



ระดับของฮีโมโกลบิน เอ สอง ในทาลัสซีเมียชนิดต่างๆ

ปราโมทย์ เตียวศิริ

B.Sc. (Med. Tech.)*

สุพร มาตระกูล

M.Sc. (Biochemistry)*

ยุพา จีวริยะวัฒน์

M.Sc. (Clin. Path.)**

ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี

M.D.***

บทคัดย่อ

จากการศึกษาหาปริมาณ Hb. A₂ โดยวิธี Modified Micr. column Chromatography ซึ่งมี DEAE-A 50 และ Tris-HCL-KCN เป็น buffer พบว่าค่าปกติใน 200 คน เท่ากับ 2.628 ± 0.878 เปอร์เซ็นต์ในคนเป็น Heterozygous beta thalassemia สามารถแยกจากคนปกติได้ชัดเจน โดยค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.399 ± 0.915 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใน Thalassemia ชนิดอื่นได้แก่ Homozygous beta thalassemia, Hb. H. disease และ Heterozygous alpha thalassemia มีค่าแยกไม่ได้จากคนปกติและเนื่องจากการหาปริมาณ Hb. A₂ โดยวิธีนี้ ไม่สามารถแยก Hb.E ออกได้ ฉะนั้นใน Thalassemia ชนิด Heterozygous beta thalassemia E และ Hb. E disease จึงได้ค่าของ Hb.E และ Hb.A₂ ในระดับต่างกันซึ่งอาจจะเนื่องจาก Hb. E เป็น Unstable hemoglobin ทั่วหนึ่ง และ gene ควบคุมการสร้างของ beta chain อาจจะแตกต่างกันอีกด้วย

* ภาควิชาคลินิกไมโครสโคปี

** ภาควิชาพยาธิวิทยา

*** ภาควิชากุมารเวชศาสตร์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนโดยคณะแพทยศาสตร์ และทุนวิจัยจากบริษัท โฟล์กสวาเก้น จำกัด ประเทศเยอรมนี

บทนำ

จากการศึกษาหาปริมาณ Hb, A₂ โดยวิธี Microcolumn chromatography (1) พบว่าค่าของ Hb, A₂ ที่ได้สามารถแยกชนิดของ Heterozygous beta-thalassemia ได้อย่างชัดเจนจากคนปกติ โดยบุคคลที่เป็น Thalassemia ชนิดนี้ทราบจากผู้เป็นพ่อแม่ของ Homozygous beta thalassemia จากผลการศึกษาก่อนนี้เป็นการศึกษาต่อโดยการหาค่าของ Hb, A₂ ในโรค Thalassemia ชนิดต่าง ๆ ว่ามีค่าของ Hb A₂ เท่าใด และผลของค่า Hb, A₂ ที่ได้นี้จะช่วยให้การวินิจฉัยโรคชนิดต่าง ๆ ของ Thalassemia แยกต่างไปหรือไม่

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ทำการศึกษาหาปริมาณ Hb, A₂ โดยวิธี Microcolumn chromatography (1) ซึ่งมี DEAE-A 50 เป็น Anion exchanger และ Tris HCL-KCN เป็น buffer ทำการศึกษาในคนปกติจำนวน 200 ราย ซึ่งมีผลของ Hb, electrophoresis (2) เป็น AA Fetal cells (3) และ Inclusion bodies (4) ผล Negative ในคนไข้ Thalassemia ของภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แบ่งชนิดและจำนวนของ Thalassemia ที่ทำการศึกษากันนี้-

1. Homozygous bala thalassemia

จำนวน 100 ราย มีผลดังนี้.-

Hb, electrophoresis (2) F or FA
Fetal cells (3) 1⁺ - 4⁺
Inclusion bodies Negative

2. Heterozygous beta thalassemia

จำนวน 100 ราย ศึกษาโดยทราบจากบิดาหรือมารดาของกลุ่ม Homozygous beta thalassemia

3. Hb, H disease จำนวน 100 ราย

มีผลดังนี้.-

Hb, electrophoresis (2) AH or AH-Bart's
Fetal cells (3) Negative or Trace (5)
Inclusion bodies, 1⁺ - 4⁺

4. Heterozygous alpha thalassemis

จำนวน 50 ราย ศึกษาโดยทราบจากผู้เป็นบิดาหรือมารดาของกลุ่ม Hb.H disease

5. Heterozygous beta thalassemia

E จำนวน 129 คน มีผลดังนี้.-

Hb electrophoresis (2) EF
Fetal cells (3) 1⁺ - 3⁺
Inclusion bodies (4) Negative

6. Heterozygous Hb E disease

จำนวน 96 ราย มีผลดังนี้.-

Hb electrophpresis (2) AE
Fetal cells (3) Negative
Inclusion bodies (4) Negative

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณ % ของ HbA₂ ในกลุ่มที่ทำการทดลองต่างๆ

กลุ่มที่ทำการทดลอง	จำนวน	% Hb A ₂ ($\bar{X} \pm S.D.$)
Normal	200	2.628 $\pm$ 0.878
Homo. beta thal.	100	2.946 $\pm$ 1.476*
Het. beta thal.	100	6.399 $\pm$ 0.915**
Hb. H disease	100	2.165 $\pm$ 1.015*
Het. alpha thal.	50	2.905 $\pm$ 1.041*

* = Non Significant

** = P < 0.001

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณ % ของ HbE + HbA₂ ในกลุ่มที่ทำการทดลองต่างๆ

กลุ่มที่ทำการทดลอง	จำนวน	% Hb. E + A ₂ ($\bar{X} \pm S.D.$)
beta Thal. E (1)	25	26.799 $\pm$ 7.367
beta Thal. E (2)	74	48.266 $\pm$ 6.436
beta Thal. E (3)	30	70.262 $\pm$ 5.476
Het. HbE dis.	96	24.559 $\pm$ 5.841

บทวิจารณ์

จากผลปริมาณของ Hb. A₂ ใน Heterozygous beta thalassemia เท่ากับ 6.399 $\pm$ 0.915 เปอร์เซ็นต์ และเทียบผลทางสถิติกับค่าของคนปกติพบยืนยันว่าการหาค่าของ Hb. A₂ สามารถแยกชนิดของ Thalassemia ชนิดนี้ได้อย่างชัดเจน ส่วน Thalassemia ชนิดอื่น ได้แก่ Homozygous beta thalassemia, Hb. H. disease และ Heterozygous alpha thalassemia นั้น มีค่าแยกไม่ไต่จากคนปกติ

แต่เฉพาะของ Heterozygous alpha thalassemia นั้นมีค่าแนวโน้มต่ำกว่าค่าปกติเล็กน้อยเนื่องจาก alpha chain ถูกยับยั้งการสร้างไปบางส่วนจนเห็นชัดเจน จากผลของตารางที่ 2 เนื่องจากวิธีการหา Hb. A₂ โดยวิธีการนี้ไม่สามารถแยก Hb. E ออกได้ ฉะนั้นผลที่ได้ในการหา จึงเป็นผลรวมระหว่าง Hb. E และ Hb. A₂ ซึ่งใน Thalassemia ชนิดต่างๆ พบดังนี้.-

ใน Heterozygous beta thalassemia E พบระดับของ Hb E+Hb. A₂ แยกได้ 3 ระดับ ซึ่ง Hb แยกได้เป็นกลุ่มดังนี้ อาจเนื่องจากเหตุผลคือ Hb. E เป็น unstable hemoglobin ตัวหนึ่ง และในคนเป็น Thalassaemia กลุ่มนี้อาจจะมี gene ของ beta Thalassaemia ที่แตกต่างกันคือเป็น beta ศูนย์ หรือ beta บวก ก็ได้ ใน Heterozygous Hb. E disease นั้น ค่าที่พบส่วนใหญ่มีค่าอยู่ระหว่าง 24.559 ± 5.481 เปอร์เซ็นต์ มีเพียง 4 คน ที่พบค่าเฉลี่ยเท่ากับ $44.787 \pm 4.498\%$ และพบหนึ่งคนที่ เป็น Homozygous Hb. E disease มีค่าเท่ากับ 92.307 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลที่ได้นี้อาจเนื่องจาก ระดับ การ ควบคุม การ สร้าง Hb. E ในแต่ละบุคคลไม่เท่ากัน และ ความไม่คงทนของ Hb. E อีกด้วย.

เอกสารอ้างอิง

1. ปราโมทย์ เทียวศิริ และผู้ร่วมงาน (1977) "Simple determination of Hb. A₂ for detection of heterozygous beta thalassemia". Bull. of Chiang Mai Ass. Med. Sci 10:17-24.
2. Wehinger H. Alcbouyeh. M. Densitometrisch-quantitative Bestimmung von Haemoglobin A₂ nach Mikrozonen Elektrophorese auf Cellulose Actat. Folie, Jan. 1970
3. "Simple acid elution procedure for staining of red blood cells containing hemoglobin F" Tor-pong Sanguansermisri, Department of Pediatrics and Human Genetic Laboratory. Faculty of Medicine, Chiang mai University, Chiang Mai, Thailand
4. Dacies, J.V., Lewis, S.M. (1975) "Practical Haematology" Fifth edition, P. 142. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York.
5. "Resistant of Hemoglobin Bart's to acid elution" Tor-pong Sanguansermisri, Department of Pediatrics and Human Genetic Laboratory Faculty of Medicine, Chiang Mai University Chiang Mai Thailand

ABSTRACT

LEVELS OF HbA₂ IN TYPES OF THALASSEMIA

PRAMOAT TEOWSIRI B.Sc. (Med. Tech.)*
SURAPORN MATRAGOON M.Sc. (Biochemistry)*
YUPA JIVIRIYAWAT M.Sc. (Clin. Path)**
TOR-PONG SANGUANSEMSRI M.D.***

Microcolumn made use of pastuer pipette was used for separation of hemoglobins on DEAE-Sephadex Chromatography. Hb A₂ levels of patients with several thalassemia types were quantitated. The figure for Hb A₂ from 200 normal subjects appeared to be $2.628 \pm 0.878\%$. A hundred cases of homozygous beta-thalassemia showed the average level of $2.946 \pm 1.476\%$ while their parents, 100 cases of beta-thalassemia trait, gave the figure of $6.399 \pm 0.915\%$ in alpha thalassemia however, there were no significant diagnostic values. The pictures of $2.950 \pm 1.041\%$ in trait form (50 cases) and $2.065 \pm 1.019\%$ in Hb H disease (100 cases) were shown. Hb E is not separable from A₂ by this method. In the beta-thal Hb. E disease,

the A₂ + E hemoglobin levels distributed into three groups with maxima around 27% (25 cases), 48% (74 cases) and 70% (30 cases). The remainder hemoglobin in these groups were either A, F or both. The difference of Hb E levels among this type of patients partly might due to the severity of beta chain suppression; either is beta-O or beta + gene that come to associate with beta-E gene. The reduce in stability of Hb E could play some role, for 96 cases of Hb E heterozygote gave the low levels of Hb E + Hb A₂ as $24.559 \pm 5.481\%$ and only 4 cases in this group showed higher levels of $44.787 \pm 4.489\%$. One homozygous Hb E individual gave the value of 92.307% with this microcolumn method.

*Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.

**Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

***Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

Received : 25 May 1979.