

ความเกี่ยวข้องของ γ XmnI โพลีมอร์ฟิสม กับปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ ใน ผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี

นฤวัตร ภักดี^{1,2}, คมกฤษณ์ สุขไมตรี², กุลนภา ฟูเจริญ^{2*}, สุพรรณ ฟูเจริญ²,
กนกวรรณ แสนไชยสุริยา², ณัฐยา แห้วอิง²

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษา γ Xmn I (-158 C $\rightarrow$ T) โพลีมอร์ฟิสมในผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี จำนวน 131 ราย พบว่ามี Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็นแบบ (+ / +) 77 ราย (ร้อยละ 58.8), (+ / -) 45 ราย (ร้อยละ 34.3) และ (- / -) 9 ราย (ร้อยละ 6.9) แสดงให้เห็นว่าจีน β^E สัมพันธ์กับลักษณะ γ Xmn I polymorphism ที่เป็นบวก มากกว่าลบ จากนั้นได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฮีโมโกลบินอี, ฮีโมโกลบินเอฟ และพารามิเตอร์อื่นๆ ของเม็ดเลือดแดง ด้วยสถิติ Kruskal Wallis One-way Analysis of Variance และ Mann-Whitney U-Test ในผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีที่ไม่มียื่นแผลงอัลฟาธาลัสซีเมีย และไม่มีภาวะซีดจากสาเหตุอื่น (Hb > 9 g/dl) จำนวน 61 ราย ซึ่งมี Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็นแบบ (+ / +) 37 ราย (ร้อยละ 60.7), (+ / -) 19 ราย (ร้อยละ 31.1) และ (- / -) 5 ราย (ร้อยละ 8.2) พบค่ามัธยฐานของปริมาณฮีโมโกลบินอี และพารามิเตอร์อื่นๆ ของเม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างกัน แต่ปริมาณฮีโมโกลบินเอฟที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC (% Hb F) รวมทั้งค่าที่ได้จากการคำนวณเป็นค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเอฟในเลือด (Hb F; mg/dl) และน้ำหนักเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอฟในเม็ดเลือดแดง [MCHF (ng)] ในกลุ่ม (+ / +) ซึ่งมีค่ามัธยฐานเท่ากับ 3.6 %, 731.0 ng และ 371.5 mg/dl ตามลำดับ สูงกว่ากลุ่ม (+ / -) ซึ่งมีค่ามัธยฐานเท่ากับ 2.4 %, 455.0 ng และ 255.5 mg/dl ตามลำดับ และกลุ่ม (- / -) ซึ่งมีค่ามัธยฐานเท่ากับ 2.5 %, 518.0 ng และ 245.0 mg/dl ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.01) แต่ระหว่างกลุ่ม (+ / -) และ (- / -) ไม่ต่างกัน แสดงให้เห็นว่า γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสม (+ / +) มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีโมโกลบินเอฟในผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี อย่างไรก็ตามมีตัวอย่างจำนวนหนึ่งในกลุ่ม (+ / +) ที่มีปริมาณฮีโมโกลบินเอฟไม่แตกต่างจากกลุ่ม (+ / -) และ (- / -) แสดงว่าอาจมีปัจจัยอื่นร่วมเกี่ยวข้องด้วย ซึ่งน่าจะได้รับการศึกษต่อไป

คำสำคัญ : XmnI โพลีมอร์ฟิสม, โฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี, ฮีโมโกลบินเอฟ

¹ นักศึกษาปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรการแพทย์

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.), คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

The association of γ XmnI polymorphism with hemoglobin F levels in homozygous hemoglobin E

Naruwat Pakdee^{1,2}, Komgrid Sukmaitree², Goonnapa Fucharoen^{2*}, Supan Fucharoen², Kanokwan Sanchaisuriya², Nattaya Sae-ung²

Abstract

The γ -Xmn I polymorphism (-158 C $\rightarrow$ T) in 131 subjects with homozygous Hb E were investigated. The Xmn I (+/+), (+/-) and (-/-) patterns were identified in 77 (58.8 %), 45 (34.3 %) and 9 (6.9 %) cases, respectively. This result indicates that majority of β^E globin genes are linked to the Xmn I + allele. Among 61 cases of Hb E homozygote (Hb > 9 g/dl) who had (b^E/b^E, aa/aa) genotype, 37 (59.7 %), 20 (32.3 %) and 5 (8.0 %) cases had the Xmn I (+ / +), (+ / -) and (- / -) patterns, respectively. The median levels of Hb E and other Rbc parameters in these groups were not difference. However, the median levels of Hb F as determined by Hb-HPLC analysis, the MCHF (ng) and the Hb F concentration (mg/dl) were significantly higher in the Xmn I (+ / +) group (3.6 %, 731.0 ng and 374.0 mg/dl) as compared to those with the Xmn I (+ / -) (2.4 %, 456.9 ng and 264.4 mg/dl) and the Xmn I (- / -) (2.5 %, 518.0 ng and 245.0 mg/dl) at p-value < 0.01 using Kruskal Wallis One-way Analysis of Variance and Mann-Whitney U-Test. No difference was found between the Xmn I (+ / -) and the Xmn I (- / -) groups. Although the γ -Xmn I (+ / +) polymorphism is associated with high Hb F production in Hb E homozygote, it is apparent that other factors requiring further investigation might also be involved.

Key words : Xmn I polymorphism, homozygous Hb E, Hb F

บทนำ

ฮีโมโกลบินอี เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนบีตาโกลบินที่ตำแหน่งโคดอน 26 (GAG-AAG) ทำให้กรดอะมิโน เปลี่ยนจากเดิม คือ กรดกลูตามิก (glutamic; Glu) ไปเป็นไลซีน (lysine; Lys)⁽¹⁾ ผู้ที่เป็นพาหะของฮีโมโกลบินอีจะไม่มีอาการซีด⁽²⁾ แต่ใน

ผู้ที่เป็นฮีโมโกลบินอีฮีโมโกลบินอีจะมีความการซีดเล็กน้อย และจะตรวจพบฮีโมโกลบินเอฟในเลือดได้ในช่วง ร้อยละ 3.6 $\pm$ 1.6⁽³⁾ ซึ่งสูงกว่าปกติ แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีการสร้างสายแอมมาโกลบินเพิ่มขึ้นเพื่อทดแทนยีนบีตาที่ผิดปกติไป จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าดีเอ็นเอโพลีมอร์ฟิสม ในบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน γ - globin ที่

¹ M.Sc. Student in Medical Science Program

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

* Corresponding author

ตำแหน่ง -158 (C → T) ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ด้วยเอ็นไซม์ Xmn I มีส่วนสำคัญต่อการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินเอฟด้วย โดยมีรายงานพบว่าการแทนที่จาก C → T ที่ตำแหน่ง -158 (Xmn I +) ของยีน γ -globin มีผลต่ออัตราส่วน γ/α หรือ $\gamma/\gamma+\alpha$ และการเพิ่มขึ้นของฮีโมโกลบินเอฟในคนปกติ และผู้ที่เป็น sickle cell anemia⁽⁴⁻⁶⁾ การศึกษาในครั้งนี้ จึงสนใจศึกษาความถี่ (frequency) ของ γ Xmn I โพลิมอร์ฟิสม ในกลุ่มประชากรที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีและศึกษาความเกี่ยวพันระหว่าง γ Xmn I กับปริมาณฮีโมโกลบินอี และฮีโมโกลบินเอฟในผู้ที่ เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี ซึ่งผลจากการศึกษาจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเพิ่มปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ ในผู้ที่ มีฮีโมโกลบินอีต่อไป

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างเลือดและการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน

ตัวอย่างที่ศึกษาเป็นตัวอย่างเลือดของผู้ที่มาใช้บริการตรวจ complete blood count (CBC) ด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Coulter GEN System และตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ HPLC (Variant™, Modified β -thal Short Program: Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA) ที่หน่วยจุลทรรศน์วินิจฉัย โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่มีชนิดของฮีโมโกลบินเป็น EE หรือ EE/EF จำนวนทั้งสิ้น 131 ตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านความเห็นชอบจาก คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE 470826)

การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน ทุกสายจะถูกนำไปแยกเม็ดเลือดขาวเพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีมาตรฐาน นำไปตรวจหาฮีนฮีโมโกลบินอีและอัลฟาธาลัสซีเมียชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทยเพื่อระบุ จีโนไทป์⁽³⁾ จากนั้นตัวอย่างดีเอ็นเอที่เหลือ จะนำไปศึกษา γ -Xmn I โพลิมอร์ฟิสม ด้วยวิธี polymerase

chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)⁽⁷⁾

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างดีเอ็นเอผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีจำนวน 131 ราย พบผู้ที่มี Xmn I โพลิมอร์ฟิสมเป็นแบบ (+/+) จำนวน 77 ราย (ร้อยละ 58.8), (+/-) จำนวน 45 ราย (ร้อยละ 34.3) และ (-/-) จำนวน 9 ราย (ร้อยละ 6.9) โดยเมื่อจำแนกโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีตามจีโนไทป์ที่ Fucharoen G และคณะ⁽³⁾ ศึกษาไว้ พบความถี่ของ Xmn I โพลิมอร์ ฟิสมในแต่ละจีโนไทป์ ดังแสดงใน ตารางที่ 1 จากนั้นนำเฉพาะตัวอย่างที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีที่ไม่มียื่นแฉงอัลฟาธาลัสซีเมีย และไม่มีภาวะซีดจากสาเหตุอื่น (Hb > 9 gm/dl) จำนวน 61 ราย ซึ่งพบผู้ที่มี Xmn I โพลิมอร์ฟิสมเป็น (+ / +) จำนวน 37 ราย (ร้อยละ 60.7), (+/-) จำนวน 19 ราย (ร้อยละ 31.1) และ (- / -) จำนวน 5 ราย (ร้อยละ 8.2) ไปวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฮีโมโกลบินอี ฮีโมโกลบินเอฟ และค่าพารามิเตอร์อื่นๆ ของเม็ดเลือดแดง ระหว่างกลุ่มที่มี Xmn I โพลิมอร์ฟิสมเป็น (+/+), (+/-) และ (- / -) ด้วยสถิติ Kruskal Wallis One-way Analysis of Variance และ Mann-Whitney U-Test พบว่าปริมาณฮีโมโกลบินอี และพารามิเตอร์อื่นๆ ของเม็ดเลือดแดง ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ ที่ตรวจวัดจากเครื่อง HPLC และที่คำนวณเทียบกับพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง ในกลุ่ม Xmn I โพลิมอร์ฟิสมเป็น (+/+) สูงกว่ากลุ่ม (+/-) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$ แต่ระหว่างกลุ่ม (+/-) กับกลุ่ม (-/-) มีค่าไม่แตกต่างกัน ดังแสดงใน ตารางที่ 2 และ รูปที่ 1

ตารางที่ 1 ความถี่ของ γ Xmn I polymorphism ในผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสอีโมโกลบินอีที่มีและไม่มียื่นแฝง อัลฟา-ธาลัสซีเมีย จำแนกตามจีโนไทป์ในตัวอย่าง 131 ราย

Genotype	No. (%)	Xmn I polymorphism		
		(+ / +) (%)	(+ / -) (%)	(- / -) (%)
1. $\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha\alpha$	89 (67.9)	54 (41.2)	27 (20.7)	8 (6.1)
2. $\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/_\alpha^{3.7}$	21 (16.0)	12 (9.2)	8 (6.1)	1 (0.8)
3. $\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/_\alpha^{4.2}$	1 (0.8)	-	1 (0.7)	-
4. $\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha$	6 (4.6)	3 (2.4)	3 (2.4)	-
5. $\beta^E/\beta^E, _\alpha^{3.7}/_\alpha^{3.7}$	4 (3.1)	2 (1.5)	2 (1.5)	-
6. $\beta^E/\beta^E, _\alpha^{4.2}/_\alpha^{4.2}$	1 (0.8)	-	1 (0.7)	-
7. $\beta^E/\beta^E, _\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha$	2 (1.5)	2 (1.5)	-	-
8. $\beta^E/\beta^E, _\alpha^{3.7}/\alpha^{PS}\alpha$	1 (0.8)	-	1 (0.7)	-
9. $\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/_\alpha^{SEA}$	4 (3.1)	4 (3.1)	-	-
10. $\beta^E/\beta^E, _\alpha^{3.7}/_\alpha^{SEA}$	1 (0.7)	-	1 (0.7)	-
11. $\beta^E/\beta^E, _\alpha^{4.2}/_\alpha^{SEA}$	1 (0.7)	1 (0.7)	-	-
Total	131 (100)	77 (58.8)	45 (34.3)	9 (6.9)

ตารางที่ 2 ค่ามัธยฐาน (interquartile range) ของปริมาณฮีโมโกลบินอี ฮีโมโกลบินเอฟ และพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดงในกลุ่มตัวอย่างโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีที่ไม่มียื่นแผลงอัลฟาธาลัสซีเมียร่วมกับไม่มีภาวะซีดจากสาเหตุอื่น (Hb > 9 g/d) จำนวน 61 ราย จำแนกตาม Xmn I polymorphism

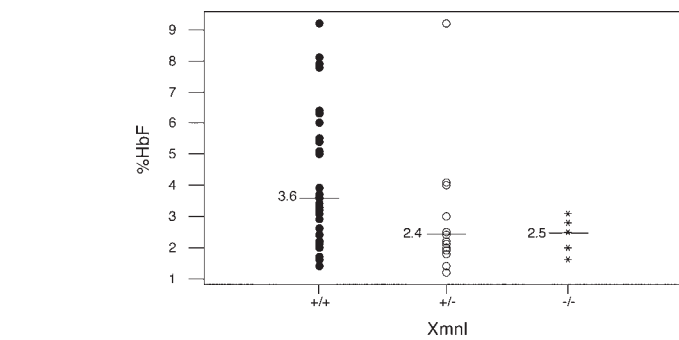
	Xmn I polymorphism			P- value ^a
	(+ / +) (n = 37)	(+ / -) (n = 19)	(- / -) (n = 5)	
Hb E (%)	88.3 (86.4 - 90.0)	90.3 (86.1-91.4)	91.6 (89.3-92.5)	0.034
Hb E (mg/dl)	9536.0 (8550.0-10680.0)	9391.0 (8830.0-10700.0)	9198.0 (8710.0-9615.0)	0.767
MCHE (ng)	17600.0 (16790.0-18675.0)	17450.0 (16930.0-18740.0)	19230.0 (16970.0-19505.0)	0.395
Hb F (%)	3.6 ^b (2.5-5.8)	2.4 ^b (1.9-3.0)	2.5 (1.8-3.0)	0.006
Hb F (mg/dl)	371.0 ^c (270.5-629.5)	255.0 ^c (209.0-312.0)	245.0 (172.0-316.0)	0.005
MCHF (ng)	731.0 ^d (469.5-1191.5)	455.0 ^d (397.0-621.0)	518.0 (367.0-567.5)	0.010
RBC ($\times 10^{12}$ /L)	5.4 (4.9-6.1)	5.2 (4.8-6.2)	4.8 (4.6-5.6)	0.331
Hb (g/dl)	10.9 (9.8-12.1)	10.6 (10.1-11.6)	10.0 (9.5-10.7)	0.324
Hct (%)	35.0 (31.4-39.3)	33.5 (31.4-37.2)	32.3 (30.0-34.4)	0.205
MCV (fl)	65.4 (61.8-67.7)	63.7 (62.5-67.7)	63.3 (61.2-67.2)	0.814
MCH (pg)	20.2 (19.2-21.1)	20.5 (19.1-21.6)	19.9 (19.0-21.1)	0.885
MCHC (g/dl)	31.1 (30.7-31.5)	30.9 (30.7-31.6)	31.2 (30.9-31.7)	0.755
RDW (%)	16.8 (16.4-18.0)	16.9 (15.9-18.5)	16.6 (15.7-18.2)	0.882

^a Kruskal Wallis One-way Analysis of Variance

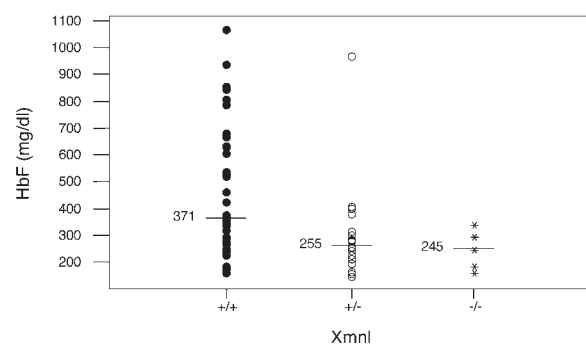
^b Significant difference (Mann-Whitney U-Test) ; p = 0.004

^c Significant difference (Mann-Whitney U-Test) ; p = 0.005

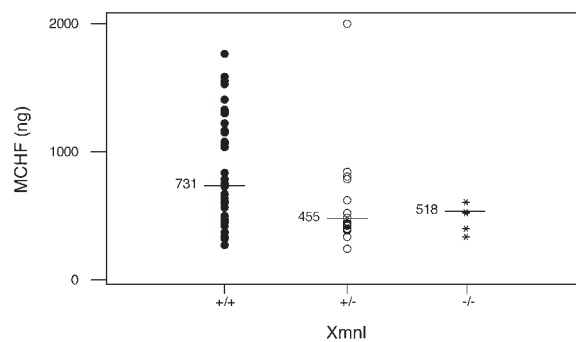
^d Significant difference (Mann-Whitney U-Test) ; p = 0.009



A



B



C

รูปที่ 1 แสดงการกระจายของ A ปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ ที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC [HbF (%)] B ความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเอฟ [Hb F (mg/dl)] และ C น้ำหนักเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอฟในเม็ดเลือดแดง [MCHF(ng)] จำแนกตามรูปแบบของ Xmn I polymorphism ในกลุ่มตัวอย่างโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีที่ไม่มียื่นแ่งอัลฟา-ทาลัสซีเมียและไม่มีภาวะซีดจากสาเหตุอื่น (Hb > 9 g/d) จำนวน 61 ราย ตัวเลขในภาพแสดงค่ามัธยฐาน

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษาความถี่ของ γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมในผู้ที่เป็โฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี ทั้งที่มีและไม่มี ยีนแฝงอัลฟา-ธาลัสซีเมีย พบว่าส่วนใหญ่มีโพลีมอร์ฟิสมเป็นแบบบวกซึ่งแตกต่างจากกลุ่มที่มีฮีโมโกลบินเป็นชนิด A_2A จากการศึกษาของ ลลนา นันทการณ (unpublished data) ทั้งหมด 64 ราย ซึ่งพบว่า γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็น (+ / +) จำนวน 4 ราย (6.3 %), (+ / -) จำนวน 26 ราย (40.6 %) และ (- / -) จำนวน 34 ราย (53.1 %) แสดงให้ว่า ยีนฮีโมโกลบินอี (γ gene) เชื่อมต่อ (linkage) กับ γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมที่เป็นบวกมากกว่าลบ ดังนั้นหากสมมุติฐานที่ว่า γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมที่เป็นบวก เกี่ยวพันกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ⁽⁴⁻⁶⁾ เป็นจริง ผู้ที่มีฮีโมโกลบินอี ก็จะมีโอกาสถูกเหนี่ยวนำให้มีปริมาณฮีโมโกลบินเอฟสูงขึ้นในสัดส่วนที่มากกว่าคนปกติ แต่เพื่อเป็นการพิสูจน์ให้ได้ก่อนว่า γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมที่เป็นบวกเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีโมโกลบินเอฟในผู้ที่มียีน β^E ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณ ฮีโมโกลบินอี ฮีโมโกลบินเอฟ และพารามิเตอร์อื่นๆ ของเม็ดเลือดแดงในผู้ที่เป็โฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี ที่มี γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็นแบบ (+/+), (+/-) และ (-/-) เปรียบเทียบกันแต่เนื่องจากผู้ที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอี ที่มียีนแฝงอัลฟา-ธาลัสซีเมีย สายอัลฟาโกลบินมีปริมาณลดลงซึ่งอาจไปมีผลทำให้สัดส่วนของปริมาณฮีโมโกลบินอี กับฮีโมโกลบินเอฟเปลี่ยนแปลงไปจากภาวะที่ไม่มียีนแฝงอัลฟา-ธาลัสซีเมีย เหมือนที่พบในพาหะฮีโมโกลบิน อี ที่มียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 แล้วไปมีผลทำให้ปริมาณฮีโมโกลบินอีของผู้ที่มียีนแฝงต่ำกว่าผู้ที่ไม่มียีนแฝง⁽²⁾ ประกอบกับมีรายงานพบว่าภาวะชืดที่ส่งผลให้มีการเร่งสร้างเม็ดเลือดแดง (stress erythro- poiesis) อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ ฮีโมโกลบินเอฟมีปริมาณสูงขึ้น⁽⁸⁾ ผู้วิจัยจึงได้เลือกเอาเฉพาะตัวอย่างที่เป็นโฮโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีที่ไม่มียีนแฝงอัลฟาธาลัส-ซีเมีย และไม่ชืดมาก (Hb > 9 gm/dl) จำนวน 61 ราย ซึ่งมี γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็น (+ / +), (+ / -) และ (- / -) จำนวน

37 ราย (ร้อยละ 60.7), 19 ราย (ร้อยละ 31.1) และ 5 ราย (ร้อยละ 8.2) ตามลำดับ ไปวิเคราะห์เปรียบเทียบโดยใช้สถิติ Kruskal Wallis One-way Analysis of Variance พบว่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของเม็ดเลือดแดง รวมทั้งปริมาณฮีโมโกลบินอี ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.03$) แต่พบว่าปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ ซึ่งประกอบด้วยค่าร้อยละของปริมาณฮีโมโกลบินเอฟที่ตรวจวัดจากเครื่อง HPLC (% Hb F) ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเอฟในเลือด [Hb F (mg/dl)] และน้ำหนักเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอฟในเม็ดเลือดแดง [MCHF (ng)] แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.006$, 0.005 และ 0.010 ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อนำไปทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ Mann-Whitney U-Test พบว่าปริมาณฮีโมโกลบินเอฟที่ได้จากการตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC (% Hb F) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเอฟในเลือด [HbF (mg/dl)] และน้ำหนักเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอฟในเม็ดเลือดแดง [MCHF (ng)] ในกลุ่ม (+ / +) ซึ่งมีค่ามัธยฐานเท่ากับ 3.6 %, 371.5 mg/dl และ 731.0 ng, ตามลำดับ มีค่าสูงกว่ากลุ่ม (+ / -) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.4 %, 255.5 mg/dl และ 455.0 ng ตามลำดับ และกลุ่ม (- / -) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.5 %, 245.0 mg/dl และ 518.0 ng ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.01$ แสดงให้เห็นว่า γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมที่เป็นบวก เกี่ยวพันกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮีโมโกลบินเอฟในผู้ที่มียีน β^E จริง สอดคล้องกับการศึกษาของ Miller BA และคณะ⁽⁹⁾ ซึ่งได้ศึกษาในผู้ป่วยชาวซาอุดีอาระเบียที่ป่วยเป็น sickle cell anemia ที่มีระดับฮีโมโกลบินเอฟสูง และในคนปกติ พบว่าการแทนที่จาก C→T ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ -158 นี้มีผลต่อการเพิ่มฮีโมโกลบินเอฟในภาวะที่มี hemolytic stress และรายงานของ Gilman และ Huisman ซึ่งพบว่าการแทนที่ C→T ที่ตำแหน่ง -158 ของยีน γ - นี้เป็นโพลีมอร์ฟิสมที่เพิ่มอัตราส่วน $\gamma/\gamma + \alpha\gamma$ ในคนปกติและมีอิทธิพลต่อการเพิ่มฮีโมโกลบินเอฟในผู้ที่เป็น sickle cell anemia เช่นกัน⁽⁴⁾ จึงเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยโรคบีตาธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี ที่ยีน β^E เชื่อมโยงอยู่กับ

γ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมที่เป็นบวกจะมีปริมาณฮีโมโกลบิน
 เอฟสูงขึ้น แล้วไปมีผลทำให้ความรุนแรงของโรคลดลง
 คล้ายกับการศึกษาของ Bandyopadhyay S และคณะ
 ซึ่งพบว่ากรณี Xmn I polymorphism (+/+) มีความสัมพันธ์กับโรคปีตาธาลัสซีเมียที่มีอาการไม่
 รุนแรง⁽¹¹⁾ และมีประโยชน์ ในการช่วยพยากรณ์โรคใน
 ผู้ป่วยโรคฮีโมซัยกัสปีตาธาลัสซีเมียได้⁽¹²⁾

ส่วนกลุ่ม Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็นแบบ (- / -) มี
 จำนวนตัวอย่างน้อย แต่ก็เห็นแนวโน้มจะไม่แตกต่าง
 จากกลุ่ม (+ / -) (ตารางที่ 2 และ รูปที่ 2) จึงอาจเป็น
 ไปได้ว่าผลของ β^E อัลลีลที่มี Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็น
 บวกอัลลีลเดียวส่งผลต่อการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินเอฟ
 ไม่ได้เต็มที่เท่ากับ Xmn I โพลีมอร์ฟิสมเป็นบวกทั้ง 2
 อัลลีล อย่างไรก็ตามในฮีโมซัยกัสฮีโมโกลบินอีที่มี Xmn
 I โพลีมอร์ฟิสมเป็นแบบ (+/+) บางรายมีปริมาณ
 ฮีโมโกลบินเอฟต่ำกว่าค่ามัธยฐานของกลุ่ม (+ / -) และ
 (- / -) จึงอาจเป็นไปได้ว่าการที่ β^E อัลลีล ที่มี Xmn I
 โพลีมอร์ฟิสมเป็นบวก จะส่งผลต่อการสังเคราะห์ฮีโม
 โกลบินเอฟได้มากขึ้น อาจจะต้องมีปัจจัยอื่นมาร่วมด้วย
 ซึ่งน่าจะได้รับการศึกษาคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนจากฝ่ายวิจัย
 และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassemia syndromes. Fourth ed. Oxford, UK: Blackwell science; 2001.
2. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand. Ann Hematol 2003; 82: 612-6.

3. Fucharoen G, Trithipsombat J, Sirithawee S, Yamsri S, Changtrakul Y, Sanchaisuriya K, et al. Molecular and hematological profiles of hemoglobin EE disease with different forms of alpha-thalassemia. Ann Hematol 2006; 85: 450-4.
4. Gilman JG, Huisman TH. DNA sequence variation associated with elevated fetal G gamma globin production. Blood 1985; 66: 783-7.
5. Sampietro M, Thein SL, Contreras M, Pazmany L. Variation of HbF and F-cell number with the G-gamma Xmn I (C-T) polymorphism in normal individuals. Blood 1992; 79: 832-3.
6. Bandyopadhyay S, Mondal BC, Sarkar P, Chandra S, Das MK, Dasgupta UB. Two beta-globin cluster-linked polymorphic loci in thalassemia patients of variable levels of fetal hemoglobin. Eur J Haematol 2005; 75: 47-53.
7. Fucharoen S, Shimizu K, Fukumaki Y. A novel C-T transition within the distal CCAAT motif of the G gamma-globin gene in the Japanese HPFH: implication of factor binding in elevated fetal globin expression. Nucleic Acids Res 1990; 18: 5245-53.
8. Wood WG. Increased Hb F in adult life. Bailliere's Clin Haematol 1993; 6: 177-205.
9. Miller BA, Olivieri N, Salameh M, Ahmed M, Antognetti G, Huisman TH, et al. Molecular analysis of the high-hemoglobin-F phenotype in Saudi Arabian sickle cell anemia. N Engl J Med 1987; 316: 244-50.
10. Lolis D, Georgiou I, Loizou P, Makrydimas G. High HbF in pregnancy is associated with the Xmn I polymorphism at the -158 bp of the G gamma-globin gene. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1995; 60: 153-6.

11. Bandyopadhyay S, Roychowdhury K, Chandra S, Das M, Dasgupta UB. Variable severity of beta-thalassemia patients of eastern India: effect of alpha-thalassemia and XmnI polymorphism. Clin Exp Med 2001; 1: 155-9.
12. Gringras P, Wonke B, Old J, Fitches A, Valler D, Kuan AM, et al. Effect of alpha thalassaemia trait and enhanced gamma chain production on disease severity in beta thalassaemia major and intermedia. Arch Dis Child 1994; 70: 30-4.