

อุบัติการณ์ของฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงและฮีโมโกลบินปากเซ ที่จังหวัดขอนแก่น: สำรวจด้วยวิธี capillary electrophoresis และการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

กานดา ศรกายสิทธิ์¹, กุลนภา พู่เจริญ^{2*}, สุพรรณ พู่เจริญ², อัฐวุฒิ ไชยบุญเรือง², บัณฑิต ชิวเสถียรชัย³,
พิชราภรณ์ พาณิช³, สุนททอง พรพินธ์บุญ³, ฬะยุกร สาบุญ³, ฟองศรี แสนไชยสุริยา³, อุษา รุสราณก³

Received: September 5, 2012

Revised & Accepted: October 24, 2012

บทคัดย่อ

ฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง (Hb CS) และฮีโมโกลบินปากเซ (Hb Paksé) เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อยในคนไทย จัดเป็นอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2 ชนิดหนึ่ง ฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งสองชนิดนี้ไม่สามารถวินิจฉัยแยกออกจากกันได้ด้วยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินประกอบกับมีปริมาณน้อยในเลือดจึงตรวจได้ยากและอาจตรวจไม่พบได้ในงานประจำวัน เพื่อเป็นการปรับปรุงข้อมูลฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งสองชนิดในประชากร ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาอุบัติการณ์ของฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งสองชนิดนี้ใหม่ ตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยวิธี capillary electrophoresis ร่วมกับการตรวจวิเคราะห์ยีนด้วยวิธี multiplex allele specific PCR ศึกษาจากตัวอย่างเลือดสายสะดือทารกแรกเกิดจำนวน 340 ราย คลอดต่อเนื่องที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ศูนย์อนามัยที่ 6 จังหวัดขอนแก่นระหว่างเดือนมกราคม-พฤษภาคม 2555 ผลการศึกษาพบทารกแรกเกิดที่มียีน Hb CS 17 ราย (ร้อยละ 5.0), Hb Paksé 5 ราย (ร้อยละ 1.5) โดยแยกตามจีโนไทป์ได้เป็น heterozygous Hb CS 11 ราย, double heterozygous Hb CS / Hb E 1 ราย, compound heterozygous Hb CS / α -thal 2 (3.7 kb) 1 ราย, compound heterozygous Hb CS / α -thal 2 (3.7 kb) with heterozygous Hb E 3 ราย, compound heterozygous Hb CS / α -thal 2 (3.7 kb) with homozygous Hb E 1 ราย, heterozygous Hb Paksé 2 ราย, double heterozygous Hb Paksé / Hb E 3 ราย คิดเป็นความถี่ของยีน Hb CS และ Hb Paksé เท่ากับ 0.025 และ 0.007 ตามลำดับ ในจำนวน 22 รายที่ตรวจพบยีน Hb CS หรือ Hb Paksé นี้ มีเพียง 5 รายเท่านั้นที่ตรวจพบ peak เล็กๆของฮีโมโกลบินที่ตำแหน่งโซน 2 ตรงกับ Hb CS หรือ Hb Paksé ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าความผิดปกติทั้งสองชนิดมีอุบัติการณ์และมีปฏิสัมพันธ์กับยีนธาลัสซีเมียชนิดอื่นสูง การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเพียงอย่างเดียวไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ทุกราย และ ยังสะท้อนให้เห็นว่า การตรวจพบ peak เล็กๆ ที่โซน 2 ในงานประจำวัน แล้วรายงานเป็น Hb CS นั้น มีโอกาสเป็น Hb Paksé ได้สูงถึง ร้อยละ 22.7 สำหรับประชากรในกลุ่มที่ศึกษา ข้อมูลที่ได้มีประโยชน์ต่อการให้คำแนะนำปรึกษาทางพันธุกรรมแก่ผู้ป่วยและการดำเนินงานด้านการควบคุมและป้องกันโรคในพื้นที่ต่อไป

คำสำคัญ: Hb Constant Spring, Hb Pakse', Incidence, Capillary electrophoresis, DNA analysis

¹นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ และ ²ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ³โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ศูนย์อนามัยที่ 6 จังหวัดขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Incidence of Hb Constant Spring and Hb Paksé in Khon Kaen province: Examination using capillary electrophoresis and DNA analysis

Kanda Sornkayasi¹, Goonnapa Fucharoen^{2*}, Supan Fucharoen², Attawut Chaibunruang²,
Muttanee Chewasateanchai³, Phatcharaporn Panich³, Sontong Pornphannukool³,
Peerayut Sanukool³, Pongsee Sanchaisuriya³, Ousa Thusaranon³

Abstract

Hemoglobin Constant Spring (Hb CS) and Hb Paksé are the two common abnormal Hbs causing non-deletional α -thalassemia 2 in Thailand. Hb analysis could not separate them. Both are unstable; their levels in peripheral blood are so small that they could be undetected in routine setting. To update recent information of the two Hbs in population, the incidences of Hb Constant Spring and Hb Paksé were re-examined using capillary electrophoresis and multiplex allele specific PCR. Three hundred and forty cord blood specimens anticoagulated with EDTA were consecutively collected from newborns delivered at the Health Promotion Center Region 6, Khon Kaen province during January - May 2012. Among these, we identified 17 cases (5.0 %) with Hb CS and 5 cases (1.5 %) with Hb Paksé, including 11 heterozygous Hb CS, 1 double heterozygous Hb CS / Hb E, 1 compound heterozygous Hb CS / α -thal 2 (3.7 kb deletion), 3 compound heterozygous Hb CS / α -thal 2 (3.7 kb deletion) with heterozygous Hb E, 1 compound heterozygous Hb CS / α -thal 2 (3.7 kb deletion) with homozygous Hb E, 2 heterozygous Hb Paksé, 3 double heterozygous Hb Paksé - Hb E. The gene frequencies for Hb CS and Hb Paksé were 0.025 and 0.007 respectively. It was found that among these 22 cases with Hb CS and Hb Paksé genes, small peaks at zone 2 on capillary electrophoresis were detected in only 5 of them. The result in this study indicates high incidences and heterogeneity of the two Hbs in northeast Thai population. Diagnosis made by Hb analysis was not sufficient, requiring further DNA analysis. Moreover, data demonstrates that approximately 22.7 % of diagnosis of Hb CS based on a small peak of Hb in zone 2 of the routine capillary electrophoresis could alternatively be Hb Paksé in this population. The results from this study should prove useful in genetic counseling and facilitating a prevention and control program of thalassemia in the region.

Keywords: Hb Constant Spring, Hb Paksé, Incidence, Capillary electrophoresis, DNA analysis

¹ Medical Science Program, Graduate School, ² Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University,

³ Health Promotion Center Region 6, Khon Kaen province

* Corresponding author: (e-mail: goonnapa@kku.ac.th)

บทนำ

ฮีโมโกลบินคอนสแตนท์ สปริง (Hb Constant Spring; Hb CS) เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากการกลายพันธุ์ที่โคดอนยุติของยีน $\alpha 2$ โกลบิน ณ ตำแหน่งโคดอน 142 เปลี่ยนจาก TAA (termination codon) เป็น CAA (Gln)⁽¹⁾ ทำให้เกิดการสร้างสายอัลฟา-โกลบินที่มีกรดอะมิโนเพิ่มเป็น 172 ตัว เป็นฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียรทั้งในระดับ mRNA และตัวฮีโมโกลบินโมเลกุล^(2,3) จึงมักตรวจพบในปริมาณที่น้อยกว่าร้อยละ 1 ของฮีโมโกลบินรวมในเลือดในผู้ที่ป่วยเป็น Hb CS จึงจัดเป็น α -thalassemia 2 และเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อยในคนไทย หากพบร่วมกับ α -thalassemia 1 ทำให้เกิดโรค Hb H ที่มีอาการซีด ตับม้ามโตได้^(4,5) ส่วน Hb Paksé เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติอีกชนิดหนึ่งที่เกิดจากการกลายพันธุ์ที่โคดอนยุติของยีน $\alpha 2$ โกลบิน ณ ตำแหน่งโคดอน 142 เช่นกัน แต่เปลี่ยนจาก TAA (termination codon) เป็น TAT (Tyr)⁽⁶⁾ มีการรายงานครั้งแรกในคนไทยในปี พ.ศ.2545 จากตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินแล้วรายงานเป็น Hb CS แต่ตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอแล้วไม่พบยีน Hb CS ซึ่งเมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เบสของยีน $\alpha 2$ โกลบิน จึงพบว่า เป็น Hb Paksé⁽⁷⁾ เมื่อพบร่วมกับ α -thalassemia 1 ทำให้เกิดโรค Hb H ที่มีอาการซีด ตับม้ามโตได้เช่นเดียวกับผู้ที่เป็นโรค Hb H-CS⁽⁷⁻⁹⁾ เป็นฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียร⁽¹⁰⁾ จึงพบในเลือดได้ปริมาณน้อยเช่นเดียวกับ Hb CS และเนื่องจาก Hb CS และ Hb Paksé มีโครงสร้างโมเลกุลที่คล้ายกันมาก แตกต่างกันที่กรดอะมิโนโคดอนที่ 142 ตำแหน่งเดียวโดยที่ประจุสุทธิไม่ต่างกันทำให้เมื่อตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในเลือดจึงไม่สามารถวินิจฉัยแยกจากกันได้ ที่ผ่านมามีการรายงานสัดส่วนการตรวจพบ Hb Paksé น้อยกว่า Hb Constant Spring ทั้งในประชากรไทย⁽¹¹⁾ ลาว^(12,13) และเขมร⁽¹⁴⁾ การรายงานการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในเลือดเมื่อปรากฏลักษณะโครมาโตแกรม หรือ อิเล็กโตรโฟรัมที่ตรงกับ Hb CS หรือ Hb Paksé ตามแนวทางการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในเลือดของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงกำหนดให้รายงานเป็น Hb CS ทุก ราย หากต้องการวินิจฉัยแยกเพื่อระบุจีโนไทป์จะต้องตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ซึ่งที่ผ่านมามีการรายงานอุบัติการณ์ของ Hb CS ในจังหวัดขอนแก่น⁽¹⁵⁾ แต่ยังไม่เคยมีการรายงานอุบัติการณ์ Hb Paksé ทั้งในจังหวัดขอนแก่นและประชากรไทยในภูมิภาคตะวันออกเฉียงเหนือมาก่อน ผู้วิจัยจึงได้ตรวจหาอุบัติการณ์

ของฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งสองชนิดนี้ ด้วยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่อง Capillary electrophoresis ร่วมกับการตรวจยีน Hb CS และ Hb Paksé ด้วยวิธี multiplex allele specific PCR ศึกษาจากตัวอย่างเลือดสายสะดือทารกแรกเกิดที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ศูนย์อนามัยที่ 6 จังหวัดขอนแก่น เพื่อเป็นการปรับปรุงข้อมูลประชากรพันธุศาสตร์ของ Hb CS และ Hb Paksé และเป็นข้อมูลสำหรับการให้ปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรมต่อไป

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างเลือด

เป็นตัวอย่างเลือดจากสายสะดือทารกแรกเกิด เก็บโดยใช้ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง จำนวน 340 ราย คลอดต่อเนื่องที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ศูนย์อนามัยที่ 6 จังหวัดขอนแก่นระหว่างเดือนมกราคม-พฤษภาคม 2555 ซึ่งได้รับการลงนามอนุญาตจากหญิงตั้งครรภ์ในช่วงที่มาตรวจติดตามครรภ์ก่อนคลอดแล้ว การศึกษาวิจัยครั้งนี้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE 542253)

การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและดีเอ็นเอ

ตัวอย่างเลือดทุกรายถูกนำไปตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Capillarys 2 flex piercing (Sebia, France) ที่หน่วยบริการธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้เลือดสายสะดือทารก 5 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำยาเพื่อทำให้เม็ดเลือดแดงแตก 90 ไมโครลิตร ก่อนนำไปเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่างเลือดที่เหลือนำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีมาตรฐาน นำไปตรวจหายีนอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 (ชนิด SEA และ THAI deletion) ด้วยเทคนิค multiplex Gap-PCR⁽¹⁶⁾, ยีนอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 2 (ชนิด 3.7 และ 4.2 kb deletion) ร่วมกับยีน 3 อัลฟา-โกลบิน (triplicated α -globin gene) ด้วยเทคนิค multiplex gap-PCR^(17,18) และตรวจยีน Hb CS / Hb Paksé ด้วยเทคนิค multiplex allele specific PCR⁽¹⁴⁾

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างดีเอ็นเอทารกแรกเกิดทั้งหมด 340 ราย ตรวจพบยีน Hb CS 17 ราย (ร้อยละ 5.0), Hb Paksé 5 ราย

(ร้อยละ 1.5) คิดเป็นความถี่ของยีน Hb CS และ Hb Paksé เท่ากับ 0.025 และ 0.007 ตามลำดับ ดังแสดงใน ตารางที่ 1 ซึ่งเมื่อจำแนกตามจีโนไทป์ จากผลการตรวจดีเอ็นเอทั้งหมด พบเป็น 1. Heterozygous Hb CS 11 ราย ซึ่งใน 11 ราย นี้มีผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น CSFABart's 1 ราย, CSA₂FA Bart's 2 ราย , FABart's 5 ราย, FA 3 ราย 2. Double heterozygous Hb CS / Hb E 1 ราย มี ผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น EFA 3. Compound heterozygous Hb CS / α - thalassemia 2 (3.7 kb) 1 ราย มีผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น FABart's 4. Compound heterozygous Hb CS / α -thalassemia 2 (3.7 kb) with heterozygous Hb E 3 ราย มีผลการตรวจ

วิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น CSEFABart's 2 ราย, EFABart's 1 ราย 5. Compound heterozygous Hb CS / α -thal 2 (3.7 kb) with homozygous Hb E 1 ราย มีผลการตรวจ วิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น EFABart's 6. Heterozygous Hb Paksé 2 รายมีผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น A₂FA 1 ราย, FABart's 1 ราย และ 7. Double heterozygous Hb Paksé - Hb E 3 ราย มีผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน เป็น EFABart's ทั้ง 3 ราย ข้อมูลผลการวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ CapillaryS 2 flex piercing (Sebia, France) จำแนกตามจีโนไทป์ แสดง ไว้ใน ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 อุบัติการณ์และความถี่ของยีน Hb CS และ Hb Paksé จำนวน 22 รายที่ตรวจพบจากการศึกษาเลือดสายสะดือทารกแรกเกิด จำนวน 340 ราย คลอดต่อเนื่องที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ศูนย์อนามัยที่ 6 จังหวัดขอนแก่น ระหว่างเดือนมกราคม - พฤษภาคม 2555

Gene	Incidence (%)	Gene frequency	95% CI
Hb CS	17 (5.0)	0.025	0.014 - 0.040
Hb Paksé	5 (1.5)	0.007	0.002 - 0.017

ตารางที่ 2 จีโนไทป์และรูปแบบฮีโมโกลบินที่ตรวจพบของผู้ที่มียีน Hb CS หรือ Hb Paksé จำนวน 22 ราย

Genotypes (no.)	Hb type (no)	Hb fractions (%)*						
		A ₂	E	A ₂ +E	F	A	Bart's	CS
$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ (11)	CSFABart's (1)	-	-	-	94.8	4.4	0.6	0.2
	CSA ₂ FA Bart's (2)	0.1, 0.3	-	-	78.1, 71.6	20.8, 27.4	0.8, 0.5	0.2, 0.2
	FABart's (5)	-	-	-	87.7 $\pm$ 1.6	11.6 $\pm$ 1.8	0.6 $\pm$ 0.2	-
	FA (3)	-	-	-	82.1 $\pm$ 5.6	17.9 $\pm$ 5.6	-	-
$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha, \beta^E$ (1)	EFA (1)	-	4.7	-	82.1	13.2	-	-
$\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha$ (1)	FABart's (1)	-	-	-	84.5	9.7	5.8	-
$\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha, \beta^E$ (3)	CSEFABart's (2)	-	1.2, 2.4	-	85.7, 84.4	3.5, 8.6	9.2, 4.2	0.4, 0.4
	EFABart's (1)	-	1.6	-	87.1	5.7	5.6	-
$\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha, \beta^E/\beta^E$ (1)	EFBart's (1)	0.4	12.2	12.6	83.7		3.7	-
$\alpha^{PS}\alpha/\alpha\alpha$ (2)	A2FA (1)	0.1	-	-	81.4	18.5	-	-
	FABart's (1)	-	-	-	86.9	12.3	0.8	-
$\alpha^{PS}\alpha/\alpha\alpha, \beta^E$ (3)	EFABart's (3)	-	3.5 $\pm$ 0.9	-	87.1 $\pm$ 3.2	8.9 $\pm$ 2.5	0.5 $\pm$ 0.2	-

* Mean $\pm$ SD

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

นับตั้งแต่ปี พ.ศ.2545 ที่มีการรายงานการตรวจพบ Hb Paksé ในประชากรไทยจากตัวอย่างเลือดที่ผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินรายงานเป็น Hb CS⁽⁷⁾ มีการตรวจหา ยีน Hb Paksé และ Hb CS แล้วรายงานความชุกหรืออัตราการตรวจพบของฮีโมโกลบินทั้งสองชนิดนี้ออกมาอีกหลาย รายงานในประเทศไทยและประเทศในอนุภูมิภาคลุ่มน้ำโขง ซึ่ง มีทั้งการรายงานจากการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยโรค Hb H และ หรือ EABart's ในภาคกลาง⁽⁸⁾ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ^(9,19) และภาคเหนือ⁽²⁰⁾ ของประเทศไทย ตลอดจนการรายงานจากการกลุ่มประชากรที่เข้ารับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียซึ่งมี ทั้งประชากรไทย ลาว เวียดนาม และ กัมพูชา^(13,21-23) ให้ผล การศึกษาที่สอดคล้องกัน คือ พบความชุกหรืออัตราการตรวจ พบ Hb Paksé น้อยกว่า Hb CS ส่วนการศึกษาอุบัติการณ์ ของ Hb CS และ Hb Paksé จากตัวอย่างทารกแรกเกิดที่ คลอดต่อเนื่องในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ซึ่งได้รายงานพบ อุบัติการณ์ของ Hb CS และ Hb Paksé เท่ากับร้อยละ 5.0 และ 1.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) การศึกษาของ Pichanun D และคณะ⁽²⁴⁾ ซึ่งศึกษาจากเลือดสายสะดือทารกแรกเกิด ในภาคกลางของประเทศไทย จำนวน 587 ตัวอย่าง พบ อุบัติการณ์ของ Hb CS และ Hb Paksé เท่ากับร้อยละ 5.8 และ 0.51 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าอุบัติการณ์ของ Hb CS ใน ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือนั้นใกล้เคียงกันและ ใกล้เคียงกับที่ กุลนภา พุเจริญ และคณะ⁽¹⁵⁾ เคยศึกษาไว้ที่ จังหวัดขอนแก่นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536 และ Tritipsombat J และคณะ⁽²⁵⁾ ศึกษาที่จังหวัดนครสวรรค์ในปี พ.ศ. 2551 ส่วน Hb Paksé นั้น พบแนวโน้มอุบัติการณ์ในภาคตะวันออกเฉียง เหนือสูงกว่าในภาคกลางประมาณ 3 เท่า ซึ่งอาจเป็นไปได้ ว่า Hb Paksé ที่ถูกค้นพบและรายงานครั้งแรกในคนลาว ที่ มีภูมิลำเนาที่เมืองปากเซนั้น บริเวณดังกล่าวอาจเป็นแหล่ง กำเนิดของ Hb Paksé แล้วแพร่กระจายไปสู่ประชากรเขมร และไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สอดคล้องกับการศึกษา ของ Singnan S และคณะ⁽¹¹⁾ ที่ศึกษา อัลฟา-โกลบิน ยีนแฮพโลไทป์ของ Hb Paksé ในประชากรไทย ลาวและ เขมร แล้วพบว่ามีความเหมือนกัน จึงเชื่อว่า Hb Paksé ที่พบในประชากรดังกล่าวน่าจะมีแหล่งกำเนิดเดียวกันซึ่งน่า จะอยู่ในภูมิภาคลุ่มน้ำโขงคล้ายคลึงกับ Hb E⁽²⁶⁾ ส่วน Hb CS นั้นพบรูปแบบอัลฟา-โกลบินยีนแฮพโลไทป์มากถึง 5 รูปแบบ⁽¹¹⁾ แตกต่างจากที่มีรายงานไว้ในประชากรแถบ

เมดิเตอร์เรเนียน โดยมี 1 รูปแบบคล้ายกับที่พบในคนจีน⁽²⁷⁾ บ่งชี้ ว่าแหล่งกำเนิดของ Hb CS ที่พบในคนไทยมีมากกว่า 1 แหล่ง และกระจายไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทยในสัดส่วนที่ ใกล้เคียงกันตามที่ได้กล่าวไปแล้ว

ในการศึกษานี้มีตัวอย่างจำนวน 22 ราย ตรวจพบ ยีน Hb CS หรือ Hb Paksé แต่มีเพียง 5 รายเท่านั้นที่การตรวจ วิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน อัตโนมัตินำ Capillarys 2 flex piercing, Sebia, France สามารถตรวจพบ peak เล็กๆที่ตำแหน่งโซน 2 ที่กำหนดให้ รายงานเป็น Hb CS โดยพบในปริมาณน้อยกว่าร้อยละ 1 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินไม่สามารถบ่ง ชี้การมีฮีโมโกลบิน Hb CS หรือ Hb Paksé ในทารกแรก เกิดได้ทุกราย เนื่องจากมีปริมาณน้อยมาก ส่วนปริมาณ Hb Bart's ซึ่งใช้บ่งชี้การมียีน อัลฟา-ธาลัสซีเมียในทารกแรกเกิด กรณีที่เป็นพาหะ Hb CS หรือ Hb Paksé ก็พบปริมาณน้อย กว่าร้อยละ 1 เช่นกันและตรวจไม่พบในบางรายเช่นกัน แต่ หากเป็น compound heterozygote ร่วมกับยีนอัลฟา-ธาลัส ซีเมียชนิดอื่น ซึ่งในรายงานนี้เป็น compound heterozygous Hb CS or Paksé / α -thalassemia 2 (3.7 kb) ทำให้โดยรวมมียีนอัลฟา-โกลบินผิดปกติไป 2 ยีน จะพบปริมาณ Hb Bart's สูงขึ้นมากกว่าร้อยละ 3 ทุกๆราย สอดคล้องกับการ ศึกษาของ Srivorakun H และคณะ⁽²⁸⁾ และ Munkongdee T และคณะ⁽²⁹⁾

เมื่อวิเคราะห์จีโนไทป์ในรายที่ตรวจพบยีน Hb CS หรือ Hb Paksé ในการศึกษาพบมากถึง 7 จีโนไทป์ บ่งชี้ ความหลากหลายของยีนธาลัสซีเมียในภูมิภาคนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพบร่วมกับ Hb E สอดคล้องกับการศึกษาของ Sanchaisuriya K และคณะ⁽³⁰⁾, Fucharoen G และคณะ⁽³¹⁾ และ Fucharoen S และคณะ⁽³²⁾ ซึ่งการตรวจวิเคราะห์ฮีโม โกลบินเพียงอย่างเดียวจึงไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ ส่วน ตัวอย่างที่ตรวจพบ peak แล้วรายงานเป็น Hb CS นั้น จาก ผลการศึกษาอุบัติการณ์ของ Hb CS และ Hb Paksé ใน ครั้งนี้ทำให้สามารถทำนายได้ว่ามีโอกาสเป็น Hb Paksé ได้ สูงถึง ร้อยละ 22.7 สำหรับประชากรในกลุ่มที่ศึกษา ข้อมูล ที่ได้จากการศึกษานี้มีประโยชน์ต่อการให้คำปรึกษาแนะนำ ทางพันธุกรรมแก่ครอบครัวผู้ป่วยและการดำเนินงานควบคุม และป้องกันโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่ตลอดจนการศึกษาด้าน ประชากรพันธุศาสตร์ของฮีโมโกลบินต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ โครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Clegg JB, Weatherall DJ, Milner PF. Hemoglobin Constant Spring: a chain termination mutant. *Nature* 1971; 1: 729-32.
2. Derry S, Wood WG, Pippard M. Hematologic and biosynthetic studies in homozygous Hb Constant Spring. *J Clin Invest* 1984; 73: 1673-82.
3. Hunt DM, Higgs DR, Winichagoon P, Clegg JB, Weatherall DJ. Hemoglobin Constant Spring has an unstable alpha chain mRNA. *Br J Haematol* 1982; 51: 405-12.
4. สุพรรณ พุเจริญ. ฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด*. 2536; 5: 65-8.
5. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. *Hemoglobin* 1987; 11: 65-8.
6. Smetanina NS, Leonova JY, Levy N, Huisman TH. Identification of several alpha-globin gene variations in a small Laotian family. *Acta Haematol* 1995; 94: 144-7.
7. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Hb Paksé [(α2) codon 142 (TAA->TAT or Term->Tyr)] in Thai patients with EABart's disease and Hb H disease. *Hemoglobin* 2002; 26: 227-35.
8. Viprakasit V, Tanphaichitr VS, Amritt PP, Petrarat S, Suwantol L, Fisher C, Higgs DR. Clinical phenotypes and molecular characterization of Hb H-Paksé disease. *Haematologica* 2002; 87: 117-25.
9. 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.
10. Turbpaiboon C, Siritantikorn A, Thongnoppakhun W, Bunditworapoom D, Limwongse C, Yenchit-somanus PT, et al. Hemoglobin Paksé: presence on red blood cell membrane and detection by polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism. *Int J Hematol* 2004; 80: 136-9.
11. Singsanan S, Fucharoen G, Savongsy O, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Molecular characterization and origins of Hb Constant Spring and Hb Paksé in Southeast Asian populations. *Ann Hematol* 2007; 86: 665-9.
12. อ่อนคำ ชาววงศ์, กุลนภา พุเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่ฮึ้ง, สุพรรณ พุเจริญ. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินอีในหญิงตั้งครรภ์ที่โรงพยาบาลศูนย์สุขภาพแม่และเด็กนครหลวงเวียงจันทน์ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 34-41.
13. Savongsy O, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N. Thalassemia and hemoglobinopathies in pregnant Lao women: carrier screening, prevalence and molecular basis. *Ann Hematol* 2008; 87: 647-54.
14. Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Pan-yasai S, Devenish R, Luy L. Interaction of hemoglobin E and several forms of alpha-thalassemia in Cambodian families. *Haematologica* 2003; 88: 1092-8.
15. กุลนภา พุเจริญ, สุพรรณ พุเจริญ, ถวัลยวงศ์ รัตนสิริ. อุบัติการณ์ของฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงในจังหวัดขอนแก่น. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2536; 5: 81-5.
16. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. α⁰-Thalassemia and related disorders in northeast Thailand: A molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2007; 117:

78-82.

17. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Penjam Y. Molecular analysis of a Thai beta-thalassemia heterozygote with normal hemoglobin A₂ level : implication for population screening. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 44-9.
18. Liu YT, Old JM, Miles K, Fisher CA, Weatherall DJ, Clegg JB. Rapid detection of alpha-thalassemia deletions and alpha-globin gene triplication by multiplex polymerase chain reactions. *Br J Haematol* 2000; 108: 295-9.
19. Jetsrisuparb A, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S, Wiangnon S, Jetsrisuparb C, et al. Development of severe anemia during fever episodes in patients with hemoglobin E trait and hemoglobin H disease combinations. *J Pediatr Hematol Oncol* 2006; 28: 249-53.
20. Charoenkwan P, Taweephorn R, Sae-Tung R, Thanarattanakorn P, Sanguansermsri T. Molecular and clinical features of Hb H disease in northern Thailand. *Hemoglobin* 2005; 29: 133-40.
21. ประชาธิป พลลาภ, จารุวรรณ ไตรทิพย์ สมบัติ, ชลิดาวารสาร, ดำรง กุติวิพา, ยรรยง ไชยพันธ์, ภัทรแสนไชยสุริยา, และคณะ. ชาติส์ซีเมียและภาวะขาดเหล็กในหญิงตั้งครรภ์ที่โรงพยาบาลเขาวง จังหวัดกาฬสินธุ์. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2553; 22 : 262-70.
22. Tritipsombut J, Sanchaisuriya K, Phollarp P, Bouakhasith D, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, et al. Micromapping of thalassemia and hemoglobinopathies in different regions of northeast Thailand and Vientiane, Lao PDR. *Hemoglobin* 2012; 36: 47-56.
23. Carnley BP, Prior JF, Gilbert A, Lim E, Devenish R, Sing H, et al. The prevalence and molecular basis of hemoglobinopathies in Cambodia. *Hemoglobin* 2006; 30: 463-70.
24. Pichanun D, Munkongdee T, Klamchuen S, Butthep P, Winichagoon P, Fucharoen S et al. Molecular screening of the Hbs Constant Spring (codon142, TAA>CAA, α 2) and Paksé (codon 142, TAA>TAT, α 2) mutations in Thailand. *Hemoglobin* 2010; 34: 582-6.
25. Tritipsombat J, Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Siriratmanawong N, Pinmuang-ngam, Sanchaisuriya P. Hemoglobin profiles and hematological features of thalassemic newborns: application to screening of alpha-thalassemia 1 and hemoglobin E. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 1739-45.
26. Fucharoen G, Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Suyasunanond U, Sriwilai P, et al. Frequency distribution and haplotypic heterogeneity of β^E -globin gene among eight minority groups of northeast Thailand. *Hum Hered* 2002; 53: 8-17.
27. Hartevelde CL, Traeger-Synodinos J, Ragusa A, Fichera M, Kanavakis E, Katamiss C, et al. Different geographic origins of Hb Constant Spring [α 2 codon 142 TAA-CAA]. *Haematologica* 2001; 86: 36-8.
28. Srivorakun H, Fucharoen G, Changtrakul Y, Komwilaisak P, Fucharoen S. Thalassemia and hemoglobinopathies in Southeast Asian newborns: diagnostic assessment using capillary electrophoresis system. *Clin Biochem* 2011; 44: 406-11.
29. Munkongdee T, Pinchanun D, Butthep P, Klamchuen S, Chalermopolprapa, Winichagoon P, et al. Quantitative analysis of Hb Bart's in cord blood by capillary electrophoresis system. *Ann Hematol* 2011; 90: 741-6.
30. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of α - thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612 - 6.
31. Fucharoen G, Tritipsombat 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.

32. Fucharoen S, Fucharoen G, Sae-ung N, Sanchaisuriya K. Thalassemia intermedia associated with the Hb Constant Spring EE Bart's disease in pregnancy: A molecular and hematological analysis. *Blood Cells, Mol, and Dis* 2007; 39: 195-8.