

## ฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช

สัจจะ สุรพจน์<sup>1\*</sup>, กุลนภา ฟูเจริญ<sup>2</sup>, วีระชัย สายจันทา<sup>2</sup>, สนธยา ช่องเซ่ง<sup>2</sup>, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา<sup>2</sup>, สุพรรณ ฟูเจริญ<sup>2</sup>

### บทคัดย่อ

ทั้งฮีโมโกลบินอี (Hb E) และอัลฟาธาลัสซีเมีย ( $\alpha$ -thalassemia) มีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย จึงมีโอกาสพบผู้ที่ เป็น Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia ชนิดต่าง ๆ ได้บ่อย การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาความชุกของผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia ในประชากรภาคใต้ที่มาใช้บริการที่โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช จำนวน 204 ราย โดยทำการตรวจยีน Hb E และยีน  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA deletion),  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 และ 4.2 kb deletion) และ  $\alpha^{\text{Constant Spring}}$  ( $\alpha^{\text{CS}}$ ) ด้วยวิธี PCR พบความชุกของยีน  $\alpha$ -thalassemia 1,  $\alpha$ -thalassemia 2 และ  $\alpha^{\text{CS}}$  ร้อยละ 2.0, 15.7 และ 3.9 ตามลำดับ โดยจำแนก ตามจีโนไทป์ต่างๆ ได้ 11 แบบ คือ heterozygous Hb E ร้อยละ 71.1, heterozygous Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 ร้อยละ 1.5, heterozygous E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ร้อยละ 10.3, heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 (4.2 kb deletion) ร้อยละ 1.5, heterozygous Hb E ร่วมกับ พาหะ  $\alpha^{\text{CS}}$  ร้อยละ 2.9, heterozygous Hb E ร่วมกับ homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ร้อยละ 0.5, heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) และ  $\alpha^{\text{CS}}$  ร้อยละ 1.0, homozygous Hb E ร้อยละ 6.8, homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 1 ร้อยละ 0.5, homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ร้อยละ 2.4 และ  $\beta$ -thalassemia / Hb E ร้อยละ 1.5 เมื่อพิจารณาข้อมูลทางโลหิตวิทยา พบว่าเป็นการยากที่จะวินิจฉัย แยกจีโนไทป์ต่างๆ ทั้ง 11 แบบออกจากกันได้ ดังนั้นหากคู่สมรสของผู้ที่มี Hb E มียีน  $\alpha$ -thalassemia 1 ผู้ที่มี Hb E นั้น ควรได้รับการตรวจหา ยีน  $\alpha$ -thalassemia 1 ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25.0 เพื่อ ป้องกันทารกเกิดใหม่เป็นโรค Hb Bart's hydrops fetalis และความถูกต้องในการให้คำปรึกษาแนะนำทางกรรมพันธุ์

คำสำคัญ : ฮีโมโกลบินอี, อัลฟาธาลัสซีเมีย

<sup>1</sup> กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช

<sup>2</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\* ผู้รับผิดชอบบทความ

## Hb E - $\alpha$ - thalassemia at Maharaj Nakhon Si Thammarat hospital

Sutja Surapot<sup>1\*</sup>, Goonapa Fucharoen<sup>2</sup>, Weerachai Saijuntha<sup>2</sup>, Sontaya Hongseng<sup>2</sup>, Kanokwan Sanchaisuriya<sup>2</sup>, Supan Fucharoen<sup>2</sup>

### Abstract

Both hemoglobin E (Hb E) and  $\alpha$ -thalassemia are prevalence in Thailand. Hb E- $\alpha$ -thalassemia syndromes are therefore common. Individuals with these syndromes are at risk for both  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassemia diseases. In this study, the prevalence of Hb E- $\alpha$ -thalassemia was examined on 204 Southern Thai subjects who were encountered at the Maharaj Nakhon Si Thammarat hospital. The  $\alpha$ -thalassemia determinants examined using PCR methods included  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA type),  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb and 4.2 kb deletions) and Hb Constant Spring gene ( $\alpha^{CS}$ ). Hb E gene ( $\beta^E$ ) was confirmed in all cases using allele specific PCR. The prevalence of  $\alpha$ -thalassemia 1,  $\alpha$ -thalassemia 2 and  $\alpha^{CS}$  in this Thai population were found to be 2.0%, 15.7 % and 3.9%, respectively. As many as 11 Hb E genotypes were observed; 71.1% heterozygous Hb E, 1.5% heterozygous Hb E with heterozygous  $\alpha$ -thalassemia 1, 10.3% heterozygous Hb E with heterozygous  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb), 1.5% heterozygous Hb E with heterozygous  $\alpha$ -thalassemia 2 (4.2 kb), 2.9% heterozygous Hb E with heterozygous  $\alpha^{CS}$ , 0.5% heterozygous Hb E with homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2, 1.0% heterozygous Hb E with compound heterozygous  $\alpha$ -thalassemia 2 and  $\alpha^{CS}$ , 6.8% homozygous Hb E, 0.5% homozygous Hb E with heterozygous  $\alpha$ -thalassemia 1, 2.4% homozygous Hb E with heterozygous  $\beta$ -thalassemia 2 and 1.5%  $\alpha$ -thalassemia / Hb E disease. It was found that using hematological data alone it is very difficult to differentiate all these genotypes. It is therefore recommended for those with Hb E, whose couples are carriers of  $\alpha$ -thalassemia 1, to be examined for  $\alpha$ -thalassemia 1 especially when the level of Hb E is less than 25% in order to prevent the Hb Bart's hydrops fetalis and provide appropriate genetic counseling.

**KeyWords:** Hemoglobin E,  $\alpha$  - thalassemia

<sup>1</sup> Department of Clinical Pathology, Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital, Nakhon Si Thammarat

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

\* Corresponding author (e-mail: ssurapot@yahoo.co.th)

## บทนำ

ฮีโมโกลบินอีเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อยเป็นอันดับหนึ่งในประเทศและพบได้ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยในภาคกลางพบประมาณร้อยละ 10-13 ภาคเหนือพบประมาณร้อยละ 5 ภาคใต้พบประมาณร้อยละ 10 และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบประมาณร้อยละ 30-60 เกิดจากความผิดปกติของยีนบีตาโกลบินโดยการเกิดมิวเตชันขึ้นที่ตำแหน่งโคดอน 26 ของยีน ความผิดปกตินี้ทำให้สังเคราะห์สายโกลบินที่ผิดปกติ ( $\alpha_2\beta_2^{26\text{Glu-Lys}}$ ) และสังเคราะห์ได้น้อยลง จึงถูกจัดให้เป็นบีตาบวกลัสซีเมียชนิดหนึ่ง ผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีจะไม่แสดงอาการใดๆ ให้สังเกตได้ เม็ดเลือดแดงอาจมีขนาดเล็กกว่าปกติ ไม่ซีด ส่วนใหญ่มีระดับฮีโมโกลบินอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ ส่วนผู้ที่เป็ homozygote Hb E จะพบปริมาณของ Hb E ได้ประมาณร้อยละ 92-98 และมักจะพบฮีโมโกลบินเอฟ (Hb F) สูงขึ้นได้เล็กน้อย เพราะเปรียบเสมือนบีตาบวกลัสซีเมีย จึงมีการกระตุ้นยีนแกมมาโกลบิน ( $\gamma$ -globin) ให้สังเคราะห์สายแกมมาเพิ่มขึ้น เพื่อทดแทนส่วนของบีตาที่ยีนที่บกพร่องไป ส่วนภาวะอัลฟาธาลัสซีเมีย ( $\alpha$ -thalassemia) พบประมาณร้อยละ 3-9<sup>(1,2)</sup>

เนื่องจากฮีโมโกลบินอีและอัลฟาธาลัสซีเมียในประเทศไทยมีอุบัติการณ์สูงทั้งคู่ จึงมีโอกาสพบผู้ที่มีความผิดปกติของยีนทั้งสองชนิดรวมกันได้และสามารถถ่ายทอดความผิดปกติทั้งสองไปสู่ลูกหลานต่อไปได้อีก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีรายงานศึกษาในกลุ่มคนย้อย จังหวัดมุกดาหารและมหาสารคาม พบผู้ที่มีฮีโมโกลบินอีร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 สูงถึงร้อยละ 6.5 (3) และกลุ่มคนไทย-เขมรในจังหวัดสุรินทร์และบุรีรัมย์พบผู้ที่มีฮีโมโกลบินอีร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 และ 2 สูงถึงร้อยละ 21.6<sup>(4)</sup> การศึกษาในกลุ่มพาหะ Hb E ทั่วไปก็พบผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 และ  $\alpha$ -thalassemia 2 ได้หลากหลายจีโนไทป์<sup>(5)</sup> จึงเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่า สำหรับประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่อาจเกิดจากผู้ที่มี Hb E นั้น นอกจากโรค  $\beta$ -thalassemia / Hb E แล้วยังต้องระวังโรค homozygous  $\alpha$ -thalassemia 1 ที่อาจแฝงมาเสมอ การตรวจพบผู้ที่มี  $\alpha$ -thalassemia นี้ ไม่จำเพาะกับประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเท่านั้น จากการศึกษาในกลุ่มคนลาวโซ่ง

ในจังหวัดสุพรรณบุรี ก็พบพาหะ Hb E ที่มี  $\alpha$ -thalassemia 1 แฝงอยู่สูงถึงร้อยละ 5.2<sup>(6)</sup> ในภูมิภาคอื่นๆ ของประเทศไทย จึงควรได้รับการศึกษาด้วยเช่นกัน

การศึกษาในครั้งนี้ จึงสนใจศึกษาอัตราการตรวจพบผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia ในประชากรภาคใต้ของประเทศไทย เนื่องจากเคยมีรายงานความชุกของ Hb E สูงถึงร้อยละ 40.5 ในคู่สมรสที่เสี่ยงต่อการที่บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์<sup>(7)</sup> และยังมีรายงานการตรวจพบ  $\alpha$ -thalassemia สูงในภาคใต้ด้วย<sup>(8)</sup> จึงมีโอกาสที่จะพบความผิดปกติทั้งสองอย่างรวมกันได้

## วิธีการศึกษา

### 1. ตัวอย่างเลือดและข้อมูลพื้นฐานทางโลหิตวิทยา

เป็นตัวอย่างเลือดที่ใช้ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งของประชากรในจังหวัดนครศรีธรรมราช ที่มารับบริการตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินที่โรงพยาบาลมหาสารคามนครศรีธรรมราช ตัวอย่างเลือดทุกรายได้รับการตรวจค่าพื้นฐานทางโลหิตวิทยาด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติและตรวจตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Hb Gold Analyzer (Drew Scientific Limited, UK) ศึกษาระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2544 จำนวน 204 ราย ตัวอย่างเลือดที่เหลือ ส่งต่อไปรับการตรวจยืนยันยีน Hb E และตรวจหายีน  $\alpha$ -thalassemia ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

### 2. การตรวจยีนธาลัสซีเมีย

ตัวอย่างเลือดทุกรายถูกนำไปเตรียมดีเอ็นเอด้วยวิธีมาตรฐาน<sup>(9)</sup> เพื่อตรวจหายีน  $\alpha$ -thalassemia ชนิด SEA deletion โดยวิธี GAP-PCR<sup>(10,11)</sup> การตรวจหายีน  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 3.7 และ 4.2 kb deletion ใช้วิธี PCR ที่ตีพิมพ์ไว้แล้ว<sup>(12)</sup> ส่วนการตรวจยืนยันยีน  $\alpha^{\text{CS}}$  และ  $\beta^{\text{E}}$  ใช้วิธี allele specific PCR<sup>(13,14)</sup>

## ผลการศึกษา

จากตัวอย่างทั้งหมดที่มี Hb E จำนวน 204 ราย จำแนกตามชนิดฮีโมโกลบินที่ตรวจพบได้เป็น EA 181 ราย, EE 20 ราย, EFA 2 ราย และ EF 1 ราย เมื่อนำมาตรวจหายีน

$\alpha$ -thalassemia ที่พบได้บ่อยในประเทศไทย พบยีน  $\alpha$ -thalassemia 1,  $\alpha$ -thalassemia 2 และ  $\alpha^{CS}$  ในอัตรา ร้อยละ 2.0, 15.7 และ 3.9 ตามลำดับ สามารถจำแนก จีโนไทป์ออกได้เป็น 11 แบบ คือ heterozygous Hb E ที่ ไม่มียีน  $\alpha$ -thalassemia ร่วม ( $\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha\alpha$ ) จำนวน 145 ราย (ร้อยละ 71.1), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 1 ชนิด SEA deletion ( $\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha\alpha/-^{SEA}$ ) จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 1.5), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 3.7 kb deletion ( $\alpha^A/\beta^E, \alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ ) จำนวน 21 ราย (ร้อยละ 10.3), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 4.2 kb deletion ( $\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ ) จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 1.5), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะฮีโมโกลบินคอนสแตนต์ สปริง ( $\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha$ ) จำนวน 6 ราย (ร้อยละ 2.9),

heterozygous Hb E ร่วมกับ homozygous  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 3.7 kb deletion ( $\beta^A/\beta^E, -\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ ) จำนวน 1 ราย (ร้อยละ 0.5), heterozygous Hb E ร่วมกับ compound heterozygous  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) และ  $\alpha^{CS}$  ( $\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha^{CS}\alpha/-\alpha^{3.7}$ ) จำนวน 2 ราย (1%), homozygous Hb E ที่ไม่มียีน  $\alpha$ -thalassemia ร่วม ( $\alpha^E/\alpha^E$ ) จำนวน 14 ราย (ร้อยละ 6.8), homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 1 ( $\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/-^{SEA}$ ) จำนวน 1 ราย (ร้อยละ 0.5), homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ( $\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ ) จำนวน 5 ราย (ร้อยละ 2.4) และ  $\alpha$ -thalassemia / Hb E ที่ ไม่มี  $\alpha$ -thalassemia ร่วม ( $\alpha^{thal}/\alpha^E$ ) จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 1.5) ดังแสดงใน ตารางที่ 1 โดยแต่ละจีโนไทป์ได้แสดง ข้อมูลทางโลหิตวิทยาไว้ใน ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 จีโนไทป์ที่ตรวจพบในผู้ที่มี Hb E จำนวน 204 รายที่ศึกษา

Genotype	Hb type	No.	%
1. Heterozygous Hb E ( Hb E trait )	EA	145	71.1
2. Heterozygous Hb E with $\alpha$ - thal 1 ( SEA type )	EA	3	1.5
3. Heterozygous Hb E with $\alpha$ - thal 2 (3.7 kb)	EA	21	10.3
4. Heterozygous Hb E with $\alpha$ - thal 2 ( 4.2 kb )	EA	3	1.5
5. Heterozygous Hb E with $\alpha^{CS}$	EA	6	2.9
6. Heterozygous Hb E with homozygous $\alpha$ - thal 2 ( 3.7 kb )	EA	1	0.5
7. Heterozygous Hb E with compound $\alpha$ - thal 2 ( 3.7 kb ) / $\alpha^{CS}$	EA	2	1.0
8. Homozygous Hb E	EE	14	6.8
9. Homozygous Hb E with $\alpha$ - thal 1 (SEA type)	EE	1	0.5
10. Homozygous Hb E with $\alpha$ - thal 2 ( 3.7 kb )	EE	5	2.4
11. $\beta$ - thalassemia / Hb E	EFA	2	1.0
<b>Total</b>		<b>204</b>	<b>100</b>

**ตารางที่ 2** ข้อมูลโลหิตวิทยาของผู้ที่มี Hb E จำแนกตามจีโนไทป์ต่างๆที่ตรวจพบ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ต่ำสุด - สูงสุด)

F = female, M = male

Genotype (n)	Age (year)	Sex	Hb type	Hb E (%)	Hb F (%)	Hb (g/dl)	Hct (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	RDW (%)
Hb E trait (145)	N = 86 27.6 $\pm$ 7.2 ( 15 - 59 )	F = 118 M = 21	EA	N = 139 28.9 $\pm$ 2.6 (16.5 - 43.3 )	N = 139 < 0.5 (138) 3.7 (1)	N = 116 11.2 $\pm$ 1.5 (6.8 - 15.3)	N = 130 35.1 $\pm$ 4.4 (21.0 - 47.4)	N = 116 78.4 $\pm$ 5.8 (61.0 - 89.0)	N = 58 25.1 $\pm$ 2.7 (13.1 - 29.4)	N = 58 32.3 $\pm$ 0.9 (29.2 - 35.0)	N = 56 15.0 $\pm$ 1.6 (13.1 - 23.5)
Hb E trait with $\alpha$ -thal 1 trait (3)	N = 2 26, 42	F = 2 M = 1	EA	N = 3 20.1, 21.0, 21.2	< 0.5	N = 2 12.7, 13.1	N = 2 41.4, 45.0	N = 2 75.4, 69.0	N = 2 23.1, 21.1	N = 2 30.6, 30.7	N = 2 13.7, 15.7
Hb E trait with $\alpha$ -thal 2 trait (3.7 kb) (21)	N = 11 27.7 $\pm$ 6.3 ( 21 - 40 )	F = 19 M = 1	EA	N = 20 26.7 $\pm$ 2.9 (19.3 - 30.6)	< 0.5	N = 14 10.8 $\pm$ 2.1 (5.6 - 14.5)	N = 19 33.7 $\pm$ 5.1 (19.0 - 44.8)	N = 14 79.2 $\pm$ 11.0 (55.0 - 91.0)	N = 6 25.2 $\pm$ 4.5 (18.8 - 29.6)	N = 6 32.0 $\pm$ 0.7 (31.0 - 32.8)	N = 6 16.2 $\pm$ 4.0 (12.7 - 23.5)
Hb E trait with $\alpha$ -thal 2 trait (4.2 kb) (3)	N = 1 20	F = 3 M = 0	EA	N = 3 23.7, 27.2 28.3	< 0.5	N = 2 10.1, 11.5	N = 3 31.0, 34.3 38.0	N = 2 80.0, 80.1	N = 1 26.2	N = 1 32.7	N = 1 14.0
Hb E trait with $\alpha^{cs}$ trait (6)	N = 3 20, 28, 30	F = 5 M = 1	EA	N = 6 25.9 $\pm$ 1.7 ( 22.5 - 27.1)	< 0.5	N = 4 10.4 $\pm$ 0.6 (9.9 - 11.2)	N = 6 33.4 $\pm$ 3.9 (29.0 - 40.0)	N = 4 82.2 $\pm$ 1.5 (79.9 - 83.0)	N = 2 26.8, 26.9	N = 2 32.3, 32.4	N = 2 13.6, 14.2

**ตารางที่ 2** ข้อมูลโลหิตวิทยาของผู้ที่มี Hb E จำนวนตามจีโนไทป์ต่างๆที่ตรวจพบ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ต่ำสุด - สูงสุด) (ต่อ)

F = female, M = male

Genotype (n)	Age (year)	Sex	Hb type	Hb E (%)	Hb F (%)	Hb (g/dl)	Hct (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	RDW (%)
Hb E trait with homozygous $\alpha$ -thal 2 (3.7 kb) (1)	21	F	EA	23.6	< 0.5	9.6	30.0	76.9	ND	ND	ND
Hb E trait with $\alpha$ -thal 2 <sup>(3.7kb)</sup> / $\alpha$ <sup>CS</sup> (2)	30, 34	F = 2	EA	23.7, 23.9	< 0.5	10.8, 10.3	34.1, 31.9	74.1, 72.5	23.4, 23.6	31.6, 32.5	13.1, 14.5
Homozygous Hb E (14)	N = 12 29.8 ± 11.8 (17 - 62)	F = 13 M = 1	EE	N = 14 85.2 ± 3.4 (79.5 - 90.8)	N = 12 5.1 ± 3.1 (2.4 - 12.1)	N = 14 9.9 ± 1.4 (6.8 - 12.6)	N = 14 32.0 ± 4.4 (23.0 - 40.0)	N = 14 67.2 ± 6.4 (55.3 - 82.0)	N = 7 21.5 ± 1.2 (20.3 - 23.4)	N = 7 31.9 ± 0.6 (31.1 - 32.8)	N = 7 16.9 ± 1.3 (15.2 - 18.4)
Homozygous Hb E with $\alpha$ -thal 1 trait (1)	16	F	EE	85	2.9	10.5	33.5	74.5	23.4	31.3	15.0
Homozygous Hb E With $\alpha$ -thal 2 (3.7 kb) trait (5)	N = 1 25	F = 3 M = 2	EE	N = 5 90.1 ± 3.6 (87.3 - 95.8)	N = 2 1.8, 2.1	N = 3 6.9, 12.1 13.7	N = 4 37.2 ± 10.0 (23.0 - 46.0)	N = 3 57.0, 65.0 70.2	N = 0 N = 0	N = 0 N = 0	N = 0 N = 0
$\beta$ -thal / Hb E (3)	N = 2 11, 38	F = 2 M = 1	EFA (2) EF (1)	N = 3 53.6, 53.7, 75.5	N = 3 7.7, 10.7 14.0	N = 3 7.1, 8.7 10.9	N = 3 22.6, 27.4 36.0	N = 3 53.4, 60.0 61.0	N = 2 16.8, 19.4	N = 2 31.5, 31.8	N = 2 21.1, 33.1

## วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาตัวอย่างผู้ที่มี Hb E ที่โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช จำนวน 204 ราย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพาหะของ Hb E (ร้อยละ 88.7) นำมาตรวจหาฮีนแฟง  $\alpha$ -thalassemia พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษากลุ่มประชากรทั่วไปที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ซึ่งได้รายงานตรวจพบอุบัติการณ์ของฮีน  $\alpha$ -thalassemia 1,  $\alpha$ -thalassemia 2 และ  $\alpha^{CS}$  ร้อยละ 4.3, 12.0 และ 5.8 ตามลำดับ<sup>(8)</sup> จะเห็นว่าในกลุ่มประชากรที่มี Hb E ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีอัตราการตรวจพบฮีน  $\alpha$ -thalassemia 1 น้อยกว่าในกลุ่มประชากรทั่วไปที่ศึกษาที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์และน้อยกว่าในกลุ่มประชากรที่มี Hb E ที่เคยศึกษาไว้ในประชากรกลุ่มต่างๆในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ<sup>(3-5)</sup> และภาคกลาง<sup>(6)</sup> อย่างไรก็ตามถือได้ว่ามีอัตราการตรวจพบอยู่ในเกณฑ์ที่ต้องเฝ้าระวังการเกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจากผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 ด้วยเช่นกัน คือโรค  $\beta$ -thalassemia / Hb E และ homozygous  $\alpha$ -thalassemia 1 หรือ Hb Bart's hydrops fetalis ด้วย ซึ่งกรณีหลังนี้ทารกจะมีอาการบวมและเสียชีวิตหลังคลอด เป็นการสูญเสียอย่างมากต่อครอบครัวผู้ป่วย และนอกจากนี้มารดาที่ตั้งครรภ์มีโอกาสเกิดอาการครรภ์เป็นพิษและเสียชีวิตได้เช่นกัน<sup>(15)</sup>

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ผลการศึกษาที่ได้ในตัวอย่างดีเอ็นเอแต่ละราย สามารถนำมาสรุป genotype ของผู้ที่มี Hb E ที่มีและไม่มีฮีน  $\alpha$ -thalassemia ได้ทั้งสิ้น 11 แบบ ซึ่งจะเห็นว่ามีความหลากหลายของ genotype เหมือนกับที่มีรายงานในประชากรกลุ่มต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือด้วยเช่นกัน<sup>(4,5)</sup> โดยชนิดที่มีความชุกสูง คือ heterozygous Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 2 ชนิด 3.7 kb deletion การพบร่วมกันของ Hb E และ  $\alpha$ -thalassemia นี้ทำให้มีการลดลงของสายโกลบินทั้งสาย  $\alpha$  และสาย  $\beta$  จึงทำให้มีสายโกลบินอิสระเหลือน้อยกว่าการเป็นธาลัสซีเมียชนิดใดชนิดหนึ่ง ทำให้เม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติลดลง การถูกทำลายก็ลดลงด้วย จึงเป็นผลดีว่าการเป็นพาหะชนิดใดชนิดหนึ่ง

เมื่อทำการศึกษาข้อมูลทางโลหิตวิทยาได้แก่ Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, Hb typing, ปริมาณ Hb E และปริมาณ Hb F ในผู้ที่มี genotype ต่างๆ เพื่อเป็น

แนวทางเบื้องต้นในการวินิจฉัยแยกผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia พบว่า ผู้ที่เป็น heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ  $\alpha$ -thalassemia 1 เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่เป็น heterozygous Hb E ที่ไม่มีฮีน  $\alpha$ -thalassemia 1 ร่วม จะมีปริมาณ Hb E ที่ตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb gold อยู่ในช่วงร้อยละ 20.0-21.2 ซึ่งต่ำกว่าผู้ที่เป็น heterozygous Hb E ที่ไม่มีฮีน  $\alpha$ -thalassemia 1 คล้ายกับข้อมูลที่เคยมีรายงานในกลุ่มอื่นๆ<sup>(3-6)</sup> ทั้งนี้เป็นเพราะสาย  $\alpha$ -globin จับกับสาย  $\beta$ -globin ที่ปกติได้ดีกว่าสาย  $\beta^E$ -globin เมื่อมีปริมาณสาย  $\alpha$ -globin ลดลง จึงทำให้ปริมาณ Hb E ลดลงด้วย<sup>(16)</sup> อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาในตัวอย่างที่เป็น heterozygous Hb E ที่มีฮีน  $\alpha$ -thalassemia 2 ร่วม ปริมาณ Hb E ไม่ลดต่ำลงมากนักดังแสดงใน ตารางที่ 2 สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานในกลุ่มอื่น<sup>(4,5)</sup> เนื่องจากการมีปริมาณ Hb E ลดต่ำกว่าที่ควรจะเป็น อาจมีปัจจัยอย่างอื่นร่วมด้วย เช่น ภาวะขาดเหล็ก<sup>(17,18)</sup> หรือในกรณีที่เป็นเด็กอายุน้อยกว่า 1 ปี ที่ยังสร้างสาย  $\beta$ -globin ได้ไม่สมบูรณ์ เป็นต้น ข้อมูลจากการศึกษาในภาคใต้แสดงให้เห็นว่าประมาณ 1 ใน 3 ของตัวอย่างพาหะ Hb E ที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 22.0 มีโอกาสเป็นพาหะ Hb E ร่วมกับ  $\alpha$ -thalassemia 1 ได้ สัดส่วนนี้ต่ำกว่าที่พบในกลุ่มประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเคยมีรายงานว่าในกลุ่มที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25.0 (ตรวจวัดด้วยวิธี microcolumn chromatography) มีโอกาสพบ  $\alpha$ -thalassemia 1 ได้ประมาณ 1 ใน 2<sup>(19)</sup> ส่วนในกลุ่ม homozygous Hb E นั้น การมีฮีน  $\alpha$ -thalassemia 1 หรือ  $\alpha$ -thalassemia 2 ร่วม ไม่มีผลให้ปริมาณ Hb E ที่ตรวจพบแตกต่างกันอย่างชัดเจนเช่นเดียวกับข้อมูลทางโลหิตวิทยาอื่นๆด้วย สอดคล้องกับที่เคยศึกษาไว้ก่อนแล้ว<sup>(20)</sup> อย่างไรก็ตามเนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่มีข้อมูลทางโลหิตวิทยาครบถ้วนในรายที่มี  $\alpha$ -thalassemia ร่วม มีจำนวนไม่มากนัก จึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ข้อมูลทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ข้อมูลทางโลหิตวิทยาเพียงอย่างเดียวคงให้การวินิจฉัยแยกภาวะร่วมเหล่านี้ได้ยาก ดังนั้นในรายที่คู่สมรสมีฮีน  $\alpha$ -thalassemia 1 คู่สมรสอีกฝ่ายหนึ่งที่มี Hb E โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 22.0 จากการตรวจวัดด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold ควรได้รับการตรวจฮีน

$\alpha$ -thalassemia 1 ด้วย และหากจำเป็นต้องให้ข้อมูลรวมไปถึงโอกาสของการมีบุตรเป็น compound heterozygous  $\alpha$ -thalassemia 1 /  $\alpha$ -thalassemia 2 หรือ  $\alpha$ -thalassemia 1 / Hb Constant Spring (Hb H disease) ก็อาจจำเป็นต้องตรวจหา  $\alpha$ -thalassemia 2 และ  $\alpha^{CS}$  ในผู้ที่มี Hb E ซึ่งมีคู่สมรสที่ทราบแล้วว่ามียีน  $\alpha$ -thalassemia 1 ด้วยทุกราย

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก โครงการวิจัย ธารัสซีเมีย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

## เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravatmuang P, Winichagoon P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. *Ann NY Acad Sci* 1980; 344: 252-63.
2. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. *Hemoglobin* 1987; 11: 65-88.
3. กุลนภา ฟูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่ อึ้ง, จำเนียร กิ่งแก้ว, สุภาพ บุญสา และคณะ. ธารัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มคนย้อยในจังหวัดมหาสารคามและมุกดาหาร. *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2543; 28: 55-61.
4. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassaemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 364-72.
5. 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.
6. กษม อายุการ, กุลนภา ฟูเจริญ, สุพรรณ ฟูเจริญ. ธารัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มลาวโซ่ง จังหวัดสุพรรณบุรี. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2539; 81: 49-54.
7. จำนง นพรัตน์. การตรวจวินิจฉัยปีตาธารัสซีเมียก่อนคลอด. การประชุมวิชาการธารัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 6, อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 3-5 พฤษภาคม 2543.
8. Sriroongrueng W, Pornpatkul M, Panich V, Fucharoen S.  $\alpha$ -thalassemia incidence in Southern Thailand by restriction endonuclease analysis of globin DNA from placental blood at Songklanakarind hospital. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 28(suppl. 3): 93-6.
9. สุพรรณ ฟูเจริญ. การเตรียมตัวอย่างจีโนมดีเอ็นเอ. ใน: สุพรรณ ฟูเจริญ (บรรณาธิการ) ธารัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย ตอนที่ 2. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2543; 78-81.
10. Panyasai S, Sringam P, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. A simplified screening for  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA type) using a combination of a modified osmotic fragility test and a direct PCR on whole blood cell lysates. *Acta Haematol* 2002; 108: 74 -78.
11. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha(0)-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2007; 117: 78-82.
12. สุพรรณ ฟูเจริญ, กุลนภา ฟูเจริญ, ยุทธนา เฟื่องแจ่ม. การตรวจอัลฟาธารัสซีเมีย 2 ชนิด ดีเอ็นเอดีลีชันด้วยวิธีพีซีอาร์. *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2543; 28: 17-24.
13. Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Jetsrisuparb A, Fukumaki Y. A simple non radioactive assay for hemoglobin E gene in prenatal diagnosis. *Clin Chim Acta* 1994; 229: 197-203.
14. Fucharoen G, Fucharoen S. Rapid and simultaneous non-radioactive method for detecting  $\alpha$ -thalassemia 1 (SEA type) and Hb Constant Spring genes. *Eur J Haematol* 1994; 53: 186-7.

15. Chui DHK, Waye JS. Hydrops fetalis caused by  $\alpha$ -thalassemia: an emerging health care problem. *Blood* 1998; 91: 2213 - 22.
16. Honig GR, Adams JG III. Human hemoglobin genetics. Springer-Verlag 1986; 206-8.
17. Wong JC, Ali MAM. Hemoglobin E disease: hematological, analytical and biosynthetic studies in homozygotes and double heterozygotes for  $\alpha$ -thalassemia. *Am J Hematol* 1982; 13: 15-21.
18. Wasi P, Disthasongchan P, Na-Nakorn S. The effect of iron deficiency on the level of hemoglobins A2 and E. *J Lab Clin Med* 1968; 71: 85-91.
19. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of Hb E heterozygotes with  $\alpha$ -thalassemia forms of  $\alpha$ -thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612-6.
20. Fucharoen G, Trithipsombat J, Sirithawee S, Yansri 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.