

นิพนธ์ต้นฉบับ

การวินิจฉัยพาหะของโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ด้วยเครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew®

ต่อพงศ์ สวงนเสริมศรี*, สุรสิทธิ์ ขมชื่น*, Heinrich F. Steger*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ : เพื่อประเมินการใช้เครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew® ในการตรวจวินิจฉัยพาหะของโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

ตัวอย่างทดสอบ : ตัวอย่างเลือดจากกลุ่มอาสาสมัครพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 จำนวน 10 ราย พาหะเบต้าธาลัสซีเมีย จำนวน 50 ราย พาหะฮีโมโกลบินอี จำนวน 60 ราย โฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี จำนวน 30 ราย และคนปกติ จำนวน 150 ราย

วิธีการ : ใช้เครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew® ทำการวิเคราะห์ Chromatogram และหาค่า % Hb A₂ จากตัวอย่างเลือด

ผลการทดลอง : ลักษณะ Chromatogram ในกลุ่มอาสาสมัครพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 พาหะเบต้าธาลัสซีเมีย และคนปกติ มี Hb typing เป็น A₂A เหมือนกัน ในขณะที่กลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอี มี Hb typing เป็น AE และกลุ่มโฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี มี Hb typing เป็น E สำหรับค่า % Hb A₂ ในกลุ่มอาสาสมัครพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 พาหะเบต้าธาลัสซีเมีย พาหะฮีโมโกลบินอี โฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี และคนปกติ ได้ค่า Mean $\pm$ SD = 2.01 $\pm$ 0.35 %, 5.29 $\pm$ 0.47 %, 27.73 $\pm$ 2.43 %, 86.06 $\pm$ 6.36 % และ 2.40 $\pm$ 0.35 % ตามลำดับ ซึ่งค่า % Hb A₂ ในกลุ่มของพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 และคนปกติ สามารถแยกออกจากกลุ่มพาหะเบต้าธาลัสซีเมียได้ โดยมีค่า % Hb A₂ cut off เท่ากับ 4.0 % ทั้งนี้วิธีการนี้ไม่สามารถแยกแยะระหว่างกลุ่มคนปกติกับพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 ได้

สรุป : การใช้เครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew® สามารถตรวจวินิจฉัยพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย พาหะฮีโมโกลบินอี และโฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี ได้อย่างแม่นยำ ใช้เวลาในการทดสอบน้อย วิธีการง่ายไม่ยุ่งยาก และไม่จำเป็นต้องมีบุคลากรที่มีความชำนาญในการทดสอบ จึงน่าจะเป็นประโยชน์สำหรับการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในประเทศไทยได้เป็นอย่างดี วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2542;

32: 144-9.

คำรหัส : Hemoglobin typing, พาหะของโรคธาลัสซีเมีย, เครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew®

* หน่วยงานผู้สนับสนุน: ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : Diagnosis of Severe Thalassemia Trait Using the Low Pressure Liquid Chromatography Hb Gold Drew® System

Sanguanserm Sri T*, Chomchuen S*, Steger HF*

Objective : To evaluate the usefulness of low pressure liquid chromatography (Hb Gold Drew®) system for diagnosis of severe thalassemia traits.

Subjects : Whole blood samples from 10 α -thalassemia-1 traits, 50 β -thalassemia traits, 60 hemoglobin E traits, 30 homozygous hemoglobin E and 150 normal were included in the experiment.

Method : Using the low pressure liquid chromatography (Hb Gold Drew®) system to analyse the chromatogram and % Hb A₂ value of blood samples.

Results : The chromatogram of α -thalassemia-1 traits, β -thalassemia traits and normals showed a hemoglobin typing A₂A. Whereas, the hemoglobin E traits showed a hemoglobin typing AE, and homozygous hemoglobin E showed a hemoglobin typing E. The % Hb A₂ of α -thalassemia-1 traits, β -thalassemia traits, hemoglobin E traits, homozygous hemoglobin E and normals were (Mean $\pm$ SD) 2.01 ± 0.35 , 5.29 ± 0.47 , 27.73 ± 2.43 , 86.06 ± 6.36 and 2.40 ± 0.35 , respectively. The % Hb A₂ of α -thalassemia-1 traits and normals could therefore be distinguished from β -thalassemia traits by using a Hb A₂ cut off of 4.0%. However α -thalassemia-1 traits and normals could not be distinguished by their % Hb A₂.

Conclusion : The Hb Gold Drew® system was found to be a valuable tool for hemoglobin analysis due to its accurate, simple and speedy operation. An application for the prevention and control of severe thalassemia in Thailand is promising. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 1999; 32: 144-9.

Key words : Hemoglobin typing, thalassemia trait, Hb Gold Drew®

* Human Genetics Unit, Pediatrics Department, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

บทนำ

ธาลัสซีเมีย เป็นโรคโลหิตจางทางพันธุกรรมที่มีอุบัติการณ์สูงกว่า 1 % ของประชากรไทย ประมาณ 30-40 % ของประชากรไทยเป็นพาหะของยีนผิดปกติธาลัสซีเมีย หรือ ฮีโมโกลบินผิดปกติอื่น ๆ¹ และยังพบว่า 5.5 % ของคู่สมรสจะมีอัตราเสี่ยงในการให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง² ผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง จะมีความทุกข์ทรมาน การรักษาผู้ป่วยต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายต่อคนต่อปีเป็นจำนวนมาก เป็นกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นภาระหนักต่อครอบครัว และยังส่งผลกระทบต่อทั้งทางเศรษฐกิจ สังคม การพัฒนาประเทศ และเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศ จนต้องมีแผนควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย เพื่อลดจำนวนผู้เกิดใหม่ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ได้แก่ Hb Bart's hydrops fetalis, Homozygous beta-thalassemia และ Beta-thalassemia/Hb E

การตรวจกรองหาพาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 เบต้าธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินอี ในหญิงตั้งครรภ์และสามี เป็นจุดเริ่มต้นของการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่ดีที่สุด แต่เนื่องจากการวินิจฉัยพาหะทั้งสามชนิดนี้มีความยุ่งยาก ต้องใช้เวลานาน และต้องมีห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมและมีการควบคุมคุณภาพของเทคนิคการตรวจที่ดีตามวิธีมาตรฐานต่าง ๆ เช่น การตรวจหาพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 ทำได้โดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งไม่สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการชั้นสูตรของโรงพยาบาลของรัฐทั่ว ๆ ไป อีกทั้งวิธีการค่อนข้างยุ่งยาก ใช้เวลานาน และต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญสูง

การตรวจหาพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย ต้องอาศัยการตรวจวัดปริมาณ Hb A₂ ซึ่งในกลุ่ม

พาหะเบต้าธาลัสซีเมียจะมีค่าสูงกว่าคนปกติคือเท่ากับ 4.0 - 9.0% ในขณะที่คนปกติมีค่าเพียง 2.5 - 3.5%¹ การตรวจวัดปริมาณ Hb A₂ ในปัจจุบันนิยมใช้วิธี Cellulose acetate electrophoresis และวิธีมาตรฐาน DEAE Sephadex A50 microcolumn chromatography การตรวจวัดปริมาณ Hb A₂ ด้วยวิธี Cellulose acetate electrophoresis ทำได้โดยการชะแถบของ Hb A₂ ออกมาวัดความเข้มข้น หรือวัดความเข้มของแถบ Hb A₂ โดยใช้เครื่อง Densitometer ซึ่งค่าที่ได้มีความแม่นยำต่ำ และมีความเบี่ยงเบนค่อนข้างมากซึ่งจะทำให้เกิดผลบวกและผลลบปลอมได้ สำหรับวิธีมาตรฐาน DEAE Sephadex A50 microcolumn chromatography การตรวจวัดค่อนข้างยุ่งยาก ใช้เวลานาน และต้องมีบุคลากรที่มีความชำนาญสูง

การตรวจหาพาหะฮีโมโกลบินอี สามารถทำได้ด้วยวิธี Dichlorophenol indophenol precipitation test (DCIP) ซึ่งผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีและโฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี จะให้ผลบวกคือ สารละลายขุ่นและตกตะกอน แต่เนื่องจากการอ่านผลวิธี DCIP นี้ค่อนข้างยากเพราะน้ำยามีสีเข้ม และต้องอาศัยความชำนาญสูง อีกทั้งผลบวกของ DCIP ไม่ได้จำเพาะเจาะจงกับ Hb E เพียงอย่างเดียว ยังพบว่า Hb H และ Hb Bart's ก็ให้ผลบวก DCIP ได้เช่นกัน

การศึกษานี้ได้นำเครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew[®] มาประเมิน เพื่อช่วยในการวินิจฉัยพาหะของโรคธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงในหญิงตั้งครรภ์และสามี เพื่อเป็นประโยชน์ในการให้คำปรึกษาแนะนำแก่คู่สมรสที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ซึ่งจะเป็นแนวทางที่จะช่วยในการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในประเทศไทย

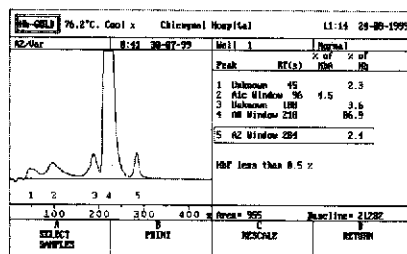
วิธีการ

เก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย 50 ราย พาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 10 ราย พาหะฮีโมโกลบินอี (ที่ไม่มียีนแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 แผลง) 60 ราย โฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี (ที่ไม่มียีนแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 แผลง) 30 ราย และคนปกติ 150 ราย โดยมี EDTA เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด นำมาทำ Hemolysate โดยใช้ Whole blood 10 μ L ผสมกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1 มล. นำไปเข้าเครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew® แล้วนำ Chromatogram ของกลุ่มอาสาสมัครแต่ละชนิดมาวิเคราะห์ รวมทั้งนำค่า % Hb A₂ ของ

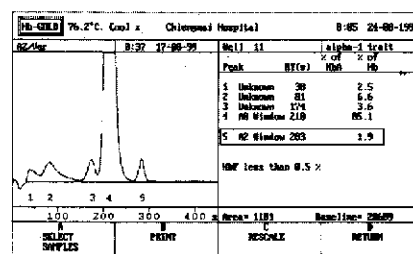
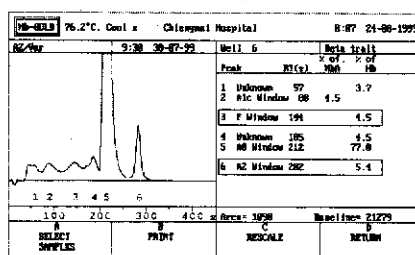
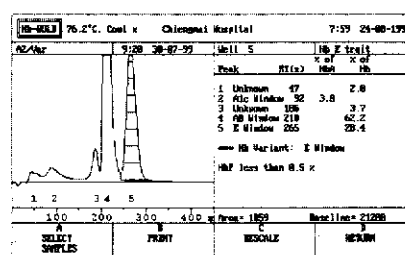
กลุ่มอาสาสมัครมาหาค่า Mean $\pm$ SD เพื่อหาค่า Cut off ที่จะใช้ในการวินิจฉัยหาพาหะของโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

ผลการศึกษา

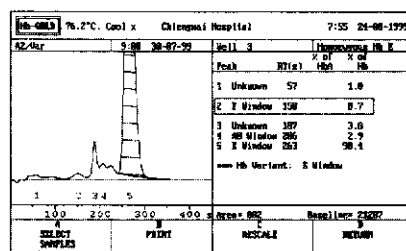
จากการศึกษา Chromatogram ในกลุ่มอาสาสมัคร พบว่ากลุ่มพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 พาหะเบต้าธาลัสซีเมียและคนปกติ มี Hb typing เป็น A₂A เหมือนกัน ในกลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอี มี Hb typing เป็น AE และในกลุ่มโฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี มี Hb typing เป็น E ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1



Normal

 α -thalassemia-1 trait β -thalassemia trait

Hb E trait



Homozygous Hb E

รูปที่ 1 แสดงลักษณะ Chromatogram ของกลุ่มอาสาสมัคร α -thalassemia-1 trait, β -thalassemia trait, Hb E trait, Homozygous Hb E และคนปกติ

จากการศึกษาพบว่าค่า Mean $\pm$ SD ของ % Hb A₂ ในกลุ่มพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 (n = 10) มีค่า = 2.01 ± 0.35 และพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย (n = 50) มีค่า = 5.29 ± 0.47 สำหรับพาหะฮีโมโกลบินอี (n = 60) มีค่า % Hb E (E -

Window) (Mean $\pm$ SD) = 27.73 ± 2.43 และโฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี (n = 30) มีค่า = 86.06 ± 6.36 ส่วนในกลุ่มคนปกติ (n = 150) มีค่า % Hb A₂ (Mean $\pm$ SD) = 2.40 ± 0.35 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่า Mean $\pm$ SD ของปริมาณ % Hb A₂ ในกลุ่มอาสาสมัครประเภทต่าง ๆ ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew®

ประเภทของอาสาสมัคร	จำนวนอาสาสมัคร (ราย)	ปริมาณ % Hb A ₂ (E-Window)	
		Range	Mean $\pm$ SD
แอลฟาธาลัสซีเมีย 1	10	1.6 - 2.6	2.01 ± 0.35
เบต้าธาลัสซีเมีย	50	4.5 - 6.3	5.29 ± 0.47
ฮีโมโกลบินอี	60	20.8 - 30.8	27.73 ± 2.43
โฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี	30	62.2 - 91.8	86.06 ± 6.36
คนปกติ	150	1.4 - 3.3	2.40 ± 0.35

วิจารณ์

จากการศึกษาพบว่า การใช้เครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew® ในการตรวจวินิจฉัยพาหะของโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงทำได้โดยอาศัยลักษณะ Chromatogram และปริมาณ % Hb A₂ ที่ได้ โดยที่กลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอี และโฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี จะมี Hb typing เป็น AE (E - Window) และ E (E - Window) ตามลำดับ สำหรับพาหะเบต้าธาลัสซีเมียสามารถวินิจฉัยได้โดยใช้ค่า % Hb A₂ ที่สูงกว่าระดับคนปกติ โดยมีค่า % Hb A₂ cut off เท่ากับ 4.0 % ถึงแม้ว่าจะมี Hb typing เหมือนกับพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 และคนปกติ คือ A₂A แต่ในกลุ่มพาหะ

แอลฟาธาลัสซีเมีย-1 ไม่สามารถแยกกับคนปกติได้ด้วยการอาศัยทั้งลักษณะ Chromatogram และค่า % Hb A₂ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการใช้เครื่องแยกฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold Drew® สามารถตรวจวินิจฉัยพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย พาหะฮีโมโกลบินอี และโฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี ได้อย่างแม่นยำใช้เวลาในการทดสอบเพียง 10 นาที ต่อตัวอย่างเลือด 1 ตัวอย่าง วิธีการง่ายไม่ยุ่งยาก และไม่จำเป็นต้องมีบุคลากรที่มีความชำนาญในการทดสอบ จึงน่าจะเป็นประโยชน์สำหรับการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในประเทศไทยได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. ประเวศ วะสี. ธาลัสซีเมีย. Thai MED Tech Letter 2540; 8: 28.
2. คู่มือการปฏิบัติงานโครงการป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมีย. สำนักส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2540.
3. ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี. วิธีการตรวจรักษา และป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดร้ายแรงในเด็ก. พิมพ์ครั้งที่ 1, เชียงใหม่ : ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่, 2539: 1-6.
4. Kitsirisakul B, Steger HF, Sanguansermisri T. Frequency of α -thalassemia-1 of the Southeast Asian type among pregnant women in Northern Thailand determined by PCR technique. J Trop Med Publ Hlth 1996; 27: 362-3.