计划包括了在 2004 年前对有关血红蛋白病的产前和新生儿期筛查的有关方案的承诺^[19]。

到目前为止，监督在任何国家都是由一个专人来执行，无拨款资助或作为一个研究计划。然而，结果已经显示持续进行的监督是地贫控制方案的一个必要部分。需求应该明确的制定，监督应该纳入系统中，以便它是独立的特殊单位。当程序委员会被纳入地贫控制方案时，监督的次级单位将被任命并可获得适当的资助。需求是相对适度的。

在英国经验的基础上，一个大国需要以下条件：1 个付出 1/5 时间的医生，一个全职管理者/数据管理人（他能够巡回到边远的诊断中心去收集数据），提供 1/5 时间的专门资料支持，一台办公电脑、办公室及差旅费。在每年一次或两年一次的全国性会议上报告结果。

图 9.1 在一些全国性地贫预防方案中的重型地贫出生率下降（^[12, 13, 20]和 Augastiniotis M. 个人交流）

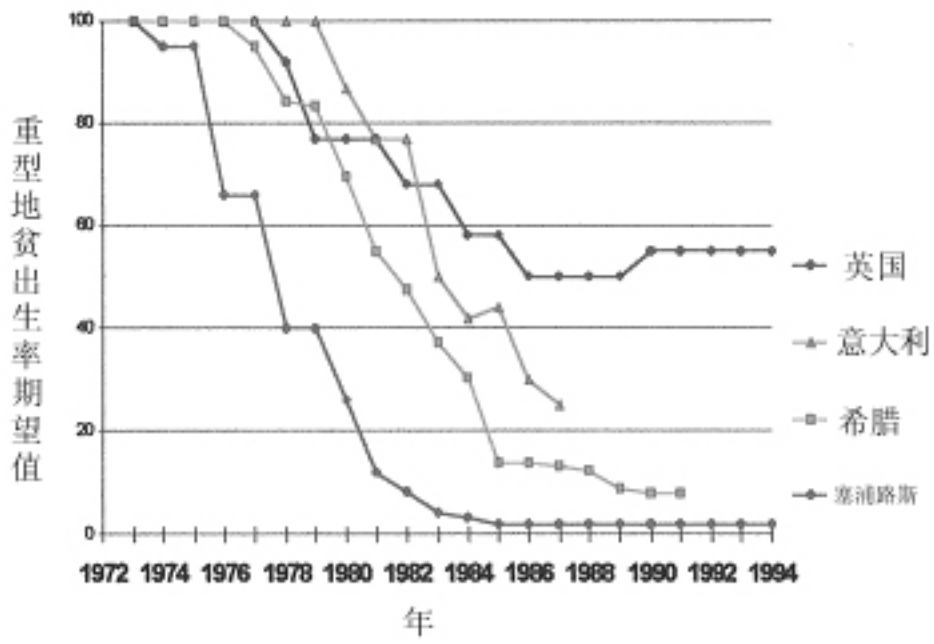
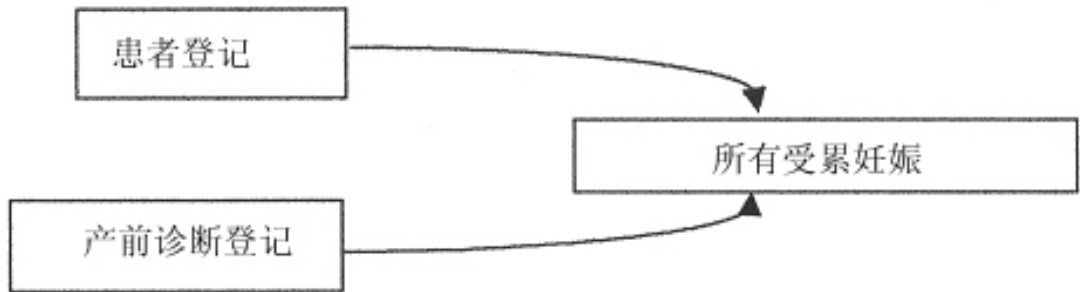


图 9.2 两种以“钳形攻势”鉴定所有已知患胎的登记及其结果
 重型地贫出生率期望值



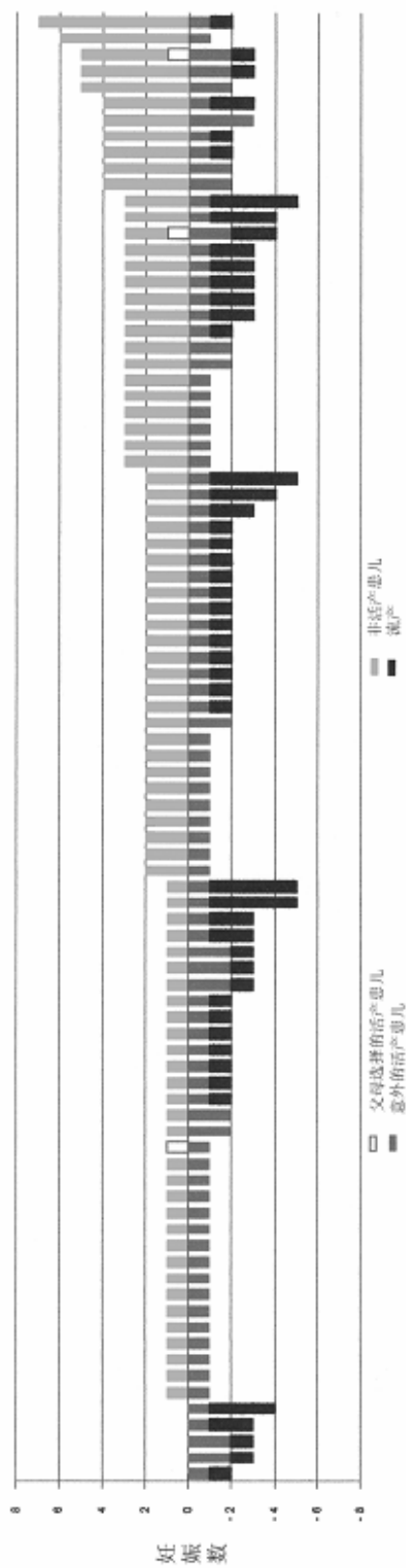


图 9.3 90 对回顾性检测即一个或多个患儿出生后 (370 次妊娠) 检测的地贫风险夫妇的妊娠结局。每一条垂直条代表一个妇女的生育史, 仅包括连续的妊娠; 包括社会性的流产、流产和其他早期的胚胎流失。令人高兴的结局位于 X 轴之上, 令人失望的结局位于 X 轴之下。所有夫妇 (经鉴定的) 都至少有一次意外的患胎活产, 5 对夫妇从未生过未受累的孩子, 5 对夫妇有 5 次令人失望的结局。

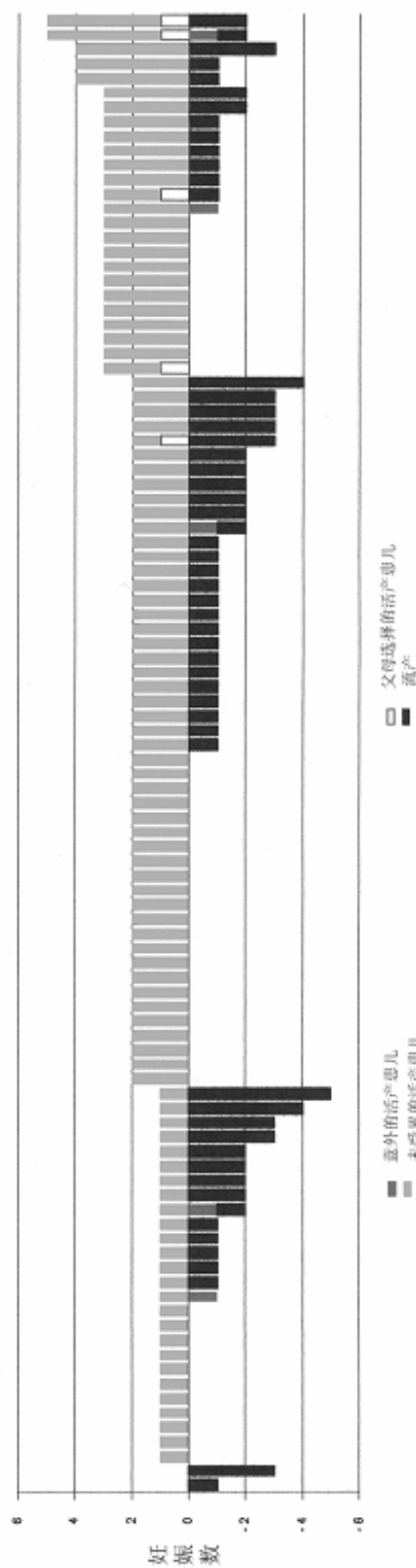


图 9.4 102 对前瞻性检测即在任何患儿出生前通过胎儿期筛查检测 (300 次连续妊娠) 地贫风险夫妇的妊娠结局, 解释如上。令人失望的结局、未受累的活产儿和父母选择的活产患儿显示于 X 轴之上, 令人失望的结局、妊娠丢失和意外的活产患儿显示于 X 轴的下方。两对特别不幸的夫妇不育, 没有孩子。

表 9.1 英国血红蛋白病胎儿期筛查的连锁

(旋转栅门=妊娠)

活动	专业人员职责
通知人群	未定义专业人员职责
提供筛查	全科医生、熟练的护士、助产士、产科医生
筛查	实验室
携带者：通知并提供	全科医生、熟练的护士、助产士、产科医生
配偶试验	镰状细胞病和地贫咨询师
检测配偶	实验室
评估配偶双方风险	血液学专家和/或分子遗传学专家
风险夫妇： 知情并提供 PGD	血红蛋白症咨询专家、血液学专家

↓
父母知情选择

血红蛋白病胎儿期筛查的步骤顺序列于左边，涉及的专家组列于右边。

表 9.2 下面的表证实大部分失败反映了地方筛查策略的欠缺

失败原因	数目	%
妇女没有筛查	35	27.8
配偶未检测	29	23.0
实验室误诊	15	11.9
过度延误	13	10.3
不能避免	10	7.9
已知风险	9	7.1
原因不明	6	4.8
失去联络	5	4.0
未咨询	4	3.2
总计	126	100

参考文献

1. WHO 1994. Guidelines for control of haemoglobin disorders. Unpublished document of the WHO. WHO/HDP/HB/GL/94.1 Obtainable free of charge from the Hereditary Diseases Programme, WHO, Geneva, Switzerland.
2. Old J., Petrou M., Varnavides L., et al: "Accuracy of prenatal diagnosis for thalassaemia in the UK: 25 years' experience". *Prenatal Diagnosis* 2000, 20:986-91
3. WHO 1985. Community approaches to the control of hereditary diseases. Report of a WHO Advisory Group on Hereditary Diseases. Geneva 3-5 October 1985. Unpublished WHO document HMG/AG/85.10.
4. WHO 1985. Update of the Progress of Haemoglobinopathies Control. Report of the Third and Fourth Annual Meetings of the WHO Working Group for the Community Control of Hereditary Anaemias. Unpublished Report of the WHO: HMG/WG/85.8. May be obtained free of charge from: The Hereditary Diseases Programme, WHO, Geneva, Switzerland.
5. Dr Aurelio Maggio personal communication
6. Modell B., Harris R., Lane B., et al: "Informed choice in genetic screening for thalassaemia during pregnancy: Audit from a national confidential enquiry". *British Medical Journal* 2000, 320:325
7. Petrou M., Modell B., Shetty S., et al: "Long-term effect of prospective detection of high genetic risk on couples' reproductive life: Data for thalassaemia". *Prenatal Diagnosis* 2000, 20:469-74
8. Angastiniotis M.A., Hadjiminias M.G.: "Prevention of thalassaemia in Cyprus". *The Lancet* 1 1981, 369-70
9. Angastiniotis M.A., Kyriakidou S., Hadjiminias M.: "How thalassaemia was controlled in Cyprus". *World Health Forum* 1986, 7:291-7
10. Cao A., Rosatelli C., Galanello R.: "Population-based genetic screening". *Current opinion in genetics and development* 1991, 1:48-53
11. Dr Aurelio Maggio, personal communication
12. Loukopoulos D.: "Current status of thalassaemia and the sickle cell syndromes in Greece". *Seminars in Hematology* 1996, 33:76-86
13. Zurlo M.G., De Stefano P., Borgna-Pignatti C., et al: "Survival and causes of death in thalassaemia major". *The Lancet* 1989, 2:27-30
14. Report of a Working Party of the Standing Medical Advisory Committee on Sickle Cell, Thalassaemia and other Haemoglobinopathies. London: Her Majesty's Stationery Office. 1994
15. Modell B., Ward R.H.T., Fairweather D.V.I.: "Effect of introducing antenatal diagnosis on the reproductive behaviour of families at risk for thalassaemia major". *British Medical Journal* 1980, 2: 73 7
16. Modell B., Petrou M., Ward R.H.T., et al: "Effect of foetal diagnostic testing on the birth-rate of thalassaemia in Britain". *The Lancet* 1985, 2:1 383-6
17. Modell B., Petrou M., Layton M., et al: "Audit of prenatal diagnosis for haemoglobin disorders in the United Kingdom: The first 20 years". *British Medical Journal* 1997, 315:779-84
18. Harris R.: "How well do we manage families with genetic problems? A national confidential enquiry into counselling for genetic disorders should tell us". *British Medical Journal* 1991, 303:1412-13
19. The NHS plan. A plan for investment, a plan for reform. Her Majesty's Stationery Office,

2000. p. 109

20. Modell B, Khan M, Darlison M, King A, Layton M, Old J, Petrou M, Varnavides L, 2001. Use of a national diagnosis register for surveillance of an inherited disorder: The example of beta thalassaemia in the United Kingdom. *Bulletin of the WHO* 79, 1006-13.

附录 I

全球流行病学数据表

导言

现有的地贫及血红蛋白病数据库通常同时提供地贫和镰状细胞病的数据,因为在大多数人群中它们是共同存在的,并能引起严重的临床症状。主要的例子是 APOGII 数据库。在本附录中我们尝试着把 β 地贫基因频率与纯合子的出生率同时估计,而后者是通过与当地可能存在的患者数目相比较得出的。

就地贫而言,每一个地区或每一个洲,都有不同的特性。

由于近年来的移民及其背景,地贫在欧洲有着重大的影响。在这些少数群体中,患者数量和年度出生率已知占了很大比例。在美洲,这种影响来自古老而混杂的族群,在缺乏调查数据的情况下计算携带者及出生率就更困难了。

中东的人群结构要固定得多,但存在着世俗的近亲结婚的重大影响。亚洲有大量的国家和具有地贫等倍基因分布各异及高频率“轻型”突变的人群。

有一些因素限制了本文所引用数据的准确性,所以应该认为这些数据在目前是现有的最可靠的估计。这些因素是:

1. 缺乏大多数人群流行病学调查基础上的人群数据。更换基因频率主要以有限样本指导下的研究为根据。通过访问顾问医师、个人交流或从其他类似的种群推算来做出估计。对一个已知人群常有矛盾的报道,例如在埃及,携带者频率已被认为是 3%左右而新的调查暗示这一数据可能是 6%。
2. 很多国家存在着未被调查的移民群体,只能从他们的来源地的频率来估计这些群体的频率。已经应用的方法学是从总的人群中的一个群体寻找这些人的数量并根据这一族群的携带率来进行计算。加拿大就是一个例子:假定移民自英国或北欧的加拿大人没有地贫;法国移民为 730 万(每年出生总数为 8.76 万),据报道携带率为 1%;亚洲移民为 196.8465 万(每年出生 2.4 万),估计携带者率为 3%左右;来自西欧的加拿大人为 137.6935 万(每年出生 1.65 万),携带率为 3%左右,使用这些 2002 年的官方数据我们可计算出加拿大每年将有 18 个新的地贫患儿出生。这种方法可用于估计那些没有携带率数据的大多数拉丁美洲国家的纯合子出生数,此方法也适用于澳洲。
3. 假定移民群体的出生率与所居留的国家的出生率一致,即使这可能不适用于第一代移民。

移民的过程一直在继续，所以每一个族群的数据将会起变化。

4. 校正血缘关系仅能在地中海东部地区进行（塞浦路斯除外）。

5. 对一些亚洲地区来说，HbE 携带者频率极高。这个数据可能有些夸张，因为纯合子及双重杂合子可以有极轻的临床表象。

尽管可以意料这个数据库不是很准确，但它指出了每一个国家存在的问题的数量。作为一个永久的数据库，它可随着新数据的补充而加以校正。

地中海东部地区

国家	人口 (X1000)	出生率 /1000	年出生数 (X1000)	%β地贫携 带者	预期纯合子 出生/年	已知纯合子
地中海东部地区						
阿富汗	22000	47	1100	3	465	
安哥拉	30755	24	746		332	
巴林	640	16	10	2	2	
塞浦路斯	788	13.3	10.5	15	59	
埃及	67800	23.3	1184	3-6.5	1974	1860
伊朗	70330	22	1600	4-10	2000	
伊拉克	22500	34	836	0-10	1340	26000
约旦	5000	33	173	2-5	120	
科威特	1900	20	40	3	18	
黎巴嫩	3500	19	69	2-5	48	
利比亚	5500	27	150	2	30	
摩洛哥	30000	25	770	1.5	87	
阿曼	2500	36	99	4.5	40	300
巴基斯坦	152500	36	5500	3	5000	
巴勒斯坦	3000	40	120	3	54	641
卡塔尔	600	17.5	10	1-3	5	
沙特阿拉伯	21000	34	744	1-5	223	282
叙利亚	16000	30	511	5	640	
突尼斯	9500	20	194	2.17	42	541
阿拉伯联合酋长国	2400	16	43	7	106	700
也门	18350	50	900	2	183	

美洲

国家	人口 (X1000)	出生率 /1000	年出生数 (X1000)	% β 地贫携 带者	预期纯合子 出生/年	已知纯合子
阿根廷	36000	20	720000	0.5-4.8	234	
巴哈马	288	20	5760		0.5	
巴巴多斯	262	14.5	3799		0.5	
巴林	224	30	6720			
玻利维亚	7774	31	240994			
巴西	95354	20	3257080	1	81	
加拿大	30300	12	363600		18	300
利智	14625	18	263250	0.5	1	
哥伦比亚	37068	24	889632			
哥斯达黎加	3575	22	78650	1	2	
古巴	11068	13	143884	0.75	2	
多米尼加	71	17	1207			
多米尼加共和国	8097	26	210522		21	
厄瓜多尔	12000	22	264000			
萨尔瓦多	6000	26	156000			
格林纳达	93	28	2600			
	40	16	640			
危地马拉	11241	35	393435			
圭亚那	850	18	15300	10	20	
海地	7400	32	273000			
洪都拉斯	6000	31	186000	0.5	1	
牙买加	2515	20	50300	1.5	3	
墨西哥	94281	25	2357025		14	
尼加拉瓜	4351	35	152285	0.75	1.5	
巴拿马	2722	22	60000	1	1	
巴拉圭	5088	32	162816			
秘鲁	24367	26	633540		4	
苏里南	437	22	9600		6	
特立尼达和多巴哥	1307	14.5	190000		12	
美国	271648	14.5	3940000	0.9	79	700
乌拉圭	3221	17	54757		10	
委内瑞拉	22777	22	501100	1	12	
澳洲						
澳大利亚	19157	14	268200		20	

欧洲

国家	人口 (X1000)	少数民族 (X1000)	出生率 /1000	年度总出生数	少数民族年度 患儿出生数	少数民族β地 贫携带者%	土著β地贫 携带者%	预期纯合 子出生/年	已知纯合子
阿尔巴尼亚	3113		21	65373			8	105	
亚美尼亚	3525		20	70500			2	7	
奥地利	8177	736	14	10300	10304	2.6		1.5	
阿塞拜疆	7700		20	154000			6	138	2000
比利时	10300		14						
	10152	914	16	162000	14620	5.8		12	
波斯尼亚	3840		15	58000			1.5	3	
保加利亚	8280		14	116000			2.4	17	
克罗地亚	4500		16	72000			0.8	14	
捷克共和国	10300		14	144000					
丹麦	5300	249	17	90000	4233	0.8		0.1	26
爱沙尼亚	1500		14	7000					
芬兰	5200	78	17	85000	1326	4.5		0.5	
法国	59000	3597	17	1000000	62000	3	0.7	28	
格鲁吉亚	5000		19	85000		3		19	
德国	82200	7366	14	1150000	103124	5		64	300
希腊	10600	159	14	150000		7	8	240	4000
匈牙利	10100		14	141000					
冰岛	300		20	6000					
爱尔兰	3700	111	20	74000	2220	3		0.5	
以色列	6100		26	159000				13.4	200
意大利	57400	884	13	750000	11500	3	4.8	450	5200
哈萨克	16300		22	360000			3	80	
	4700		30	140000			3	31	
拉脱维亚	2400		14	33500					
立陶宛	3700		14	52000					
卢森堡	430		17	7300					
马耳他	390		19	7400			3	2	
荷兰	15800	695	15	237000	10425	3.8		4	
挪威	4500	162	19	85500	3080	0.3		1	48
波兰	38750		15	580000					
葡萄牙	9900	198	14	139000	2800	0.32	4.5	1	
摩尔多瓦共和国	4400		17	75000					
罗马尼亚	22400		14	314000			1	8	
俄罗斯	147200		14	2000000					
塞尔维亚	10657		13	138500			1.2	7	
斯洛伐克	5400		14	76000					
斯洛文尼亚	2000		14	28000			0.8	6	
西班牙	40000	610	12	480000	7500	1.5	0.9	13	
瑞典	8900	534	16	142000	8500	2		1	
瑞士	7350	1396	15	110000	21000	1		0.5	
马其顿	2000		21	42000			2.9	10	
土耳其	65500		24	1570000			2.1	188	
乌克兰	50700		14	710000					
英国	58750	2121	17	1000000	36057			48	780
乌兹别克	24000		33				3	180	

亚洲

国家	人口 (X1000)	出生率 /1000	年出生数 (X1000)	少数民族 杂合子%	β 地贫携带 者%	预期纯合子 出生/年	已知纯合 子
孟加拉国	127000	25	3175000	4.4	1	2400	
不丹	2064	37	76500		4	31	
印度	998056	25	25000000		3-7	7500	65000
马尔代夫	278	39	10800		15	60	469
尼泊尔	23385	35	818400		4	327	
斯里兰卡	191443	18	344600	0.5	2.2	62	2000
中国	1273640	15	19000000	0.33	0.66	475	
朝鲜	23702	21					
韩国	46480	16					
日本	126505	10.5	1238000		0.13	0.5	
蒙古	2621	22.5					
文莱	322	25	8000		2	0.8	
柬埔寨	11000	41	450000	30	3	12250	
东帝汶							
香港	7210	12.5	93000		2.8	18	
台湾	22113	14.5	321000		1	8	
印度尼西亚	209255	23	4813000	6.2	4	12514	
老挝	5300	40	212000		35	6000	
澳门	437	12.5	5500		3	1.2	
马来西亚	21830	26	131000		3	4.5	
吗雅?	45060	28	1261680	28	1.5	196	2500
菲律宾	74454	28	209000	0.4	0.54	2	
新加坡	3522	13.5	47550		4	19	
泰国	61000	16.5	1006500	13	3-9	7250	
越南	78700	21	1650000	9	2	4125	

附录 II

β 地贫突变数据表

表 1 β 地贫突变一览表

突变分类	表现型	来源	参考文献
(I) 转录突变			
启动子调节元件			
(1)-110 C→T	β^{++} (静止型)	地中海地区人	1
(2)-92 C→T	β^+ (静止型)	地中海地区人	2-5
(3)-90 C→T	β^+		6
(4)-88 C→T	β^{++}	美国黑人、亚洲印地安人	7, 8
(5)-88 C→A	β^+		9
(6)-87 C→G	β^{++}	地中海地区人	10, 11
(7)-87 C→T	β^{++}	德国人、意大利人	11, 12
(8)-87 C→A	β^{++}	美国黑人	13
(9)-86 C→G	β^+		2, 14
(10)-86 C→A	β^{++}	意大利人	11
(11)-32 C→A	β^+	台湾人	15
(12)-31 A→G	β^+	日本人	16
(13)-31 A→C	β^+	意大利人	17
(14)-30 T→A	β^+	地中海地区	18
(15)-30 T→C	β^+	中国人	19
(16)-29 A→G	β^+	美国黑人、中国人	20, 21
(17)-28 A→C	β^+		22
(18)-28 A→G	β^+	黑人、东南亚人	20, 21, 23
(19)-27 A→T	β^+		24
5' -URT			
(20) CAP+1 A→T	β^{++} (静止型)	亚洲印地安人	25
(21) CAP+8 C→T	β^{++} (静止型)	中国人	26
(22) CAP+10 -T	β^{++} (静止型)	希腊人	27
(23) CAP+20 C→T	?	保加利亚人	1
(24) CAP+22 G→A	β^{++}	地中海地区人	28, 29
(25) CAP+33 C→G	β^{++} (静止型)	希腊塞浦路斯人	30
(26) CAP+40 — +43 (-AAAC)	β^+	中国人	31

表 1 β 地贫突变一览表 (续)

突变分类	表现型	来源	参考文献
(II) RNA 加工			
剪接点			
(1) IVS I (-2) 或 CD-30, A→G; AGG→GGG (Arg→GLY)	β^0		32
(2) IVS I (-1) 或 CD-30, G→C; AGG→ACG (Arg→Thr; HbMonroe)	β^0	地中海地区人、美国黑人、 北非人、	9, 33, 36
(3) IVS I (1) 或 CD-30, G→A; AGG→AAG (Arg→Lys)	β^0	保加利亚人	36, 37
(4) IVS I -1 G→A	β^0	地中海地区人	38
(5) IVS I -1 G→T	β^0	亚洲印地安人、东南亚人、中国人	39
(6) IVS I -2 T→G	β^0	突尼斯人	33
(7) IVS I -2 T→C	β^0	美国黑人	40
(8) IVS I -2 T→A	β^0	意大利人	41, 42
(9) IVS II -1 G→A	β^0	地中海地区人、美国黑人	43, 44
(10) IVS II -1 G→C	β^0	伊朗人	45
(11) IVS II -2 -T	β^0	中国人	26
(12) IVS I -1 (3' 端) -17bp	β^0	科威特人	46
(13) IVS I -1 (3' 端) -25bp	β^0	亚洲印地安人、	47
(14) IVS I -1 (3' 端) -44bp	β^0	地中海地区人	48
(15) IVS I -129 A→C	β^0	斯里兰卡人	49
(16) IVS I -130 G→C	β^0	意大利人、日本人、	36, 50, 51
(17) IVS I -130 G→A	β^0	埃及人	52, 53
(18) IVS I -130(+1) 或 CD 30 G→C; AGG→AGC (Arg→Ser)	β^0	中东人	36
(19) IVS II -849 A→G	β^0	美国黑人	20, 54
(20) IVS II -849 A→C	β^0	美国黑人	55
(21) IVS II -850 G→C	β^0		56
(22) IVS II -850 G→A	β^0	北欧人	57
(23) IVS II -850 G→T	β^0	日本人	58
(24) IVS II -850 -G→C	β^0	意大利人	59

表 1 β 地贫突变一览表 (续)

突变分类	表现型	来源	参考文献
共有序列剪接位点			
(25) IVS I -5 G→C	β^0	亚洲印地安人、东南亚人、地中海地区人	10, 60
(26) IVS I -5 G→T	β^+	地中海地区人、北欧人	61, 62
(27) IVS I -5 G→A	β^+	地中海地区人	63
(28) IVS I -6 T→C	β^+	地中海地区人	38, 64
(29) IVS I (-3) 或 CD 29 C→T; GGC→GGT (Gly→ <u>Gly</u> ?)	β^{++}	黎巴嫩人	65
(30) IVS I -128 T→G	β^+	沙特阿拉伯人	66
(31) IVS I -129 A→G	β^+	德国人	67
(32) IVS II -5 G→C	β^+	中国人	68
(33) IVS II -843 T→G	β^+		69
(34) IVS II -844 C→G	β^{++} (静止型)	意大利人	42, 70
(35) IVS II -848 C→A	β^+	美国黑人、埃及人、伊朗人	66, 71
(36) IVS II -848 C→G	β^+	日本人	72
内含子密码剪接位点			
(37) IVS I -110 G→A	β^+	地中海地区人	73, 74
(38) IVS I -116 T→G	β^0	地中海地区人	75
(39) IVS II -654 C→T	β^0 / β^+	中国人、东南亚人	76, 77
(40) IVS II -705 T→G	β^+	地中海地区人、日本人	78
(41) IVS II -745 C→G	β^+	地中海地区人	38
(42) IVS II -837 T→G	?	亚洲印地安人	79
外显子密码剪接位点			
(43) CD 10 GCC→GCA	β^+	亚洲印地安人	80
(44) CD 19 AAC→AGC Hb Malay (Asn→Ser)	β^{++}	东南亚人	14, 81
(45) CD 24 GGT→GGA	β^{++}	美国黑人、日本人	82, 83
(46) CD 26 GAG→AAG (Glu→Lys), HbE	β^+	东南亚人、欧洲人	84-86
(47) CD 27 GCC→TCC (Ala→Ser, Knossos)	β^+	地中海地区人	87-90

表 1 β 地贫突变一览表 (续)

突变分类	表现型	来源	参考文献
3'-UTR			
RNA 裂解: 聚腺苷酸化信号			
(48) AATAAA→AACAAA	β^{++}	美国黑人	91
(49) AATAAA→AATGAA	β^{++}	地中海地区人	92
(50) AATAAA→AATAGA	β^{++}	马来人	92
(51) AATAAA→AATAAG	β^{++}		9
(52) AATAAA→AA--AA	β^+	法国人、美国黑人	4, 93
(53) AATAAA→A-----	β^+		36, 94
其他			
(54) CD+6,C→G	β^{++} (静止型)	希腊人	95, 96
(55) CD+90,-13bp	β^+	土耳其人	97
(56) CD+47,C→G	β^{++}	美国人	98
(III) RNA 翻译			
启动密码			
(1) ATG→GTG	β^0	日本人	99
(2) ATG→AcG	β^0		100
(3) ATG→AGG	β^0	中国人	101
(4) ATG→AAG	β^0	北欧人	102
(5) ATG→ATC	β^0	日本人	58
(6) ATG→ATA	β^0	意大利人、瑞士人	103, 104
(7) ATG→ATT	β^0	伊朗人	45
无意密码			
(1) CD 6GAG→TAG, +CD 4 ACT→ACA, CD 5 CCD→TCA	β^0	意大利人	98
(2) CD 7 GAG→TAG	β^0	英国人	98
(3) CD 15 TGG→TAG	β^0	亚洲印地安人、日本人	39, 58
(4) CD 15 TGG→TGA	β^0	葡萄牙人、日本人	58, 105
(5) CD 17 AAG→TAG	β^0	中国人、日本人	58, 106
(6) CD 22 GAA→TAA	β^0	联合岛人	93
(7) CD 26 GAG→TAG	β^0	泰国人	107
(8) CD 35 TAC→TAA	β^0	泰国人	14, 108

表1 β 地贫突变一览表 (续)

突变分类	表现型	来源	参考文献
无意密码 (续)			
(9) CD 37 TGG→TGA	β^0	沙特阿拉伯人	109
(10) CD 39 CAG→TAG	β^0	地中海地区人	110-112
(11) CD 43 GAG→TAG	β^0	中国人、泰国人	113
(12) CD 61 AAG→TAG	β^0	黑人	71
(13) CD 90 GAG→TAG	β^0	日本人	114
(14) CD 112 TGT→TGA	β^0	斯洛伐克人	115
(15) CD 121 GAA→TAA	β^0	捷克斯洛伐克人	51, 116
移码			
(1)CD 1-G	β^0	地中海地区人	117
(2)CD 2-4-9bp, +31bp	β^0	安哥拉人	118
(3)CD 5-CT	β^0	地中海地区人	119
(4)CD 6-A	β^0	地中海地区人、美国黑人	120, 122
(5)CD 8-AA	β^0	地中海地区人	110, 121
(6)CD 8/9+C	β^0	亚洲印度人、日本人	39, 58
(7)CD 9/10+T	β^0	希腊人、阿拉伯人	123
(8)CD 11-T	β^0	墨西哥人	124
(9)CD 14+T	β^0	阿塞拜疆人	
(10)CD 14/15+G	β^0	中国人	125
(11)CD 15-T	β^0	马来人	126
(12)CD 15/16-T	β^0	德国人	67
(13)CD 16-C	β^0	亚洲印地安人	39
(14)CD 22-24-8bp (-AAGTTGG)	β^0	土耳其人	127
(15)CD 24-G, +CAC	β^0	埃及人	128
(16)CD 25/26+T	β^0	突尼斯人	129
(17)CD 26+T	β^0	日本人	130
(18)CD 27/26+C	β^0	中国人、泰国人	131, 132
(19)CD 28-C	β^0	埃及人	133
(20)CD 11-C	β^0	葡萄牙人	134
(21)CD 28/29-G	β^0	日本人、埃及人	58, 133
(22)CD 31-C	β^0	中国人	135
(23)CD 35-C	β^0	马来人	81
(24)CD 36/37-T	β^0	库尔德人、伊朗人	9, 45
(25)CD 37-G	β^0	库尔德人	
(26)CD 37-39-7bp (-GACCCAG)	β^0	土耳其人	136
(27)CD 38/39-C	β^0	捷克斯洛伐克人	137
(28)CD 38/39-CC	β^0	比利时人	138

表 1 β 地贫突变一览表 (续)

突变分类	表现型	来源	参考文献
移码(续)			
(29)CD 40-G	β^0	日本人	58
(30)CD 40+86bp	β^0	葡萄牙人	134
(31)CD 40/41+T	β^0	中国人	135
(32)CD 41-C	β^0	泰国人	139
(33)CD 41/42-TTCT	β^0	中国人、东南亚人、印度人	39, 140
(34)CD 42/43+T	β^0	日本人	141
(35)CD 42/43+G	β^0	日本人	58
(36)CD 44-C	β^0	库尔德人	9, 142
(37)CD 45-T	β^0	巴基斯坦人	36
(38)CD 47+A	β^0	苏里南人	143
(39)CD 47/48+ATCT	β^0	亚洲印地安人	144, 145
(40)CD 51-C	β^0	匈牙利人	146
(41)CD 53/54+G	β^0	日本人	114
(42)CD 54-T	β^0	瑞典人	147
(43)CD 54/55+A	β^0	亚洲印地安人	144
(44)CD 55-A	β^0	斯里兰卡人	49
(45)CD 56-60+14bp	β^0	伊朗人	148
(46)CD 57/58+C	β^0	亚洲印地安人	145
(47)CD 59-A	β^0	意大利人	149
(48)CD 61-63 -7bp(-GGCATVCAT)	β^0	意大利人	98
(49)CD 64-G	β^0	瑞士人	150
(50)CD 67-TG	β^0	菲律宾人	151
(51)CD 71/72+T	β^0	中国人	152
(52)CD 71/72+A	β^0	中国人	76
(53)CD 72-73-AGTGA, +T	β^0	英国人	153
(54)CD 74/75-C	β^0	土耳其人	154, 155
(55)CD 76-C	β^0	意大利人	156, 157
(56)CD 82/83-G	β^0	捷克人, 阿塞拜疆人	158, 159
(57)CD 83-86 -8bp(-CACCTTTG)	β^0	日本人	130
(58)CD 84/85+C	β^0	日本人	
(59)CD 84-86+T	β^0	日本人	58
(60)CD 88+T	β^0	亚洲印地安人	79
(61)CD 88-TG	β^0	日本人	130
(62)CD 89/90-GT	β^0	日本人	58
(63)CD 95+A	β^0	东南亚人	160, 161
(64)CD 106/107+G	β^0	美国黑人、埃及人	162, 163
(65)CD 120/121+A	β^0	菲律宾人	164

表 2 β 地贫缺失突变一览表

突变	表现型	来源	参考文献
25 bp 缺失	β^0	中东人	47
44 bp 缺失	β^0	希腊人、马其顿人	165, 166
105 bp 缺失	β^0		167
290 bp 缺失	β^0	土耳其人、保加利亚人	168, 169
532 bp 缺失	β^0	黑人	170
619 bp 缺失	β^0	亚洲印地安人	171-173
1393 bp 缺失	β^0	黑人、英国人	165, 174-177
1605 bp 缺失	β^0	克罗地亚人	178
3485 bp 缺失	β^0	泰国人	179, 180
4237 bp 缺失	β^0	捷克-斯洛伐克人	181
7.6 k 不缺失	β^0	土耳其人	182
10329 bp 缺失	β^0	印度人	183
12023 bp 缺失	β^0	澳大利亚人	184
12620 bp 缺失	β^0	荷兰人	185-187
27 kb 缺失	β^0	东南亚人	188
45 kb 缺失	β^0	菲律宾人	189, 190
67 kb 缺失	β^0	意大利人	191

表 3 显性 β 地贫突变一览表

突变	β 变异	分布	参考文献
CD 28 (CTG→CGG) Leu→Arg	Hb Chesterfield	英国人	192
CD 30/31 (+CGG)+Arg		西班牙人	193
CD 32 (CTG→CAG) Leu→Glu 顺式及 CD 98 (GTG→ATG) Val→Met, Hb 科隆	Hb Medicine lake	美籍高加索人	194
CD 32-34 (-GGT) -Val	Hb Korea	韩国人	195
CD 33-35 (-6bp) Val-Val-Try→Arg	Hb Dresden	德国人	196
CD 60 (GTG→GAG) Val-Glu	Hb Cagliari	意大利人	197
CD 94 (+TG) →156aa	Hb Agnana	南意大利人	198
CD 100 (-CT, +TCTGAGAACTT) →158aa		南非人	199
CD 108-112 (-12bp) Ans-Val-Leu-Val-Cys-Ser		瑞典人	200
CD 109 (-G) →156aa	Hb Manhattan	立陶宛人	201
CD 110 (CTG→CCG) Leu→Pro	Hb Showa- Yakushiji	日本人	202
CD 114 (CTG→CCG) Leu→Pro	Hb Durham /HbBrescia	美籍爱尔兰人、意大利人	203, 204
CD 114 (-CT, +G) →156aa	Hb Geneva	瑞籍法国人	205
CD 115 (Gcc→GAG) Ala→Asp	Hb Hradec Kralove	捷克人	206
CD 121 (GAA→TAA) Glu→Term(120aa)	一些家系	高加索人、北欧人	14, 207, 208
CD 123 (-A) →156aa	Hb Makabe	日本人	209
CD 123-125 (-ACCCACC) →135aa	HbKhon Kaen	泰国人	210
CD 124 (-A) →156aa		俄罗斯人	203
CD 124-126 (CAA) +pro		美国人	203
CD 125 (-A) →156aa		日本人	58
CD 126 (-T) →156aa	Hb Vercelli	北意大利人	42
CD 126-131 (-17bp) →132aa	Hb Westdale	特立尼达人、巴基斯坦人	211, 212
CD 127 (CAG→CCG) Glu→Pro	Hb Houston	美籍英国人	201
CD 127 (CAG→CCG) Glu→Arg	Hb Dieppe	法国人	213
CD 127 (CAG→TAG) Glu→Term (127aa)		英国人	214
CD 127/128 (-AGG) Glu→Ala-Pro	Hb Gunma	日本人	209
CD 128/129 (-4, +5, -11) →153aa		爱尔兰人	14
CD 131-132 (-GA) →138aa		瑞士人	215
CD 134-137 (-12, +6) Val-Ala-Gly-Val-Gly-Arg-		葡萄牙人	216
IVS II -2, 3 (+11, -2)		伊朗人	217
IVS II -4, 5 (-AG)		葡萄牙人	6

表 4 地中海沿岸国家 β 地贫突变相关频率 (%) 一览表

(a) 西南欧

突变	葡萄牙	西班牙	法国	英国
-90 C→T	1.2			
CD 5-CT				8.7
CD 6-A		2.9		
CD 8-AA		1.0		
CD 15 G→A	7.9			
CD 28 T→C				4.3
IVS I -1 G→A	21.0	11.5	10.5	8.7
IVS I -6 T→C	19.0	12.6	8.6	4.3
IVS I -110 C→A	11.5	16.5	25.7	4.3
IVS I -130 G→C	0.8			
CD 39 C→T	37.3	50.0	41.9	34.8
CD 41/42 -TCTT				4.3
IVS II -1 G→A			1.0	
IVS II -705 T→C		1.0		
IVS II -745 C→G		1.0	2.8	
CD 121 G→A				13.0
CD 121 G→T	0.4			
CD 121 C→T				4.3
未知 / 其他	0.4	3.9	9.5	13.0
染色体总数	252	103	105	23
参考文献	6,218,219	220,221	222	223

(b) 中欧

突变	意大利	希腊	撒丁岛	西西里	土耳其	塞浦路斯
-101 C→T	0.4	0.5			0.5	
-87 C→G	1.5	2.0		1.0	1.2	
-87 C→T	0.1					
-30 T→A					3.5	
-28 A→C					0.4	
密码子 T→C			0.1			
CD 5-CT		0.3			2.4	
CD 6-A	1.2	2.8	2.1		0.6	0.1
CD 8-AA		1.1			5.9	0.2
CD8/9+C					2.0	
CD9/10+C					0.1	
CD15 G→A					0.2	
CD27 G→T					0.1	
CD30 G→C	0.1					
IVS I -1 G→A	10.4	13.9	<0.1	3.1	3.7	6.0
IVS I -5 G→C	0.2				1.0	
IVS I -5 G→T					0.5	
IVS I -5 G→A	0.1				0.1	
IVS I -6 T→C	10.1	8.8	0.1	28.9	13.3	6.4
IVS I -110 G→A	23.5	43.1	0.5	26.8	40.6	78.4
IVS I -116 T→G					0.1	
IVS I -130 G→C	0.4				0.2	
CD 39C→T	41.0	20.9	95.7	36.1	3.8	2.5
CD 44-C	0.7					
CD 76-C	0.4		0.7	1.0		
IVS II -1G→A	3.9	2.0	<0.1		6.9	
IVS II -745 C→G	5.2	3.0	0.2	3.1	2.7	5.7
IVS II -850-G	0.1					
290bp 缺失 (-124~+167)	0.1					
未知 / 其他	0.4	1.6			10.0	1.9
染色体总数	893	642	3000	97	817	937
参考文献	59	224	117	156	53, 154, 155, 225, 226	227

(c) 东欧

突变	马其顿	克罗地亚	阿尔巴尼亚	阿塞拜疆	俄罗斯	捷克	匈牙利	保加利亚
-101 C→T			1.4					0.5
-88 C→A				0.5				
-87 C→A		2.3						
-87 C→G	1.2							2.6
-30 T→A	1.2			1.1				
28 A→C				0.5				
CAP +22 G→A				0.8				
密码子 T→C		2.3			1.6		13.8	
CD 5-CT	3.0			0.3				3.1
CD 6-A	4.2							6.2
CD 8-AA	1.2	11.4		30.4	38.7			3.6
CD 8/9+G				6.4				
CD 14+T				0.3				
CD 15G→A				1.9	6.5			
CD 16-C				0.6				
CD 22-24(-7)				0.3				
CD 29C→T	1.2			0.8				
CD 30G→C				0.8				
IVSI-1 G→T				1.3				
IVSI-1 G→A	8.9	11.4	3.2	1.9	11.3	45.2	31.0	4.1
IVSI-2 T→C					6.5			
IVSI-5 G→C			0.7	1.6				
IVSI-5 G→T				0.3				
IVSI-6 T→C	18.6	4.6	14.4	4.5	1.6	15.5	6.9	9.8
IVSI-110 G→A	47.3	27.3	41.8	11.9	6.5	5.4		27.3
IVSI-128 T→G				0.3				
CD 130 G→C					3.2			
CD 36/37 -T				1.3				
CD 37 G→A		2.3	0.7					
CD 38/39 -C						1.5		
CD 39 C→T	3.0	4.6	21.2	2.1		2.2	34.5	19.6
CD 44 -C			2.7	2.4				
CD 51 -C							3.4	
CD 82/83 -G		2.3				1.5		
CD 90 G→T				3.7				
IVS II-1 G→A	0.6	9.1	2.1	15.9	4.8	14.0	6.9	2.1
IVS II-654 C→T					1.6			
IVS II-745 C→G	3.0	4.6	0.7	0.8		4.3	3.4	8.2
IVS II-848 C→G	1.2	2.3						
IVS II-850 G→C		2.3						
CD 114 T→C					9.7			
CD 121 G→T						11.8		
CD 124 -A					1.6			
CD 125 +CCA					1.6			
PolyA (AAA→GAA)	2.4		2.1					0.5
Hb Lepore					1.6			
未知/其他	3.0	13.6	8.9	7.7	1.6	2.2		8.8
染色体总数	167	44	146	377	62	93.0	29	194
参考文献	288-233	228-233	234, 235	159, 236-238	203, 239	116	146	37, 233

(d) 北非

突变	埃及	阿尔及利亚	突尼斯
-87 C→A	0.8		
-30 T→A		0.3	2.7
-28 A→C	1.7		
CD 5-CT	1.7		1.8
CD 6- A	1.7	17.7	10.7
CD 8-AA			0.9
CD 25-26+T			0.9
CD 27G→T	0.8	0.3	
CD 30G→C			0.9
CD 30A→AG		0.7	
IVS I -1 G→A			0.9
IVS I -2 T→G			0.9
IVS I -2 T→C		2.6	
IVS I -2 T→A		1.0	
IVS I -5 G→C		0.3	
IVS I -5 G→A		0.7	0.9
IVS I -6 T→C	15.1	3.3	6.3
IVS I -110 G→A	35.3	24.9	12.5
IVS I -35 C→A		3.0	
CD 37-G	1.4		
CD 39 C→T	1.7	21.6	27.7
CD 44-C			3.6
IVS II -1G→A	3.4		
IVS II -745 C→G	5.0	0.7	4.5
IVS II -843 T→G		0.3	
IVS II -848 T→G	6.7	0.3	0.9
CD106/107+C	1.7		
未知/其他	10.9	8.8	23.2
染色体总数	119	305	112
参考文献	163, 240	241, 242	33, 129

表5 中东国家β地贫突变相关频率(%)一览表

突变	叙利亚	黎巴嫩	以色列	约旦	沙特	也门	伊朗	科威特	阿拉伯联合酋长国
-101 C→T			1.4						
-90 C→A			0.2						
-88 C→A							0.9		
-88 C→T	2.0	0.6	0.2						
-87 C→G	2.0	0.6		2.2					
-30 T→A	7.0	0.6	0.7	1.1					
-28A→C			0.6						
-31A→G				3.3					
CAP+1 A→C					1.2				
CD 5- CT	9.0	3.1	1.7	3.3					4.7
CD 6-A			0.2		4.9				
CD 8-AA		5.0	2.5				3.7	6.2	3.4
CD 8/9+G					1.2		4.6	2.7	8.5
CD 15 G→A	3.0	0.7							2.1
CD 19 A→G							0.9		
CD 27 G→T	0.7		0.2	3.3					
CD 29 C→T		5.0		1.1					
CD 30 G→C									0.9
CD 30 A→G		1.2							
IVSI-1 G→C			0.4				0.9		3.0
IVSI-1 G→A	17.0	11.8	5.5				3.7	6.2	
IVSI-5 G→C		3.1		5.5	14.8		7.4	15.9	56.6
IVSI-5 G→A			1.4						
IVSI-6 T→C	4.0	6.2	12.1	6.6			4.6	6.2	3.0
IVSI-110 G→A	24.0	46.6	28.7	22.0	30.9	40.0	6.5	7.1	1.3
IVSI-116 T→G	1.0								
IVSI-130 G→C	0.7								
IVSI-25 bp	0.7	0.6					3.7		4.6
CD 36/37-T			1.1				1.9	10.6	
CD 37 G									0.9
CD 37 G→A	1.0		5.5	8.8					
CD 39 C→T	6.0	1.2	11.6	2.2	14.8		5.5	16.8	
CD 41/42-TCTT									4.3
CD 44-C		1.2	9.4				3.7	0.9	0.9
IVS II-1 G→A	4.0	6.8	7.7	20.0	14.8	26.7	13.8	27.4	3.8
IVS II-654 G→T	1.0								
IVS II-745 C→GC	1.0	3.7	2.5	12.1			3.7		
IVS II-848 C→A				2.2					
CD 106/107+G			0.2						
Poly A(AAA→AAG)			6.0						
290 bp 缺失		1.9							
未知/其他	12.0	0.6	4.9	4.4	17.3	33.3	36.1		
染色体总数	164	161	446	91	81	15	108	113	235
参考文献	49	65, 243	224	245	246	246	45	36	247, 248

表 6 亚洲国家 β 地贫突变相关频率 (%) 一览表

突变	巴基斯坦	印度	斯里兰卡	孟加拉国	毛里求斯
-88 C→T	0.2	0.3			3.0
-28 A→G					
CAP+1 A→C	1.2	1.0			
CD5-CT	2.1				
CD8/9+G	24.1	12.0	2.0	10.0	4.0
CD15G→A	3.3	0.7	1.0	10.0	4.0
CD15-T			1.0		
CD16-C	1.8	0.5	1.0		
CD30G→C	2.3	1.0	1.0		4.0
CD30A→G	0.5				
IVS I -1 G→T	10.4	23.0			
IVS I -1 G→A	0.5		27.0		
IVS I -5 G→C	32.4	30.0	56.0	60.0	83.0
IVS I -129 A→C			0.2		
IVS I -130 G→C			1.0		
IVS I -130 G→A			0.7		
CD39C→T	0.1				
CD41/42-TCTT	6.3	7.0	2.0	20.0	3.0
CD44-C					
CD47/48+4	0.4	0.7			
CD55-A			0.2		
IVS II -1 G→A	0.6				
PolyA (AAT→AAC)			0.8		
619 bp 缺失	13.1	20.0	0.2		
未知/其他	0.7	4.0	7.0		
染色体总数	2490	674	560	10	55
参考文献	212, 249-251	8173	49	249	49

表7 东南亚国家β地贫突变相关频率(%)一览表 (续)

突变	缅甸	泰国	马来西亚		新加坡		印度尼西亚	中国	日本	韩国
			马来人	中国人	马来人	中国人				
CD40-C									0.4	
CD41-C										
CD41/42-TCTT	42.3	38.2	53.5	2.0	5.0	45			7.3	5.6
CD42/43+T									0.4	
CD42/43+G									0.4	
CD43G→T	0.4	0.3				1.0				
CD53/54+G									0.8	
CD71/72+A	5.8	0.3								
CD84/85+C									1.2	
CD84-86+T									2.3	
CD89/90-GT										38.9
CD90G→T									16.8	
IVS II -1 G→T									11.1	5.6
IVS II -654C→T	12.1	39.2	19.7	14.0	3.2	32.4	6.0	4.1	14.6	
IVS II -848C→G									0.8	
IVS II -850 G→A									0.8	
IVS II -850 G→T									0.4	
CD110T→C									1.2	
CD121G→T										5.6
CD123-A									0.4	
CD123-125(-8)										
CD125-A									0.4	
CD127/128(-3)									4.2	
PolyA(AAA→AGA)						6.5		1.0		
未知/其他				8.0	12.9		3.8	5.1		
染色体总数	710	301	71	50	31	102	533	98	261	18
参考文献	252	14, 253- 255	256		257	257	258	259 -264	58, 83	58

附录 III

α 地贫突变数据表 频率和分布

表 1 α 地贫缺失一览表

突变	表现型	来源	参考文献
一个 α 基因缺失			
$-\alpha^{4.2}$	α^+	世界各地	265
$-\alpha^{3.7}$	α^+	世界各地	265
$-\alpha^{2.7}$	α^+	中国人	266
$-\alpha^{3.5}$	α^+	印度人	267
$-\alpha^{18}$	α^+	波兰人	268
两个 α 基因缺失			
--SEA	α^0	东南亚人	269
--THAL	α^0	泰国人	270
--FIL	α^0	菲律宾人	270
--MED I	α^0	地中海人	269
--MED II	α^0	地中海人	271
--(α) ^{20.5}	α^0	地中海人	272
--SA	α^0	印度人	273
--(α) ^{5.2}	α^0	希腊人、意大利人	269
--GEO	α^0	黑人	274
--SPAN	α^0	西班牙人	275
--MA	α^0	西班牙人	48
--BRIT	α^0	英国人	276
--CI	α^0	西班牙人	277
--CAL	α^0	西班牙人、意大利人	278
--115	α^0	黑人	279
--RT	α^0	英国人	280
--YEM	α^0	也门人	281
--MC	α^0	英国人	282
--CANT	α^0	西班牙人	283
基因座位控制区缺失 (包括整个 α 基因)			
(α α) RA	α^0	未知	284
(α α) TI	α^0	未知	285
(α α) II	α^0	未知	286
(α α) CMO	α^0	未知	287
(α α) TAT	α^0	未知	287
(α α) MB	α^0	未知	288
(α α) IC	α^0	未知	287
(α α) IDF	α^0	未知	287

表 2 α 地贫非缺失突变一览表

突变	表现型	来源	参考文献
(1) RNA 加工突变			
(A) 剪接位点突变			
$\alpha 2$ IVS1 (-5bp) 供体 (GAGGTGAGG→GAGG-----)	α^+	地中海人、中东人	289
$\alpha 2$ IVS1-116 受体 (GCAGGA→GCGGGA)	α^+	北欧人	290
$\alpha 1$ IVS1-117 受体 (GCAGGA→GCAAGA)	α^+	印度人	291
$\alpha 1$ IVS1-1 供体 (AGGT→AGAT)	α^+	泰国人	292
(B) 聚腺苷酸化信号突变			
$\alpha 2$ (AATAAA→AATAAG)	$\alpha^+-\alpha^0$	中东人、地中海人	293
$\alpha 2$ (AATAAA→AATGAA)	$\alpha^+-\alpha^0$	地中海人	294
$\alpha 2$ (AATAAA→AATA--)	$\alpha^+-\alpha^0$	印度人	295
$\alpha 2$ (-16bp 升高至 CATAAA)	$\alpha^+-\alpha^0$	阿拉伯人	296
(2) RNA 翻译突变			
(A) 起始密码子突变			
$\alpha 2$ (ATG→ACG)	α^+	地中海人	297
$\alpha 2$ (ATG→A-G)	α^+	维也纳人	298
$\alpha 1$ (ATG→GTG)	α^+	地中海人	299
$\alpha^{3.7}$ (ATG→GTG)	α^0	黑人	300
$\alpha^{3.7}$ (ACCATG→--CATG)	$\alpha^+-\alpha^0$	北非人、地中海人	301
(B) 终止密码子突变			
$\alpha 2$ CD 142 (TAA→CAA) Hb Constant Spring	α^+	东南亚人	302
$\alpha 2$ CD 142 (TAA→AAA) Hb Icaria	α^+	地中海人	303
$\alpha 2$ CD 142 (TAA→TCA) Hb Koya Dora	α^+	印度人	304
$\alpha 2$ CD 142 (TAA→GAA) Hb Seal Rock	α^+	黑人	305
$\alpha 2$ CD 142 (TAA→TAT) Hb Paksebb	α^+	老挝人	123
(C) 移码突变			
$\alpha 2$ CD 39-41 (-9bp, +8bp 复制)	α^+	也门籍-犹太人	306
$-\alpha^{3.7}$ CD 30/31 (GAGAGG→GAG—G)	α^+	黑人	307
$\alpha 1$ CD 51-55 (-13bp 缺失, 停止在 CD62)	α^+	西班牙人	308

表2 α 地贫非缺失突变一览表 (续)

突变	表现型	来源	参考文献
(D) 无义突变			
$\alpha 2$ CD 116 (GAG→TAG)	α^+	黑人	309
(3) 引起翻译后不稳定性			
(A) 不稳定 α 链变异导致点突变			
$\alpha 1$ CD 14 TGG→CGG (Trp→Arg) Hb Evanston	α^+	印度人	310
$-\alpha^{3.7}$ CD 14 TGG→CGG (Trp→Arg) Hb Evanston	α^0	黑人	311
$\alpha 2$ CD 26 GCG→ACG (Ala→Thr) Hb Caserta	α^+	意大利人	312
$\alpha 2$ CD 29 CTG→CCG (Leu→Pro) Hb Agrinio	α^+	希腊人	313
$\alpha 2$ CD 59 GGC→GAC (Gly→Asp) Hb Adana	α^+	东南亚人	314
$\alpha 1$ CD 59 GGC→GAC (Gly→Asp) Hb Adana	α^+	地中海人	315
$\alpha 2$ CD 66 CTG→CCG (Leu→Pro) Hb Dartmouth	α^+	柬埔寨人	316
$\alpha 2$ CD 93 GTG→GGG (Val→Gly) Hb Bronte	α^+	意大利人	312
$\alpha 2$ CD 104 TGC→TAC (Cys→Tyr) Hb Sallanches	α^+	地中海人	317
$\alpha 2$ CD 109 CTG→CGG (Leu→Arg) Hb Suan Dok	α^+	东南亚人	318
$\alpha 2$ CD 110 GCC→GAC (Ala→Asp) Hb Petah Tikya	α^+	伊拉克籍-犹太人	319
$\alpha 2$ CD 125 CTG→CCG (Leu→Pro) Hb Quong Sze	α^+	东南亚人	320
$-\alpha^{3.7}$ CD 125 CTG→CAG (Leu→Gln)	α^0	库尔德籍-犹太人	306
$\alpha 2$ CD 129 CTG→CCG (Leu→Pro) Hb Utrecht	α^+	未知	321
$\alpha 1$ CD 129 CTG→CCG (Luo→Pro) Hb Tunis-Bizerte	α^+	北非人	322
$\alpha 2$ CD 130 GCT→CCT (Ala→Pro) Hb Sun Prairie	α^+	印度籍-巴基斯坦人	323
$\alpha 2$ CD 131 TCT→CCT (Ser→Pro) Hb Questembert	α^+	南斯拉夫人	324
$\alpha 2$ CD 136 CTG→CCG (Leu→Pro) Hb Bibba	α^+	高加索人	325
(B) 不稳定 α 链变异导致小缺失			
$\alpha 2$ CD 30 (-GAG, Glu)	α^+	东南亚人	314
$\alpha 1$ CD 38 或 39 (-ACC, Thr) Hb Taybe	α^+	阿拉伯人	326
$\alpha 1$ CD 60/61 (-AAG, Lys)	α^+	西班牙人	327
$\alpha 1$ CD 62 (-GTG, Val) Hb Aghia Spohia	α^+	希腊人	310
$\alpha 1$ CD 74 或 75 (-GAC, Asp)	α^+	墨西哥人	328
$\alpha 2$ CD 113-116 (-12bp) Hb Lleida	α^+	西班牙人	329
$\alpha 1$ CD 37 (-CCC, Pro), Hb Heraklion	α^+	希腊人	330

参考文献

1. Gonzalez-Redondo, J.M., Stoming, T.A., Kutlar, A., Kutlar, F., Lanclos, K.D., Howard, E.F., Fei, Y.J., Askoy, M., Altay, C., Gurgey, A., Basak, A.N., Efremov, G.D., Petrov, G. & Huisman, T.H.J. (1989) A C → T substitution at nt-101 in a conserved DNA sequence of the promoter region of the β globin gene in association with 'silent' β thalassemia. *Blood*, 73, 1 705-1 711.
2. Kazazian, H.H., Jr. (1990) The thalassemia syndromes: molecular basis and prenatal diagnosis in 1990. *Seminars in Hematology*, 27, 209-228.
3. Divoky, V., Baysal, E., Schiliro, G., Dibenedetto, S.P. & Huisman, T.H.J. (1993) A mild type of Hb S- β -thalassemia [-92(C→T)] in a Sicilian family. *American Journal of Hematology*, 42, 225-226.
4. Kimberland, M.L., Boehm, C.D. & Kazazian, H.H., Jr. (1995) Two novel β -thalassemia alleles: poly A signal (AATAAA → AAAA) and -92 C→T. *Human Mutation*, 5, 275-276.
5. Rosatelli, M.C., Faa, V., Meloni, A., Fiorenza, F., Galanello, R., Gasperini, D., Amendola, G. & Cao, A. (1995) A promoter mutation, C→T at position -92, leading to silent β thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 90, 483-485.
6. Faustino, P., Isorio-Almeida, L., Barbot, J., Espirito-Santo, D., Goncalves, J., Romao, L., Martins, M.C., Marques, M.M. & Lavinha, J. (1992) Novel promoter and splice junction defects add to the genetic, clinical or geographic heterogeneity of β -thalassaemia in the Portuguese population. *Human Genetics*, 89, 573-576.
7. Orkin, S.H., Antonarakis, S.E. & Kazazian, H.H.J. (1984) Base substitution at position -88 in a β -thalassemic globin gene. Further evidence for the role of distal promoter element ACACCC. *Journal of Biological Chemistry*, 259, 8679-8681.
8. Thein, S.L., Hesketh, C., Wallace, R.B. & Weatherall, D.J. (1988) The molecular basis of thalassaemia major and thalassaemia intermedia in Asian Indians: Application to prenatal diagnosis. *British Journal of Haematology*, 70, 225-232.
9. Rund, D., Cohen, T., Filon, D., Dowling, C.E., Warren, T.C., Barak, I., Rachmilewitz, E., Kazazian, H.H., Jr. & Oppenheim, A. (1991) Evolution of a genetic disease in an ethnic isolate: β -thalassemia in the Jews of Kurdistan. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 88, 310-314.
10. Treisman, R., Orkin, S.H. & Maniatis, T. (1983) Specific transcription and RNA splicing defects in five cloned β -thalassaemia genes. *Nature*, 302, 591-596.
11. Meloni, A., Rosatelli, M.C., Faa, V., Sardu, R., Saba, L., Murru, S., Sciaratta, G.V., Baldi, M. & Tannoia, N. (1992) Promoter mutations producing mild β -thalassaemia in the Italian population. *British Journal of Haematology*, 80, 222-226.
12. Kulozik, A.E., Bail, S., Kar, B.C., Serjeant, B.E. & Serjeant, G.E. (1991) Sick cell- β^+ thalassaemia in Orissa State, India. *British Journal of Haematology*, 77, 215-220.
13. Coleman, M.B., Steinberg, M.H., Harrell, A.H., Plonczynski, M.W., Walker, A.M. & Adams, J.G.I. (1992) The -87 (C→A) β^+ -thalassemia mutation in a Black family. *Hemoglobin*, 16, 399-400.
14. Thein, S.L., Winichagood, P., Hesketh, C., Fucharoen, S., Wasi, P. & Weatherall, D.J. (1990) The molecular basis of β -thalassemia in Thailand: application to prenatal diagnosis. *American Journal of Human Genetics*, 47, 369-375.
15. Lin, C.-K., Lin, J.-S. & Jiang, M.-L. (1992) Iron absorption is increased in Hemoglobin H disease. *American Journal of Hematology*, 40, 74-75.
16. Takihara, Y., Nakamura, T., Yamada, H., Takagi, Y. & Fukumaki, Y. (1986) A novel mutation in the TATA box in a Japanese patient with β^+ -thalassemia. *Blood*, 67, 547-550.

17. Huisman, T.H.J. (1997) Compound heterozygosity for Hb S and the hybrid Hbs Lepore, P-Nilotic, and Kenya; comparison of hematological and hemoglobin composition data. *Hemoglobin*, 21, 249-257.
18. Fei, Y.J., Stoming, T.A., Efremov, G.D., Efremov, D.G., Battacharia, R., Gonzalez-Redondo, J.M., Altay, C., Gurgey, A. & Huisman, T.H. (1988) Beta-thalassemia due to a T→A mutation within the ATA box. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 153, 741-747.
19. Cai, S.P., Zeng, J.Z., Doherty, M. & Kan, Y.W. (1989) A new TATA box mutation detected in prenatal diagnosis. *American Journal of Human Genetics*, 45, 112.
20. Antonarakis, S.E., Orkin, S.H., Cheng, T.-C., Scott, A.F., Sexton, J.P., Trusko, S., Charache, S. & Kazazian, H.H. (1984) β -thalassemia in American blacks: novel mutations in the TATA box and IVS-2 acceptor splice site. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81, 11 54-1158.
21. Huang, S.-Z., Wong, C., Antonarakis, S.E., Ro-Lein, T., Lo, W.H.Y. & Kazazian, H.H.J. (1986) The same TATA box β -thalassemia mutation in Chinese and U.S. blacks: another example of independent origins of mutation. *Human Genetics*, 74, 162-164.
22. Poncz, M., Ballantine, M., Solowiejczyk, D., Barak, I., Schwartz, E. & Surrey, S. (1983) β -thalassemia in a Kurdish Jew. *Journal of Biological Chemistry*, 257, 5994.
23. Orkin, S.H., Sexton, J.P., Cheng, T.C., Goff, S.C., Giardina, P.J.V., Lee, J.I. & Kazazian, H.H. (1983) TATA box transcription mutation in β -thalassemia. *Nucleic Acids Research*, 11, 4727.
24. Badens, C., Jassim, N., Martini, N., Mattei, J.F., Elion, J. & Lena-Russo, D. (1999) Characterization of a new polymorphism, IVS-1-108 (T→C), and a new β -thalassemia mutation, -27 (A→T), discovered in the course of a prenatal diagnosis. *Hemoglobin*, 23, 339-344.
25. Wong, C., Dowling, C.E., Saiki, R., Higuchi, R.G., Erlich, H.A. & Kazazian, H.H.J. (1987) Characterisation of β -thalassaemia mutations using direct genomic sequencing of amplified single copy DNA. *Nature*, 330, 384-286.
26. Ma, S.K., Chan, A.Y.Y., Ha, S.Y., Chang, G.C.F. & Chan, L.C. (1999) Two novel β -thalassemia alleles in the Chinese: IVSII-2 (-T) β -zero mutation and NT+8 (C→T) silent β -plus mutation. *Blood*, 94 (suppl. 1), 34b.
27. Athanassiadou, A., Papachatzopoulou, A., Zoumbos, N., Maniatis, G. & Gibbs, R. (1994) A novel β -thalassaemia mutation in the 5' untranslated region of the β -globin gene. *British Journal of Haematology*, 88, 307-310.
28. Oner, R., Agarwal, S., Dimovski, A.J., Efremov, G.D., Petkov, G.H., Altay, Gurgey, A. & Huisman, T.H.J. (1991) The G→A mutation at position +22 3' to the Cap site of the β -globin gene as a possible cause for a β -thalassemia. *Hemoglobin*, 15, 67-81.
29. Cai, S.-P., Eng, B., Francombe, W.H., Olivieri, N.F., Kendall, A.G., Wayne, J.S. & Chui, D.H.K. (1992) Two novel β -thalassemia mutations in the 5' and 3' noncoding regions of the β -globin gene. *Blood*, 79, 1 342-1 346.
30. Ho, P.J., Rochette, J., Fisher, C.A., Wonke, B., Jarvis, M.K., Yardumian, A. & Thein, S.L. (1996) Moderate reduction of β -globin gene transcript by a novel mutation in the 5' untranslated region: a study of its interaction with other genotypes in two families. *Blood*, 87, 11 70-1178.
31. Huang, S.-Z., Xu, Y.-H., Zeng, F.-Y., Wu, D.-F., Ren, Z.-R. & Zeng, Y.-T. (1991) A novel β -thalassaemia mutation: deletion of 4 bp (-AAAC) in the 5' transcriptional sequence. *British Journal of Haematology*, 78, 125-126.
32. Wayne, J.S., Eng, B., Patterson, M., Chui, D.H. & Fernandes, B.J. (1998) Novel beta-thalassemia

- mutation in patients of Jewish descent: β 30(B12)Arg \rightarrow Gly or IVS-1(-2) (A \rightarrow G)]. *Hemoglobin*, 22, 83-85.
33. Chibani, J., Vidaud, M., Duquesnoy, P., Berge-Lefranc, J.L., Pirastu, M., Ellouze, F., Rosa, J. & Goossens, M. (1988) The peculiar spectrum of β -thalassemia genes in Tunisia. *Human Genetics*, 78, 190-192.
 34. Gonzalez-Redondo, J.M., Stoming, T.A., Kutlar, F., Kutlar, A., Hu, H., Wilson, J.B. & Huisman, T.H.J. (1989) Hb Monroe or α 2 β 2 30 (B12) Arg \rightarrow Thr, a variant associated with [β -thalassemia due to a G \rightarrow C substitution adjacent to the donor splice site of the first intron. *Hemoglobin*, 13, 67-74.
 35. Vidaud, M., Gattoni, R., Stevenin, J., Vidaud, D., Amselem, S., Chibani, J., Rosa, J. & Goossens, M. (1989) A 5' splice-region G \rightarrow C mutation in exon 1 of the human β -globin gene inhibits pre-mRNA splicing: A mechanism for β^+ -thalassemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 86, 1041-1045.
 36. El-Kalla, S. & Mathews, A.R. (1997) A significant β -thalassemia heterogeneity in the United Arab Emirates. *Hemoglobin*, 21, 237-247.
 37. Kalaydjieva, L., Eigel, A. & Horst, J. (1989) The molecular basis of β thalassemia in Bulgaria. *Journal of Medical Genetics*, 26, 614-618.
 38. Orkin, S.H., Kazazian, H.H., Jr., Antonarakis, S.E., Goff, S.C., Boehm, C.D., Sexton, J.P., Waber, P.G. & Giardina, P.J.V. (1982) Linkage of 13-thalassaemia mutations and β -globin genopolymorphisms with DNA polymorphisms in the human β -globin gene cluster. *Nature*, 296, 627-631.
 39. Kazazian, H.H., Orkin, S.H., Antonarakis, S.E., Sexton, J.P., Boehm, C.D., Goff, S.C. & Waber, P.G. (1984) Molecular characterization of β thalassemia mutations in Asian Indians. *EMBO Journal*, 3, 593.
 40. Gonzalez-Redondo, J.M., Stoming, T.A., Kutlar, F., Kutlar, A., McKie, V.C., McKie, K.M. & Huisman, T.H.J. (1989) Severe Hb S- β^0 -thalassaemia with a T \rightarrow C substitution in the donor splice site of the first intron of the β -globin gene. *British Journal of Haematology*, 71, 11-13.
 41. Bouhass, R., Aguercif, M., Trabuchet, G. & Godet, J. (1990) A new mutation at IVS1 nt 2(T \rightarrow A), in a β -thalassemia from Algeria. *Blood*, 76, 1054.
 42. Murru, S., Loudianos, G., Deiana, M., Camaschella, C., Sciaratta, G.V., Agosti, S., Parodi, M.I., Cao, A. & Pirastu, M. (1991) Molecular characterization of β -thalassemia intermedia in patients of Italian descent and identification of three novel β -thalassemia mutations. *Blood*, 77, 1342-1347.
 43. Baird, B., Driscoll, C., Schreiner, H., Sciaratta, G.V., Sansone, G., Niazi, G., Ramierz, F. & Bank, A. (1981) A nucleotide change at a splice in the human β -globin gene is associated with β^0 -thalassemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 78, 4218-4221.
 44. Treisman, R., Proudfoot, N.J., Shander, M. & Maniatis, T. (1982) A single base change at a splice site in a β^0 -thalassemic gene causes abnormal RNA splicing. *Cell*, 29, 903.
 45. Nozari, G., Rahbar, S., Golshaiyzan, A. & Rahmanzadeh, S. (1995) Molecular analyses of β -thalassemia in Iran. *Hemoglobin*, 19, 425-431.
 46. Kazazian, H.H. & Boehm, C.D. (1988) Molecular basis and prenatal diagnosis of β -thalassemia. *Blood*, 72, 1107-1116.
 47. Orkin, S.H., Sexton, J.P., Goff, S.C. & Kazazian, H.H.J. (1983) Inactivation of an acceptor RNA splice site by a short deletion in β -thalassemia. *Journal of Biological Chemistry*, 258, 7249.
 48. Gonzalez-Redondo, J.M., Gilsanz, F. & Ricard, P. (1989) Characterization of a new α -thalassemia-1 deletion in a Spanish family. *Hemoglobin*, 13, 103-116.
 49. Old, J., Khan, S., Verma, I., Fucharoen, S., Kleanthous, M., Ioannou, P., Kotea, N., Fisher,

- C., Sheikh, R., Saxena, R., Winichagoon, P., Kyriacou, K., Quobaili, F.A. & Khan, B. (2001) A multi-centre study in order to define further the molecular basis of β -thalassemia in Thailand, Pakistan, Sri Lanka, Mauritius, Syria, and India, and to develop a simple molecular diagnostic strategy by ARMS-PCR. *Hemoglobin*, 25, In press.
50. Renda, M., Maggio, A., Warren, T.C. & Kazazian, H.H. (1992) Detection of an IVS-1 3' end (G-C) β -thalassemia mutation in the AG invariant dinucleotide of the acceptor splice site in a Sicilian subject. *Genomics*, 13, 234-235.
 51. Yamamoto, K., Yamamoto, K., Hattori, Y., Yamashiro, Y., Hoshitani, M., Morishita, M., Ohba, Y., Katahira, H., Karasawa, M., Omine, M., Narukiyo, T., Hirabayashi, K. & Miyawaki, S. (1992) Two β -thalassemia mutations in Japan: Codon 121 (GAA \rightarrow TAA) and IVS-1-130 (G \rightarrow C). *Hemoglobin*, 16, 295-302.
 52. Deidda, G., Novelletto, A., Hafez, M., Al-Tonbary, Y., Felicetti, L., Terrenato, L. & Colombo, B. (1990) A new β -thalassemia mutation produced by a single nucleotide substitution in the conserved dinucleotide sequence of the IVS-1 consensus acceptor site (AG \rightarrow AA). *Hemoglobin*, 14, 431.
 53. Oner, R., Altay, C., Aksoy, M., Kilinc, Y., Stoming, T.A., Reese, A.L., Kutlar, A., Lutlar, F. & Huisman, T.H.J. (1990) β -thalassemia in Turkey. *Hemoglobin*, 14, 1-13.
 54. Atweh, G.F., Anagnou, N.P., Forget, B.G. & Kaufman, R.E. (1985) β -thalassemia resulting from a single nucleotide substitution in an acceptor splice site. *Nucleic Acids Research*, 13, 777.
 55. Padanilam, B.J. & Huisman, T.H.J. (1986) The β -thalassemia in an American Black family is due to a single nucleotide substitution in the acceptor splice junction of the second intervening sequence. *American Journal of Hematology*, 22, 259-263.
 56. Jankovic, L., Dimovski, A.J., Sukarova, E., Juricic, D. & Efremov, G.D. (1992) A new mutation in the β -globin gene (IVS 11-850 G \rightarrow C) found in a Yugoslavian thalassemia heterozygote. *Haematologica*, 77, 119-121.
 57. Curuk, M.A., Howard, S.C., Kutlar, A. & Huisman, T.H.J. (1995) A newly discovered β^0 -thalassemia (IVS-II-850, G \rightarrow A) mutation in a North European family. *Hemoglobin*, 19, 207-211.
 58. Ohba, Y., Hattori, Y., Harano, T., Harano, K., Fukumaki, Y. & Ideguchi, H. (1997) β -thalassemia mutations in Japanese and Koreans. *Hemoglobin*, 21, 191-200.
 59. Rosatelli, M.C., Tuveri, T., Scalas, M.T., Leoni, G.B., Sardu, R., Faa, V., Meloni, A., Pischedda, M.A., Demurtas, M., Monni, G. & Cao, A. (1992) Molecular screening and fetal diagnosis of β -thalassemia in the Italian population. *Human Genetics*, 89, 585-589.
 60. Hill, A.V.S., Bowden, D.K., O'Shaughnessy, D.F., Weatherall, D.J. & Clegg, J.B. (1988) β -thalassemia in Melanesia: association with malaria and characterization of a common variant (IVS1 nt 5 G-C). *Blood*, 72, 9.
 61. Atweh, G.F., Wong, C.R., Reed, R., Antonarakis, S.E., Zhu, D., Ghosh, P.K., Maniatis, T., Forget, B.G. & Kazazian, H.H.J. (1987) A new mutation in IVS-I of the human β -globin gene causing β -thalassaemia due to abnormal splicing. *Blood*, 70, 147-151.
 62. Eigel, A., Schnee, J., Oehme, R. & Horst, J. (1989) Mutation analysis of β -thalassemia genes in a German family reveals a rare transversion in the first intron. *Human Genetics*, 81, 371-372.
 63. Lapoumeroulie, C., Pagnier, J., Bank, A., Labie, D. & Kirshnamoorthy, R. (1986) β -thalassemia due to a novel mutation in IVS-1 sequence donor site consensus sequence creating a restriction site. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 139, 709-713.
 64. Tamagnini, G.P., Lopes, M.C., Castanheira, M.E., Wainscoat, J.S. & Wood, W.G. (1983) β^+

thalassaemia - Portuguese type: clinical, haematological and molecular studies of a newly defined form of β thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 54, 189-200.

65. Chehab, F.F., Derkaloustian, V., Khouri, F.P., Deeb, S.S. & Kan, Y.W. (1987) The molecular basis of β thalassaemia in Lebanon: application to prenatal diagnosis. *Blood*, 69, 1141-1145.
66. Wong, C., Antonarakis, S.E., Goff, S.C., Orkin, S.H., Forget, B.G., Nathan, D.G., Giardina, P.J.V. & Kazazian, H.H. (1989) β -thalassaemia due to two novel nucleotide substitutions in consensus acceptor splice sequences of the β -globin gene. *Blood*, 73, 914.
67. Vetter, B., Schwarz, C., Kohne, E. & Kulozik, A.E. (1997) Beta-thalassaemia in the immigrant and non-immigrant German populations. *British Journal of Haematology*, 97, 266-272.
68. Jiang, N.H., Liang, S., Su, C., Nechtman, J.F. & Stoming, T.A. (1993) A novel [β -thalassaemia mutation [IVS-II-5 (G \rightarrow C)] in a Chinese family from Guangxi Province, P.R. China. *Hemoglobin*, 17, 563-567.
69. Beldjord, C., Lapoumeroulie, C., Pagnier, J., Benabaddji, M., Krishnamoorthy, R., Labie, D. & Bank, A. (1988) A novel beta thalassaemia gene with a single base mutation in the conserved polypyrimidine sequence at the 3' end of IVS-II. *Nucleic Acids Research*, 16, 4927-4935.
70. Rosatelli, M.C., Pischedda, A., Meloni, A., Saba, L., Pomo, A., Travi, M., Fattore, S. & Cao, A. (1994) Homozygous β -thalassaemia resulting in the β -thalassaemia carrier state phenotype. *British Journal of Haematology*, 88, 562-565.
71. Gonzales-Redondo, J.M., Stoming, T.A., Lancloes, K.D., Gu, Y.C., Kutlar, A., Nakatsuki, T., Deng, B., Han, I.S., McKie, V.C. & Huisman, T.H.J. (1988) Clinical and genetic heterogeneity in black patients with homozygous β -thalassaemia from the South-eastern United States. *Blood*, 72, 1007-1014.
72. Hattori, Y., Yamamoto, K., Yamashiro, Y., Ohba, Y., Miyamura, S., Yamamoto, K., Matsuno, Y., Morishita, M., Miyaji, T. & Era, T. (1992) Three β -thalassaemia mutations in the Japanese: IVS-II-1 (G \rightarrow A), IVS-II-848 (C \rightarrow G) and codon 90 (GAG \rightarrow TAG). *Hemoglobin*, 16, 93-97.
73. Spritz, R.A., Jagadeeswaran, P., Choudary, P.V., Biro, P.A., Elder, J.T., DeRiel, J.K., Manley, J.L., Gefter, M.L., Forget, B.G. & Weissman, S.M. (1981) Base substitution in an intervening sequence of a β^{+} -thalassaemic human globin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 78, 2455.
74. Westaway, D. & Williamson, R. (1981) An intron nucleotide sequence variant in a cloned β^{+} thalassaemia globin gene. *Nucleic Acids Research*, 9, 1 777-1 788.
75. Metherall, J.E., Collins, F.S., Pan, J., Weissman, S.M. & Forget, B.G. (1986) β^{-} -thalassaemia caused by a base substitution that creates an alternative splice acceptor site in an intron. *EMBO Journal*, 5, 2551-2557.
76. Cheng, T.-C., Orkin, S.H., Antonarakis, S.E., Potter, M.J., Sexton, J.P., Markham, A.F., Giardina, P.J.V., Li, A. & Kazazian, H.H., Jr. (1984) β -thalassaemia in Chinese: Use of in vivo RNA analysis and oligonucleotide hybridization in systematic characterization of molecular defects. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 81, 2821-2825.
77. Takihara, Y., Matsunaga, E., Nakamura, T., Lin, S.-T., Lee, H.-T., Fukumaki, Y. & Takagi, Y. (1984) One base substitution in IVS-2 causes a [β^{+} -thalassaemia phenotype in a Chinese patient. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 121,324-330.
78. Dobkin, C., Pergolizzi, R.G., Bahre, P. & Bank, A. (1983) Abnormal splice in a mutant β -globin gene not at the site of a mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 80, 1184.
79. Varawalla, N.Y., Old, J.M. & Weatherall, D.J. (1991) Rare [β -thalassaemia mutations in Asian

- Indians. *British Journal of Haematology*, 79, 640-644.
80. Pawar, A.R., Colahn, R.B. & Mohanty, D. (1997) A novel β^+ -thalassemia mutation (codon 10 GCC→GCA) and a rare transcriptional mutation (-28A →G) in Indians. *Blood*, 89, 3888-3894.
81. Yang, K.G., Kutlar, F., George, E., Wilson, J.B., Kutlar, A., Stoming, T.A., Gonzalez-Redondo, J.M. & Huisman, H.J. (1989) Molecular characterization of β -globin gene mutations in Malay patients with Hb E- β -thalassaemia and thalassaemia major. *British Journal of Haematology*, 72, 73-80.
82. Goldsmith, M.E., Humphries, R.K., Ley, T., Cline, A., Kantor, J.A. & Nienhuis, A.W. (1983) Silent substitution in β^+ -thalassemia gene activating a cryptic splice site in β -globin RNA coding sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 80, 2318.
83. Hattori, Y., Yamane, A., Yamashiro, Y., Matsumo, Y., Yamamoto, K., Yamamoto, K., Ohba, Y. & Miyaji, T. (1989) Characterisation of β -thalassemia mutations among the Japanese. *Hemoglobin*, 13, 657-670.
84. Flatz, G., Pik, C. & Sringam, S. (1965) Haemoglobin E and b-thalassaemia: their distribution in Thailand. *Annals of Human Genetics (Lond)*, 29, 151-170.
85. Fairbanks, V.F., Oliveros, R., Brandabur, J.H., Willis, R.R. & Fiester, R.F. (1980) Homozygous hemoglobin E mimics β -thalassemia minor without anemia or hemolysis: hematologic, functional, and biosynthetic studies of first North American cases. *American Journal of Hematology*, 8, 109-121.
86. Orkin, S.H., Kazazian, H.H., Antonarakis, S.E., Ostrer, H., Goff, S.C. & Sexton, J.P. (1982) Abnormal RNA processing due to the exon mutation of β E-globin gene. *Nature*, 300, 768-769.
87. Arous, N., Galacteros, F., Fessas, P., Loukopoulos, D., Blouquit, Y., Komis, G., Sellaye, M., Boussiou, M. & Rosa, J. (1983) Structural study of hemoglobin Knossos, β 27 (B9) Ala→Ser. A new abnormal hemoglobin present as a silent β -thalassemia. *FEBS Letters*, 147, 247-250.
88. Orkin, S.H., Antonarakis, S.E. & Loukopoulos, D. (1984) Abnormal processing of β Knossos RNA. *Blood*, 64, 311-313.
89. Baklouti, F., Dorleac, E., Morle, L., Laselve, P., Peyramond, D., Aubry, M., Godet, J. & Delaunay, J. (1986) Homozygous hemoglobin Knossos (α 2 β 227(B9) Ala→Ser): a new variety of β^+ thalassaemia intermedia associated with 5 β -thalassaemia. *Blood*, 67, 957-961.
90. Olds, R.J., Sura, T., Jackson, B., Wonke, B., Hoffbrand, A.V. & Thein, S.L. (1991) A novel 6 β -mutation in cis with Hb Knossos: a study of different genetic interactions in three Egyptian families. *British Journal of Haematology*, 78, 430-436.
91. Orkin, S.H., Cheng, T.-C., Antonarakis, S.E. & Kazazian, H.H. (1985) Thalassaemia due to a mutation in the cleavage-polyadenylation signal of the human β -globin gene. *EMBO Journal*, 4, 453-456.
92. Jankovic, L., Efremov, G.D., Petkov, G., Kattamis, C., George, E., Yang, K.-G., Stoming, T.A. & Huisman, T.H.J. (1990) Two novel polyadenylation mutations leading to β^+ -thalassemia. *British Journal of Haematology*, 75, 122-126.
93. Ghanem, N., Girodon, E., Vidaud, M., Martin, J., Fanen, P., Plassa, F. & Goossens, M. (1992) A comprehensive scanning method for rapid detection of β -globin gene mutations and polymorphisms. *Human Mutation*, 1, 229-239.
94. Rund, D., Dowling, C., Najjar, K., Rachmilewitz, E.A., Kazazian, H.H., Jr. & Oppenheim, A. (1992) Two mutations in the β -globin polyadenylation signal reveal extended transcripts and new RNA polyadenylation sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 89, 4324-4328.
95. Jankovic, L., Dimovski, A.J., Kollia, P., Karageorga, M., Loukopoulos, D. & Huisman, T.H.J. (1991) A C-G mutation at nt position 6' 3' to the terminating codon may be the cause of a silent β -thalassemia.

International Journal of Hematology, 54, 289-293.

96. Maragoudaki, E., Vrettou, C., Kanavakis, E., Traeger-Synodinos, J., Metaxatou-Mavromati, A. & Kattamis, C. (1998) Molecular, haematological and clinical studies of a silent β -gene C \rightarrow G mutation at 6 bp 3' to the termination codon (+1480 C \rightarrow G) in twelve Greek families. *British Journal of Haematology*, 103, 45-51.
97. Basak, A.N., Ozer, A., Kirdar, B. & Akar, N. (1993) A novel 13 bp deletion in the 3' UTR of the β -globin gene causes β -thalassemia in a Turkish patient. *Hemoglobin*, 17, 551-555.
98. Weatherall, D.J. & Clegg, J.B. (2001) *The Thalassaemia Syndrome*. (4th ed.) Blackwell Scientific, Oxford.
99. Hattori, Y., Yamashiro, Y., Ohba, Y., Miyaji, T., Morishita, M., Yamamoto, K., Yamamoto, K., Narai, S. & Kimura, A. (1991) A new β -thalassemia mutation (initiation codon ATG \rightarrow GTG) found in the Japanese population. *Hemoglobin*, 15, 317-325.
100. Jankovic, L., Efremov, G.D., Josifovska, O., Juricic, D., Stoming, T.A., Kutlar, A. & Huisman, T.H.J. (1990) An initiation codon mutation as a cause of a β -thalassemia. *Hemoglobin*, 14, 169.
101. Lam, V.M.S., Xie, S.S., Tam, J.W.O., Woo, Y.K., Gu, Y.L. & Li, A.M.C. (1990) A new single nucleotide change at the initiation codon (ATG \rightarrow AGG) identified in amplified genomic DNA of a Chinese β -thalassemic patient. *Blood*, 75, 1207-1208.
102. Waye, J.S., Eng, B., Patterson, M., Bart, R.D. & Chui, D.H. (1997) De novo mutation of the [β -globin gene initiation codon (ATG \rightarrow AAG) in a Northern European boy. *American Journal of Hematology*, 56, 179-182.
103. Saba, L., Meloni, A., Sardu, R., Travi, M., Primignani, P., Rosatelli, M.C. & Cao, A. (1992) A novel β -thalassaemia mutation (G \rightarrow A) at the initiation codon of the β -globin gene. *Human Mutation*, 1, 420-422.
104. Landin, B., Rudolph, O. & Ek, B. (1995) Initiation codon mutation (ATG \rightarrow ATA) of the [β -globin gene causing β -thalassemia in a Swedish family. *American Journal of Hematology*, 48, 158-162.
105. Ribeiro, M.L.S., Baysal, E., Kutlar, F., Tamagnini, G.P., Goncalves, P., Lopes, D. & Huisman, T.H.J. (1992) A novel β -thalassaemia mutation (codon 15, TGG \rightarrow TGA) is prevalent in a population of Central Portugal. *British Journal of Haematology*, 80, 567-568.
106. Chang, J.C. & Kan, Y.W. (1979) β -thalassemia, a nonsense mutation in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 76, 2886.
107. Fucharoen, G., Fucharoen, S., Jetsrisuparb, A. & Fukumaki, Y. (1990) Molecular basis of Hb E- β -thalassemia and the origin of Hb E in northeast Thailand' Identification of one novel mutation using amplified DNA from buffy coat specimens. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 170, 698.
108. Fucharoen, S., Fucharoen, G., Fucharoen, P. & Fukumaki, Y. (1989) A novel ochre mutation in the β -thalassemia gene of a Thai. *Journal of Biological Chemistry*, 264, 7780-7783.
109. Boehm, C.D., Dowling, C.E., Waber, P.G., Giardina, P.J.V. & Kazazian, H.H. (1986) Use of oligonucleotide hybridization in the characterization of a β -thalassaemia gene (β 37 TGG \rightarrow TGA) in a Saudi Arabian family. *Blood*, 67, 1185.
110. Orkin, S.H., Goff, S.C. & Nathan, D.G. (1981) Heterogeneity of DNA deletion in β -thalassemia. *Journal of Clinical Investigation*, 67, 878-884.
111. Trecartin, R.F., Liebhaber, S.A., Chang, J.C., Lee, Y.W. & Kan, Y.W. (1981) β -thalassemia in Sardinia is caused by a nonsense mutation. *Journal of Clinical Investigation*, 68, 1012.
112. Fiori, J.G.M. & Mach, B. (1982) A new nonsense as the molecular basis for β -thalassemia.

Journal of Molecular Biology, 154, 531-540.

113. Atweh, G.F., Brickner, H.E., Zhu, X.X., Kazazian, H.H.J. & Forget, B.G. (1988) A new amber mutation in a β -thalassaemia gene with non-measurable levels of mutant mRNA in vivo. *Journal of Clinical Investigation*, 82, 557.
114. Fucharoen, S., Katsube, T., Fucharoen, G., Sawada, H., Oishi, H., Katsuno, M., Nishimura, J., Motomura, S., Miura, Y. & Fukumaki, Y. (1990) Molecular heterogeneity of β -thalassaemia in the Japanese: identification of two novel mutations. *British Journal of Haematology*, 74, 101-107.
115. Divoky, V., Gu, L.-H., Indrak, K., Mocikova, K., Zarnovicanova, M. & Huisman, T.H.J. (1993) A new β^0 -thalassaemia nonsense mutation (codon 112, T→A) not associated with a dominant type of thalassaemia in the heterozygote. *British Journal of Haematology*, 83, 523-524.
116. Indrak, K., Brabec, V., Indrakova, J., Chrobak, L., Sakalova, A., Jarosova, M., Cermak, J., Fei, Y.-j., Kutlar, F., Gu, Y.-C., Baysal, E. & Huisman, T.H.J. (1992) Molecular characterization of β -thalassemia in Czechoslovakia. *Human Genetics*, 88, 399-404.
117. Rosatelli, M.C., Dozy, A., Faa, V., Meloni, A., Sardu, R., Saba, L., Kan, Y.W. & Cao, A. (1992) Molecular characterization of β -thalassemia in the Sardinian population. *American Journal of Human Genetics*, 50, 422-426.
118. Badens, C., Thuret, I., Michel, G., Krawczak, M., Mattel, J.-F., Lena-Russo, D., Labie, D. & Elion, J. (1996) Novel and unusual deletion-insertion thalassemic mutation in exon I of the β -globin gene. *Human Mutation*, 8, 89-92.
119. Kollia, P., Gonzalez-Redondo, J.M., Stoming, T.A., Loukopoulos, D., Politis, C. & Huisman, T.H.J. (1989) Frameshift codon 5 [FSC-5 (-CT)] thalassaemia; a novel mutation detected in a Greek patient. *Hemoglobin*, 13, 597.
120. Chang, J.C., Alberti, A. & Kan, Y.W. (1983) A β -thalassaemia lesion abolishes the same Mst II site as the sickle mutation. *Nucleic Acids Research*, 11, 7789-7794.
121. Kazazian, H.H.J., Orkin, S.H., Boehm, C.D., Sexton, J.P. & Antonarakis, S.E. (1983) β -thalassaemia due to deletion of the nucleotide which is substituted in sickle cell anemia. *American Journal of Human Genetics*, 35, 1028.
122. Filon, D., Faerman, M., Smith, P. & Oppenheim, A. (1995) Sequence analysis reveals a β -thalassaemia mutation in the DNA of skeletal remains from the archaeological sites of Akhziv, Israel. *Nature Genetics*, 9, 365-368.
123. Waye, J.S., Eng, B., Olivieri, N.F. & Chui, D.H.K. (1994) Identification of a novel β^0 -thalassaemia mutation in a Greek family and subsequent prenatal diagnosis. *Prenatal Diagnosis*, 14, 929-932.
124. Economou, E.P., Antonarakis, S.E., Dowling, C.C., Ibarra, B., de la Mora, E. & Kazazian, H.H., Jr. (1991) Molecular heterogeneity of β -thalassaemia in Mestizo Mexicans. *Genomics*, 11, 474.
125. Chan, V., Chan, T.K., Kan, Y.W. & Todd, D. (1988) A novel β -thalassaemia frameshift mutation (codon 14/15) detectable by direct visualization of abnormal restriction fragment in amplified genomic DNA. *Blood*, 72, 1420.
126. Fucharoen, S., Fucharoen, G., Ata, K., Aziz, S., Hashim, S., Hassan, K. & Fukumaki, Y. (1990) Molecular characterization and nonradioactive detection of beta-thalassaemia in Malaysia. *Acta Haematologica*, 84, 82-88.
127. Ozcelik, H., Basak, A.N., Tuzmen, S., Kirdar, B. & Akar, N. (1993) A novel deletion in a Turkish β -thalassaemia patient detected by DGGE and direct sequencing: FSC 22-24 (-7 bp). *Hemoglobin*, 17, 387-391.
128. Deidda, G., Novelletto, A., Hafez, M., El-Ziny, M., Terrenato, L. & Felicetti, L. (1991) A new

- ig-thalassaemia frameshift mutation detected by PCR after selective hybridization to immobilized oligonucleotides. *British Journal of Haematology*, 79, 90.
129. Fattoum, S., Guemira, F., Oner, C., Oner, R., Li, H.-W., Kutlar, F. & Huisman, T.H.J. (1991) β -thalassaemia, Hb S-b-Thalassaemia and sickle cell anemia among Tunisians. *Hemoglobin*, 15, 11-21.
 130. Hattori, Y., Okayama, N., Ohba, Y., Yamashiro, Y., Yamamoto, K., Yamamoto, K., Koyama, S. & Sawada, U. (1998) A new β -thalassaemia allele, codon 26 (GAG→GTAG), found in a Japanese. *Hemoglobin*, 22, 79-82.
 131. Cai, S., Chui, D.H.K., Ng, J., Poon, A.O., Freedman, M.H. & Olivieri, N.F. (1991) A new frameshift β -thalassaemia mutation (codons 27-28 +C) found in a Chinese family. *American Journal of Hematology*, 37, 6-8.
 132. Lin, L.-I., Lin, K.-S., Lin, K.-H. & Chang, H.-C. (1991) The spectrum of β -thalassaemia mutations in Taiwan: Identification of a novel frameshift mutation. *American Journal of Human Genetics*, 48, 809-812.
 133. El-Hashemite, N., Petrou, M., Khalifa, A.S., Heshmat, N.M., Rady, M.S. & Delhanty, J.D.A. (1997) Identification of novel Asian Indian and Japanese mutation causing β -thalassaemia in the Egyptian population. *Human Genetics*, 99, 271-274.
 134. Cabeda, J.M., Correia, C., Estevinho, A., Cardoso, C., Amorim, M.L., Pinho, L. & Justic, B. (1999) Unexpected pattern of β -globin mutations in β -thalassaemia patients from the North of Portugal. *British Journal of Haematology*, 105, 68-74.
 135. Ko, T.-M., Tseng, L.-H., Hsu, P.-M., Guu, I.-J., Lin, Y.-W., Li, S.-F., Lee, T.-Y. & Chuang, S.-M. (1997) Molecular characterization of β -thalassaemia in Taiwan and the identification of two new mutations. *Hemoglobin*, 21, 131-142.
 136. Schnee, J., Griese, E.V., Eigel, A. & Horst, J. (1989) β -thalassaemia gene analysis in a Turkish family reveals a 7 bp deletion in the coding region. *Blood*, 73, 2224-2225.
 137. Indrak, K., Indrakova, J., Kutlar, F., Pospisilova, D., Sulovska, I., Baysal, E. & Huisman, T.H.J. (1991) Compound heterozygosity for a β -thalassaemia (frameshift codons 38/39; -C) and a nondeletional Swiss type of HPFH (A → C at NT -110, Gy) in a Czechoslovakian family. *American Journal of Hematology*, 63, 111-115.
 138. Heusterspreute, M., Derclaye, I., Gala, J.-L., van Geet, C., Ferrant, A., Malchaire, Y., Thonnard, J., Vaerman, J.-L. & Philippe, M. (1996) Beta-thalassaemia in indigenous Belgian families: identification of a novel mutation. *Human Genetics*, 98, 77-79.
 139. Fucharoen, S., Fucharoen, G., Laosombat, V. & Fukumaki, Y. (1991) Double heterozygosity of the β -thalassaemia gene in a Thai patient. *American Journal of Hematology*, 38, 142-144.
 140. Kimura, A., Matsunaga, E., Takihara, Y., Nakamura, T. & Tagaki, Y. (1983) Structural analysis of a β -thalassaemia gene found in Taiwan. *Journal of Biological Chemistry*, 258, 2748.
 141. Oshima, K., Harano, T. & Harano, K. (1996) Japanese β -thalassaemia: Molecular characterization of a novel insertion causing a stop codon. *American Journal of Hematology*, 52, 39-41.
 142. Kinniburgh, A.J., Maquat, L.E., Schedl, T., Rachmilewitz, E. & Ross, J. (1982) mRNA-deficient β -thalassaemia resulting from a single nucleotide deletion. *Nucleic Acids Research*, 10, 5421.
 143. Codrington, J.F., Li, H.-W., Kutlar, F., Gu, L.-H., Ramachandran, M. & Huisman, T.H.J. (1990) Observations on the levels of Hb A2 in patients with different β -thalassaemia mutations and a 6 chain variant. *Blood*, 76, 1246-1249.

144. Garewal, G., Fearon, C.W., Warren, T.C., Marwaha, N., Marwaha, R.K., Mahadik, C. & Kazazian, H.H., Jr. (1994) The molecular basis of β thalassaemia in Punjabi and Maharashtran Indians includes a multilocus aetiology involving triplicated $c\sim$ -globin loci. *British Journal of Haematology*, 86, 3 72-376.
145. El-Kalla, S. & Mathews, A.R. (1995) A novel frameshift mutation causing β -thalassemia in a Sikh. *Hemoglobin*, 19, 183-189.
146. Ringelhann, B., Szelenyi, J.G., Horanyi, M., Svobodova, M., Divoky, V., Indrak, K., Hollan, S., Marosi, A., Laub, M. & Huisman, T.H.J. (1993) Molecular characterization of 13-thalassaemia in Hungary. *Human Genetics*, 92, 385-387.
147. Landin, B. & Berglund, S. (1996) A novel mutation in the b-globin gene causing β -thalassaemia in a Swedish family. *European Journal of Haematology*, 57, 182-184.
148. Ghaffari, G., Lanyon, W.G., Haghshenas, M. & Connor, J.M. (1997) Molecular characterization of eight β -thalassaemia mutations in the south of Iran (Abstr 49). *Thalassaemia*. St Paul's Bay, Malta:, 1997:
149. Meloni, A., Demurtas, M., Moi, L., Faa, V., Cao, A. & Rosatelli, M.C. (1994) A novel β -thalassemia mutation: frameshift at codon 59 detected in an Italian carrier. *Human Mutation*, 3, 309-311.
150. Chehab, F.F., Winterhalter, K.H. & Kan, Y.W. (1989) Characterization of a spontaneous mutation in β -thalassemia associated with advanced paternal age. *Blood*, 74, 852.
151. Eng, B., Chui, D.H.K., Saunderson, H., Olivieri, N.F. & Wayne, J.S. (1993) Identification of two novel $\beta\sim$ -thalassemia mutations in a Filipino family: frameshift codon 67 (-TG) and a β -globin gene deletion. *Human Mutation*, 2, 375-379.
152. Chan, V., Chan, T.K. & Todd, D. (1989) A new codon 71 (+T) mutant resulting in $\beta\sim$ -thalassemia. *Blood*, 74, 2304.
153. Wayne, J.S., Eng, B., Patterson, M., Fernandes, B.J. & Chui, D.H.K. (1997) Novel $\beta\circ$ -thalassaemia mutation (codons 72/73, -AGTGA +T) in a Canadian woman of British ancestry. *Hemoglobin*, 21, 385-387.
154. Basak, A.N., Ozcelik, H., Ozer, A., Tolun, A., Aksoy, M., Agaoglu, L., Ridolfi, F., Ulukutlu, L., Akar, N., Gurgey, A. & Kirdar, B. (1992) The molecular basis of [β -thalassemia in Turkey. *Human Genetics*, 89, 31 5-318.
155. Basak, A.N., Ozer, A., Ozcelik, H., Kirdar, B. & Gurgey, A. (1992) A novel frameshift mutation: deletion of C in codons 74/75 of the β -globin gene causes $\beta\sim$ -thalassemia in a Turkish patient. *Hemoglobin*, 16, 309-312.
156. Di Marzo, R., Dowling, C.E., Wong, C., Maggio, A. & Kazazian, H.H., Jr. (1988) The spectrum of β -thalassaemia mutations in Sicily. *British Journal of Haematology*, 69, 393-397.
157. Giambona, A., Lo-Gioco, P., Marino, M., Abate, I., di Marzo, R., Renda, M., di Trapani, F., Messina, F., Siciliano, S. & Rigano, P. (1995) The great heterogeneity of thalassaemia molecular defects in Sicily. *Human Genetics*, 95, 526-530.
158. Schwartz, E., Goltsov, A.A., Kabojev, O.K., Alexeev, A.A., Solouyev, G.Y., Surin, V.L., Lukainento, A.V., Vinogradov, S.U. & Berlin, Y.A. (1989) A novel frameshift mutation causing β -thalassemia in Azerbaijan. *Nucleic Acids Research*, 17, 3997.
159. Curuk, M.A., Yuregir, G.T., Asadov, C.D., Dadasova, T., Gu, L.-H., Baysal, E., Gu, Y.-C., Ribeiro, M.L.S. & Huisman, T.H.J. (1992) Molecular characterization of [β -thalassemia in Azerbaijan. *Human Genetics*, 90, 41 7-419.

160. Winichagoon, P., Fucharoen, S., Wilairat, P., Chihara, K., Fukumaki, Y. & Wasi, P. (1992) Identification of five rare mutations including a novel frameshift mutation causing β -thalassemia in Thai patients with $[\beta$ -thalassemia/hemoglobin E disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1139, 280-286.
161. Cai, S. & Chehab, F.F. (1996) New frameshift mutation, insertion of A, at codon 95 of the β -globin gene causes β -thalassemia in two Vietnamese families. *Human Mutation*, 8, 293-294.
162. Wong, A., Alder, V., Robertson, D., Papadimitriou, J., Maserai, J., Berdoukas, V., Kontoghiorghe, G., Taylor, E. & Baker, E. (1997) Liver iron depletion and toxicity of the iron chelator deferiprone (L1, CP20) in the guinea pig. *Biometals*, 10, 247-256.
163. Hussein, I.R., Temtamy, S.A., El-Beshlawy, A., Fearon, C., Shalaby, Z., Vassilopoulos, G. & Kazazian, H.H., Jr. (1993) Molecular characterization of β -thalassemia in Egyptians. *Human Mutation*, 2, 48-52.
164. Hopmeier, P., Krugluger, W., Gu, L.-H., Smetanina, N.S. & Huisman, T.H.J. (1996) A newly discovered frameshift at codons 120-121 (+A) of the β gene is not associated with a dominant form of β -thalassemia. *Blood*, 87, 5393-5394.
165. Gonzalez-Redondo, J.M., Kattamis, C. & Huisman, T.H.J. (1989) Characterization of three types of $[\beta$ -thalassemia resulting from a partial deletion of the β -globin gene. *Hemoglobin*, 13, 377.
166. Efremov, G.D. (1997) Personal communication,
167. Nopparatana, C., Panich, V., Saechan, V., Sriroongrueng, V., Nopparatana, C., Rungjeadpha, J., Pronpatkul, M., Laosombat, V. & Fukumaki, Y. (1995) The spectrum of $[\beta$ -thalassemia mutations in southern Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 26, 229-234.
168. Diaz-Chico, J.C., Yang, K.G., Kutlar, A., Reese, A.L., Aksoy, M. & Huisman, T.H.J. (1987) A 300 bp deletion involving part of the 5' β -globin gene region is observed in members of a Turkish family with β -thalassemia. *Blood*, 70, 583-586.
169. Aulehla-Scholz, C., Spiegelberg, R. & Horst, J. (1989) A β -thalassemia mutant caused by a 300-bp deletion in the human β -globin gene. *Human Genetics*, 81, 298-299.
170. Waye, J.S., Cai, S.-P., Eng, B., Clark, C., Adams III, J.G., Chui, D.H.K. & Steinberg, M.H. (1991) High haemoglobin A2 β -thalassaemia due to a 532 bp deletion of the 5' β -globin gene region. *Blood*, 77, 1100-1103.
171. Orkin, S.H., Old, J.M., Weatherall, D.J. & Nathan, D.G. (1979) Partial deletion of β -globin gene DNA in certain patients with β -thalassemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 76, 2400-2404.
172. Orkin, S.H., Kolodner, R., Michelson, A. & Husson, R. (1980) Cloning and direct examination of a structurally abnormal human β -thalassemia globin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 77, 3558.
173. Baysal, E., Sharma, S., Wong, S.C., Jogessar, V.B. & Huisman, T.H.J. (1994) Distribution of β -thalassemia mutations in three Asian Indian populations with distant geographical locations. *Hemoglobin*, 18, 201-209.
174. Padanilam, B.J., Felice, A.E. & Huisman, T.H.J. (1984) Partial deletion of the 5' β -globin gene region causes β -thalassemia in members of an American Black family. *Blood*, 64, 941-944.
175. Thein, S.L., Hesketh, C., Brown, K.M., Anstey, A.V. & Weatherall, D.J. (1989) Molecular characterisation of a high A2 β -thalassaemia by direct sequencing of single strand enriched amplified genomic DNA. *Blood*, 73, 924-930.
176. Anand, R., Boehm, C.D., Kazazian, H.H.J. & Vanin, E.F. (1988) Molecular characterization of a

- β o-thalassemia resulting from a 1.4 kb deletion. *Blood*, 72., 636-641.
177. Waye, J.S., Chui, D.H., Eng, B., Cai, S.P., Coleman, M.B., Adams, J.G., 3rd. & Steinberg, M.H. (1991) Hb S/[β ~]-thalassaemia due to the approximately 1.4 kb deletion is associated with a relatively mild phenotype. *American Journal of Hematology*, 38, 108-112.
178. Dimovski, A.J., Efremov, D.G., Jankovic, L., Plaseska, D., Juricic, D. & Efremov, G.D. (1993) A β ~thalassaemia due to a 1605 bp deletion of the 5' β -globin gene region. *British Journal of Haematology*, 85, 143-147.
179. Sanguansermsri, T., Pape, M., Laig, M., Hundrieser, J. & Flatz, G. (1990) β ~thalassaemia in a Thai family is caused by a 3.4 kb deletion including the entire β -globin gene. *Hemoglobin*, 14,157-168.
180. Lynch, J.R., Brown, J.M., Best, S., Jennings, M.W. & Weatherall, D.J. (1991) Characterisation of the breakpoint of a 3.5 kb deletion of the β -globin gene. *Genomics*, 10, 509-511.
181. Popovich, B.W., Rosenblatt, D.S., Kendall, A.G. & Nishioka, Y. (1986) Molecular characterization of an atypical β -thalassemia caused by a large deletion in the 5' β -globin gene region. *American Journal of Human Genetics*, 39, 797-810.
182. Oner, C., Oner, R., Gurgey, A. & Altay (1995) A new Turkish type of β -thalassaemia major with homozygosity for two non-consecutive 7.6 kb deletions of the q:[β and β genes and an intact gene. *British Journal of Haematology*, 89, 306-312.
183. Craig, J.E., Kelly, S.J., Barnetson, R. & Thein, S.L. (1992) Molecular characterisation of a novel 10.3 kb deletion causing β -thalassaemia with unusually high Hb A2. *British Journal of Haematology*, 82, 735-744.
184. Motum, P.I., Lindeman, R., Hamilton, T.J. & Trent, R.J. (1992) Australian β ~thalassaemia: a high haemoglobin A2 β o-thalassaemia due to a 12 kb deletion commencing 5' to the β -globin gene. *British Journal of Haematology*, 82, 107-113.
185. Schokker, R.C., Went, L.N. & Bok, J. (1966) A new genetic variant of beta-thalassaemia. *Nature*, 209, 44-46.
186. Gilman, J.G., Huisman, T.H.J. & Abels, J. (1984) Dutch β ~thalassaemia: a 10 kilobase DNA deletion associated with significant γ -chain production. *British Journal of Haematology*, 56, 339.
187. Gilman, J.G. (1987) The 12.6 kilobase DNA deletion in Dutch β ~thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 67, 369.
188. Dimovski, A.J., Divoky, V., Adekile, A.D., Baysal, E., Wilson, J.B., Prior, J.F., Raven, J.L. & Huisman, T.H.J. (1994) A novel deletion of ~27 kb including the β -globin gene and the locus control region 3'HS-1 regulatory sequence: β o-thalassaemia or hereditary persistence of fetal hemoglobin→ *Blood*, 83, 822-827.
189. Motum, P.I., Kearney, A., Hamilton, T.J. & Trent, R.J. (1993) Filipino β ~thalassaemia: a high Hb A2 β ~thalassaemia resulting from a large deletion of the 5' β globin gene region. *Journal of Medical Genetics*, 30, 240-244.
190. Dimovski, A.J., Baysal, E., Efremov, D.G., Prior, J.F., Ravben, J.L., Efremov, G.D. & Huisman, T.H. (1996) A large β -thalassaemia deletion in a family of Indonesian-Malay descent. *Hemoglobin*, 20,377-392.
191. Lacerra, G., De Angioletti, M., Sabato, V., Schettini, F. & Carestia, C. (1997) South-Italy beta~thalassaemia: A novel deletion, with 3' breakpoint in a hsRTVL-H element, associated with beta~thalassaemia and HPFH. 6th International Conference on Thalassaemia and the Haemoglobinopathies. Malta., 1997: Abstract 152.
192. Thein, S.L., Best, S., Sharpe, J., Paul, B., Clark, D.J. & Brown, M.J. (1991) Hemoglobin

- Chesterfield (β 28 Leu \rightarrow Arg) produces the phenotype of inclusion body β thalassemia. *Blood*, 77, 2791-2 793.
193. Arjona, S.N., Eloy-Garcia, J.M., Gu, L.H., Smetanina, N.S. & Huisman, T.H.J. (1996) The dominant β -thalassaemia in a Spanish family is due to a frameshift that introduces an extra CGG codon (= arginine) at the 5' end of the second exon. *British Journal of Haematology*, 93, 841-844.
194. Coleman, M.B., Lu, Z.-H., Smith, C.M.I., Adams, J.G.I., Harrell, A., Plonczynski, M. & Steinberg, M.H. (1995) Two missense mutations in the β -globin gene can cause severe β thalassemia. Hemoglobin Medicine Lake (β 32[B14]leucine \rightarrow glutamine \rightarrow 98 [FG5] valine \rightarrow methionine). *Journal of Clinical Investigation*, 95, 503-509.
195. Park, S.S., Barnetson, R., Kim, S.W., Weatherall, D.J. & Thein, S.L. (1991) A spontaneous deletion of β 33/34 Val in exon 2 of the β globin gene (Hb Korea) produces the phenotype of dominant β thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 78, 581-582.
196. Vetter, B., Neu-Yilik, G., Kohne, E., Arnold, R., Sinha, P., Gaedicke, G., Ivancevic, V. & Kulozik, A.E. (2000) Dominant β -thalassaemia: a highly unstable haemoglobin is caused by a novel 6 bp deletion of the β -globin gene. *British Journal of Haematology*, 108, 1 76-181.
197. Podda, A., Galanello, R., Maccioni, L., Melis, M.A., Rosatelli, C., Perseu, L. & Cao, A. (1991) Hemoglobin Cagliari (β 60 [E4] Val-Glu): a novel unstable thalassemic hemoglobinopathy. *Blood*, 77, 3 71-3 75.
198. Ristaldi, M.S., Pirastu, M., Murru, S., Casula, L., Loudianos, G., Cao, A., Sciarratta, G.V., Agosti, S., Parodi, M.I., Leone, D. & Melesendi, C. (1990) A spontaneous mutation produced a novel elongated β - globin chain structural variant (Hb Agnana) with a thalassemia-like phenotype. *Blood*, 75, 1 3 78-1 380.
199. Williamson, D., Brown, K.P., Langdown, J.V. & Baglin, T.P. (1997) Mild thalassemia intermedia resulting from a new insertion/frameshift mutation in the β -globin gene. *Hemoglobin*, 21,485-493.
200. Landin, B. & Rudolphi, O. (1996) A novel mutation in exon 3 of the β -globin gene associated with β -thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 93, 24.
201. Kazazian, H.H., Jr., Dowling, C., E., Hurwitz, R.L. & et al (1992) Dominant thalassemia-like phenotypes associated with mutations in exon 3 of the β -globin gene. *Blood*, 79, 3014-3018.
202. Kobayashi, Y., Fukumaki, Y., Komatsu, N., Ohba, Y., Miyaji, T. & Miura, Y. (1987) A novel globin structural mutant, Showa-Yakushiji (β 110 Leu-Pro) causing a β -thalassemia phenotype. *Blood*, 70, 1688-1691.
203. Curuk, M.A., Molchanova, T.P., Postnikov, Y.V., Pobedimskaya, D.D., Liang, R., Baysal, E., Kolodey, S., Smetanina, N.S., Tokarev, Y.N., Rumyantsev, A.G. & Huisman, T.H.J. (1994) β -thalassemia alleles and unstable hemoglobin types among Russian pediatric patients. *American Journal of Hematology*, 46, 329-332.
204. de Castro, C.M., Devlin, B., Fleenor, D.E., Lee, M.E. & Kaufman, R.E. (1994) A novel β -globin mutation, β Durham-NC[J3114 Leu \rightarrow Pro], produces a dominant thalassemia-like phenotype. 205. Beris, R.P., Miescher, P.A., Diaz-Chico, J.C., Han, I.-S., Kutlar, A., Hu, H., Wilson, J.B. & Huisman, T.H.J. (1988) Inclusion body β -thalassemia trait in a Swiss family is caused by an abnormal hemoglobin (Geneva) with an altered and extended β chain carboxy-terminus due to a modification in codon β 114. *Blood*, 72, 801-805.
206. Divoky, V., Svobodova, M., Indrak, K., Chrobak, L., Molchanova, T.P. & Huisman, T.H.J. (1993) Hb Hradec Kralove (Hb HK) or α 2 β 2 11 5(G1 7)Ala \rightarrow Asp, a severely unstable hemoglobin variant resulting in a dominant β -thalassemia trait in a Czech family. *Hemoglobin*, 17, 319-328.

207. Kazazian, H.H., Orkin, S.H., Boehm, C.D., Goff, S.C., Wong, C., Dowling, C.E., Newberger, P.E., Knowlton, R.G., Brown, V. & Donis-Keller, H. (1986) Characterization of a spontaneous mutation to a β -thalassemia allele. *American Journal of Human Genetics*, 38, 860-867.
208. Fei, Y.J., Stoming, T.A., Kutlar, A., Huisman, T.H.J. & Stamatoyannopoulos, G. (1989) One form of inclusion body β -thalassemia is due to a GAA \rightarrow TAA mutation at codon 121 of the β chain. *Blood*, 73, 1075-1077.
209. Fucharoen, S., Fucharoen, G., Fukumaki, Y., Nakayama, Y., Hattori, Y., Yamamoto, K. & Ohba, Y. (1990) Three-base deletion in exon 3 of the β -globin gene produced a novel variant (β Gunma) with a thalassemia-like phenotype. *Blood*, 76, 1894-1896.
210. Fucharoen, G., Fucharoen, S., Jetsrisuparb, A. & Fukumaki, Y. (1991) Eight-base deletion of the β -globin gene produced a novel variant (β Khon Kaen) with an inclusion body [β -thalassemia trait]. *Blood*, 78, 537-539.
211. Waye, J.S., Eng, B., Francombe, W.H. & Chui, D.H.K. (1995) Novel seventeen basepair deletion in exon 3 of the β -globin gene. *Human Mutation*, 6, 252-253.
212. Ahmed, S., Petrou, M. & Saleem, M. (1996) Molecular genetics of β -thalassaemia in Pakistan: a basis for prenatal diagnosis. *British Journal of Haematology*, 94, 476-482.
213. Girodon, E., Ghanem, N., Vidaud, M., Riou, J., Martin, J., Galacteros, F. & Goossens, M. (1992) Rapid molecular characterization of mutations leading to unstable hemoglobin β -chain variants. *Annals of Hematology*, 65, 188-192.
214. Hall, G.W., Franklin, I.M., Sura, T. & Thein, S.L. (1991) A novel mutation (nonsense β 127) in exon 3 of the β globin gene produces a variable thalassaemic phenotype. *British Journal of Haematology*, 79, 342-344.
215. Deutsch, S., Samii, K., Darbellay, R., Kovacsovics, T., Offord, R. & Beris, P. (1998) Nonsense mutations in exon 3 of β -globin are associated with normal β -thal mRNA production while frameshift mutations lead to a severely decreased amount of β -thal mRNA. *Blood*, 92 (Suppl. 1), 334a.
216. Oner, R., Oner, C., Wilson, J.B., Tamagnini, G.P., Ribeiro, L.M.L. & Huisman, T.H.J. (1991) Dominant [β -thalassaemia trait in a Portuguese family is caused by a deletion of (G)TGGCTGGT GT(G) and an insertion of (G)GCAG(G) in codons 134, 135, 136 and 137 of the β -globin gene. *British Journal of Haematology*, 79, 306-310.
217. Kaeda, J.S., Saary, M.J., Sauters, S.M., Vulliamy, T.J. & Luzzatto, L. (1992) Dominant β thalassaemia trait due to a novel insertion. *Proceedings of the Thalassaemia Meeting*. Nice, France., 1992:
218. Coutinho Gomes, M.P., Gomes da Costa, M.G., Braga, L.B., Cordeiro-Ferreira, N.T., Loi, A., Pirastu, M. & Cao, A. (1988) β -Thalassaemia mutations in the Portuguese population. *Human Genetics*, 78, 13-15.
219. Tamagnini, G.P., Goncalves, P., Ribeiro, M.L.S., Kaeda, J., Kutlar, F., Baysal, E. & Huisman, T.H.J. (1993) β -thalassaemia mutations in the Portuguese: high frequencies of two alleles in restricted populations. *Hemoglobin*, 17, 31-40.
220. Amselem, S., Nunes, V., Vidaud, M., Estivill, X., Wong, C., d'Auriol, L., Vidaud, D., Galibert, F., Baiget, M. & Goossens, M. (1988) Determination of the spectrum of β -thalassaemia genes in Spain by use of dot-blot analysis of amplified β -globin DNA. *American Journal of Human Genetics*, 43, 95-100.
221. Molina, M.A., Romero, M.J., Abril, E., Deigado, I., Cano, R.M., Garrido, F., de Pablos, J.M. & Garrido, M.L. (1994) Frequency of the molecular abnormalities of the β -thalassaemia in Southern Spain and

- their relationship with the hematologic phenotype. *Sangre*, 39, 253-256.
222. Milland, M., Berge-Lefrance, J.L., Lena, D. & Cartouzou, G. (1987) Oligonucleotide screening of β thalassemia mutations in the South East of France. *Hemoglobin*, 11, 31 7-327.
223. Hall, G.W., Barnetson, R.A. & Thein, S.L. (1992) Beta thalassaemia in the indigenous British population. *British Journal of Haematology*, 82, 584-588.
224. Kollia, P., Karababa, P.H., Sinopoulou, K., Voskaridou, E., Boussiou, M., Papadakis, M. & Loukopulos, D. (1992) β -thalassaemia mutations and the underlying β gene cluster haplotypes in the Greek population. *Gene Geography*, 6, 59-70.
225. Atalay, E., Cirakoglu, B., Dincolc, G., Atalay, A., Kilinc, Y., Aytekin, H., Yuregir, G.T., Arpacı, A., Bermek, E. & Aksoy, M. (1993) Regional distributions of β -thalassemia mutations in Turkey. *International Journal of Hematology*, 57, 207-211.
226. Aulehla-Scholz, C., Basaran, S., Agaoglu, L., Arcasoy, A., Holzgreve, W., Miny, P., Ridolfi, F. & Horst, J. (1990) Molecular basis of β -thalassemia in Turkey: detection of rare mutations by direct sequencing. *Human Genetics*, 84, 195-197.
227. Baysal, E., Indrak, K., Bozhurt, G., Berkalp, A., Aritkan, E., Old, J.M., Ioannou, P., Anggastiniotis, M., Drousiotou, A. & Yuergir, G.T. (1992) The 13 thalassaemia mutations in the population of Cyprus. *British Journal of Haematology*, 81,607-609.
228. Dimovski, A., Efremov, D.G., Jankovic, L., Juricic, D., Zidovski, N., Stojanovski, N., Nikolov, N., Petkov, G.T., Reese, A.L., Stoming, T.A., Efremov, G.D. & Huisman, T.H.J. (1990) β -thalassemia in Yugoslavia. *Hemoglobin*, 14, 1 5-24.
229. Efremov, G.D. (1990) Beta-, delta beta-thalassaemia and Hb Lepore among Yugoslav, Bulgarian, Turkish and Albanian. *Haematologica*, 75, 31-41.
230. Efremov, G.D. (1992) Hemoglobinopathies in Yugoslavia: an update. *Hemoglobin*, 16, 531-544.
231. Efremov, D.G. (1996) Personal communication,
232. Efremov, G.D., Juricic, D., Petkov, G.H. & Huisman, T.H.J. (1992) β -thalassemia in Yugoslavia and Bulgaria. *Hematology Reviews*, 6, 83-95.
233. Petkov, G.H., Efremov, G.D., Efremov, D.G., Dimovski, A., Tchaivarova, P., Tchaivarov, R., Rogina, B., Agarwal, S., Kutlar, A., Kutlar, F., Reese, A.L., Stoming, T.A. & Huisman, T.H.J. (1990) β -thalassemia in Bulgaria. *Hemoglobin*, 14, 25-33.
234. Boletini, E., Svobodova, M., Divoky, V., Baysal, E., Curuk, M.A., Dimovski, A.J., Liang, R., Adekile, A.D. & Huisman, T.H.J. (1994) Sick cell anemia, sickle cell β -thalassaemia, and thalassaemia major in Albania: characterization of mutations. *Human Genetics*, 93, 182-187.
235. De Angioletti, M., Lacerra, G. & Carestia, C. (1997) 6th International Conference on Thalassaemia and the Haemoglobinopathies. Malta, 1997: Abstract 148.
236. Kuliev, A.M., Rasulov, I.M.R., Dadasheva, T., Schwartz, E.I., Rosatelli, C., Saba, L., Meloni, A., Gemidjioglu, E., Petrou, M. & Modell, B. (1994) Thalassaemia in Azerbaijan. *Journal of Medical Genetics*, 31,209-212.
237. Tagiev, A.F., Surin, V.L., Gol'tsov, A.A., Lukianenko, A.V., Solovyev, G.Y., Gulieva, E.A., Plutalov, O.V., Kaboev, O.K., Mamedova, T.A., Dadasheva, T.S., Rustamov, R.S., Schwartz, E.I. & Berlin, Y.A. (1993) The spectrum of β -thalassaemia mutations in Azerbaijan. *Human Mutation*, 2, 1 52-154.
238. Tagiev, A.F., Surin, V.L., Luk'yanenko, A.V., Kulieva, E.A., Mamedova, T.A. & Solov'ev, G.Y. (1994) The spectrum of DNA haplotypes and β -thalassaemia mutations in Azerbaijan. *Genetika*, 30, 535-538.
239. Huisman, T.H.J. (1997) Personal communication,

240. Novelletto, A., Hafez, M., Deidda, G., DiRianzo, A., Felicetti, L., El-Tahan, H., El-Morsiz, kEl-Ziny, M., Al-Tombary, Y., Sittien, A. & Terrenato, L. (1990) Molecular characterization of β thalassemia mutations in Egypt. *Human Genetics*, 85, 272-274.
241. Bennani, C., Bouhass, R., Perrin-Pecontal, P., Tamouza, R., Malou, M., Eiiion, J., Trabuchet, G., Beldjord, C., Benabadi, M. & Labie, D. (1994) Anthropological approach to the heterogeneity of β -thalassemia mutations in Northern Africa. *Human Biology*, 66, 369-382.
242. Labie, D., Bennani, C. & Beldjord, C. (1990) β -thalassemia in Algeria. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 612, 43-54.
243. Zahed, L., Talhouk, R., Saleh, M., Abou-Jaoudeh, R., Fisher, C. & Old, J. (1997) The spectrum of β -thalassaemia mutations in Lebanon. *Human Heredity*, 47, 241-249.
244. Filon, D., Oron, V., Krichevski, S., Shaag, A., Shaag, Y., Warren, T.C., Goldfarb, A., Shneor, Y., Koren, A., Aker, M., Abramov, A., Rachmilewitz, E.A., Rund, D., Kazazian, H.H., Jr. & Oppenheim, A. (1994) Diversity of β -globin mutations in Israeli ethnic groups reflects recent historic events. *American Journal of Human Genetics*, 54, 836-843.
245. Sadiq, M.F.G. & Huisman, T.H.J. (1994) Molecular characterisation of β -thalassaemia in North Jordan. *Hemoglobin*, 18, 325-332.
246. El-Hazmi, M.A.F., Warsy, A.S. & Al-Swailem, A.R. (1995) The frequency of 14 β -thalassaemia mutations in the Arab population. *Hemoglobin*, 19, 353-360.
247. El-Kalla, S. & Mathews, A.R. (1993) Molecular characterization of β -thalassemia in the United Arab Emirates. *Hemoglobin*, 17, 355-362.
248. Quaife, R., Al-Gazali, L., Abbes, S., Fitzgerald, P., Fitches, A., Valler, D. & Old, J.M. (1994) The spectrum of β -thalassaemia mutations in the U.A.E. national population. *Journal of Medical Genetics*, 31, 59-61.
249. Varawalla, N.Y., Old, J.M., Sarkar, R., Venkatesan, R. & Weatherall, D.J. (1991) The spectrum of β thalassemia mutations on the Indian subcontinent: the basis for prenatal diagnosis. *British Journal of Haematology*, 78, 242-247.
250. Verma, I.C., Saxena, R., Thomas, E. & Jain, P.K. (1997) Regional distribution of β -thalassemia mutations in India. *Human Genetics*, 100, 109-113.
251. Khan, S.N. & Riazuddin, S. (1998) Molecular characterisation of β -thalassaemia in Pakistan. *Hemoglobin*, 22, 333-334.
252. Brown, J.M., Thein, S.L., Mar, K.M. & Weatherall, D.J. (1989) The spectrum of beta-thalassemia in Burma. *Hemoglobin Switching*, 161-169.
253. Fucharoen, S., Fucharoen, G., Sriroongrueng, W., Lasosombat, V., Jetsrisuparb, A., Prasatkaew, S., Tanphaichitr, V.S., Suvatte, V., Tuchinda, S. & Fukumaki, Y. (1989) Molecular basis of β -thalassemia in Thailand: analysis of β -thalassemia mutations using the polymerase chain reaction. *Human Genetics*, 84, 41-46.
254. Fukumaki, Y., Fucharoen, S., Fucharoen, G., Okamoto, N., Ichinose, M., Jetsrisuparb, A., Sriroongrueng, W., Nopparatana, C., Laosombat, V., Panich, V., Winichagoon, P., Tanphaichitr V., Suvatte, V. & Tuchina, S. (1992) Molecular heterogeneity of β -thalassemia in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 23, 14-21.
255. Laig, M., Sanguansermsri, T., Wiangnon, S., Hundrieser, J., Pape, M. & Flatz, G. (1989) The spectrum of β -thalassemia mutations in northern and northeastern Thailand. *Human Genetics* 84, 47-50.
256. George, P.M., Myles, T., Williamson, D., Higuchi, R. & Symmans, W.A. (1992) A family with

haemolytic anaemia and three β -globins: the deletion in haemoglobin Atlanta-Coventry (β^{75} Leu[?]Pro, 141 Leu deleted) is not present at the nucleotide level. *British Journal of Haematology*, 81, 93-98.

257. Fucharoen, S. & Winichagoon, P. (1997) Hemoglobinopathies in Southeast Asia: Molecular biology and clinical medicine. *Hemoglobin*, 21,299-319.
258. Lie-Injo, L.E., Cai, S.-P., Wahidijat, I., Moeslichan, S., Lim, M.L., Evangelista, L., Doherty, M. & Kan, Y.W. (1989) β -Thalassemia mutations in Indonesia and their linkage to β haplotypes. *American Journal of Human Genetics*, 45, 971-975.
259. Chan, V., Chan, T.K., Chehab, F.F. & Todd, D. (1987) Distribution of β -thalassemia mutations in South China and their association with haplotypes. *American Journal of Human Genetics*, 41,678-685.
260. Huang, S.-Z., Zhou, X.-D., Zhu, H., Ren, Z.-R. & Zeng, Y.-T. (1990) Detection of β -thalassemia mutations in the Chinese using amplified DNA from dried blood specimens. *Human Genetics*, 84,129-131.
261. Kazazian, H.H., Dowling, C.E., Waber, P.G., Huang, S. & Lo, W.H.Y. (1986) The spectrum of β thalassaemia genes in China and Southeast Asia. *Blood*, 68, 964-966.
262. Liang, R., Liang, S., Jiang, N.H., Wen, X.-J., Zhao, J.-B., Nechtman, J.F., Stoming, T.A. & Huisman, T.H.J. (1994) α and β thalassaemia among Chinese children in Guangxi Province, P.R. China: molecular and haematological characterization. *British Journal of Haematology*, 86, 351-354.
263. Liu, J.Z., Gao, Q.S., Jiang, Z., Liang, C.C., Yang, K.G., Wu, G.Y., Long, G.F., Li, Q., Zhang, J., Deng, B. & Wang, R.X. (1989) Studies of β -thalassemia mutations in families living in three provinces in Southern China. *Hemoglobin*, 13, 585-595.
264. Zhang, J.-Z., Cai, S.-P., He, X., Lin, H.-X., Lin, H.-J., Huang, Z.-G., Chehab, F.F. & Kan, Y.W. (1988) Molecular basis of β thalassaemia in South China. *Human Genetics*, 78, 37-40.
265. Embury, S.H., Miller, J.A., Dozy, A.M., Kan, Y.W., Chan, V. & Todd, D. (1980) Two different molecular organizations account for the single α -globin gene of the α -thalassaemia-2 genotype. *Journal of Clinical Investigation*, 66, 1319-1325.
266. Zhao, J.B., Zhao, L., Fei, Y.J., Liu, J.C. & Huisman, T.H. (1991) A novel α -thalassaemia-2 (-2.7-kb) observed in a Chinese patient with a Hb H disease. *American Journal of Hematology*, 3B, 248-249.
267. Kulozik, A.E., Kar, B.C., Serjeant, B.E. & Weatherall, D.J. (1988) The molecular basis of α -thalassaemia in India; its interaction with the sickle gene. *Blood*, 71,467-472.
268. Indrak, K., Gu, Y.-C., Navotny, J. & Huisman, T.H. (1993) A new α -thalassaemia-2 deletion resulting in microcytosis and hypochromia and in vitro chain imbalance in the heterozygote. *American Journal of Hematology*, 43, 144-145.
269. Pressley, L., Higgs, D.R. & Weatherall, D.J. (1980) Gene deletions in α -thalassaemia prove that the 5' α -locus is functional. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 77, 3586-3589.
270. Fischel-Ghodsian, N., Vickers, M.A., Seip, M., Winichagoon, P. & Higgs, D.R. (1988) Characterization of two deletions that remove the entire human α -globin gene complex (α -Thai and α -Fil). *British Journal of Haematology*, 70, 233-238.
271. Kutlar, F., Gonzalez-Redondo, J.M., Kutlar, A., Gurgey, A., Altay, C., Efremov, G.D., Kleman, K. & Huisman, T.H. (1989) The levels of α , β and δ -chains in patients with HbH disease. *Human Genetics*, 82, 179-186.
272. Nicholls, R.D., Higgs, D.R., Clegg, J.B. & Weatherall, D.J. (1987) α -Thalassaemia due to recombination between the α -globin gene and an Alu repeat. *Blood*, 65, 1434-1438.

273. Vandenplas, S., Higgs, D.R., Nicholls, R.D., Bester, A.J. & Mathew, C.G.P. (1987) Characterization of a new α -thalassaemia defect in the South African population. *British Journal of Haematology*, 66, 539-542.
274. Fei, Y.J., Liu, J.C., Walker, E.L.D., III. & Huisman, T.H.J. (1992) A new gene deletion involving the $\alpha 2$, $\alpha 1$ and $\alpha 0$ -globin genes in a black family with HbH disease. *American Journal of Hematology*, 39, 299-303.
275. Villegas, A., Calero, F., Vickers, M.A., Ayyub, H. & Higgs, D.R. (1990) α -Thalassemia in two Spanish families. *European Journal of Haematology*, 44, 109-114.
276. Higgs, D.R., Ayyub, H., Clegg, J.B., Hill, A.V.S., Nicholls, R.D., Teal, H., Wainscoat, J.S. & Weatherall, D.J. (1985) α -thalassaemia in British people. *British Medical Journal*, 290, 1303-1306.
277. Gonzalez-Redondo, J.M., Diaz-Chico, J.C., Malcorra-Azpiazu, J.J., Balda-Aguirre, M.I. & Huisman, T.H. (1988) Characterization of a newly discovered α -thalassemia-1 in two Spanish patients with HbH disease. *British Journal of Haematology*, 70, 459-463.
278. Lamb, J., Harris, P.C., Wilkie, A.O., Wood, W.G., Dauwerse, J.G. & Higgs, D.R. (1993) De novo truncation of chromosome 16p and healing with (TTAGGG) $_n$ in the α -thalassemia/mental retardation syndrome (ATR-16). *American Journal of Human Genetics*, 52, 668-676.
279. Felice, A.E., Cleek, M.P., McKie, K., McKie, V. & Huisman, T.H. (1984) The rare α -thalassaemia-1 of blacks is a α -thalassemia-1 associated with deletion of all α - and α -globin genes. *Blood*, 63, 1253-1257.
280. Sabath, D.E., Dettler, J.C. & Tait, J.F. (1994) A novel deletion of the entire α -globin locus causing α -thalassaemia-1 in a Northern European family. *Hematopathology*, 102, 650-654.
281. Shalmon, L., Kirschmann, C. & Zaizov, R. (1994) A new deletional α -thalassemia detected in Yemenites with hemoglobin H disease. *American Journal of Hematology*, 45, 201-204.
282. Vickers, M.A. & Higgs, D.R. (1989) A novel deletion of the entire α -globin gene cluster in a British individual. *British Journal of Haematology*, 72, 471-473.
283. Villegas, A., Sanchez, J., Ricard, P., Gonzalez, F.A., Del-Potro, E., Armada, B., Carreno, D.L. & Espinos, D. (1994) Characterization of a new α -thalassaemia-1 mutation in a Spanish family. *Hemoglobin*, 18, 29-37.
284. Hatton, C., Wilkie, A.O.M., Drysdale, H.C., Wood, W.G., Vickers, M.A., Sharpe, J., Ayyub, H., Pretorius, I.-M., Buckle, V.J. & Higgs, D.R. (1990) Alpha thalassemia caused by a large (62 kb) deletion upstream of the human α -globin gene cluster. *Blood*, 76, 221-227.
285. Wilkie, A.O.M., Lamb, J., Harris, P.C., Finney, R.D. & Higgs, D.R. (1990) A truncated human chromosome 16 associated with a thalassaemia is stabilized by addition of telomeric repeat (TTAGGG) $_n$. *Nature*, 346, 868-871.
286. Liebhaber, S.A., Griese, E.-U., Weiss, I., Cash, F.E., Ayyub, H., Higgs, D.R. & Horst, J. (1990) Inactivation of human α -globin gene expression by a de novo deletion located upstream of the α -globin gene cluster. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 81, 9431-9435.
287. Flint, J., Craddock, C.F., Villegas, A., Bentley, D.P., Williams, H.J., Galanello, R., Cao, A., Wood, W.G., Ayyub, H. & Higgs, D.R. (1994) Healing of broken human chromosomes by the addition of telomeric repeats. *American Journal of Human Genetics*, 55, 505-512.
288. Flint, J., Rochette, J., Craddock, C.F., Dode, C., Vignes, B., Horsley, S.W., Kearney, L., Buckle, V.J., Ayyub, H. & Higgs, D.R. (1996) Chromosomal stabilisation by a subtelomeric rearrangement involving two closely related Alu elements. *Human Molecular Genetics*, 5, 1163-1169.
289. Orkin, S.H., Golf, S.C. & Hechtman, R.L. (1981) Mutation in an intervening sequence splice

- junction in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 78, 5041.
290. Hartevelde, C.L., Heister, J.G., Giordano, P.C., Batelaan, D., von Delft, P., Haak, H.L., Wijermans, P.W., Losekoot, M. & Bernini, L.F. (1996) An IVS1-116 (A-G) acceptor splice site mutation in the γ -globin gene causing γ^+ thalassaemia in two Dutch families. *British Journal of Haematology*, 95, 461-466.
 291. Curuk, M.A., Baysal, E., Gupta, R.B. & al., e. (1993) An IVS-1-117 (G-A) acceptor splice site mutation in the α -globin gene is a nondeletional α -thalassaemia-2 determinant in an Indian population. *British Journal of Haematology*, 85, 148-152.
 292. Hartevelde, C.L., Giordano, P.C., van Delft, P. & al., e. (1998) A novel splice donor site mutation of the α -globin gene causing α -thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 102, 50 (Abstract P-0200).
 293. Higgs, D.R., Goodbourn, S.E., Lamb, J., Clegg, J.B., Weatherall, D.J. & Proudfoot, N.J. (1983) α -Thalassaemia caused by a polyadenylation signal mutation. *Nature*, 306, 398-400.
 294. Yuregir, G.T., Aksoy, K., Curuk, M.A., Dikmen, N., Fei, Y.J., Baysal, E. & Huisman, T.H. (1992) Hb H disease is a Turkish family resulting from the interction of a deletional α -thalassaemia-1 and a newly discovered poly A mutation. *British Journal of Haematology*, 80, 527-532.
 295. Hartevelde, C.L., Losekoot, M., Haak, H., Heister, G.A., Giordano, P.C. & Bernini, L.F. (1994) A novel polyadenylation signal mutation in the α 2-globin gene causing a thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 87, 139-143.
 296. Tamary, H., Klinger, G., Shalmon, L., Attias, D., Fortina, P., Kobayashi, M., Surrey, S. & Zaizov, R. (1997) α -Thalassaemia caused by a 16 bp deletion in the 3' untranslated region of the α 2-globin gene including the first nucleotide of the poly A signla sequence. *Hemoglobin*, 21, 121-130.
 297. Pirastu, M., Saglio, G., Chang, J.C., Cao, A. & Kan, Y.W. (1984) Initiation codon mutation as a cause of α -thalassaemia. *Journal of Biological Chemistry*, 259, 12315.
 298. Wayne, J.S., Eng, B., Patterson, M., Chui, D.H., Nisbet-Brown, E. & Olivieri, N.F. (1996) Novel mutation of the α 2-globin gene initiation codon (ATG-A-G) in a Vietnamese girl with HbH disease. *Blood*, 88, 28b (abstract).
 299. Mol, P., Cash, F.E., Liebhaber, S.A., Cao, A. & Pirastu, M. (1987) An initiation codon mutation (AUG→GUG) of the human α 1-globin gene: structural characterization and evidence for a mild thalassaemia phenotype. *Journal of Clinical Investigation*, 80, 1416-1421.
 300. Olivieri, N.F., Chang, L.S., Poon, A.O., Michelson, A.M. & Orkin, S.H. (1987) An α -globin gene initiation codon mutation in a Black family with HbH disease. *Blood*, 70, 729-732.
 301. Morle, F., Lopez, B., Henni, T. & Godet, J. (1985) α -thalassaemia associated with the deletion of two nucleotides at position -2 and -3 preceding the AUG codon. *EMBO Journal*, 4, 1245-1250.
 302. Clegg, J.B., Weatherall, D.J. & Milner, P.F. (1971) Haemoglobin Constant Spring- a chain termination mutant→ *Nature*, 234, 337.
 303. Clegg, J.B., Weatherall, D.J., Contopoulos-Griva, I., Caroutsos, K., Pongouras, P. & Tsevrenis, H. (1974) Haemoglobin Icaria, a new chain termination mutant which causes α -thalassaemia. *Nature*, 251,245.
 304. de Jong, W.W., Khan, P.M. & Bernini, L.F. (1975) Hemoglobin Koya Dora: high frequency of a chain termination mutant. *American Journal of Human Genetics*, 27, 81.
 305. Bradley, T.B., Wohl, R.C. & Smith, G.J. (1975) Elongation of the α -globin chain in a black family: interaction with HbG Philadelphia. *Clinical Research*, 23, 1314.
 306. Oron-Karni, V., Filon, D., Oppenheim, A. & al., e. (1997) Three novel mutations causing α -thalassaemia in various Israeli ethnic groups. *Blood*, 88, 153a (abstract).

307. Safaya, S. & Rieder, R.F. (1988) Dysfunctional α -globin gene in hemoglobin H disease in blacks. *Journal of Biological Chemistry*, 263, 4328-4332.
308. Ayala, S., Colomer, D., Aymerich, M., Abella, E. & Vives Corrons, J.L. (1997) First description of a frameshift mutation in the α 1-globin gene associated with α -thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 98, 47-50.
309. Liebhaber, S.A., Coleman, M.B., Adams, J.G.I., Cash, F.E. & Steinberg, M.H. (1987) Molecular basis for non-deletion α -thalassemia in American blacks α -2116GAG \rightarrow UAG. *Journal of Clinical Investigation*, 80, 1 54-1 59.
310. Traeger-Synodinos J., Hartevelde K., Kanavakis E., Giordano P.C., Kattamis C., Bernini L.F., (1999) Hb-Aghia Sophia [α 62 (EII) Val \rightarrow O (α 1)], an "in frame" deletion causing alpha thalassemia. *Hemoglobin*, 23, 31 7-324.
311. Honig, G.R., Shamsuddin, M., Vida, L.N., Mompoin, M., Valcourt, E., Bowie, L.J., Jones, E.C., Powers, P.A., Spritz, R.A., Guis, M., Embury, S.H., Conboy, J., Kan, Y.W., Mentzer, W.C., Weil, S.C., Hirata, R.K., Waloch, J., O'Riordan, J.F. & Goldstick, T.K. (1984) Hemoglobin Evanston (α 14 Trp \rightarrow Arg): an unstable α -chain variant expressed as α -thalassemia. *Journal of Clinical Investigation*, 73, 1 740-1 749.
312. Lacerra, G., Fioretti, G., De angioletti, M. & al., e. (1997) Hb Caserta and Hb Bronte: two novel hemoglobin variants caused by α 2-globin gene mutations. 6th International Conference on Thalassaemia and the Haemoglobinopathies. Malta, 1997: Abstract 151.
313. Hall, G.W., Thein, S.L., Newland, A.C., Chisholm, M., Traeger-Synodinos, J., Kanavakis, E., Kattamis, C. & Higgs, D.R. (1993) A base substitution (T \rightarrow C) in codon 29 of the α 2-globin gene causes a thalassaemia. *British Journal of Haematology*, 85, 546-552.
314. Chan, V., Chan, V.W.Y., Tang, M., Lau, K., Todd, D. & Chan, T.K. (1997) Molecular defects in Hb H hydrops fetalis. *British Journal of Haematology*, 96, 224-228.
315. Curuk, M.A., Dimovski, A.J., Baysal, E., Gu, L.-H., Kutlar, F., Molchanova, T.P., Webber, B.B., Altay, Gurgey, A. & Huisman, T.H.J. (1993) Hb Adana or α 259(E8)Gly \rightarrow Asp β 2, a severely unstable α 1-globin variant, observed in combination with the α -20.5 kb α -thal-1 deletion in two Turkish patients. *American Journal of Hematology*, 44, 2 70-2 75.
316. Fairweather, R.B., Chaffee, S., McBride, K.L., Snow, K., Kubik, K.S., Hoyer, J.D., Edwards, W.H. & Fairbanks, V.F. (1999) Hyperunstable Hb Dartmouth [α 2-66(E15)Leu \rightarrow Pro (CTG \rightarrow CCG)] in association with α -thalassemia-1 (SE Asian) causes transfusion-dependent α -thalassemia. *Blood*, 94 (Suppl. 1), 24b.
317. Morle, F., Francina, A., Ducrocq, R., Wajcman, H., Gonnet, C., Philippe, N., Souillet, G. & Godet, J. (1995) A new α chain variant Hb Sallanches [α 2 104(GII) Cys \rightarrow Tyr] associated with HbH disease in one homozygous patient. *British Journal of Haematology*, 91,608-611.
318. Sanguansermsri, T., Matragoon, S., Changloah, L. & Flatz, G. (1979) Hemoglobin Suan-Dok (α 2109(G16)Leu'Arg \rightarrow 2): an unstable variant associated with α -thalassemia. *Hemoglobin*, 3, 161-1 74.
319. Honig, G.R., Shamsuddin, M., Zaizov, R., Steinherz, M., Solar, I. & Kirschman, C. (1981) 321. Hartevelde, C.L., Giordano, P.C., Losekoot, M., Heister, J.G.A.M., Batelaan, D., van Delft, P., Bruin, M.C.A. & Bernini, L.F. (1996) Hb Utrecht Ia2 129(H12)Leu \rightarrow Pro] a new unstable α 2-chain variant in cis to a α -gene triplication and associated with a mild α -thalassemic phenotype. *British Journal of Haematology*, 94, 483-485.
322. Darbellay, R., Mach-Pascual, S., Rose, K., Graf, J. & Beris, P.H. (1995) Haemoglobin

- Tunis-Bizerte: a new α 1 globin 129 Leu→Pro unstable variant with thalassaemic phenotype. *British Journal of Haematology*, 90, 71-76.
323. Harkness, M., Harkness, D.R., Kutlar, F., Kutlar, A., Wilson, J.B., Webber, B.B., Codrington, J.F. & Huisman, T.H.J. (1990) Hb Sun Prairie or α -21 30(H13)Ala→Pro- β -2: a new unstable variant occurring in low quantities. *Hemoglobin*, 14, 479-490.
324. Rochette, J., Barnetson, R., Varet, B., Valensi, F. & Thein, S.L. (1995) Hb Questembert is due to a base substitution (T → C) in codon 131 of the α 2-globin gene and has an α -thalassemia biosynthetic ratio. *American Journal of Hematology*, 48, 289-290.
325. Wajcman, H., Vasseur, C., Blouguit, Y., Rosa, J., Labie, D., Naiman, A., Reman, O., Leporrier, M. & Galacteros, F. (1993) Unstable α -chain hemoglobin variants with factitious β -thalassemia biosynthetic ratio: Hb Questembert (α 131 [H14]Ser-Pro) and Hb Caen (α 132[H15]Val-Gly). *American Journal of Hematology*, 42., 367-374.
326. Pobedimskaya, D.D., Molchanova, T.P., Streichman, S. & Huisman, T.H.J. (1994) Compound heterozygosity for two α -globin gene defects Hb Taybe (α 1; 38 or 39 minus Thr) and a poly A mutation (α 2; AATAAA→AATAAG), results in a severe hemolytic anemia. *American Journal of Hematology*, 47, 198-202.
327. Ayala, S., Colomer, D., Gelpi, J.L. & Vives Corrons, J.L. (1997) α -thalassemia due to a single codon deletion in the α 1-globin gene. Computational structural analysis of the new α -chain variant (Hb Clinic). *Human mutation*, (Mutation in Brief 132).
328. Rahbar, S., Lee, C., Fairbanks, V.F., McCormick, D.J., Kubik, K., Madden, B.J. & Nozari, G. (1997) Hb Watts [α 74(EF3) or α 75(EF4)Asp→0]: a shortened α chain variant due to the deletion of three nucleotides in exon 2 of the α 2-globin gene. *Hemoglobin*, 21,321-330.
329. Vives Corrons, J.L., Ayala, S., Colomer, D. & al., e. (1996) α -Thalassaemia in Span, first description of non-deletion mutations and of a new globin variant. *Blood*, 88, 27b (abstract).
330. Traeger-Synodinos J., Papassotiriou I., Metaxotou-Mavrommati A., Vrettou C, Stamoulakatou Kanavakis E. (2000) Distinct phenotypic expression associated with a new hyperunstable alpha globin variant Heraklion, α 1 cd37(C2)Pro>0): comparison to other α -thalassaemic hemoglobinopathies. *Blood Cells Molecules and Diseases*, 2.6, 276-284.



地中海贫血诊断仪器

访问 www.bio-rad.com 可了解更多有关血红蛋白检测产品及服务的
伯乐海外热线

伯乐实验室 · 血红蛋白分析的明智选择

BIO-RAD

伯乐实验室

临床诊断部

北京 86-10-82675748

广州 86-87771498

上海 86-21-64260808 86-21-50462020

香港 652-2789-3300