อภินันทนาการ

สัญญาเลขที่ R256000004

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาความชุกของ beta-thalassemia / hemoglobin E ที่ได้รับการวินิจฉัยผิดเป็น homozygous hemoglobin E โดยวิธีตรวจวิเคราะห์สัดส่วนของ hemoglobin

The prevalence study of spurious homozygous hemoglobin E, misdiagnosed from beta-thalassemia / hemoglobin E, determined by hemoglobin analysis

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1.นางสาวปวันรัตน์ สวนนุ่ม	คณะแพทยศาสตร์
2.นางสาวปริศนา เจริญพร	คณะแพทยศาสตร์
3.นางสาวสวิชญาพร เจิมนิ่ม	คณะแพทยศาสตร์
4.นางสาวมณฑิรา จันทร์อิน	คณะแพทยศาสตร์
5.นางสุภารัตน์ จอนคำ	คณะแพทยศาสตร์
6.รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พีระพล วอง	คณะแพทยศาสตร์

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 1 ส.ค. 2562
เลขทะเบียน 10205577
เลขเรียกหนังสือ 3 RC 641 .T5 ป49ร 2560

สนับสนุนโดย
งบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร
ปีงบประมาณ 2560

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากวิจัยจากงบประมาณรายได้ กองทุนมหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ง
บทคัดย่อมหาวิทยาลัยนเรศวร	จ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	
ขอบเขตการวิจัย	
ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
เนื้อเรื่อง	4
วิธีดำเนินการวิจัย	
ผลการวิจัย	6
ข้อวิจารณ์	12
สรุปและข้อเสนอแนะ	13
บรรณานุกรม	14

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าทางโลหิตวิทยาและผลการยืนยันลักษณะทาง genotype	6

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 1 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote	7
2	แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 2 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote	8
3	แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 3 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E homozygote	9
4	แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 4 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote	10
5	แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 5 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote	11

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

Hb	Hemoglobin
HPLC	High performance liquid chromatography
PCR	Polymerase chain reaction
HRM	High resolution DNA melting analysis

บทคัดย่อมหาวิทยาลัยนเรศวร

ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ

(ภาษาไทย) การศึกษาความชุกของ beta-thalassemia / hemoglobin E ที่ได้รับการวินิจฉัยผิดเป็น homozygous hemoglobin E โดยวิธีตรวจวิเคราะห์สัดส่วนของ hemoglobin

(ภาษาอังกฤษ) The prevalence study of spurious homozygous hemoglobin E, misdiagnosed from beta-thalassemia / hemoglobin E, determined by hemoglobin analysis

หัวหน้าโครงการวิจัย

นางสาวปวันรัตน์ สวนนุ่ม (40%)

หน่วยงานที่สังกัด หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์

โทรศัพท์ 055-965058

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวปริศนา เจริญพร (15%)

หน่วยงานที่สังกัด หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์

โทรศัพท์ 055-965058

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวสวิชญาพร เจิมนิ่ม (15%)

หน่วยงานที่สังกัด หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์

โทรศัพท์ 055-965058

ผู้ร่วมวิจัย

นางสาวมณฑิรา จันทร์อิน (15%)

หน่วยงานที่สังกัด หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์

โทรศัพท์ 055-965058

ผู้ร่วมวิจัย

นางสุภารัตน์ จอนคำ (5%)

หน่วยงานที่สังกัด หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์

โทรศัพท์ 055-965058

ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ พีระพล วอง (10%)

หน่วยงานที่สังกัด หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์

โทรศัพท์ 055-965058

ได้รับทุนอุดหนุนจากการทุนอุดหนุนการวิจัยสถาบัน

งบประมาณงบประมาณรายได้มหาวิทยาลัย จำนวนเงิน 10,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 12 เดือน ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2559 ถึง 30 กันยายน 2560

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อหาความชุกของ hemoglobin (Hb) E / β thalassemia ที่ได้รับการวินิจฉัยผิดเป็น Hb E homozygote เนื่องจากปริมาณ Hb F ที่ต่ำ จากการวิเคราะห์ชนิดและสัดส่วนของ Hb ด้วยวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) การศึกษาได้ดำเนินการภายใต้โครงการตรวจวินิจฉัยเพื่อกำหนดคู่เสี่ยงของ β-thalassemia ในหญิงตั้งครรภ์และสามี ในเขตภาคเหนือตอนล่าง ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2557 ถึง มีนาคม 2560 คู่สามีภรรยาที่ได้รับการวินิจฉัย Hb E homozygote ในคนใดคนหนึ่ง และอีกคนหนึ่งได้รับการวินิจฉัย Hb E heterozygote หรือ Hb E homozygote โดยวิธี HPLC จะถูกคัดเลือกเข้าสู่การศึกษา Hb E homozygote ทุกคนจะได้รับการตรวจยืนยันการวินิจฉัย β mutation โดยเทคนิคการตรวจ DNA พร้อมกับตรวจหา α^0-thalassemia(ชนิด Southeast Asian และ Thai deletion) และ α^+-thalassemia (ชนิด -3.7 และ -4.2 kb deletion) จากคู่สามีภรรยา 6,023 คู่ที่ได้รับการตรวจด้วยวิธี HPLC พบคู่สามีภรรยาที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือก 464 คู่ ในจำนวนนี้มี 25 คู่ ที่ทั้งสามีและภรรยาได้รับการวินิจฉัย Hb E homozygote ในจำนวนผู้ที่ได้รับการวินิจฉัย Hb E homozygote 489 คน พบ Hb E / β thalassemia จำนวน 5 คน (1.0%) ทั้ง 5 คน ตรวจพบ α^0-thalassemia หรือ α^+-thalassemia ร่วมด้วย และจากผลการตรวจดังกล่าวจึงพบคู่เสี่ยงของ Hb E / β thalassemia เพิ่มขึ้นอีก 5 คู่ จากการศึกษาสรุปได้ว่าความชุกของ Hb E / β thalassemia ในกลุ่ม Hb E homozygote ที่ได้รับการวินิจฉัยจาก HPLC เท่ากับร้อยละ 1.0 โดย α-thalassemia อาจเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้ระดับ Hb F ต่ำลงใน Hb E / β thalassemia

คำสำคัญ: Hemoglobin E / β-thalassemia, Hemoglobin E homozygote, High-performance liquid chromatography, Hemoglobin F

Abstract

To find out the prevalence of hemoglobin (Hb) E / β-thalassemia disease with a phenotypic misdiagnosis of Hb E homozygote due to a very low Hb F fraction determined by high-performance liquid chromatography (HPLC), the study was conducted prospectively in prenatal control program of β-thalassemia in the lower north of Thailand, between February 2014 and March 2017. All couples with phenotypic diagnoses of homozygous Hb E by HPLC in one person, and heterozygous or homozygous Hb E in the other one were consecutively recruited. DNA methods to confirm their genotype of Hb E homozygote and to detect other β-thalassemia mutations, together with α^0-thalassemia (Southeast Asian and Thai deletions) and α^+-thalassemia (3.7- and 4.2-kb deletions) determinants were performed in all samples

with Hb E homozygote phenotype. Among 6,023 couples determined by HPLC, 464 couples were met our requirement, 25 with double diagnoses of Hb E homozygote. After performing genotypic diagnosis in 489 phenotypic Hb E homozygote, 5 (1.0%) Hb E / β-thalassemia subjects were identified. All 5 samples co-inherited with either α^{0}-thalassemia or α^{+}-thalassemia allele. Considering with these 5 Hb E / β-thalassemia detected, there were 5 more at-risk couples for Hb E / β-thalassemia identified. Prevalence of Hb E / β-thalassemia among Hb E homozygote phenotype, determined by HPLC, was 1.0%. An α-thalassemia coinheritance may be a major Hb F-lowering cause in Hb E / β-thalassemia.

Keywords: Hemoglobin E / β-thalassemia, Hemoglobin E homozygote, High-performance liquid chromatography, Hemoglobin F

บทนำ

compound heterozygous beta-thalassemia / hemoglobin (Hb) E เป็นโรคธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย ผู้ป่วยส่วนหนึ่งมีอาการทางคลินิกรุนแรงเทียบเท่า homozygous beta-thalassemia จึงจำเป็นต้องได้รับการควบคุมในประชากร การกำหนดคู่เสี่ยงของ beta-thalassemia โดยใช้ Hb analysis สามารถวินิจฉัยและกำหนดคู่เสี่ยงของ homozygous beta-thalassemia และ compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E อย่างได้ผล อย่างไรก็ดีเนื่องจาก Hb analysis เป็นการตรวจ phenotype ที่แสดงออกเท่านั้น จึงไม่สามารถใช้วินิจฉัย genotype ได้ถูกต้องทั้งหมด จากประสบการณ์การดำเนินงานควบคุมป้องกันโรคธาลัสซีเมียในเขตภาคเหนือตอนล่างมาตลอด 13 ปี พบว่า มีผู้ป่วยที่เป็น compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E บางรายให้ผล Hb analysis เหมือนกับผู้ที่เป็น Homozygous Hb E ทุกประการ เนื่องจากปริมาณ Hb F ในผู้ป่วยดังกล่าวมีน้อยมาก Hb ส่วนใหญ่เป็น Hb E ทำให้ phenotype จาก Hb analysis ให้ผลเป็น homozygous Hb E ดังนั้นหากผู้ป่วยดังกล่าวมีคู่สมรสที่เป็น heterozygous Hb E หรือ homozygous Hb E จะทำให้มีโอกาสเสี่ยงที่จะได้บุตรเป็นโรค compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E โดยไม่สามารถระบุเป็นคู่เสี่ยงได้ด้วย Hb analysis จำเป็นต้องใช้การตรวจ DNA เท่านั้น จึงจะสามารถกำหนดเป็นคู่เสี่ยงได้ การศึกษาชิ้นนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาขนาดของปัญหาดังกล่าวในงานกำหนดคู่เสี่ยงของโรคธาลัสซีเมียในเขตภาคเหนือตอนล่าง

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความชุกของ compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ที่ให้ผล Hb analysis เหมือนกับ homozygous Hb E ในเขตภาคเหนือตอนล่าง

2. เพื่อศึกษาขนาดของปัญหาคู่เสี่ยงของ compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ที่ประกอบด้วย compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ที่ให้ผล Hb analysis เหมือนกับ homozygous Hb E และคู่สมรสที่เป็น heterozygous Hb E หรือ homozygous Hb E ในเขตภาคเหนือตอนล่าง

ขอบเขตการวิจัย

การตรวจ Hb analysis โดยวิธี HPLC ได้ถูกระบุในขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเพื่อกำหนดคู่เสี่ยงของสำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติในคู่สามีภรรยาทุกคู่ ทำการคัดเลือกเฉพาะผลการตรวจวิเคราะห์ของคู่

สามีภรรยาที่มีสามีหรือภรรยาที่ให้ลักษณะ phenotype จาก HPLC เหมือนกับ homozygous Hb E และมีคู่สมรสที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น heterozygous Hb E หรือ homozygous Hb E เพื่อทำการตรวจยืนยัน genotype ของ homozygous Hb E ด้วยวิธี Real-time polymerase chain reaction (PCR) ร่วมกับ high-resolution DNA melting analysis (HRM) ในผู้ที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น homozygous Hb E ร่วมกับตรวจยีนแฝงของ alpha^0 thalassemia ชนิด Southeast Asian และ THAI ด้วยวิธี PCR จำนวนทั้งสิ้น 489 ราย

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

จากการดำเนินงานควบคุมโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย พบว่าผู้ป่วย compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E บางรายสามารถให้ผล phenotype จาก Hb analysis เหมือนกับ homozygous Hb E ได้จากการมียีนแฝงของ alpha thalassemia ร่วมด้วย การมียีน alpha thalassemia ในผู้ป่วย compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ทำให้ alpha globin chain ของผู้ป่วยลดลง เป็นเหตุให้คุณสมบัติการเลือกจับคู่ระหว่าง alpha globin chain และ beta หรือ beta-liked globin chain ชัดเจนขึ้น โดยธรรมชาติ จากผลรวมของประจุไฟฟ้าของ globin chain แต่ละชนิดที่ไม่เท่ากัน alpha globin chain จะมีผลรวมประจุที่เข้ากับ beta globin chain ได้มากกว่า delta และ gamma globin chain ทำให้มีปริมาณ Hb A ($\alpha_2\beta_2$) มากที่สุด เมื่อ alpha globin chain มีปริมาณลดลงจาก alpha thalassemia ผลการจับคู่ดังกล่าวจะชัดเจนขึ้น ทำให้ alpha globin chain จับคู่กับ delta และ gamma globin chain ได้ลดลง เป็นผลให้มี Hb A_2 ($\alpha_2\delta_2$) และ Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) ลดลง ดังจะเห็นได้จากปริมาณ Hb A_2 ซึ่งมีสัดส่วนน้อยลงในผู้ที่เป็นพาหะของ alpha thalassemia หรือในผู้ป่วย Hb H disease เช่นเดียวกับผู้ป่วย compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ซึ่งมียีนแฝงของ alpha thalassemia เมื่อ alpha globin chain ลดลง alpha globin chain จะเลือกจับกับ beta^E globin chain มากขึ้น เนื่องจากไม่มี beta globin chain ปกติให้เลือก และลดการจับกับ gamma globin chain ทำให้ปริมาณ Hb F ลดลง ซึ่งบางครั้งการลดลงของปริมาณ Hb F อาจมากพอให้เห็นเหมือนกับว่าปริมาณ Hb F เป็นปกติ ทำให้ได้ลักษณะ phenotype ของ Hb เหมือนกับ homozygous Hb E ซึ่งมี Hb E เป็น Hb ส่วนใหญ่

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ป้องกันข้อผิดพลาดในการกำหนดคู่เสี่ยงโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงชนิด compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ในงานบริการควบคุมและป้องกันโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงของหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
2. นำข้อมูลการวิจัยที่ได้ไปใช้ปรับเปลี่ยน หรือเพิ่มเติมการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการของหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อให้งานวินิจฉัยและกำหนดคู่เสี่ยงของธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดในเขตภาคเหนือตอนล่าง มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เนื้อเรื่อง

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือดของหญิงตั้งครรภ์และสามีที่เข้ารับการตรวจวินิจฉัยและกำหนดคู่เสี่ยงโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงชนิด compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ณ ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร โดยมีสามีหรือภรรยาที่ให้ลักษณะ phenotype จาก Hb analysis เหมือนกับ homozygous Hb E และมีคู่สมรสที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น heterozygous Hb E หรือ homozygous Hb E จำนวน 300 ราย ซึ่งหญิงตั้งครรภ์และสามีดังกล่าวจะต้องได้รับการตรวจคัดกรองและกำหนดคู่เสี่ยงของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียอยู่แล้ว ตามสิทธิประโยชน์ขั้นพื้นฐานของระบบหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ

การสังเกตและการวัด

ตัวอย่างเลือดของหญิงตั้งครรภ์และสามีที่เข้ารับการตรวจวินิจฉัยและกำหนดคู่เสี่ยงโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง จะถูกเจาะเก็บปริมาณ 2 – 3 มิลลิลิตร ในหลอดที่มี EDTA เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด โดยเก็บเลือดพร้อมกับการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ตามที่แพทย์สั่ง การเจาะเก็บเลือดอาจทำ ณ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร หรือโรงพยาบาลเครือข่ายในเขตภาคเหนือตอนล่าง เลือดที่ได้จะถูกนำส่งห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร ในวันและเวลาราชการ โดยทุกตัวอย่างจะทำการตรวจ Hb analysis โดยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งถูกระบุในขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยเพื่อกำหนดคู่เสี่ยงของสำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติในคู่สามีภรรยาทุกคู่ ทำการคัดเลือกเฉพาะผลการตรวจวิเคราะห์ของคู่สามีภรรยาที่มีสามีหรือภรรยาที่ให้ลักษณะ phenotype จาก HPLC เหมือนกับ homozygous Hb E และมีคู่สมรสที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น heterozygous Hb E หรือ homozygous Hb E เพื่อทำการตรวจยืนยัน genotype ของ homozygous Hb E ด้วยวิธี Real-time polymerase chain reaction (PCR) ร่วมกับ high-resolution DNA melting analysis (HRM) ในผู้ที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น homozygous Hb E ทุกราย ร่วมกับตรวจยีนแฝงของ alpha^{0} thalassemia ชนิด Southeast Asian และ THAI ด้วยวิธี PCR

1010557
สำนักหอสมุด
31 ก.ค. 2562

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ สัดส่วนของ Hb A , Hb A_2 , Hb F, ผลการตรวจวิเคราะห์ beta -thalassemia mutation โดยเทคนิค Real-time PCR with HRM และผลการตรวจวิเคราะห์ alpha^0 thalassemia โดยข้อมูลจะถูกให้รหัส (code) และถูกบันทึกในคอมพิวเตอร์ โดยไม่มีข้อมูลที่สามารถบ่งบอกตัวบุคคลได้

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่เก็บรวบรวมได้วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS

สถานที่เก็บข้อมูล

หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

สถานที่ทำการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ผลการวิจัย

รวบรวมตัวอย่างเลือดสามีภรรยาจำนวนทั้งสิ้น 6,023 คู่ ที่ได้รับการตรวจ Hb analysis โดยวิธี HPLC และมีลักษณะทาง phenotype เป็น Hb E homozygote โดยมีสัดส่วนของ Hb F น้อยกว่า 10% ในคนใดคนหนึ่งหรือทั้งสองคน จากการศึกษาพบเข้าเกณฑ์การคัดเลือก 464 คู่ แบ่งเป็นกลุ่มสามีภรรยาที่มีลักษณะ phenotype เป็น Hb E homozygote ในคนใดคนหนึ่ง และอีกคนมีลักษณะ phenotype เป็น Hb E heterozygote 439 คู่ และสามีภรรยาที่มีลักษณะ phenotype เป็น Hb E homozygote ทั้งสองคน จำนวน 25 คู่ ทำการตรวจยืนยัน genotype ในผู้ที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น Hb E homozygote ทั้ง 489 ราย ด้วยวิธี Real-time PCR ร่วมกับ HRM ร่วมกับตรวจยีนแฝงของ alpha^{0} thalassemia ชนิด Southeast Asian และ THAI deletion และตรวจ α^{+}-thalassemia ชนิด -3.7 และ -4.2 kb deletion ร่วมด้วย

จากการยืนยันลักษณะทาง genotype พบ Hb E/ β thalassemia ที่มีลักษณะ phenotype เหมือนกับHb E homozygote จำนวน 5 ราย ดังตารางที่ 1 คิดเป็นร้อยละ 1.0 ของตัวอย่างเลือดที่ให้ phenotype เป็น Hb E homozygote ทั้งหมด

ตารางที่ 1 ค่าทางโลหิตวิทยาและผลการยืนยันลักษณะทาง genotype

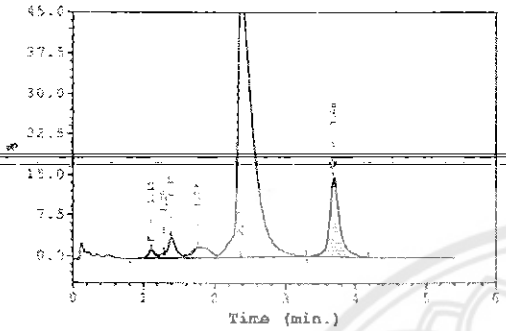
Subject	1	2	3	4	5
Hb (g/dL)	11.4	8.5	10.8	-	-
Hct (%)	38.4	30.0	35.0	-	-
MCV (fL)	52.0	59.0	49.7	50.5	46.8
MCH (pg)	15.5	16.9	15.9	14.5	-
Hb A2/E (%)	83.0	74.6	74.4	73.8	80.4
Hb F (%)	3.0	3.7	3.9	9.9	4.4
β-Globin* mutation	Codon 95 (+A)	Codon 41/42 (-TTCT)	Codon 41/42 (-TTCT)	Codon 17 (A>T)	Codon 71/72 (+A)
α-Thalassemia genotype	$--^{SEA}/\alpha\alpha$	$--^{SEA}/\alpha\alpha$	$^{SEA}/\alpha\alpha$	$--^{SEA}/\alpha\alpha$	$-^{3.7}\alpha/\alpha\alpha$

*ชนิดของ beta globin mutation ที่พบร่วมกับยีน hemoglobin E (Codon 26 (G>A))

<u>ภาพที่ 1</u> แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 1 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote

ภรรยา

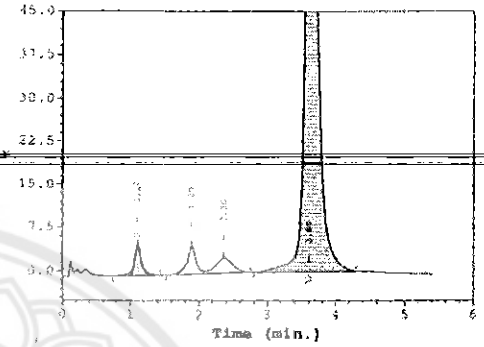
Hb E = 14.6%, Hb F = 1.2%



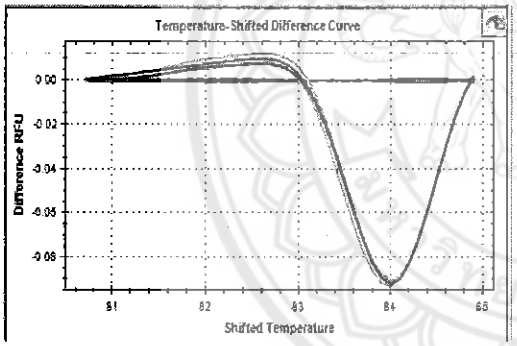
สามี

(รายที่ 1)

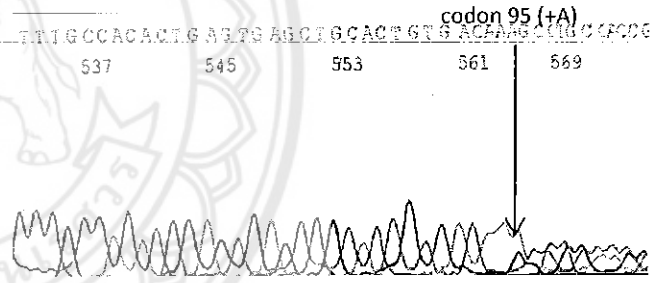
Hb E = 83.0%, Hb F = 3.0%



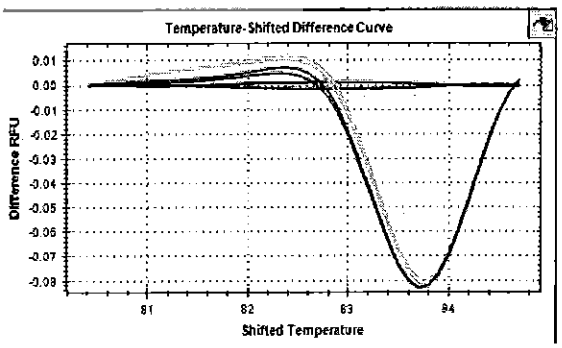
Codon 26



Codon 95



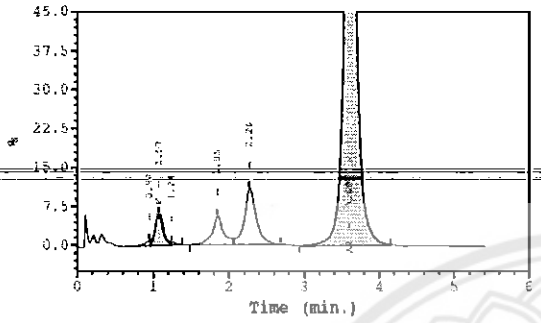
Codon 26



<u>ภาพที่ 2</u> แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 2 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote

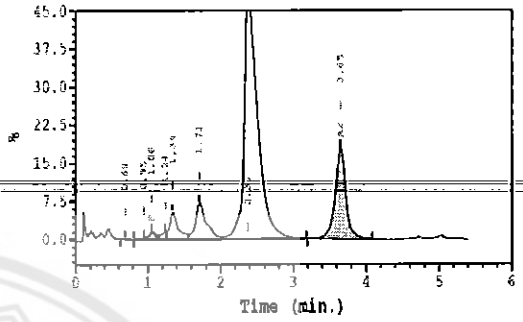
ภรรยา (รายที่ 2)

Hb E = 74.6%, Hb F = 3.7%

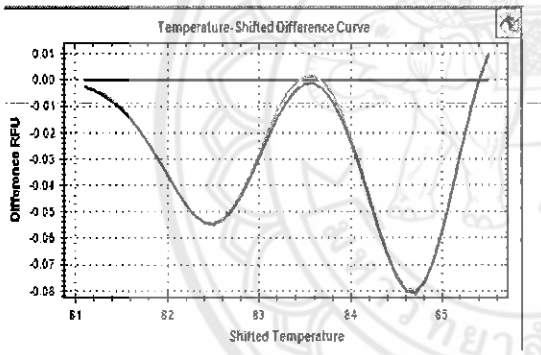


สามี

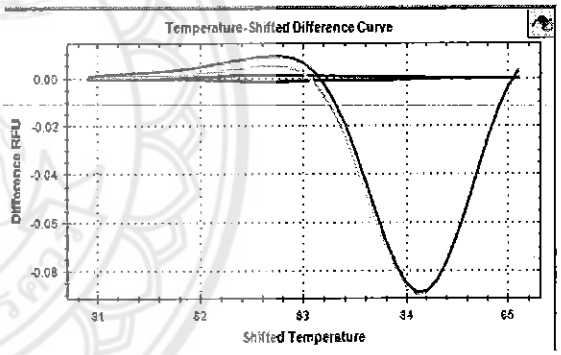
Hb E = 18.1%, Hb F = 1.1%



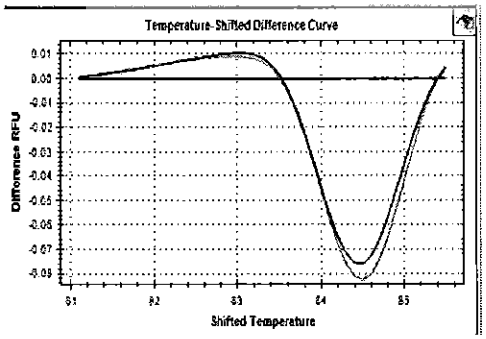
Codon 41/42 (-TTCT)



Codon 26



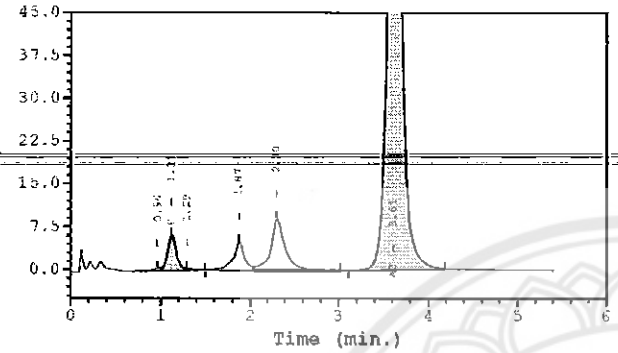
Codon 26



<u>ภาพที่ 3</u> แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 3 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E homozygote

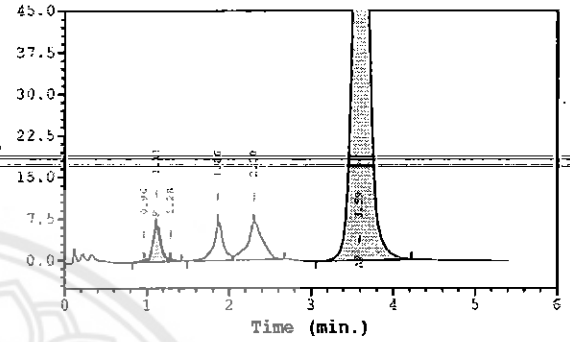
ภรรยา
(รายที่ 3)

Hb E = 74.4%, Hb F = 3.9%

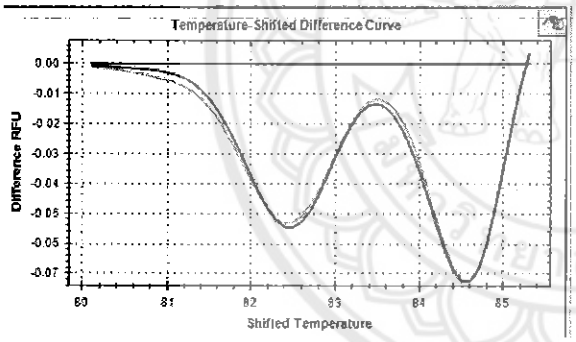


สามี

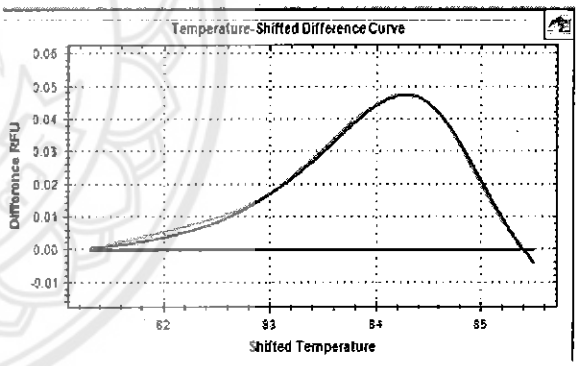
Hb E = 76.6%, Hb F = 3.7%



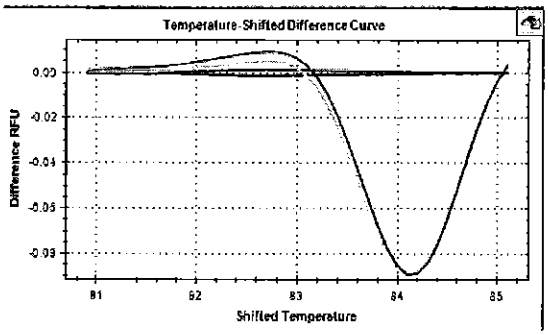
codon 41/42



codon 26 / codon 26



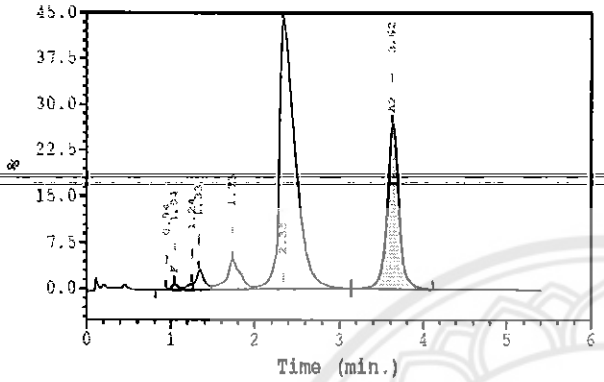
Codon 26



<u>ภาพที่ 4</u> แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 4 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote

ภรรยา

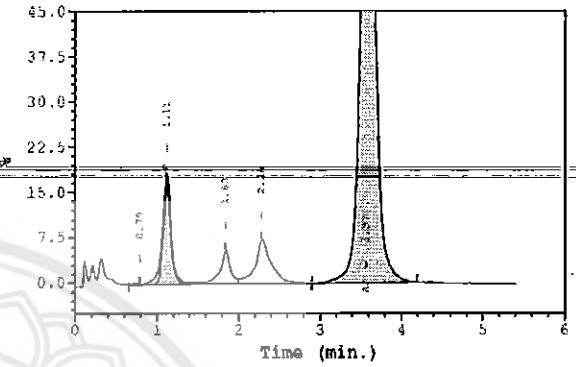
Hb E = 26.8%, Hb F = 0.6%



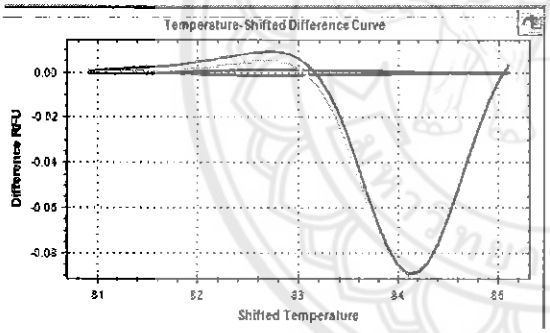
สามี

(รายที่ 4)

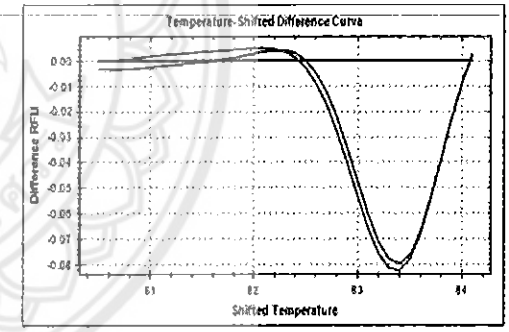
Hb E = 73.8%, Hb F = 9.9%



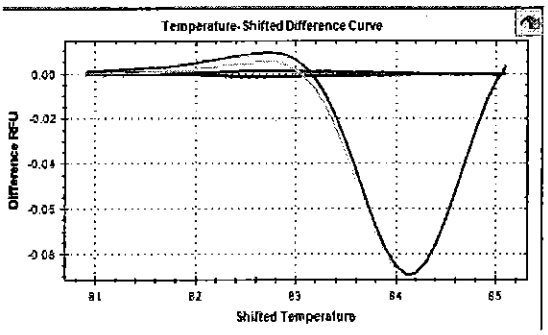
Codon 26



Codon 17



Codon 26



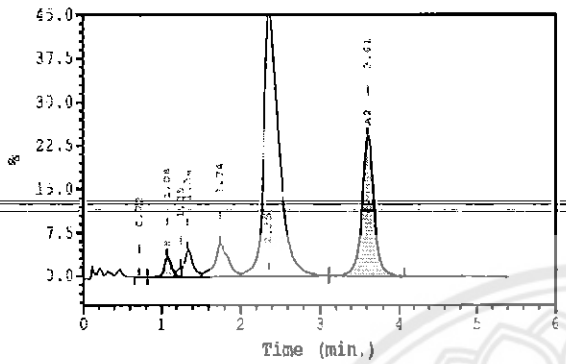
<u>ภาพที่ 5</u> แสดงลักษณะ phenotype และ genotype ของตัวอย่างรายที่ 5 พร้อมคู่สมรสที่เป็น Hb E heterozygote

ภรรยา

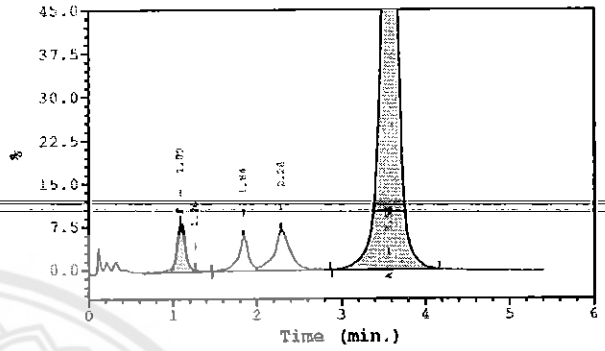
สามี

(รายที่ 5)

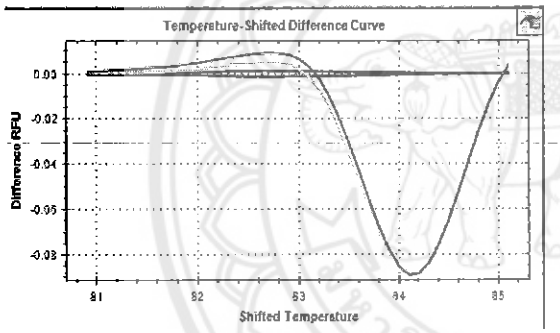
Hb E = 24.2%, Hb F = 2.5%



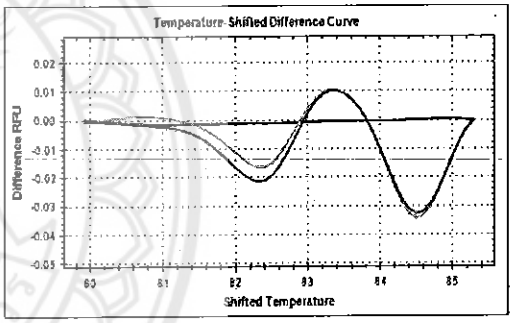
Hb E = 80.4%, Hb F = 4.4%



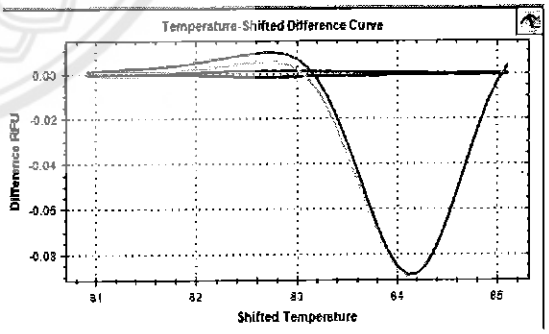
Codon 26



Codon 71/72



Codon 26



จากผลการตรวจยืนยันลักษณะทาง phenotype ดังกล่าวจึงพบคู่เสี่ยงโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงชนิด compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E เพิ่มขึ้นอีก 5 คู่ และจากการตรวจหาพาหะแฝงของ alpha-thalassemia พบว่าทั้ง 5 รายมีพาหะของ α^0-Thalassemia ชนิด Southeast Asian หรือ α^+-thalassemia ชนิด -3.7 ร่วมด้วย

ข้อวิจารณ์

การศึกษาความชุกของ compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ที่ให้ผล Hb analysis โดยวิธี HPLC เป็น Hb E homozygote ในเขตภาคเหนือตอนล่าง โดยการตรวจยืนยันลักษณะทาง genotype พบ compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ที่ให้ลักษณะ phenotype ดังกล่าว จำนวน 5 ราย จาก Hb E homozygote ทั้งสิ้น 489 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.0 และทำให้พบคู่เสี่ยงโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงชนิด compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E เพิ่มขึ้นอีก 5 คู่ นอกจากนี้ยังพบว่าทั้ง 5 รายมีพาหะของ alpha^{0}-Thalassemia ชนิด Southeast Asian หรือ alpha^{+}-thalassemia ชนิด -3.7 ร่วมด้วย

ตัวเลขความชุกดังกล่าวยังไม่มีผู้รายงานมาก่อน นับเป็นความชุกที่อาจก่อให้เกิดปัญหาในงานบริการควบคุมโรคธาลัสซีเมีย ซึ่งใช้เฉพาะการตรวจ phenotype ในประชากรจำนวนมาก โดยรายงานฉบับนี้พบคู่เสี่ยงของ compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E เพิ่มขึ้นถึง 5 คู่ จากการตรวจคู่สามีภรรยาจำนวน 6,023 คู่ การใช้การตรวจ Hb phenotype ด้วยวิธี CE เฉพาะในรายที่เป็น Hb E homozygote อาจช่วยแก้ปัญหานี้ได้ในระดับหนึ่ง เนื่องจากสัดส่วนของ Hb A2 ใน compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E จะเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับ Hb E homozygote อย่างไรก็ดี บางครั้งค่าสัดส่วนดังกล่าวอาจทับซ้อนกันได้

การมียีน alpha thalassemia ในผู้ที่เป็น Hb E related disorder ทำให้ alpha globin chain ลดลง เป็นเหตุให้คุณสมบัติการเลือกจับคู่ระหว่าง alpha globin chain และ beta หรือ beta-liked globin chain ชัดเจนขึ้น ดังจะเห็นได้จากปริมาณ Hb A_2 ซึ่งมีสัดส่วนน้อยลงในผู้ที่เป็นพาหะของ alpha thalassemia หรือในผู้ป่วย Hb H disease เช่นเดียวกับผู้ป่วย compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ซึ่งมียีนแฝงของ alpha thalassemia เมื่อ alpha globin chain ลดลง alpha globin chain จะเลือกจับกับ beta^{E} globin chain มากขึ้น เนื่องจากไม่มี beta globin chain ปกติให้เลือก และลดการจับกับ gamma globin chain ทำให้ปริมาณ Hb F ลดลง ซึ่งบางครั้งการลดลงของปริมาณ Hb F อาจมากพอให้เห็นเหมือนกับว่าปริมาณ Hb F เป็นปกติ ทำให้ได้ลักษณะ phenotype ของ Hb เหมือนกับ homozygous Hb E ซึ่งมี Hb E เป็น Hb ส่วนใหญ่

สรุปและข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์ชนิดและสัดส่วนของฮีโมโกลบินโดยวิธี HPLC สามารถวินิจฉัยและกำหนดคู่เสี่ยงของ homozygous beta-thalassemia และ compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E อย่างได้ผล อย่างไรก็ดีเนื่องจาก Hb analysis เป็นการตรวจ phenotype ที่แสดงออกเท่านั้น จึงไม่สามารถใช้วินิจฉัย genotype ได้ถูกต้องทั้งหมด ดังจะเห็นได้จากการยืนยันลักษณะทาง genotype ในคู่สามีภรรยาที่มีสามีหรือภรรยาให้ลักษณะ phenotype จาก HPLC เหมือนกับ homozygous Hb E และมีคู่สมรสที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น heterozygous Hb E หรือ homozygous Hb E โดยวิธี Real-time PCR ร่วมกับ HRM ทำให้พบคู่เสี่ยงโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงชนิด compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E เพิ่มขึ้นอีก 5 คู่ จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้หน่วยวิจัยธาลัสซีเมียจำเป็นต้องกำหนดแนวทางในการป้องกันข้อผิดพลาดในการกำหนดคู่เสี่ยงโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงชนิด compound heterozygous beta-thalassemia / Hb E ในงานบริการควบคุมและป้องกันโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โดยทำการยืนยันลักษณะทาง genotype ในคู่สามีภรรยาที่มีสามีหรือภรรยาที่ให้ลักษณะ phenotype จาก HPLC เหมือนกับ homozygous Hb E และมีคู่สมรสที่ให้ลักษณะ phenotype เป็น heterozygous Hb E หรือ homozygous Hb E โดยทำการตรวจยืนยัน genotype โดยวิธี Real-time PCR ร่วมกับ HRM ทุกครั้ง เพื่อให้งานวินิจฉัยและกำหนดคู่เสี่ยงของธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดในเขตภาคเหนือตอนล่าง มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

1. Pornprasert S, Moriyama A, Kongthai K, Waneesorn J, Jaiping K, Treesuwan K, Hattori Y. Detection of beta-thalassemia / hemoglobin E disease in samples which initially were diagnosed as homozygous hemoglobin E. Clin Lab. 2013;59(5-6):693-7.

2. Watcharee Prasing and Sakorn Pornprasert. Measurement of Hb A2 by Capillary Electrophoresis for Diagnosing β-thalassemia/Hb E Disease in Patients With Low Hb F. Lab Med published online August 4, 2014.

Output ที่ได้จากโครงการ
ตัวชี้วัดเพื่อการประเมินผลสำเร็จของโครงการ

ประเภท	ผลงาน	จำนวน
การตีพิมพ์และเผยแพร่	14.1 ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติที่มีค่า Impact Factor	.... เรื่อง
	14.2 ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ (ไม่มีค่า Impact Factor)	.... เรื่อง
	14.3 ตีพิมพ์ในวารสารระดับประเทศ	.... เรื่อง
	14.4 นำเสนอในการประชุมวิชาการในระดับนานาชาติ ที่มีการตีพิมพ์บทความบน Proceedings	.... เรื่อง
	14.5 นำเสนอในการประชุมวิชาการในระดับชาติ ที่มีการตีพิมพ์บทความบน Proceedings	..1.. เรื่อง
	14.6 บทความวิชาการ ตำรา หนังสือที่มีการรับรองคุณภาพ	.... เรื่อง
การใช้ประโยชน์	14.7 ถ่ายทอดผลงานวิจัย / เทคโนโลยีสู่กลุ่มเป้าหมาย และได้รับการรับรองการใช้ประโยชน์จากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง	.... เรื่อง
	14.8 ได้สิ่งประดิษฐ์ อุปกรณ์ เครื่องมือ หรืออื่นๆ เช่น ฐานข้อมูล Software ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป	.... ผลงาน
การจดทะเบียนทรัพย์สินทางปัญญา	14.9 อนุสิทธิบัตร	.... ผลงาน
	14.10 สิทธิบัตร	.... ผลงาน