วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

บทความปริทัศน์
REVIEW ARTICLE

ฮีโมโกลบินผิดปกติในประเทศไทย: ข้อมูลศูนย์รับการส่งต่อที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ถึงปี 2558**

สุพรรณ ฟ้เจริญ*, กุลนภา ฟู่เจริญ

Received: *July 25, 2015*
Revised & Accepted: *August 20, 2015*

บทคัดย่อ

นับตั้งแต่ประเทศไทยได้เริ่มดำเนินงานโครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย ส่งผลให้มีการตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินในประชากรและตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติมากขึ้น เกือบทุกชนิดไม่สามารถให้การวินิจฉัยที่ถูกต้องได้ในงานประจำวัน ส่งผลกระทบต่อการดูแลรักษาและให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรมแก่ผู้ป่วยและครอบครัว เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐาน อันจะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงข้อมูลทางโลหิตวิทยา การแสดงออกในผู้ป่วยและความผิดปกติในระดับโมเลกุลที่สัมพันธ์กับการเกิดฮีโมโกลบินผิดปกติในคนไทย ข้อมูลจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ ศูนย์รับการส่งต่อที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งได้ศึกษาจากตัวอย่างเลือดที่ส่งมารับการตรวจจนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2558 จำนวนมากกว่า 30,000 ราย ตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติ 841 ราย จำแนกเป็นความผิดปกติของสาย α-globin 196 ราย (ร้อยละ 23.3) รวม 15 ชนิด เป็นสาย β-globin 597 ราย (ร้อยละ 71.0) รวม 17 ชนิด เป็นสาย $\delta\beta$-globin และ δ-globin 48 ราย (ร้อยละ 5.7) รวม 4 ชนิด และความผิดปกติอื่นๆอีกจำนวนหนึ่ง รวมตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆในคนไทยมากกว่า 35 ชนิดโดยมีความถี่แตกต่างกัน รวมทั้งชนิดใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน ฮีโมโกลบินผิดปกติในคนไทยจึงพบได้บ่อย มีความหลากหลายและมักพบปฏิสัมพันธ์ร่วมกับธาลัสซีเมียหรือความผิดปกติอื่น ส่งผลให้มีการแสดงออกที่ซับซ้อนในผู้ป่วยและยากต่อการวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ ข้อมูลชนิดและความถี่ของฮีโมโกลบินผิดปกติที่ตรวจพบ ปฏิสัมพันธ์ของจีโนไทป์-ฟีโนไทป์และการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยในระดับโมเลกุล มีประโยชน์ต่อการดูแลรักษาและให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรม ตลอดจนการศึกษาทางด้านประชากรพันธุศาสตร์ของฮีโมโกลบินผิดปกติต่อไป

คำสำคัญ: ฮีโมโกลบินผิดปกติ, ธาลัสซีเมีย, ยีนโกลบิน, การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.)
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
* ผู้รับผิดชอบบทความ
** ปรับปรุงจากคำบรรยายในการประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 19 ณ จังหวัดขอนแก่น
วันที่ 15-17 กรกฎาคม 2558

วารสาร
เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

บทความปริทัศน์
REVIEW ARTICLE

Hemoglobin variants in Thailand: Data from a referral center at Khon Kaen University in 2015

Supan Fucharoen *, Goonnapa Fucharoen

Abstract

Since the implementation of a prevention and control program of thalassemia in Thailand, a number of Hb analyses and identification of Hb variants in Thai population have been increasingly encountered but most of them cannot be diagnosed in routine setting. Accurate diagnoses of these variants are important for planning of appropriate management and genetic counseling. This requires the study on the hematological and molecular features and frequencies of Hb variants in the population. Study was conducted till June 2015 at CMDL on a large cohort of more than 30,000 unrelated subjects, inhabiting in all geographical parts of Thailand. Among these subjects investigated, 837 were found to Hb variants. Of these 841 subjects, 196 (23.3 %) cases with 15 α-chain variants, 597 (71.0 %) cases with 17 β-chain variants and 48 (5.7 %) cases with four δβ- or δ-chain variants were detected. A total of more than 35 Hb variants including novel ones have been found in Thai population with different frequencies. Hb variants are common and heterogeneous in Thai population. With varieties of thalassemia and hemoglobinopathies in the population, interactions between them leading to complex syndromes are common and render their diagnoses difficult in routine practices. Information on the spectrum, molecular bases, genotype-phenotype correlation and molecular diagnosis should prove useful for management, genetic counseling and further population genetic study of Hb variants.

Keywords: Hemoglobin variant, Thalassemia, Globin gene, Laboratory diagnosis

Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL),
Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand
* Corresponding author: (e-mail: supan@kku.ac.th)

ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน (hemoglobin; Hb) เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในลำดับต้นๆของประเทศไทย การดำเนินงานโครงการควบคุมและป้องกันโรคของประเทศไทยในกลุ่มประชากรขนาดใหญ่ทั่วประเทศ การเคลื่อนย้ายแรงงานจากต่างประเทศ การต่างงานข้ามชาติ ตลอดจนการนำเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติที่ทันสมัยและมีประสิทธิภาพสูงมาใช้ในการตรวจให้บริการในงานประจำวัน เป็นผลให้มีการตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติและมีความหลากหลายมากขึ้นในประเทศ ทั้งในคนไทยและคนต่างชาติที่เดินทางเข้ามาพำนักในประเทศไทย ส่วนใหญ่ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ในงานประจำวัน การศึกษาฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ให้ทราบถึงองค์ความรู้พื้นฐานการเกิดโรคในระดับโมเลกุลและพัฒนาแนวทางการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่ง่ายต่อการปฏิบัติและสามารถใช้ในการวินิจฉัยแยกชนิดได้ จึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการดำเนินงานเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

หากจำแนกความผิดปกติในการสังเคราะห์สายโกลบินอย่างกว้างๆ อาจจำแนกออกได้เป็น 2 แบบใหญ่ๆ คือ ความผิดปกติเชิงปริมาณ (quantitative defect) ซึ่งทำให้เกิดธาลัสซีเมีย กับความผิดปกติเชิงโครงสร้าง (structural defect) ซึ่งทำให้เกิดฮีโมโกลบินผิดปกติ (Hb variant)[1] ดังนั้นหากเป็นความผิดปกติในการสังเคราะห์สายโกลบินทำให้มีชนิด ลำดับหรือจำนวนกรดอะมิโนแตกต่างไปจากสายโกลบินปกติ โดยที่ปริมาณการสังเคราะห์ไม่เปลี่ยนแปลง จึงไม่จัดเป็นธาลัสซีเมีย ปัจจุบันมีการรายงานความผิดปกติเหล่านี้ไว้ในฐานข้อมูลสากล HbVar data base[2] มากกว่า 1,500 ชนิด ประมาณ 2 ใน 3 เป็นความผิดปกติที่ทำให้เกิดฮีโมโกลบินผิดปกติ อีก 1 ใน 3 เป็นธาลัสซีเมีย โดยในส่วนของฮีโมโกลบินผิดปกติ มีรายงานตรวจพบทั้งในส่วนของ α1, α2, β, δ, $^{A}\gamma$ และ $^{G}\gamma$-globin genes แต่ที่พบได้บ่อย คือ ชนิดที่เกิดจากความผิดปกติของสาย β-globin และ α-globin เนื่องจากมีปริมาณการตรวจพบในเลือดมากกว่า ส่วนชนิดที่เกิดจากสาย γ-globin จะตรวจพบได้เฉพาะในระยะทารกในครรภ์หรือแรกคลอดเท่านั้น เนื่องจากเป็นระยะที่ยังมีการแสดงออกของ γ-globin gene อยู่ และทำให้เกิดความผิดปกติต่อ Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) เมื่อเติบโตขึ้นมีการแสดงออกของยีนน้อยลง ฮีโมโกลบินผิดปกตินี้จะหายไป ส่วนความผิดปกติบนสาย δ-γlobin นั้น ทำให้เกิดความผิดปกติต่อ Hb A_2 ($\alpha_2\delta_2$) ซึ่งมีปริมาณน้อยในเลือดอยู่แล้ว (ร้อยละ 2-3) จึงมักถูกมองข้ามและไม่ให้ความสำคัญ จึงมีรายงานการตรวจพบน้อยกว่า α และ β-globin variants

สำหรับประเทศไทยในปัจจุบันมีรายงานการตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆจากทั่วประเทศรวมมากกว่า 40 ชนิด มีทั้งที่ชนิดที่ก่อและไม่ก่อให้เกิดโรค กับชนิดที่เป็นธาลัสซีเมียด้วย อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าในแต่ละภูมิภาคของประเทศมีความถี่และชนิดของการตรวจพบแตกต่างกัน การวินิจฉัยฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ให้ถูกต้อง อาศัยผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการทั้งการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและการตรวจดีเอ็นเอร่วมกัน และหากทราบภูมิลำเนาของผู้ป่วยด้วย จะช่วยให้การตรวจมีแนวทางที่ชัดเจนขึ้น บทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลและสรุปรายชื่อฮีโมโกลบินผิดปกติที่ตรวจพบเพิ่มเติมจากที่เคยรวบรวมและตีพิมพ์ไว้แล้วในปี พ.ศ. 2553[3] เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ทันสมัยและเป็นปัจจุบันโดยมีข้อมูลที่สรุปเพิ่มเติมจนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2558 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้รับจากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากทั่วทุกภาคของประเทศไทย ดังแสดงใน **ตารางที่ 1**[4-6] โดยแยกเป็นกลุ่มๆตามชนิดของสายโกลบินที่ผิดปกติและเลือกอธิบายรายละเอียดของฮีโมโกลบินผิดปกติที่ไม่เคยมีรายงานตรวจพบมาก่อนในคนไทยเป็นตัวอย่างจากแต่ละกลุ่มพอสังเขป ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 1 ชนิดและความถี่ของฮีโมโกลบินผิดปกติที่ตรวจพบในภูมิภาคต่างๆของประเทศไทยรวม 841 ตัวอย่าง[3-6]

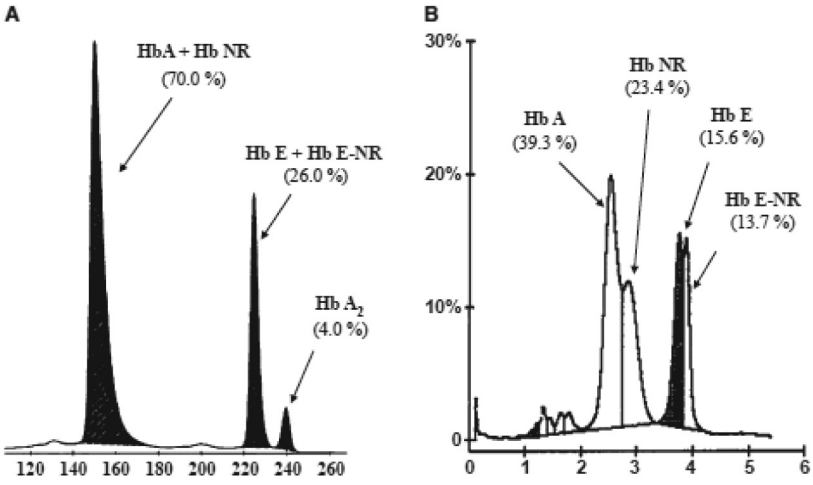
Hb Variants	Total no. (%)	Part of Thailand (no.)				
		Center	Northeast	South	North	East
α-variants ; 15 mutations: 196 / 841 (23.3 %)						
Hb Q-Thailand ($\alpha1^{74GAC-CAC, Asp-His}$)	141 (16.8)	55	40	5	40	1
Hb Hekinan ($\alpha1^{27GAG-GAC, Glu-Asp}$)	13 (1.5)		5		8	
Hb Siam ($\alpha1^{15GGT-CGT, Gly-Arg}$)	10 (1.2)	5	3		2	
Hb Queens ($\alpha1^{34CTG-CGG, Leu-Arg}$)	6 (0.7)	1		5		
Hb Beijing ($\alpha1^{16AAG-AAC, Lys-Asn}$)	5 (0.6)	1			4	
Hb Nakhon Ratchasima ($\alpha1^{63GCC-GTC, Ala-Val}$)	5 (0.6)	2	3			
Hb Dunn ($\alpha^{6GAC-AAC, Asp - Asn}$)	3 (0.4)		3			
Hb Thailand ($\alpha1^{56AAG-ACG, Lys-Thr}$)	3 (0.4)		3			
Hb Grey Lynn ($\alpha1^{27CTT-TTT, Leu-Phe}$)	3 (0.4)		3			
Hb St. Luke's-Thailand ($\alpha1^{95CCG-CGG, Pro-Arg}$)	2 (0.2)		2			
Hb Q-India ($\alpha1^{64GAC-CAC, Asp-His}$)	1 (0.1)		1			
Hb Phnom Penh ($\alpha1^{117/118 insertion Ile}$)	1 (0.1)		1			
Hb G-Honolulu ($\alpha1^{30GAG-CAG, Glu-Gln}$)	1 (0.1)	1				
HbJ-Wenchang-Wuming ($\alpha1^{11AAG-CAG, Lys-Gln}$)	1 (0.1)	1				
Hb Kawachi ($\alpha2^{16AAG-AAC, Lys-Asn}$)	1 (0.1)				1	
β-variants; 17 mutations: 597 / 841 (71.0 %)						
Hb Hope ($\beta^{136GGT-GAT, Gly-Asp}$)	230 (27.3)	86	27	2	115	1
Hb Tak ($\beta^{146+AC, Ter-Thr}$)	118 (14.0)	39	37	12	30	
Hb Malay ($\beta^{19AAC-AGC, Asn-Ser}$)	46 (5.5)	9	10	27		
Hb J-Bangkok ($\beta^{56GGC-GAC, Gly-Asp}$)	46 (5.5)	23	19	1	3	
Hb Pyrgos ($\beta^{83GGC-GAC, Gly-Asp}$)	42 (5.0)	14	28			
Hb D-Panjab ($\beta^{121GAA-CAA, Glu-Gln}$)	38 (4.5)	11	5	22		
Hb C ($\beta^{6GAG-AAG, Glu-Lys}$)	25 (3.0)	8		16	1	
Hb Korle-Bu ($\beta^{73GAT-AAT, Asp-Asn}$)	20 (2.4)	9	9	1	1	
Hb Cook ($\beta^{132AAA-ACA, Lys-Thr}$)	10 (1.2)	2	8			
Hb Dhonburi ($\beta^{126GTG-GGG, Val-Gly}$)	8 (1.0)		8			
Hb J-Kaohsiung ($\beta^{59AAG-ACG, Lys-Thr}$)	3 (0.4)		3			
Hb Phimai ($\beta^{72AGT-ACT, Ser-Thr}$)	2 (0.2)		2			
Hb Dhofar ($\beta^{58CCT-CGT, Pro-Arg}$)	2 (0.2)	2				
Hb S ($\beta^{6GAG-GTG, Glu-Val}$)	4 (0.5)			1	3	
Hb Raleigh ($\beta^{1GTG-GCG, Val-Ala}$)	1 (0.1)		1			
Hb E-Saskatoon ($\beta^{22GAA-AAA, Glu - Lys}$)	1 (0.1)		1			
Hb G-Makassa ($\beta^{6GAG-GCG, Glu-Ala}$)	1 (0.1)				1	
δβ hybrid and d-variants; 4 mutations: 48 / 841 (5.7 %)						
Hb Lepore-Hollandia ($\delta^{IVS I-42}/\beta^{IVS I-56}$)	25 (3.0)	11	14			
Hb Lepore-Washington-Boston ($\delta^{87}/\beta^{IVS II-8}$)	12 (1.4)	10	2			
Hb A_2-Melbourne ($\delta^{43GAG-AAG, Glu-Lys}$)	10 (1.2)	4	2		4	
Hb A_2-Lampang ($\delta^{47GAT-AAT, Asp-Asn}$)	1 (0.1)				1	
Total	**841 (100)**	**294 (35.1)**	**240 (28.3)**	**92 (11.0)**	**213 (25.4)**	**2 (0.2)**

α - Globin chain variant

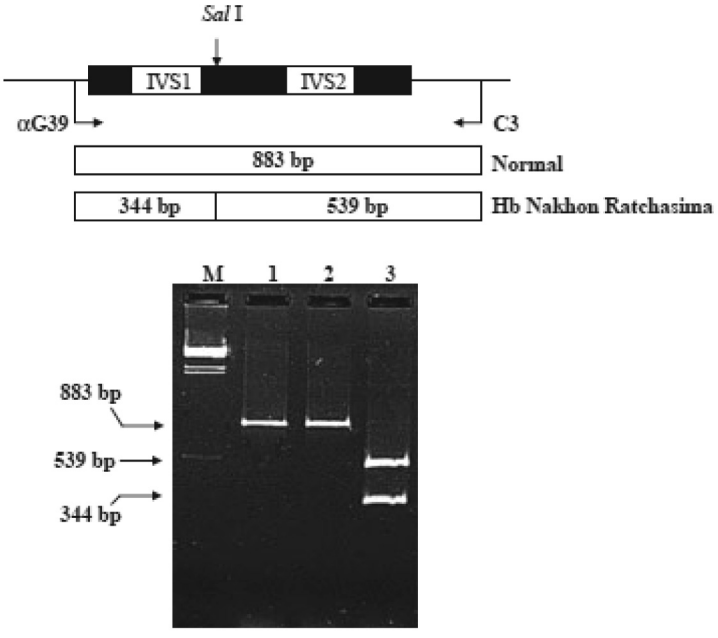
ตรวจพบทั้งสิ้น 15 ชนิด ไม่นับรวม Hb Constant Spring และ Hb Paksé ฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากยีน α-globin นี้มักตรวจพบแถบของฮีโมโกลบินผิดปกติมากกว่า 1 แถบขึ้นไป และมีปริมาณน้อยกว่า Hb A เนื่องจากตามทฤษฎี สาย α-globin ที่ผิดปกตินั้น จะสามารถจับกับสาย β-globin เกิดเป็น abnormal Hb A และจับกับสาย δ-globin เกิดเป็น abnmal Hb A_2 ได้ อย่างไรก็ตามขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินที่ใช้ว่าจะมีประสิทธิภาพในการจำแนกเพียงพอหรือไม่ เนื่องจาก abnormal Hb A_2 มักมีปริมาณค่อนข้างต่ำ อาจตรวจไม่พบ ส่วนปริมาณของ abnormal Hb A นั้น ขึ้นอยู่กับความผิดปกติของยีนด้วย หากเป็นความผิดปกติของยีน α1-globin มักมีปริมาณอยู่ระหว่างร้อยละ 15-25 หากเป็น α2-globin จะพบปริมาณที่มากกว่าในช่วงร้อยละ 25-35 เนื่องจากยีน α2-globin มีการแสดงออกมากกว่ายีน α1-globin ในกลุ่มนี้ตรวจพบทั้งสิ้น 141 ราย (ร้อยละ 23.3) รวมทั้งสิ้น 15 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นชนิดที่เคยมีรายงานตรวจพบในประชากรกลุ่มอื่นมาก่อน ที่พบได้บ่อยในเกือบทุกภูมิภาคของประเทศ ได้แก่ คือ Hb Q-Thailand ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิด α-thalassemia ด้วย [7,8], Hb Hekinan [9,10] และ Hb Siam [11] ทั้งนี้ได้เคยสรุปรายละเอียดเป็นภาษาไทยไว้แล้ว [3] และมีสองชนิดที่รายงานพบเป็นครั้งแรกของโลกที่ตรวจพบในคนไทย ได้แก่ Hb Nakhon Ratchasima [12] และ Hb St. Luke's Thailand [13]

Hb Nakorn Ratchasima [α63(E12)Ala – Val]

Hb Nakorn Ratchasima เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน α2-globin ณ ตำแหน่งโคดอนที่ 63; GCC (Ala) – GTC (Val) ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก Alanine เป็น Valine พบในชายไทยอายุ 41 ปีมีภูมิลำเนาในจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นพาหะของ Hb E ร่วมกับ α^+-thalassemia ชนิด 3.7 kb deletion ผลการตรวจ CBC พบ Hb 10.1 g/dl, Hct 31.0%, MCV 93 fl, MCH 30.7 pg, RDW 15.7 % การวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยวิธี capillary electrophoresis พบเป็น Hb E trait มี Hb E ร้อยละ 26.0 แต่เมื่อตรวจด้วยวิธี HPLC พบฮีโมโกลบินผิดปกติสองตำแหน่งที่แยกออกจาก Hb A และ Hb E แต่แยกได้ไม่สมบูรณ์ ดังแสดงใน **รูปที่ 1** ผลการศึกษาครอบครัวผู้ป่วยพบว่า Hb Nakorn Ratchasima และ α^+-thalassemia แยกกันอยู่บนคนละโครโมโซม (in *trans*) แม้ว่าการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก Alanine เป็น Valine ใน Hb ผิดปกติชนิดนี้ จะเกิดขึ้นในตำแหน่งใกล้กับ heme pocket แต่เชื่อว่าไม่มีผลต่อการทำหน้าที่ของฮีโมโกลบินแต่อย่างใดเนื่องจากกรดอะมิโนทั้งสองชนิดต่างก็มี hydrophobic side chain เหมือนกัน อย่างไรก็ตามจากรูปจะเห็นได้ว่าเทคนิค CE ไม่สามารถตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดนี้ได้ ส่วนเทคนิค HPLC แม้สามารถแยกออกมาได้แต่แยกได้ไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้จากรูปจะเห็นได้ว่าการพบ Hb Nakorn Ratchasima ($\alpha^{NR}_2\beta^A_2$) ร่วมกับ Hb E ($\alpha^A_2\beta^E_2$) ก่อให้เกิดอนุพันธุ์ชนิดใหม่ขึ้นอีกชนิดหนึ่ง คือ Hb E-Nakorn Ratchasima (Hb E-NR) ($\alpha^{NR}_2\beta^E_2$) เห็นได้บน HPLC ซึ่งแสดงสัดส่วนของ Hb E ร้อยละ 15.6 และ Hb E-NR ร้อยละ 13.7 ดังนั้นปริมาณ total Hb E จึงเท่ากับร้อยละ 29.3 เนื่องจากการกลายพันธุ์ GCC–GTC ที่ตำแหน่งโคดอน 63 ก่อให้เกิด restriction recognition site ใหม่สำหรับเอนไซม์ *Sal* I บนยีน α2-globin จึงสามารถตรวจยืนยันฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดได้ด้วยวิธี PCR-RFLP ดังแสดงใน **รูปที่ 2**[12]



รูปที่ 1 Hb Nakorn Ratchasima เมื่อตรวจด้วย capillary electrophoresis (A) และ HPLC (B) [12]

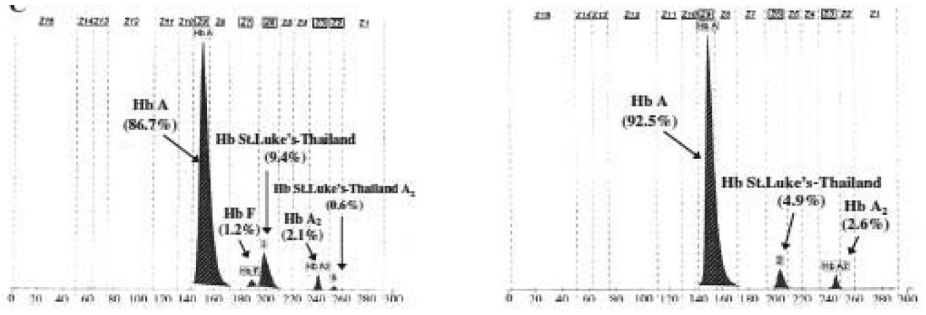


รูปที่ 2 การตรวจยืนยัน Hb Nakorn Ratchasima ด้วยวิธี PCR-RFLP โดยอาศัยเอนไซม์ *Sal* I 1 และ 2 เป็นคนปกติ 3 คือ พาหะของ Hb Nakorn Ratchasima ร่วมกับ Hb E และ α^{+}-thalassemia ชนิด 3.7 kb deletion จึงไม่พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอจาก normal α2-globin gene [12]

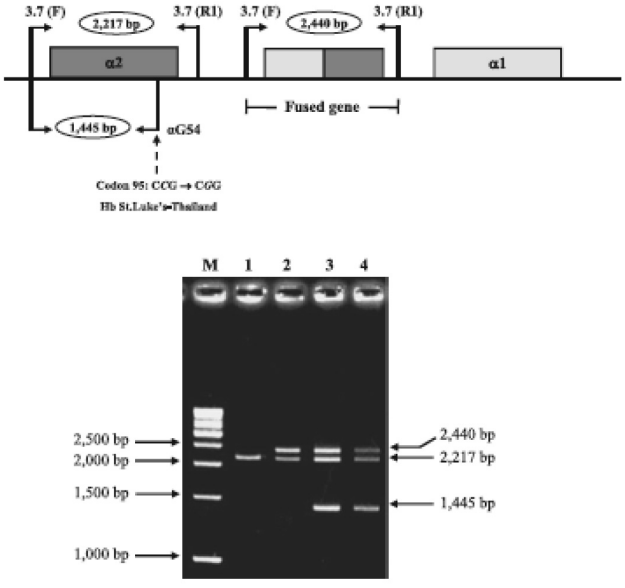
Hb St. Luke's Thailand [α95(G2)Pro – Arg]

Hb St.Luke's Thailand เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน α2-globin ณ ตำแหน่งโคดอนที่ 95; CCG (Pro) – CGG (Arg) ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก Proline เป็น Arginine พบในผู้ป่วยเด็กไทยอายุ 1 ขวบ 5 เดือนที่เข้ารับการตรวจรักษาโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น[13] ผลการตรวจพบภาวะซีดเล็กน้อย ตับม้ามไม่โต ตรวจพบว่ามี nucleated Rbc และ reticulocytosis เมื่อแรกคลอดซึ่งแสดงถึงการมีภาวะ accelerated erythropoiesis ก่อนที่จะกลับเข้าสู่ปกติเมื่อโตขึ้น ตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินของผู้ป่วยและมารดา พบฮีโมโกลบินผิดปกติของ Hb A และ Hb A_2 ปริมาณค่อนข้างต่ำทั้งด้วยวิธี HPLC และ capillary electrophoresis ดังแสดงใน **รูปที่ 3** บ่งชี้ว่าเป็นน่าจะเป็น α-globin variant ของยีน α1-globin ตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอของยีน α1-globin ได้ผลเป็นปกติ แต่กลับตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีน α2-globin ณ ตำแหน่งโคดอนที่ 95; CCG–CGG ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก Proline เป็น Arginine ตรงกับ Hb St. Luke's ที่มีรายงาน

ในผู้ป่วยจากประเทศมอลต้าและญี่ปุ่น แต่เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นบนยีน α1-globin การกลายพันธุ์ที่ตรวจพบในคนไทยซึ่งเกิดขึ้นบนยีน α2-globin จึงถือเป็นคนละชนิดกับที่มีรายงานมาก่อนบนยีน α1-globin นอกจากนี้เมื่อพิจารณาจากปริมาณฮีโมโกลบินผิดปกติ จะเห็นว่ามีปริมาณน้อยกว่าฮีโมโกลบินผิดปกติโดยทั่วไปที่เกิดจากยีน α2-globin ผู้ป่วยจึงได้รับการศึกษาในรายละเอียดระดับลึกต่อไป ซึ่งผลจากการศึกษาทำให้ตรวจพบว่า การกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิด Hb St. Luke's Thailand นี้ เกิดขึ้นในยีน α2-globin บนโครโมโซมที่ประกอบด้วยยีน α-globin 3 ยีน (triplicated aaa globin gene) ตรวจพบลักษณะดังกล่าวทั้งในผู้ป่วยและมารดา แสดงว่าความผิดปกติทั้งสองอย่างนี้อยู่บนโครโมโซมข้างเดียวกัน (in *cis*) และใช้เป็นเหตุผลในการอธิบายถึงการพบปริมาณ Hb St. Luke's Thailand ค่อนข้างต่ำในผู้ป่วยและมารดาได้ อาจตรวจพบหรือไม่พบ Hb St. Luke's Thailand A_2 ด้วยก็ได้ นอกจากนี้การให้ผลบวกต่อ DCIP แสดงว่า Hb St. Luke's Thailand ค่อนข้างจะไม่เสถียร สำหรับในคนไทยการตรวจยืนยัน Hb St. Luke's Thailand ที่ดีที่สุดจึงควรตรวจหาทั้ง Hb St. Luke's Thailand mutation บนยีน α_2-globin ร่วมกับการตรวจหา ααα allele ซึ่งสามารถทำได้ด้วยวิธี multiplex allele specific PCR ดังแสดงใน **รูปที่ 4** [13] เนื่องจากการตรวจพบ triplicated ααα globin gene มีความสำคัญโดยเฉพาะหากตรวจพบในรายที่เป็นพาหะ β-thalassemia อาจก่อให้เกิดโรคธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรงได้ การตรวจวินิจฉัยจึงมีความสำคัญ



รูปที่ 3 Hb St. Luke's Thailand เมื่อตรวจด้วย capillary electrophoresis [13]



รูปที่ 4 แสดงลักษณะของ ααα haplotype ที่ตรวจพบ Hb St. Luke's Thailand mutation บน α2-globin gene ร่วมกับการเกิด α-globin gene triplication และการยืนยันด้วยวิธี multiplex allele specific PCR 1 = normal control, 2 = carrier of ααα haplotype, 3 และ 4 คือ ผู้ป่วยและมารดา ซึ่งเป็นพาหะของ Hb St. Luke'Thailand ร่วมกับ α-globin gene triplication [13]

β - Globin chain variant

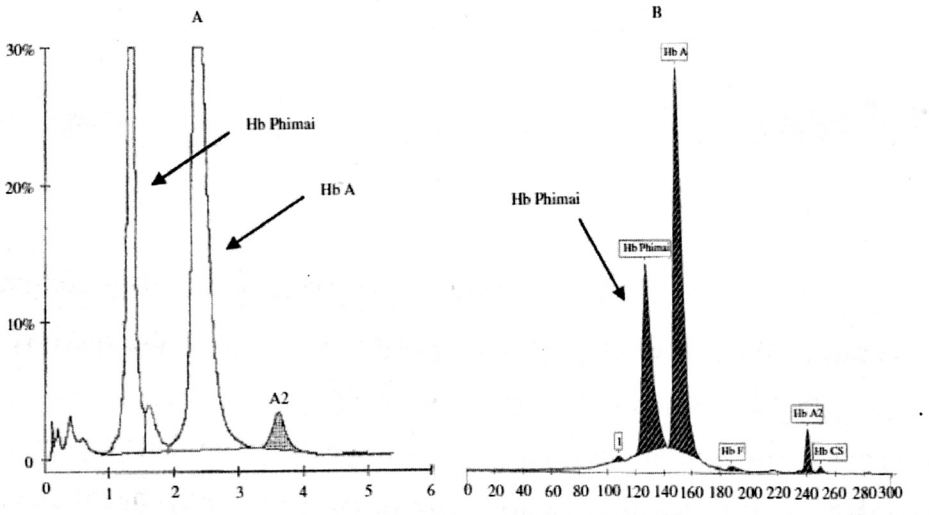
สำหรับฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากความผิดปกติของยีน β-globin หากสามารถแยกจาก Hb A ได้ มักตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติเพียงชนิดเดียว มีปริมาณใกล้เคียงกับ Hb A ในรายที่เป็นพาหะ อย่างไรก็ตามข้อสังเกตนี้ใช้ไม่ได้ในทุกกรณี เนื่องจากปริมาณอาจเปลี่ยนแปลงได้เมื่อพบร่วมกับธาลัสซีเมียหรือฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่น ในกลุ่มนี้ตรวจพบทั้งสิ้น 597 ราย (ร้อยละ 71.0) รวมทั้งสิ้น 17 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นชนิดที่เคยมีรายงานตรวจพบในประชากรกลุ่มอื่นมาก่อน ที่พบได้บ่อยในเกือบทุกภูมิภาคของประเทศ ประเทศไทยได้แก่ Hb Hope, Hb Tak, Hb J Bangkok, Hb D-Punjab, Hb Pyrgos และ Hb C ซึ่งได้ให้รายละเอียดเป็นภาษาไทยไว้แล้ว[3] ส่วน Hb Malay ซึ่งพบได้บ่อยเช่นกันโดนเฉพาะในภาคใต้ เกิดจากความผิดปกติที่ตำแหน่งโคดอน 19 AAC (Asn) – AGC (Ser) ไม่สามารถแยกออกจาก Hb A ได้ทั้งด้วยวิธี HPLC และ capillary electrophoresis นอกจากนี้การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นกระตุ้นการเกิด cryptic splicing ใน exon 1 ของยีน β-globin คล้ายกับ Hb E ทำให้มีลักษณะฟีโนไทป์เป็น β^+-thalassemia ด้วยและเป็น β^+-thalassemia ที่พบได้บ่อยในคนไทย การตรวจพบจึงมีความสำคัญ และต้องการการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อให้การวินิจฉัยที่ถูกต้อง [14,15]

ฮีโมโกลบินผิดปกติอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญและต้องรายงาน คือ Hb Tak [β147, Term >Thr, +AC or HBB:c.441_442insAC] ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง termination codon ของยีน β-globin (β146/147 +AC) เป็น frameshift mutation เป็นผลให้เกิดการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินผิดปกติที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนมากขึ้นจากเดิม 146 หน่วยเป็น 157 หน่วย พบได้บ่อยในทุกภูมิภาค มีลักษณะผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการคล้ายกับ Hb D-Punjab และ Hb S หากตรวจด้วยเครื่อง LPLC และอาจถูกแยกออกมาที่ตำแหน่งของ S-window ตรงกับ Hb S หรือตำแหน่ง A2-window ของ HPLC ไม่สามารถแยกออกกันได้ชัดเจน จึงต้องการการตรวจแยกด้วยวิธี allele specific PCR [16] Hb Tak มีคุณสมบัติ high oxygen affinity จับกับ O_2 ได้ดี ในภาวะ homozygote หรือ compound heterozygote ร่วมกับภาวะ $\delta\beta^0$-thalassemia ซึ่งเป็นภาวะที่มี Hb F สูง อาจก่อให้เกิดภาวะ secondary erythrocytosis ที่รุนแรง ผู้ป่วยมักมีระดับ Hb และ Hct สูงขึ้นมาก และต้องการการดูแลรักษาอย่างเหมาะสม [17]

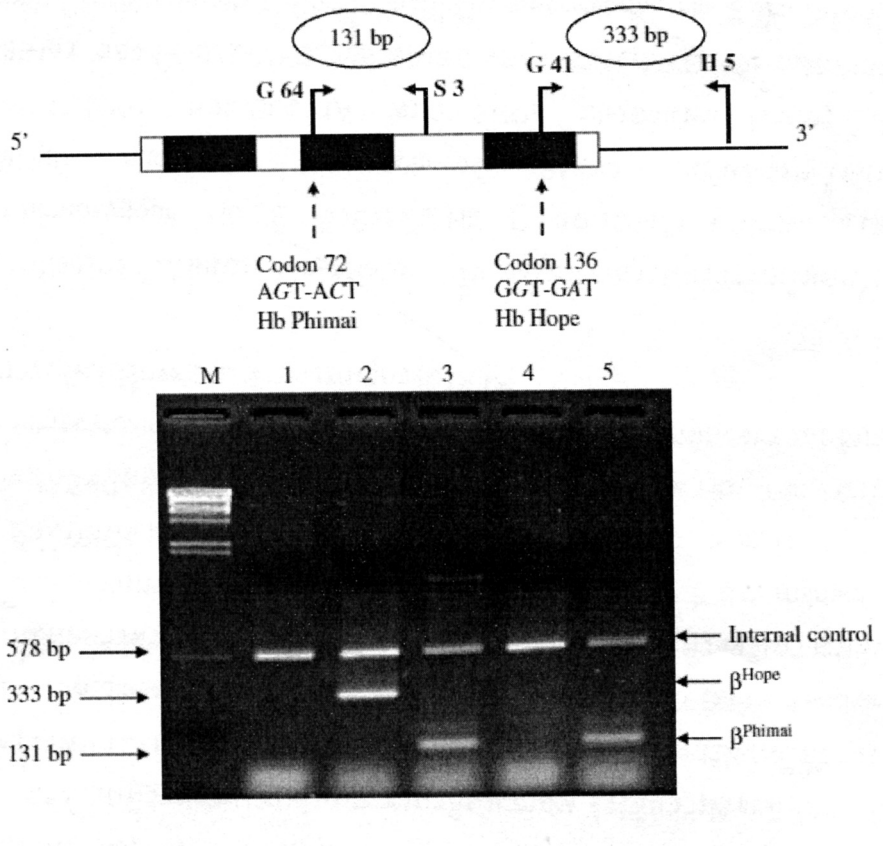
ในกลุ่ม β-globin chain variant นี้ มีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดใหม่ที่พบในคนไทย 1 ชนิด คือ Hb Phimai [18] และชนิดที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในคนไทยอีกจำนวนหนึ่ง เช่น Hb Raleigh [19], Hb Cook และ Hb E-Saskatoon [5] เป็นต้น

Hb Phimai

Hb Phimai เกิดจากการกลายพันธุ์ A<u>G</u>T–A<u>C</u>T ที่โคดอน 72 ของยีน β-globin ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก Serine เป็น Threonine พบในหญิงตั้งครรภ์จากอำเภอพิมาย จังหวัดนครราชสีมา [18] ซึ่งเป็นพาหะของ Hb Constant Spring ด้วย มีปริมาณฮีโมโกลบินผิดปกติร้อยละ 33.5 Hb A_2 อยู่ในเกณฑ์ borderline (ร้อยละ 3.5) ผู้ป่วยให้ผลบวกต่อการตรวจกรอง Hb E ด้วยวิธี DCIP แสดงถึงความไม่เสถียรของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดนี้ สามารถแยกออกจาก Hb A ได้ชัดเจนทั้งบน HPLC และ capillary electrophoresis แต่มีลักษณะการแยกคล้าย Hb Hope ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อยมากในคนไทย ดังแสดงใน **รูปที่ 5** การวินิจฉัยแยกออกจากกันสามารถอาศัยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธี multiplex allele specific PCR ดังแสดงใน **รูปที่ 6** แม้ผู้ที่เป็นพาหะของ Hb Phimai ร่วมกับ Hb Constant Spring ไม่พบภาวะซีดและมีผลการตรวจเลือดอยู่ในเกณฑ์ปกติ แต่เนื่องจากการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก Serine เป็น Threonine เกิดขึ้นใน E-helix ของสาย β-globin ซึ่งเป็นส่วนที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้าง heme pocket ทำให้มีคุณสมบัติเป็น high oxygen affinity เมื่อพบร่วมกับความผิดปกติอื่น Hb Phimai อาจก่อให้เกิดภาวะ secondary erythrocytosis ได้



รูปที่ 5 Hb Phimai เมื่อถูกแยกด้วยวิธี HPLC (**A**) และ CE (**B**) ซึ่งมีลักษณะคล้าย Hb Hope มาก[18]

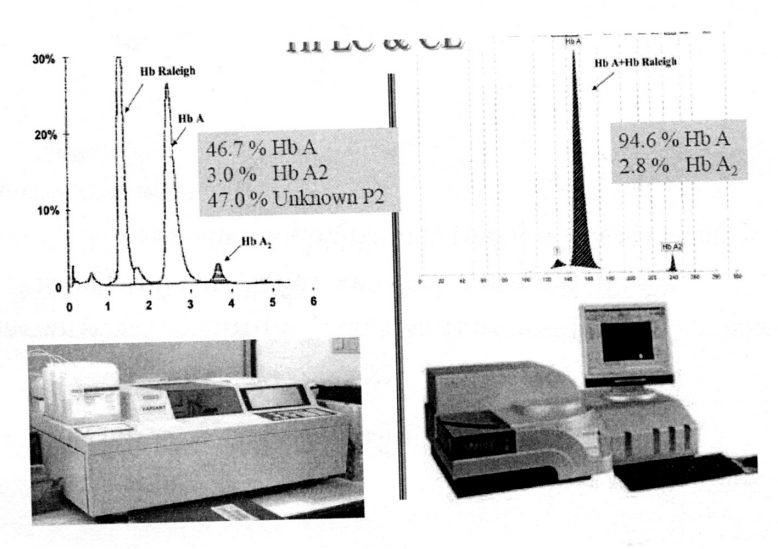


รูปที่ 6 การตรวจวินิจฉัยแยก Hb Phimai และ Hb Hope จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธี allele specific PCR 1&4=nornal control 2=Hb Hope trait 3&5=Hb Phimai trait[18]

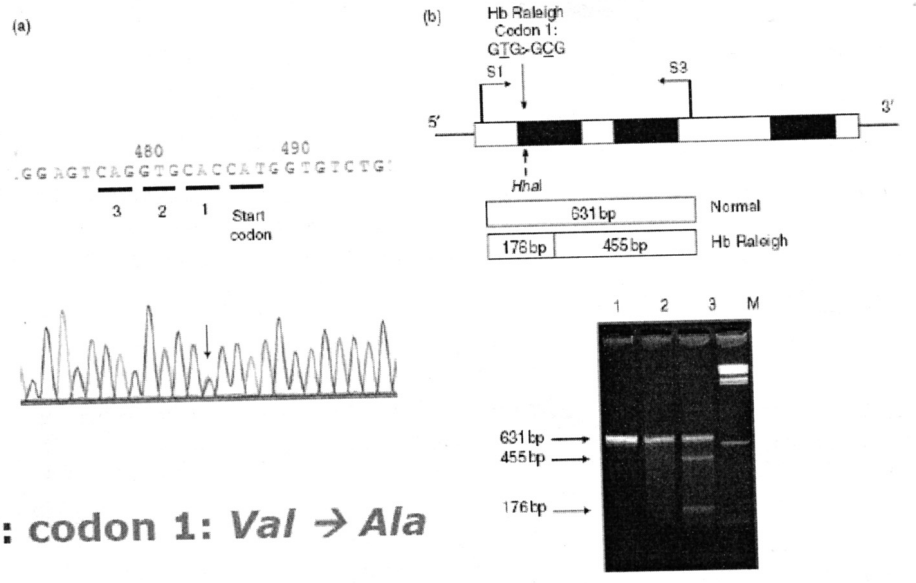
Hb Raleigh

ฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดนี้มีความสำคัญเนื่องจากส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดปริมาณ Hb A1c ในเลือด Hb A1c เกิดจากกระบวนการ glycation ของกรดอะมิโน valine ตำแหน่งที่ 1 บนสาย β-globin สามารถสะท้อนถึงค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลกลูโคสและอายุของเม็ดเลือดแดงได้ ใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยและติดตามการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน ปัจจุบันการตรวจวัด Hb A1c ที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการหลักๆมีสองแนวทาง ได้แก่ การตรวจ Hb A1c ด้วยวิธี HPLC ซึ่งจะแยก Hb A1c ออกจาก Hb A แล้วคำนวณเป็นสัดส่วน รายงานเป็นค่าร้อยละ อีกวิธีหนึ่งคือวิธี Immunoturbidimetric method โดยใช้ monoclonal antibody ต่อ glycated molecule วิธีแรกมีปัญหาที่อาจวินิจฉัยผิดพลาดได้จากฮีโมโกลบินผิดปกติที่ถูกแยกออกมาในตำแหน่งเดียวกับ Hb A1c ส่วนวิธีหลังใช้ monoclonal antibody ต่อ epitope ในบริเวณ N-terminal ของสาย β-globin หากมีความเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนบริเวณ N-terminal ของสาย β-globin อาจส่งผลกระทบต่อปฏิกิริยาได้ ในคนไทย Hb Raleigh [β1(NA1)Val-Ala] ตรวจพบโดยบังเอิญในผู้ป่วยชายไทยอายุ 31 ปี ภูมิลำเนาจังหวัดนครราชสีมา ตรวจพบในระหว่างเข้ารับการตรวจสุขภาพประจำปี มีผลตรวจ CBC และค่าทางเคมีทุกตัวอยู่ในเกณฑ์ปกติ ไม่มีประวัติเคยเป็นโรคเบาหวานมาก่อน แต่มีผลตรวจ Hb A1c โดยวิธี HPLC (Bio-Rad D-10, USA) สูงถึงร้อยละ 34.9 (ค่าอ้างอิง 4.0 – 6.0) เมื่อตรวจซ้ำด้วยวิธี turbidimetric immunoassay (Cobas C501, Roche) ได้ค่า Hb A1c เพียงร้อยละ 4.0 (ค่าอ้างอิง 4.8 – 5.9) แสดงว่าค่า Hb A1c ที่สูงมากโดยวิธี HPLC อาจเป็นผลบวกปลอมจากฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดใดชนิดหนึ่ง ตัวอย่างเลือดจึงได้รับการตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี HPLC และ CE ตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติโดยวิธี HPLC ปริมาณร้อยละ 47.0 ที่ตำแหน่ง P2 แต่ตรวจไม่พบบน CE (**รูปที่ 7**) ซึ่งแสดงว่าเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่มีโครงสร้างเปลี่ยนไปแต่มีประจุโดยรวมคงเดิม เมื่อตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน β-globin จึงพบว่าเกิดจากการกลายพันธุ์ ที่ตำแหน่งโคดอน 1 ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโนจาก valine เป็น alanine ซึ่งทำให้เกิด Hb Raleigh [β1(NA1)Val-Ala; G*T*G–G*C*T] ที่เคยมีรายงานตรวจพบในชาวยุโรปมาก่อน แต่เป็นการพบครั้งแรกในคนไทย [19] การกลายพันธุ์ชนิดนี้สามารถตรวจสอบได้ด้วยวิธี PCR-RFLP โดนอาศัยเอนไซม์ *Hha* I ดังแสดงใน **รูปที่ 8** การแทนที่กรดอะมิโน Valine ด้วย Alanine ที่ตำแหน่งที่ 1 ของสาย β-globin ทำให้ Hb Raleigh ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยา glycation ได้เลย แต่อาจเกิด acetylation ของ Alanine แทนได้ ดังนั้น Hb A1c จึงมีค่าต่ำเมื่อวัดด้วยวิธีการตรวจทางเคมี ตัวอย่างข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดปริมาณ Hb A1c ด้วยวิธี HPLC อาจได้ค่าที่สูงผิดปกติได้เนื่องจากมีฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอื่นที่ถูกแยกออกมาที่ตำแหน่งเดียวกับ Hb A1c การพิจารณาค่าผิดปกติที่ตรวจวัดได้และเลือกวิธีการตรวจที่เหมาะสมจะทำให้สามารถรายงานค่า Hb A1c ที่ถูกต้องได้

ยังมีฮีโมโกลบินผิดปกติของสาย β-globin อีกหลายชนิดที่ไม่ได้นำมากล่าวถึงรายละเอียดไว้ในที่นี้เนื่องจากมีความชุกต่ำกว่าและไม่ก่อให้เกิดอาการทางคลินิกที่รุนแรง แนวทางการศึกษาและตรวจวินิจฉัยฮีโมโกลบินเหล่านี้ใช้แนวทางเดียวกับที่แสดงตัวอย่างข้างต้น



รูปที่ 7 Hb Raleigh เมื่อแยกด้วยวิธี HPLC และ CE (ข้อมูลจากหน่วยบริการธาลัสซีเมีย ศวป. คณะเทคนิคการแพทย์ ม.ขอนแก่น

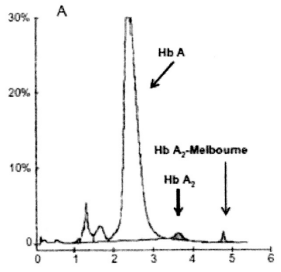


รูปที่ 8 การตรวจหาการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิด Hb Raleigh ด้วยวิธี PCR-RFLP อาศัยเอนไซม์ *Hha* I 1&2=Nornal control 3=Hb Raleigh trait[19]

δ - Globin chain variant

ฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากความผิดปกติของยีน d-globin มีความสำคัญไม่มากนัก ไม่ก่อให้เกิดอาการทางคลินิกที่รุนแรงแต่อย่างใดไม่ว่าจะเป็นความผิดปกติที่ทำให้เกิด δ-thalassemia หรือ δ-Hb variant เนื่องจากมีปริมาณน้อยในเลือด เป็นส่วนประกอบสำคัญของ Hb A_2 ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าร้อยละ 3.5 ในคนปกติ เมื่อมีความผิดปกติเกิดขึ้นจึงไม่กระทบต่อการทำหน้าที่ของฮีโมโกลบินโดยรวมแต่อย่างใด และเนื่องจากมีปริมาณน้อยทำให้มีรายงานการตรวจพบน้อยกว่าความผิดปกติของยีน α-globin และ β-globin (**ตารางที่ 1**) อย่างไรก็ตามเนื่องจากปริมาณ Hb A_2 เป็นตัวบ่งชี้สำคัญที่ใช้ในการวินิจฉัยพาหะ β-thalassemia ความผิดปกติของยีน δ-globin จึงอาจส่งผลต่อการรายงานปริมาณ Hb A_2 และกระทบต่อการวินิจฉัยพาหะ β-thalassemia ได้ ซึ่งจะส่งผลกระทบโดยรวมต่อโครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย ในระยะหลังเมื่อมีการนำ CE มาให้ในการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินทางห้องปฏิบัติการมากขึ้น การตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากความผิดปกติของยีน

δ-globin มากขึ้น เนื่องจากสามารถตรวจหา δ-globin chain variant ได้ดีกว่าเทคโนโลยีอื่น สำหรับในคนไทยมีรายงานตรวจพบ δ-globin chain variant เพียง 2 ชนิด คือ Hb A_2-Melbourne [δ43(CD2)Glu-Lys (*G*AG - *A*AG)] ซึ่งเคยมีรายงานมาก่อนในชาวออสเตรเลีย และ Hb A_2-Lampang [δ47(CD6)GAT-AAT; Asp-Asn] ซึ่งเป็นการตรวจพบครั้งแรกของโลก[20,21] สิ่งสำคัญเมื่อตรวจพบ δ-globin chain variant คือ ต้องนำปริมาณของ Hb A_2 และปริมาณของ δ-globin chain variant มารวมกันแล้วรายงานเป็นค่า total Hb A_2 เพื่อไม่ให้การวินิจฉัยพาหะ β-thalassemia ผิดพลาดดังแสดงใน **รูปที่ 9** ซึ่งแสดงการตรวจพบ Hb A_2-Melbourne ในผู้ป่วยรายหนึ่ง จะเห็นว่า Hb A_2 (ร้อยละ 1.6) และ Hb A_2-Melbourne (ร้อยละ 0.9) ถูกแยกออกจากกันเป็น 2 ส่วน บน capillary electrophoresis ดังนั้น ปริมาณ total Hb A_2 จึงเท่ากับร้อยละ 1.6 + 0.9 = ร้อยละ 2.5 เป็นต้น



Total Hb A_2 = 1.6 + 0.9 = 2.5 %

(For accurate diagnosis of β-thalassemia trait HbA_2 & HbA_2 variant must be combined)

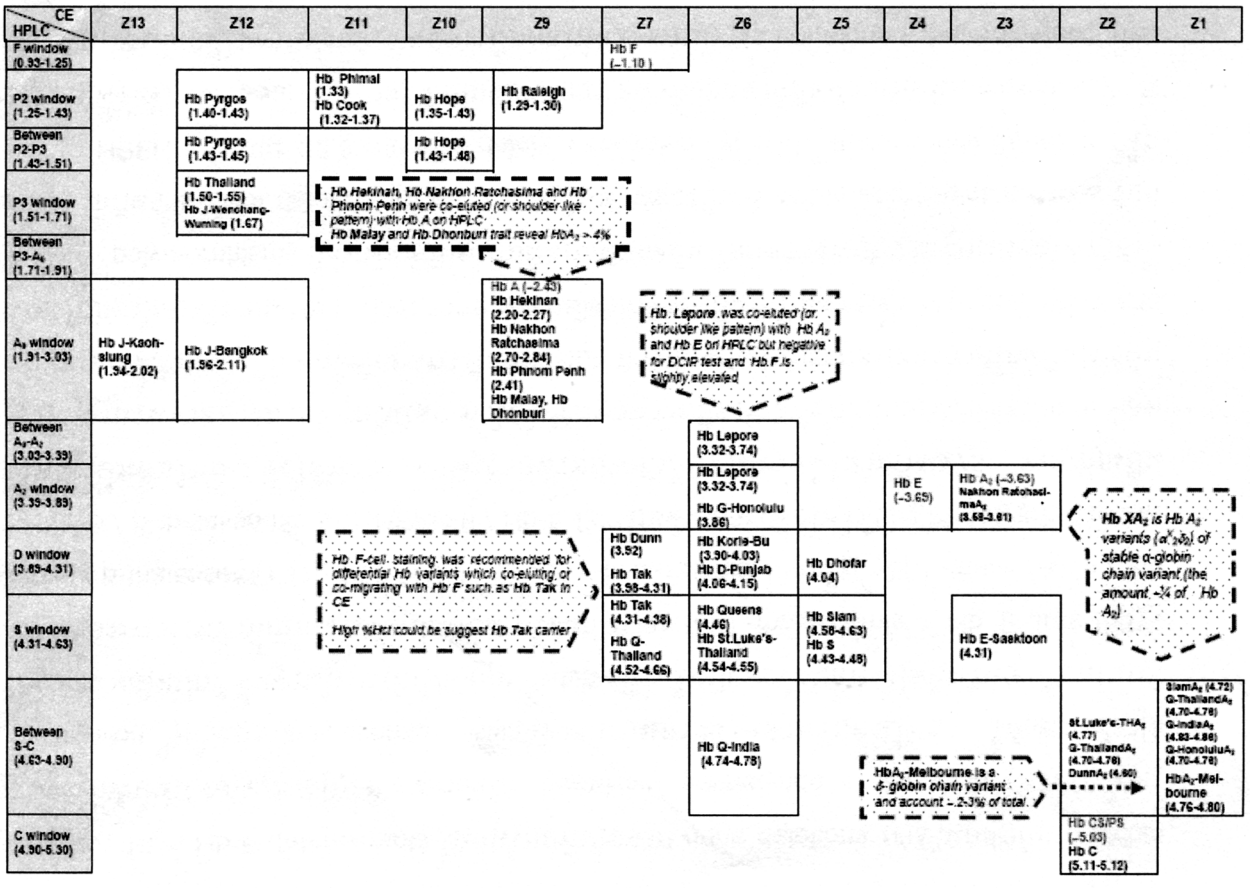
รูปที่ 9 แสดงการตรวจพบ Hb A_2-Melbourne ในผู้ป่วยรายหนึ่ง จะเห็นว่า Hb A_2 (ร้อยละ 1.6) และ Hb A_2-Melbourne (ร้อยละ 0.9) ถูกแยกออกจากกัน ปริมาณ total Hb A_2 จึงเท่ากับร้อยละ 2.5[20]

บทสรุป

นับตั้งแต่ได้เริ่มดำเนินงานตามนโยบายการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย ส่งผลให้มีการตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินในประชากรเป็นจำนวนมาก มีการตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติมากขึ้น เกือบทั้งหมดไม่สามารถให้การวินิจฉัยที่ถูกต้องแน่นอนได้ ส่งผลให้ไม่สามารถให้การดูแลรักษาและให้คำปรึกษาแนะนำที่ถูกต้องแก่ผู้ป่วยและครอบครัว เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานการเกิดความผิดปกติระดับโมเลกุลของฮีโมโกลบินผิดปกติในคนไทยและความถี่ของการตรวจพบ อันจะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่มีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องศึกษาและรายงาน ข้อมูลทางโลหิตวิทยา การแสดงออกในผู้ป่วยและข้อมูลระดับโมเลกุลที่สัมพันธ์กับการเกิดฮีโมโกลบินผิดปกติในคนไทยที่รวบรวมจากภูมิภาคต่างๆของประเทศ ข้อมูลจากโครงการวิจัยธาลัสซีเมีย ศวป. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งได้ทำการศึกษาจากตัวอย่างเลือดที่ส่งมารับการตรวจจำนวนมาก มักตรวจพบปฏิสัมพันธ์ของยีนฮีโมโกลบินผิดปกติร่วมกับธาลัสซีเมียหรือฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆได้บ่อย ส่งผลให้มีการแสดงออกที่ซับซ้อนและยากที่จะให้การวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ [22] การพัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยสำหรับการตรวจยีนฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆที่พบได้บ่อยในประชากรไทย จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับงานบริการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการชันสูตรโรคอันจะนำไปสู่การดูแลรักษาและให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรมได้อย่างถูกต้อง ส่งผลให้การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของประเทศไทยดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพและกว้างขวางคลอบคลุมพื้นที่ในประเทศไทยมากยิ่งขึ้น

การศึกษาตามแนวทางดังกล่าว ทำให้กลุ่มวิจัยของผู้เขียนสามารถค้นพบและตีพิมพ์เผยแพร่ผลการศึกษาฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบในคนไทยในฐานข้อมูลของโลก รวมไม่น้อยกว่า 35 ชนิด[4,5] จำแนกเป็นฮีโมโกลบินที่เคยมีรายงานตรวจพบมาก่อนในประเทศไทยประมาณ 20 ชนิด เช่น Hb Malay, Hb Tak, Hb Pyrgos, Hb C, Hb J-Bangkok, Hb Pakse', Hb S, Hb D-Punjub, Hb Q-Thailand, Hb Hope, Hb Siam, Hb Queens, Hb J-Wenchang-Wuming, Hb Q-India, Hb Thailand, Hb Dhonburi, Hb G Makassa และ Hb Cook เป็นต้น เป็นฮีโมโกลบินที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในคนไทยแต่พบในคนต่างชาติจำนวน 14 ชนิด ได้แก่

Hb Korle-Bu, Hb Hekinan, Hb Quong Sze, Hb Beijing, Hb A_2-Melbourne, Hb Raleigh, Hb Dunn, Hb E-Saskatoon, Hb G-Honolulu, Hb J-Kaosiung, Hb Dhofar, Hb Phnom Penh, Hb Grey Lynn และ Hb Kawachi นอกจากนี้ยังได้ค้นพบและรายงานฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดใหม่ของโลกที่ไม่เคยมีรายงานในที่ใดมาก่อนในคนไทย ได้แก่ Hb Phimai, Hb Nakhon Ratchasima, Hb St. Luke's-Thailand และ Hb A_2-Lampang ซึ่งผลการศึกษา chromosome background ของยีนฮีโมโกลบินชนิดใหม่เหล่านี้สามารถระบุได้ว่า น่าจะมีจุดกำเนิดของการกลายพันธุ์อยู่ในประเทศไทย ฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ บางชนิดไม่ก่อให้เกิดโรคใดๆ บางชนิดก่อให้เกิดความผิดปกติทางโลหิตวิทยา บางชนิดเมื่อพบร่วมกับธาลัสซีเมียก่อให้เกิดโรคที่มีอาการรุนแรง บางชนิดส่งผลกระทบต่อการรายงานค่า Hb A1c ซึ่งใช้ในการวินิจฉัยและติดตามการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน บางชนิดจัดเป็นธาลัสซีเมียด้วย เป็นต้น การวินิจฉัยแยกชนิดฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้จึงมีความสำคัญ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาฮีโมโกลบินผิดปกติอย่างต่อเนื่อง เป็นผลให้กลุ่มผู้วิจัยของผู้เขียนมีฐานข้อมูลเกี่ยวกับฮีโมโกลบินผิดปกติในคนไทยมากที่สุดและได้พัฒนาเป็นแนวทางการแปลผลการตรวจวินิจฉัยฮีโมโกลบินผิดปกติเบื้องต้นสำหรับโรงพยาบาลต่างๆขึ้นโดยอาศัยเทคนิคการตรวจฮีโมโกลบินสองชนิดร่วมกัน คือ HPLC และ capillary electrophoresis แล้วสร้างเป็นแนวทางในการแปลผลในแบบ two dimensional interpretation (**รูปที่ 10**) [4,5] ทำให้สามารถให้การวินิจฉัยเบื้องต้นได้เร็วขึ้น จากนั้นจึงตรวจยืนยันด้วยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอต่อไป ข้อมูลจากการศึกษาทั้งหมดเป็นองค์ความรู้ที่ค่อนข้างสมบูรณ์สำหรับประเทศไทยอย่างเป็นรูปธรรมและเสริมการดำเนินงานด้านการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของไทยให้สามารถดำเนินงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และมีประโยชน์อย่างมากต่อการศึกษาทางด้านประชากรพันธุศาสตร์ด้วย



รูปที่ 10 แนวทางการแปลผลและให้การวินิจฉัยเบื้องต้นของการตรวจฮีโมโกลบินผิดปกติโดยใช้ HPLC และ capillary electrophoresis ร่วมกันในแบบ two dimensional interpretations[5]

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยที่ได้สรุปรวบรวมไว้ในบทความนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากหลายแหล่งทุนประกอบด้วย ทุนศูนย์วิจัยเฉพาะทางมหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุนกลุ่มวิจัย สกอ. ทุนมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (NRU) ในส่วนของมหาวิทยาลัยขอนแก่น และทุนโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก สกว. โดยดำเนินการร่วมกับนักวิจัยหลายคนประกอบด้วย รองศาสตราจารย์ ดร.กนกวรณ แสนไชยสุริยา ดร.สานิตา สิงห์สนั่น ดร.สุภาวดี แย้มศรี ดร.อัฐวุฒิ ไชยบุญเรือง ดร.หทัยชนก ศรีวรกุล ดร.ธเนตร ประจันตเสน นายกฤษดา สิงหะ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิทธิชัย ปัญญาใส ขอขอบคุณนักเทคนิคการแพทย์จากโรงพยาบาลต่างๆทั่วประเทศที่ส่งตัวอย่างเลือดผู้ป่วยให้ทำการศึกษาที่ ศวป. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Honig GR, Adams JG. Human hemoglobin genetics. Springer-Verlag, New York, 1986.
2. Giordine B, Borg J, Viennas E, Pavlidis C, Moradkhani K, Joly P, et al. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations. Nucleic Acids Res 2014; 42 (Database issue): D1063-D1069.
3. สุพรรณ ฟู่เจริญ, กุลนภา ฟู่เจริญ. ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในประเทศไทย: แนวทางการตรวจวินิจฉัยในระดับโมเลกุล. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2554; 23: 1 - 6.
4. Fucharoen G, Srivorakun H, Singsanan S, Fucharoen S. Presumptive diagnosis of common haemoglobinopathies in Southeast Asia using a capillary electrophoresis system. Int J Lab Haematol 2011; 33: 424-33.
5. Srivorakun H, Singha K, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. A large cohort of hemoglobin variants in Thailand: molecular epidemiological study and diagnostic consideration. PLoS ONE 2014; 9: e108365.
6. Panyasai S, Fucharoen G, Fucharoen S. A cohort of hemoglobin variants in northern Thailand: Prevalence, heterogeneity and molecular characteristics. Genet Test Mol Biomark 2016 (in press).
7. Sanchaisuriya K, Chunpanich S, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y. Association of Hb Q-Thailand with homozygous Hb E and heterozygous Hb Constant Spring in pregnancy. Eur J Haematol 2005; 74: 221-7.
8. Singsanan S, Karnpean R, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Fucharoen S. Hemoglobin Q-Thailand related disorders: origin, molecular, hematological and diagnostic aspects. Blood Cells Mol Dis 2010; 45: 210-4.
9. Fucharoen S, Changtrakun Y, Ratanasiri T, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Complex interaction of Hb Hekinan [α27(B8) Glu-Asp] and Hb E [β26(B8) Glu-Lys] with a deletional α-thalassemia 1 in a Thai family. Eur J Haematol 2003; 70: 304- 9.
10. Chunpanich S, Ayukarn K, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Laboratory diagnosis of a compound heterozygosity for Hb Hekinan [α27(B8) Glu-Asp] and a deletional α-thalassemia 2 in Thailand. Clin Lab Haematol 2004; 26: 355-8.
11. Fucharoen S, Singsanan S, Hama A, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Rapid molecular characterization of Hb Queens and Hb Siam: two variants easily misidentified as sickle Hb. Clin Biochem 2007; 40: 137-40.
12. Srivorakun H, Fucharoen G, Puangplruk R, Kheawon N, Fucharoen S. Complex interaction of Hb Nakhon Ratchasima [α63(E12)Ala-Val], a novel α2-globin chain variant with Hb E [β26(B8)Glu-Lys] and a deletional α^{+} - thalassemia. Eur J Haematol 2011; 87: 68-72.
13. Singha K, Fucharoen G, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematological characteristics of a novel form of α-globin gene triplication: The hemoglobin St Luke's Thailand [α95(G2)Pro-Arg] or Hb St. Luke's [A2] *HBA2*. Clin Biochem 2013;

46: 675-80.

14. Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Surapot S. Molecular characterization of thalassemia intermedia with homozygous Hb Malay and Hb Malay / Hb E in Thai patients. Haematologica 2001; 86: 657-8.
15. Yamsri S, Singha K, Prajantasen T, Taweenan W, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, et al. A large cohort of β^+-thalassemia in Thailand: molecular, hematological and diagnostic considerations. Blood Cells Mol Dis 2015; 54: 164-9.
16. Sanchaisuriya K, Chunpanich S, Fucharoen G, Fucharoen S. Multiplex allele specific PCR assay for differential diagnosis of Hb S, Hb D-Punjab and Hb Tak. Clin Chim Acta 2004; 343: 129-34.
17. Prakobkaew N, Singsanan S, Fucharoen G, Fucharoen S. Secondary erythrocytosis caused by Hb Tak / $(\delta\beta)^o$ – thalassemia syndrome. Acta Haematol 2010; 124: 115-9.
18. Singsanan S, Srivorakun H, Fucharoen G, Puangplruk R, Fucharoen S. Hb Phimai [β72(E16)Ser-Thr]: A novel β-globin structural variant found in association with Hb Constant Spring in pregnancy. Hemoglobin 2011; 35: 103-10.
19. Singha K, Fucharoen G, Chaibunruang A, Netnee P, Fucharoen S. A spurious haemoglobin A_{1c} result associated with double heterozygote for haemoglobin Raleigh [β1(NA1)Val → Ala] and α^+-thalassaemia. Ann Clin Biochem 2012 49: 445-9.
20. Chaibunraung A, Fucharoen G, Fucharoen S. First description of the Hb A_2 variant in Thailand: identification of Hb A_2 – Melbourne; δ43(CD2) Glu-Lys in Thai individuals. Hemoglobin 2012; 36: 80-4.
21. Panyasai S, Fucharoen G, Fucharoen S. Known and new hemoglobin A2 variants in Thailand and implication for β-thalassemia screening. Clin Chim Acta 2015; 438: 226-30.
22. Singha K, Fucharoen G, Fucharoen S. Five hemoglobin variants in a double heterozygote for alpha- and beta-globin chain defects. Acta Haematol 2014; 131: 71-5.