

ความสัมพันธ์ของอัลฟาธาลัสซีเมียจีโนไทป์กับปริมาณฮีโมโกลบินบาร์ทส์ และเอชที่ตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ ในผู้ป่วยโรคฮีโมโกลบินเอช

รสริน การเพียร¹, สุมาลี ออบเชย¹, กุลนภา พู่เจริญ², ยศสมบัติ จังตระกูล³, ดวงฤดี จังตระกูล²,
สุทธิพรรณ กิจเจริญ², กนกวรรณ แสนไชยสุริยา², สุพรรณ พู่เจริญ²

บทคัดย่อ

ผู้ป่วยโรคอัลฟาธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทยคือโรคฮีโมโกลบินเอช (Hb H) ซึ่งเกิดจากการมีปฏิสัมพันธ์กันของจีน α -thalassemia 1 กับ α -thalassemia 2 โดยจีน α -thalassemia 1 ส่วนใหญ่จะเป็นชนิด SEA deletion ส่วน α -thalassemia 2 นั้นพบ 2 แบบคือ deletion (3.7, 4.2 kb deletion) และ non-deletion ($\alpha^{\text{Constant Spring}}$, α^{Pakse}) โดยมีรายงานพบว่าแบบ non-deletion จะมีอาการรุนแรงและพบปริมาณ Hb Bart's และ H มากกว่าแบบ deletion การศึกษาครั้งนี้จึงสนใจที่จะศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณ Hb Bart's และ Hb H ที่ตรวจวัดด้วยวิธี HPLC (modified β -thal short program) กับ α -thalassemia genotype โดยทำการตรวจจีน α -thalassemia 1 (SEA, THAI deletion) α -thalassemia 2 (3.7, 4.2 kb deletion), $\alpha^{\text{Constant Spring}}$, α^{Pakse} ด้วยวิธีพีซีอาร์ ในตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโรค Hb H 45 ราย จำแนกเป็นกลุ่มที่มีจีน α -thalassemia 2 แบบ non-deletion 25 ราย ($\alpha^{\text{Constant Spring}}$ 16 ราย, α^{Pakse} 9 ราย) ตรวจพบปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's + H มีค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 9.35 ± 2.80 , 12.58 ± 6.30 และ 21.93 ± 6.41 ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม deletion 20 ราย (3.7 kb deletion 18 ราย, 4.2 kb deletion 2 ราย) ตรวจพบปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's + H เท่ากับร้อยละ 4.58 ± 1.45 , 6.98 ± 4.10 และ 11.56 ± 5.00 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันด้วยสถิติ Wilcoxon Signed Rank Test พบว่าปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's + H ในกลุ่ม non-deletion สูงกว่ากลุ่ม deletion อย่างมีนัยสำคัญ ที่ $P \leq 0.0001$ อย่างไรก็ตามการจะนำ HPLC (modified β -thal short program) ไปใช้ในงานประจำวันเพราะสามารถตรวจวัดปริมาณ Hb Bart's และ Hb H ได้ถูกต้องสัมพันธ์กับจีโนไทป์ของโรค Hb H ก็ควรที่จะได้มีการศึกษาถึงผลกระทบต่อชนิด และ ปริมาณของ Hb A₂, F และ E ต่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมีย ภาวะอื่นๆด้วย

คำสำคัญ : ฮีโมโกลบินเอช, ฮีโมโกลบินบาร์ทส์, อัลฟาธาลัสซีเมีย

บทนำ

โรค Hb H หรือ compound heterozygous α -thalassemia 1/ α -thalassemia 2 เป็นโรคอัลฟาธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย⁽¹⁾ ซึ่งจากเดิมเชื่อว่าไม่รุนแรงมากยกเว้นว่ามีไข้หรือมีภาวะ oxidative stress

จึงจะมีการแตกของเม็ดเลือดแดงมากขึ้น แต่จากการที่ Chui DHK และคณะ⁽²⁾ ได้ศึกษารวบรวมและสรุปองค์ความรู้เกี่ยวกับธาลัสซีเมียในปัจจุบันพบว่าโรค Hb H สามารถทำให้เกิดผลกระทบต่อการพัฒนาด้านสติปัญญา

¹ นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 ปีการศึกษา 2549,

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์, คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ หน่วยจุลทรรศน์วินิจฉัย โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Relationship of α -thalassemia genotypes with Hb Bart's and Hb H levels determined by automated hemoglobin analyzer in Hb H diseases

Rossarin Karnpean¹, Sumalee Obchoei¹, Goonnapa Fucharoen², Yossombat Changtrakul³,
Doungrudee Changtrakul², Suttipan Kitcharoen², Kanokwan Sanchaisuriya², Supan Fucharoen²

Abstract

In Thailand, the most common form of α -thalassemia diseases is Hb H disease that caused by interaction of α -thalassemia 1 and α -thalassemia 2. The most common mutation of α -thalassemia 1 is the SEA deletion whereas two types of α -thalassemia 2 namely deletional form (3.7 kb & 4.2 kb deletions) and non-deletional form ($\alpha^{\text{Constant Spring}}$ & $\alpha^{\text{Pakse'}}$) are detected. It was found that diseases caused by the interaction with the latter non-deletional form are more severe and associated with higher levels of Hb Bart's and Hb H. In this study, correlation of the levels of Hb Bart's and Hb H as measured using an automated HPLC with a modified β -thal short program and α -thalassemia genotypes were examined. α -thalassemia genes including α -thalassemia 1 (SEA & THAI types), α -thalassemia 2 (3.7 kb & 4.2 kb deletions), $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ and $\alpha^{\text{Pakse'}}$ were identified using PCR. 45 Hb H disease patients with Hb Bart's and/or Hb H on HPLC analysis were studied. In 25 subjects with non-deletional form (16 $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ and 9 $\alpha^{\text{Pakse'}}$), the levels of Hb Bart's, Hb H and Hb Bart's + Hb H were 9.35 ± 2.80 , 12.58 ± 6.30 and 21.93 ± 6.41 %, respectively. The corresponding values for the remaining 20 cases with deletional form (18 with 3.7 kb and 2 with 4.2 kb deletions) were 4.58 ± 1.45 , 6.98 ± 4.10 and 11.56 ± 5.00 , respectively. Statistical comparison using the Wilcoxon Signed Rank Test indicated significance higher levels of these two Hbs for a non-deletional group as compared to a deletional one ($p \leq 0.0001$). It is suggested however that before an HPLC analysis using this modified β -thal short program can be implemented in routine setting for measurements of Hb Bart's and Hb H, its effect on levels of other Hbs especially Hb A₂, Hb F and E should also be investigated.

Key words : Hemoglobin H, Hemoglobin Bart's, α - thalassemia

ในวัยเด็ก และเป็นสาเหตุที่นำไปสู่ภาวะเหล็กเกินในวัยผู้ใหญ่โดยที่ไม่เกี่ยวข้องกับประวัติการรับเลือดและอาจเป็นผลให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติของตับ หัวใจและต่อมไร้ท่อต่างๆได้ ส่วนภาวะซีดอาจมีความรุนแรงมากขึ้นในภาวะติดเชื้อ มีไข้ ภาวะ hypersplenism หรือใน

ระหว่างตั้งครรภ์ โดยอาจซีดถึงขั้นจำเป็นต้องให้เลือด ดังนั้นการตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมียในคู่แต่งงานของหญิงมีครรภ์ที่เป็นโรค Hb H จึงมีความจำเป็นเพื่อการให้คำแนะนำด้านพันธุกรรมและให้สุศึกษาที่ถูกต้องและครบถ้วน โดยประชากรไทยประมาณ 62 ล้านคนมี

¹The 4th year Medical Technology student,

²Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences

³Clinical Microscopy Unit Srinagarind Hospital, Khon Kaen University

ผู้ป่วยโรคฮีโมโกลบินเอชประมาณ 420,000 รายและมีเด็กทารกเกิดใหม่ด้วยโรคนี้โดยประมาณ 7,000 คนต่อปี⁽³⁾

ความผิดปกติของจีนที่ก่อให้เกิดโรค Hb H ที่พบบ่อยในคนไทยสำหรับ α -thalassemia 1 จะเป็นชนิด SEA deletion ($-\text{SEA}$) ส่วน α -thalassemia 2 นั้นพบทั้งที่เป็น deletion คือ 3.7 และ 4.2 kb deletion และ nondeletion คือ $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ ($\alpha 2$ codon 142 TAA-CAA หรือ Ter $\rightarrow$ Gln) และ α^{Pakse} ($\alpha 2$ codon 142 TAA-TAT หรือ Ter $\rightarrow$ Tyr)⁽⁴⁾ ซึ่งจากการศึกษาของ Kanavakis E และคณะ⁽⁵⁾ Fucharoen S และคณะ⁽⁶⁾ Kattamis C และคณะ⁽⁷⁾ Cao A และคณะ⁽⁸⁾ Galanello R และคณะ⁽⁹⁾ Chen FE และคณะ⁽¹⁰⁾ Ma ESK และคณะ⁽¹¹⁾ Boonsa S และคณะ⁽¹²⁾ พบว่าโรค Hb H ที่ α -thalassemia 2 เป็นชนิด nondeletion มีความรุนแรงมากกว่าชนิด deletion รวมทั้งตรวจพบ Hb Bart's และ H ในปริมาณที่สูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจาก α^{ConSp} และ α^{Pakse} เกิดการกลายพันธุ์บน $\alpha 2$ -globin gene ซึ่งปกติสามารถสร้าง α -globin mRNA ได้มากกว่า $\alpha 1$ -globin gene ถึง 2.5 เท่า^(13,14)

การวินิจฉัยโรค Hb H ในปัจจุบันจะใช้การตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (Hb typing) โดยการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (Hb electrophoresis)⁽¹⁵⁾ หรือการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ ซึ่งใช้หลักการของ high performance liquid chromatography (HPLC) หรือ low pressure liquid chromatography (LPLC)⁽¹⁶⁾ ซึ่งได้พัฒนาให้เป็นเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติที่สามารถตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน A_2 และ F ออกมาได้พร้อมๆ กัน ทำให้สะดวกและรวดเร็วยิ่งขึ้น แต่ทั้งการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าและการตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติก็ยังมีข้อจำกัด คือ อาจตรวจไม่พบฮีโมโกลบินที่มีปริมาณน้อย เช่น Hb Constant Spring และ Hb Pakse' ได้ ทำให้ระบุชนิดของฮีโมโกลบิน และจีโนไทป์ ของผู้ป่วยโรค Hb H ผิดพลาดได้ หากต้องการการวินิจฉัยที่ถูกต้องก็จำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

(DNA analysis) ซึ่งปัจจุบันเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอโดยเฉพาะอย่างยิ่งเทคนิคพีซีอาร์ (PCR: polymerase chain reaction) ได้ถูกพัฒนาขึ้นจนสามารถตรวจวินิจฉัยได้ทั้ง α -thalassemia 1 (SEA deletion)⁽¹⁷⁾ α -thalassemia 2 (3.7 และ 4.2 kb deletion)⁽¹⁸⁾ $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ และ $\alpha^{\text{Pakse'}}$ ⁽¹⁹⁾ อย่างไรก็ตามการตรวจดีเอ็นเอเป็นการตรวจที่ต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูง ราคาแพง และต้องการบุคลากรที่มีความรู้พื้นฐานค่อนข้างดีจึงจะทำให้มีประสิทธิภาพ และเนื่องจากมีเป้าหมายเพื่อใช้ในการตรวจทารกในครรภ์เป็นหลัก จึงไม่จำเป็นที่จะต้องมีการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอในทุกโรงพยาบาล

ปัจจุบันมีผู้พยายามที่จะปรับปรุงให้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ HPLC ให้สามารถบอกปริมาณของ Hb H และ Hb Bart's พร้อมๆ กับฮีโมโกลบินชนิด A_2 และ F ออกมาได้พร้อมกัน⁽²⁰⁾ การศึกษานี้จึงสนใจที่จะศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณของ Hb H และ Hb Bart's ที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ HPLC กับอัลฟาอัลสซีเมียจีโนไทป์ ในผู้ป่วยโรค Hb H ภายใต้สมมุติฐานว่า จะพบปริมาณของ Hb H และ Hb Bart's จากเครื่อง HPLC สูงในรายที่มีจีโนไทป์ที่ก่อให้เกิดอาการรุนแรงของโรคมกกว่าซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาจะเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัย และทำนายอาการของโรคในผู้ป่วย เพื่อการให้คำแนะนำด้านพันธุกรรมและให้สุขศึกษาแก่ผู้ป่วยและครอบครัว อย่างเหมาะสม

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างเลือดและการวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน

เป็นตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโรค Hb H ที่ไปรับบริการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินที่หน่วยจุลทรรศน์วินิจฉัยโรงพยาบาลศรีนครินทร์จำนวน 45 ราย โดยตัวอย่างเหล่านี้จะนำไปตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ HPLC (VariantsTM, Modified β -thal short program : Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA) การศึกษานี้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE480213)

การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินทุกราย จะนำไปแยกเม็ดเลือดขาวเพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอตามวิธีมาตรฐาน เพื่อนำไปตรวจยีน α -thalassemia 1 (SEA และ THAI deletion)⁽²¹⁾ α -thalassemia 2 (3.7 และ 4.2 kb deletion)⁽¹⁸⁾ $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ และ $\alpha^{\text{Pakse'}}$ (19)

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและดีเอ็นเอ

จากการตรวจยีน α -thalassemia ในผู้ป่วยโรค Hb H จำนวน 45 ราย พบจีโนไทป์ $--^{\text{SEA}}/-\alpha^{3.7}$ 17 ราย, $--^{\text{SEA}}/-\alpha^{4.2}$ 2 ราย, $--^{\text{THAI}}/-\alpha^{3.7}$ 1 ราย, $--^{\text{SEA}}/\alpha^{\text{CS}}\alpha$ 16 ราย และ $--^{\text{SEA}}/\alpha^{\text{PS}}\alpha$ 9 ราย โดยแต่ละจีโนไทป์มีปริมาณ Hb Bart's, Hb H ดังแสดงใน ตารางที่ 1

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณ Hb Bart's, Hb H จำแนกตาม จีโนไทป์

จากผลการตรวจยีน α -thalassemia สามารถแบ่งกลุ่มผู้ป่วยโรค Hb H ที่ศึกษานี้ได้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่ม α -thalassemia 2 (deletion) ประกอบด้วยจีโนไทป์ $--^{\text{SEA}}/-\alpha^{3.7}$, $--^{\text{SEA}}/-\alpha^{4.2}$, $--^{\text{THAI}}/-\alpha^{3.7}$ จำนวน 20 ราย และกลุ่ม α -thalassemia 2 (non-deletion) คือ $--^{\text{SEA}}/\alpha^{\text{CS}}\alpha$ และ $--^{\text{SEA}}/\alpha^{\text{PS}}\alpha$ จำนวน 25 ราย พบว่าเมื่อนำปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's + Hb H มาเปรียบเทียบกัน โดยใช้สถิติ Wilcoxon Signed Ranks Test พบว่าทั้งปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's + Hb H ในกลุ่มผู้ป่วยโรค Hb H ที่มี α -thalassemia 2 แบบ non-deletion สูงกว่า deletion อย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.0001$ ดังแสดงใน รูปที่ 1

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

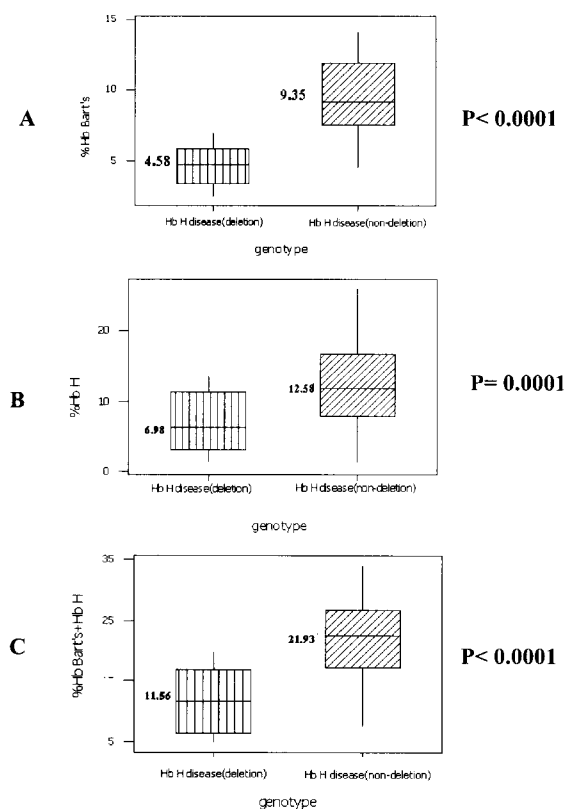
จากตัวอย่างผู้ป่วยโรค Hb H 45 รายพบ α -thalassemia 1 ชนิด SEA deletion 44 ราย (97.8 %) THAI deletion 1 ราย (2.2 %) ส่วน α -thalassemia 2 พบเป็นกลุ่ม non-deletion ($\alpha^{\text{Constant Spring}}$ และ $\alpha^{\text{Pakse'}}$) จำนวน 25 ราย (55.6 %) โดยพบเป็น $\alpha^{\text{Constant Spring}}$

16 ราย (35.6 %), $\alpha^{\text{Pakse'}}$ 9 ราย (20.0 %) แสดงให้เห็นว่าการอ่านโครมาโตแกรมสำหรับประชากรในกลุ่มนี้ ตำแหน่งที่รายงานเป็น Hb Constant Spring มีโอกาสเป็น Hb Pakse' ได้ 1 ใน 3 ราย ส่วนกลุ่มผู้ป่วยโรค Hb H ที่มียีน α -thalassemia 1 ร่วมกับ α -thalassemia 2 ชนิด deletion (3.7 และ 4.2 kb deletion) 20 ราย (44.4 %) โดยเป็นชนิด 3.7 kb deletion 18 ราย (40.0 %), 4.2 kb deletion 2 ราย (4.4 %) ซึ่งผู้ป่วยโรค Hb H 45 รายนี้ เมื่อจำแนกเป็นกลุ่ม α -thalassemia 2 ชนิด non-deletion ($-- / \alpha^{\text{CS}}\alpha$, $-- / \alpha^{\text{PS}}\alpha$) กับ deletion ($-- / -\alpha^{3.7}$, $-- / -\alpha^{4.2}$) แล้วเปรียบเทียบปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's + Hb H โดยใช้การทดสอบ Wilcoxon Signed Ranks Test พบว่า ในตัวอย่าง กลุ่ม non-deletion มีค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's+H สูงกว่ากลุ่ม deletion อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P\text{-value} < 0.00001$, 0.0001 และ < 0.00001 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผู้ที่ เป็นโรค Hb H ที่มียีน α -thalassemia 2 แบบ non-deletion จะสังเคราะห์สาย α -globin ได้ปริมาณที่น้อยกว่าแบบ deletion เป็นเหตุให้สาย γ -globin และ β -globin เหลือเป็นอิสระมาจึงรวมตัวกันเอง 4 สาย กลายเป็น Hb Bart's (γ_4) และ Hb H (β_4) พบในปริมาณที่สูงกว่าในกลุ่ม non-deletion และสอดคล้องกับอาการที่รุนแรงกว่ากลุ่ม deletion คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Wongchanchailert และคณะ⁽²²⁾, Chui DHK และคณะ⁽²⁾, Fucharoen S และคณะ⁽⁶⁾, Cao A และคณะ⁽⁸⁾, Galanello R และคณะ⁽⁹⁾, Chen FE และคณะ⁽¹⁰⁾, Ma ESK และคณะ⁽¹¹⁾, Rigas DA และคณะ⁽²³⁾, Styles L และคณะ⁽²⁴⁾ รวมถึง Lie-Injo LE และคณะ⁽²⁵⁾ และเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ย Hb H และ Hb H ร่วมกับ Hb Bart's ในผู้ป่วยโรค Hb H ที่มี Hb Pakse' ร่วม จะมีค่าที่สูงกว่าผู้ป่วยที่มี Hb Constant Spring ร่วม จึงอาจเป็นไปได้ว่า Hb Pakse' อาจทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อเม็ดเลือดแดงมากกว่า Hb Constant Spring ซึ่งน่าจะได้รับการศึกษาในรายละเอียดต่อไป

ปริมาณ Hb Bart's + Hb H ซึ่งตรวจวัดด้วยเครื่อง

ตารางที่ 1 ปริมาณ Hb Bart's, Hb H และ Hb Bart's + H (mean + standard deviation) ที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC (Modified β -thal short program) ของผู้ป่วยโรค Hb H จำนวน 45 ราย จำแนกตามจีโนไทป์ที่ตรวจพบ

Genotype	N	Hb Typing	% Hb Bart's	% Hb H	% Hbs Bart's + H
-- ^{SEA} /- α ^{3.7}	17	A ₂ ABart'sH	4.7 ± 1.5 (2.4 - 7.0)	6.9 ± 4.1 (1.1 - 13.2)	10.9 ± 5.6 (4.8 - 20.0)
-- ^{THAI} /- α ^{3.7}	1	A ₂ ABart'sH	4.8	5.8	10
-- ^{SEA} /- α ^{4.2}	2	A ₂ ABart'sH	2.6, 4.7	3.7, 13.6	6.3, 18
-- ^{SEA} / α ^{CS} α	16	ConSpA ₂ ABart'sH	9.7 ± 3.3 (4.5 - 14.1)	11.2 ± 4.7 (3.0 - 18.1)	20.9 ± 4.6 (12.7 - 28.7)
-- ^{SEA} / α ^{PS} α	9	ConSpA ₂ ABart'sH	8.7 ± 1.6 (6.2 - 12.3)	14.9 ± 8.3 (1.2 - 26.1)	23.7 ± 8.8 (7.4 - 34.0)



รูปที่ 1 ค่าเฉลี่ยและ interquartile range ของปริมาณ Hb Bart's (A), Hb H (B), Hb Bart's+H (C) ในผู้ป่วยโรค Hb H ที่มี α -thalassemia 2 ชนิด deletion (-- /- α ^{3.7}, -- /- α ^{4.2}) จำนวน 20 ราย และชนิด non-deletion (-- /- α ^{CS} α , -- /- α ^{PS} α) จำนวน 25 ราย

HPLC (modified β -thal short program) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าให้ผลคล้ายกับการศึกษาของ Papassotiriou I และคณะ⁽²⁰⁾ ซึ่งพบว่าปริมาณเฉลี่ยที่ตรวจวัดได้ในกลุ่ม non-deletion มีค่าใกล้เคียงกันถึงแม้จะมี mutation ที่ต่างกัน แต่ในกลุ่ม deletion กลับพบค่าเฉลี่ยที่ค่อนข้างสูงกว่าจึงอาจเป็นไปได้ว่า α -thalassemia 1 (SEA deletion) ทำให้อาการรุนแรงกว่า α -thalassemia (MED deletion) ซึ่งน่าจะได้มีการศึกษาเปรียบเทียบอาการทางคลินิกและกลไกการเกิดโรคต่อไป อย่างไรก็ตามก็อาจจะเกิดจากความแม่นยำของการตรวจวัดที่แตกต่างกันก็เป็นได้

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถนำ HPLC (modified β -thal short program) มาใช้ในการตรวจวัดปริมาณ Hb Bart's และ H ได้โดยมีความถูกต้องและสัมพันธ์กับจีโนไทป์ของผู้ป่วยโรค Hb H และ ความ

รุนแรงของโรค ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อผู้ป่วย คือเป็นข้อมูล
ที่แพทย์จะใช้ประกอบการพยากรณ์โรคและวางแผนการ
รักษาต่อไป ข้อสังเกตที่พบในการศึกษาครั้งนี้คือ ตัวอย่าง
ที่ทราบผลจีโนไทป์ว่ามี $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ หรือ α^{Pakse} ร่วม
จากการตรวจด้วยวิธี PCR นั้น ผลการอ่าน Hb Typing
จากเครื่อง HPLC (β -thal short program) ก็สามารถ
บอกได้ว่ามี Hb Constant Spring ทุกสายซึ่งก็เป็น
ข้อมูลเบื้องต้นที่พอจะคาดเดาถึงความรุนแรงของโรคได้
ถึงแม้จะไม่มี ปริมาณ Hb H และ/หรือ Hb Bart's
ประกอบ ดังนั้นการที่จะนำวิธีการตรวจวัดปริมาณ Hb
Bart's และ H ด้วยเครื่อง HPLC (modified β -thal
short program) ดังกล่าวข้างต้นมาประยุกต์ใช้นั้นจะ
ต้องพิจารณาถึงความเหมาะสมในหลายๆด้าน โดยเฉพาะ
อย่างยิ่งควรมีการศึกษาถึงผลกระทบของการปรับเปลี่ยน
โปรแกรมไปจากเดิมนั้นมีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ
Hb ชนิดอื่นๆ เช่น Hb A₂, A, F, E ทำให้การวินิจฉัย
ธาลัสซีเมียอื่นๆ ผิดพลาดไปหรือไม่

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. In Bowman JE. (ed). Distribution and evolution of hemoglobin and globin loci. Elsevier Science Publishing co; 1983: 179-208.
2. Chui DHK, Fucharoen S, Chang V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. Blood; 2003;791-800.
3. สุพรรณ พูเจริญ. ธาลัสซีเมีย: แนวทางการควบคุมและป้องกัน. ในสุพรรณ พูเจริญ บรรณาธิการ. ธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย ตอนที่ 1. ขอนแก่น: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2543:1/28-35.
4. สุพรรณ พูเจริญ. ความผิดปกติระดับโมเลกุลของธาลัสซีเมียในประเทศไทย. ใน อรุณี เจตศรีสุภาพ, สุพรรณ พูเจริญ (บรรณาธิการ). องค์ความรู้ธาลัสซีเมีย 2546. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2547:13-41.
5. Kanavakis E, Papassotiriou I, Karagiorga M, et al. Phenotypic and molecular diversity of haemoglobin H disease: a Greek experience. Br J Haematol; 2000: 915-23.
6. Fucharoen S, Winichagoon P, Pootrakul P, Piankijagum A, Wasi P. Differences between two types of Hb H disease, α -thalassemia 1/ α -thalassemia 2 and α -thalassemia 1/Hb Constant Spring. Birth Defects 1988; 2: 309-15.
7. Kattamis C, Tzotzos S, Kanavakis E, Syndinos J, Metaxotou-Mavrommati A. Correlation of clinical phenotype to genotype in haemoglobin H disease. Lancet 1988; 1: 442-4.
8. Cao A, Rosatelli C, Pirastu M, Galanello R. Thalassemia in Sardinia: molecular pathology, phenotype-genotype correlation, and prevention. Am J Pediatr Hematol Oncol 1991; 13: 179-88.
9. Galanello R, Aru B, Dess XC, et al. Hb H disease in Sardinia: molecular, haematological and clinical aspects. Acta Haematol 1992; 88: 1-6.
10. Chen FE, Ooi C, Ha SY, et al. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients. N Engl J Med 2000; 343: 544-50.
11. Ma ESK, Chow EYD, Chan AYY, Chan LC. Interaction between (α -^{SEA}) α -thalassemia deletion and uncommon non-deletion α -globin gene mutations in Chinese patients. Haematologica 2001; 86: 539-40.
12. Boonsa S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Wiangnon S, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. The diverse molecular basis and hematological features of Hb H and AEBart's diseases in Northeast Thailand. Acta Haematol 2004; 111: 149-54.
13. Liebhaber SA, Cash FE, Ballas SK. Human α -globin gene expression. The dominant role of the $\alpha 2$ -locus in mRNA and protein synthesis J Biol Chem 1986; 261: 15327-33.

14. Liebhaber SA, Schrier SL. Pathophysiology of α -thalassemia. In Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL. (eds). Disorders of Hemoglobin; Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 2001: 391-404.
15. กุลนภา พู่เจริญ. การตรวจหาชนิดฮีโมโกลบินโดยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า. ใน กุลนภา พู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา (บรรณาธิการ) การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2546:51-63.
16. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา. การตรวจแยกชนิดและการตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ. ใน กุลนภา พู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา (บรรณาธิการ) การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2546:71-93.
17. Fucharoen G, Fucharoen S. Rapid and simultaneous non-radioactive method for detecting α -thalassemia 1 (SEA type) and Hb Constant Spring gene. *Eur J Haematol* 1994; 53: 186-7.
18. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Pengiam Y. Molecular analysis of Thai β -thalassemia heterozygote with normal Hb A₂ level: implication for population screening. *Ann Clin Biochem* 2002; 34: 44-9.
19. Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Panyasai S, Devenish R, Luy L. Interaction of hemoglobin E and several forms of α -thalassemia in Cambodian families. *Haematologica* 2003; 88: 1092-8.
20. Papassotiriou I, Traeger-Synodinos J, Valchou C, et al. Rapid and accurate quantitation of Hb Bart's and Hb H using weak cation exchange high performance liquid chromatography: correlation with the alpha-thalassemia genotype. *Hemoglobin* 1999; 23: 203-11.
21. Sae-ung N, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. The positive rates of SEA and THAI deletional α -thalassemia 1 determinants in north-east Thailand. paper presented at XVIIIth International Symposium on Technological Innovations in Laboratory Hematology. May 11-14, 2005 San Francisco, California USA.
22. Wongchanchailert M, Laosombat V, Maipang M. Hemoglobin H disease in children. *J Med Assoc Thai* 1992; 75: 611-8.
23. Rigas DA, Koler RD, Osgood EE. Hemoglobin H: Clinical, laboratory, and genetic studies of a family with a previously underscribed hemoglobin. *J Lab Clin Med* 1956; 47: 51.
24. Styles L, Foote DH, Kleman KM, et al. Hemoglobin H-Constant Spring disease: An under-recognized, severe form of α -thalassemia. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1997; 4: 69.
25. Lie-Injo LE, Ganesan J, Lopez CG. The clinical, hematological and biochemical expression of hemoglobin Constant Spring and its distribution. In Schmidt RM (ed). *Abnormal Hemoglobins and Thalassemia*. New York: Academic; 1975: 275.