

## ปัจจัยที่มีส่วนรบกวนผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน

สมชาย อินทศิริพงษ์, พ.บ.\*

การส่งตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน (hemoglobin analysis) ก็เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคกลุ่มธาลัสซีเมียและ/หรือฮีโมโกลบินผิดปกติซึ่งมีความผิดปกติที่ถูกควบคุมด้วยยีนส์จึงถ่ายทอดได้ทางกรรมพันธุ์เป็นความผิดปกติที่เป็นมาตั้งแต่กำเนิดและจะคงความผิดปกติเช่นนี้ไปตลอดชีวิต แต่การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินส่วนมากขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนประกอบของชนิดฮีโมโกลบินมีปัจจัยที่รบกวนหลายอย่างบางอย่างขึ้นกับวิธีตรวจวิเคราะห์บางอย่างขึ้นกับโรคร่วมหรือระยะเวลาในการตรวจดังนั้นการเลือกช่วงเวลาในการส่งตรวจที่เหมาะสมจะทำให้ได้ผลถูกต้อง และแม่นยำยิ่งขึ้นดังจะได้แสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

การตรวจไม่พบแถบของฮีโมโกลบินเอชในผู้ป่วยโรคฮีโมโกลบินเอชในขณะที่ผู้ป่วยมีภาวะแทรกซ้อนด้วยโรคโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก<sup>(1,2)</sup> ดังนั้นถ้าพบผู้ป่วยขาดธาตุเหล็กจึงควรรักษาให้พ้นจากโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็กก่อนอาจจะเป็นสองเดือนให้หลังจึงค่อยตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินจึงจะตรวจพบแถบ ฮีโมโกลบิน เอช ได้

การตรวจพบแถบของฮีโมโกลบินเอฟสูงปลอมในผู้ที่ เป็นเพียงพาหะฮีโมโกลบินอีในผู้ป่วยโรค auto-

immune hemolytic anemia (AIHA) ที่กำลังมีภาวะ active hemolysis ทำให้แปลผลผิดว่าเป็นโรค beta thalassemia/hemoglobin E ต้องรักษา AIHA จนกว่าจะเป็นปกติจึงค่อยส่งตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน<sup>(3)</sup>

ผู้ป่วยโรคฮีโมโกลบินเอชที่ถูกแทรกซ้อนด้วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ที่กำลังอยู่ในระยะคุกรุ่น (active) จะทำให้มีโลหิตจางมากขึ้น เมื่อตรวจวิเคราะห์แยกชนิดของฮีโมโกลบินจะตรวจไม่พบแถบของฮีโมโกลบินเอชจึงไม่อาจวินิจฉัยโรคฮีโมโกลบินเอชได้จะต้องรักษาอาการข้ออักเสบให้สงบก่อนผู้ป่วยบรรเทาจากโรคโลหิตจางจากการอักเสบเรื้อรังของข้อทั้งหลายแล้วจึงจะตรวจพบแถบของฮีโมโกลบินเอชได้<sup>(4)</sup>

ผู้ที่เป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมียเมื่อถูกแทรกซ้อนด้วยภาวะโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็กจะทำให้สัดส่วนของฮีโมโกลบินเอ2 ลดลงจาก  $5.4 \pm 1.2\%$  ของคนที่ไม่ขาดธาตุเหล็กเหลือเพียง  $4.5 \pm 1.5\%$ <sup>(5)</sup> พิสัย 3.3-7.6% โดยที่มี 3.1 % ของพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย ที่ขาดธาตุเหล็กเหล่านี้มีฮีโมโกลบินเอ2 < 4%<sup>(6)</sup> ทำให้พลาดโอกาสที่จะวินิจฉัยพาหะเบต้าธาลัสซีเมียได้ต้องรอให้รักษาการขาดธาตุเหล็กให้หายก่อน จึงค่อยเหมาะที่จะส่งตรวจ

การตรวจไม่พบแถบของฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สะปริงในผู้ที่มีฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สะปริง

\*โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา จ.นครราชสีมา 30000

เนื่องจากการเลือกตรวจด้วยวิธี high performance liquid chromatography ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในกระทรวงสาธารณสุขเป็นส่วนใหญ่เพราะเป็นวิธีที่มีโอกาสตรวจไม่พบได้ถึงร้อยละ 26.3 ในภาวะฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สะปริงแฟง, ร้อยละ 42.9 ในโรคฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สะปริงและ พลาดถึงร้อยละ 90 ในโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สะปริงในขณะที่ถ้าเลือกใช้วิธี capillary zone electrophoresis จะไม่พลาดทั้ง 3 กรณี<sup>(7)</sup>

โรคฮีโมโกลบินเอชที่แทรกซ้อนด้วย autoimmune hemolytic anemia (AIHA) ในขณะที่มี active hemolysis ทำให้ค่า mean corpuscular volume (MCV) มากกว่า 80 เฟมโตลิตรค่า mean corpuscular hemoglobin (MCH) มากกว่า 27 พิโคกรัมจึงเป็นการกลบเกลื่อนสัญญาณของธาลัสซีเมียที่ควรจะมี MCV < 80 เฟมโตลิตร MCH < 27 พิโคกรัม ไปจนหมดสิ้นจนกว่าจะรักษา AIHA จนสงบแล้วค่า MCV และ MCH จึงจะกลับลดลงต่ำกว่าปกติให้เห็นทำให้มีโอกาสจะนึกถึงธาลัสซีเมียได้<sup>(8)</sup>

ผู้ป่วยที่มีดีซ่านหรือ total bilirubin เฉลี่ย 7.4 มก.% หรือพิสัยระหว่าง 0.8-56.0 มก.% เมื่อส่งเลือดตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี high performance liquid chromatography อาจจะทำให้ตรวจพบแถบของฮีโมโกลบินบาร์ทปลอมอย่างเด่นชัดได้ ซึ่งในความเป็นจริงเป็นแต่เพียงแถบของสาร bilirubin ต้องรอผลการรักษาให้ bilirubin ในเลือดลดลงก่อนจึงค่อยตรวจชนิดของฮีโมโกลบินในภายหลัง<sup>(9)</sup>

ในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี (human immunodeficiency virus) ถ้ากำลังได้รับยา zidovudine เพื่อรักษาภาวะติดเชื้อเมื่อตรวจวิเคราะห์แยกชนิดของฮีโมโกลบินก็อาจจะพบระดับฮีโมโกลบินเอ2 เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 4.1 อาจจะทำให้เข้าใจผิดว่าเป็น beta thalassemia แฟงได้ ถ้าสงสัยว่าจะมีธาลัสซีเมียจริง ให้ตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน ก่อนเริ่มยาเพราะถ้าพึ่งการติดเชื้อเอชไอวีไม่มีผลต่อระดับฮีโมโกลบินเอ2 หรือเลือกให้การรักษาด้วยยา tenofovir ซึ่งไม่มีผลต่อระดับฮีโมโกลบินเอ2<sup>(10)</sup>

ในหญิงตั้งครรภ์ที่ได้รับการตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี capillary system อาจพบ

ฮีโมโกลบินเอ2 สูงปลอมได้ เพราะพบว่าคนที่ฮีโมโกลบินเอ2 เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเข้าข่ายเบต้าธาลัสซีเมียแฟงนั้นมีเพียง 5 ใน 7 เท่านั้นที่มีเบต้าธาลัสซีเมียแฟงจริง ส่วนอีกสองคนนั้นไม่มีเบต้าธาลัสซีเมียแฟง<sup>(11)</sup> แต่การตรวจ คัดกรองธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์เป็นสิ่งที่ต้องทำ ถ้าพบฮีโมโกลบินเอ2 จึงต้องการการตรวจระดับดีเอ็นเอ เพื่อหาพาหะเบต้าธาลัสซีเมียให้ชัดเจน เพราะประเทศของเรามีความชุก ฮีโมโกลบิน อี จำนวนมาก เพราะคู่ที่มี เบต้าธาลัสซีเมีย และ ฮีโมโกลบิน อี ถือเป็นคู่เสี่ยงที่อาจจะได้ทารกที่เป็น ธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้

การตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินในทารกแรกเกิดเป็นที่ทราบดีว่าเด็กแรกคลอดยังคงมีฮีโมโกลบินเอฟเหลืออยู่มาก เมื่อคลอดแล้วจึงเปลี่ยนแปลงมาสร้างฮีโมโกลบินเอแทน กว่า จะหยุดการสร้างฮีโมโกลบินเอฟต้องใช้เวลาและเม็ดเลือดแดงที่มีฮีโมโกลบินเอฟเดิม กว่า จะหมดอายุก็ต้องใช้เวลาต่อไปอีกเมื่อทารกอายุประมาณ 4-5 เดือน จะเหลือฮีโมโกลบินเอฟประมาณ 3.2+2.1 %<sup>(12)</sup> ทารกบางรายอาจจะต้องรอนานจนอายุถึง 2 ขวบ จึงจะเหลือฮีโมโกลบินน้อยกว่าร้อยละ 1 แต่ขณะเดียวกันมีผู้ใหญ่บางรายที่อาจจะมีฮีโมโกลบินเอฟขึ้นมากกว่าร้อยละ 1 แบบคนทั่วไป คือขึ้นไปได้ถึงร้อยละ 2.9-5.1 %<sup>(13)</sup>

เนื่องจากประเทศไทยมียีนส์ hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH) เมื่อตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินถ้าเป็น heterozygous HPFH จะตรวจพบฮีโมโกลบินเอฟครั้งหนึ่งอาจจะถูกแปลผลว่าเป็นเบต้าธาลัสซีเมียหรือถ้าเป็น HPFH ควบกับฮีโมโกลบินอีแฟง ผลตรวจฮีโมโกลบินก็จะได้เป็นฮีโมโกลบินอี และฮีโมโกลบินเอฟจึงถูกแปลผลผิดว่าเป็นโรคเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีชนิดรุนแรงได้ กรณีเช่นนี้ไม่ว่าจะตรวจเมื่อใดก็จะพบความผิดปกตินี้แต่อาจจะมีข้อสังเกตว่าผู้ป่วยมักไม่มีภาวะโลหิตจาง<sup>(14)</sup>

เนื่องจากปัจจุบันนี้สามารถตรวจวิเคราะห์ชนิดดีเอ็นเอ สำหรับธาลัสซีเมียทั้งแอลฟา และเบต้าได้โดยตรง ดังนั้นถ้าสงสัยว่าผู้ป่วยจะมีธาลัสซีเมีย หรือ

ผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของ ฮีโมโกลบิน อาจจะทำให้แปลผลคลาดเคลื่อน ควรจะส่งตรวจดีเอ็นเอสำหรับธาลัสซีเมียไปเลย<sup>(15)</sup>

ในผู้ที่ได้รับการเพิ่มเลือดมาก่อนเนื่องจากเม็ดเลือดแดงมีอายุขัยประมาณ 120 วัน ถ้าจะส่งตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินก็ต้องรอให้นานจนกว่าเม็ดเลือดแดงของผู้ให้จะถูกทำลายหมดคือ 4 เดือน จึงค่อยส่งตรวจฮีโมโกลบินมีฉะนั้นแล้วผลเลือดที่ได้ อาจจะเป็นของผู้ให้ก็ได้ เพราะผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี<sup>(16)</sup>, โรคฮีโมโกลบินอี, เบต้าธาลัสซีเมียแฝง<sup>(17)</sup> หรือโรคฮีโมโกลบินเอฟสูงในวัยผู้ใหญ่ (hereditary persistence of fetal hemoglobin)<sup>(18)</sup> หลายคนผ่านการคัดกรองจนสามารถเป็นผู้บริจาคเลือดได้

ในการตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบิน ด้วยวิธี electrophoresis มีฮีโมโกลบินผิดปกติหลายชนิดที่วิ่งทับแถบเดียวกับฮีโมโกลบินเอฟ อาจจะถูกแปลผลว่า เป็นฮีโมโกลบินเอฟ ได้ เพราะความที่พบบ่อยกว่า ถ้าอาการทางคลินิกไม่สอดคล้องกับผลการตรวจฮีโมโกลบินอาจจะต้องมีการตรวจยืนยันว่าเป็นฮีโมโกลบินเอฟจริงหรือไม่ฮีโมโกลบิน ผิดปกติที่มีคุณสมบัติเหล่านี้ เช่น ฮีโมโกลบินตาก ฮีโมโกลบินคิว-ไทยแลนด์ เป็นต้น<sup>(19)</sup>

มีโรคประจำตัวบางโรคที่พบแล้วว่ามีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินคือทำให้สัดส่วนของฮีโมโกลบินเอ2 สูงเทียม >3.4% จนอาจทำให้ดูเหมือนมี เบต้าธาลัสซีเมียแฝงได้ เช่น ภาวะไทรอยด์เป็นพิษ megaloblastic anemia บางคน หรือในทางตรงข้ามทำให้สัดส่วนของฮีโมโกลบินเอ2 ต่ำกว่า 2.2 % นอกจากโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็กที่รุนแรงแล้วได้แก่โรคโลหิตจางจากโรคเรื้อรัง (anemia of chronic disease), sideroblastic anemia, พิษจากสารตะกั่ว, juvenile myelomonocytic leukemia, erythroleukemia, acquired hemoglobin H disease, aplastic anemia และภาวะฮอร์โมนไทรอยด์ต่ำ<sup>(20)</sup> ถ้ามีโรคหรือภาวะเหล่านี้ ก็ควรจะรักษาให้สงบก่อนค่อยส่งตรวจ

## สรุป

ผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของ ฮีโมโกลบินถูกรบกวนด้วยปัจจัยหลายอย่างที่ เป็นภายหลัง ตามที่กล่าวมา และคงมีปัจจัยอื่น ๆ อีกที่จะพบในอนาคตที่รบกวนผลการตรวจ แพทย์จึงต้องช่วยกันมองหาส่วนที่รู้แล้วก็ควรจะรอตรวจตอนที่ปัจจัยต่าง ๆ นั้นสงบแล้ว หรือหายไป หรือ ถ้าจำเป็นก็ต้องตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอสำหรับธาลัสซีเมียไปเลย เพื่อความแม่นยำ ชัดเจน

## เอกสารอ้างอิง

1. Insiripong S, Yingsitsiri W, Boondumrongsagul J. Iron deficiency anemia masking hemoglobin H disease: a case report. Chulalongkorn Med J 2015; 59: 389-94.
2. Insiripong W, Insiripong S. The absence of hemoglobin H band in the proven hemoglobin H disease patient due to iron deficiency anemia. Blood Heart Circ 2018; 2: 1-3. Doi: 10.15761/BHC.1000133.
3. Insiripong S, Sanglutong L. The transiently high percentage of hemoglobin F during active hemolysis due to an autoimmune hemolytic anemia in a hemoglobin E trait. J Hematol Transfus Med 2018; 28: 473-7.
4. Sripavatakul K, Insiripong S. The appearance of the band of hemoglobin H in a patient of hemoglobin H disease and the activity of rheumatoid arthritis: A case report. J Med Assoc Thai 2017; 100: 702-5.
5. Lin CK, Chen LP, Chang HL, Sung YC. Underestimation of the coexistence of iron deficiencies and thalassemia minors: a single institution experience in Taiwan. Kaohsiung J Med Sc 2014; 30: 409-14.
6. Sharma P, Das R, Trehan A, Bansal D, Chhabra S, Kaur J, et al. G. Impact of iron deficiency on hemoglobin A2% in obligate  $\beta$ -thalassemia heterozygotes. Int J Lab Hematol 2015; 37: 105-11.
7. Waneesorn J, Panyasai S, Kongthai K, Singboottra P, Pornprasert S. Comparison between capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography for detection and quantification of Hb constant spring [Hb CS;  $\alpha$  142, Term' !Gln (TAA>CAA IN  $\alpha$  2)]. Hemoglobin 2011; 35: 338-45.
8. Insiripong S, Yingsitsiri W, Boondumrongsagul. Hemoglobin H disease complicated by autoimmune

- hemolytic anemia: A case report. *Maharat Nakhon Ratchasima Hosp Med Bull* 2015; 37: 51-4.
9. Howanitz PJ, Kozarski TB, Howanitz JH, Chauhan YS. Spurious hemoglobin Barts caused by bilirubin: A common interference mimicking an uncommon hemoglobinopathy. *Am J ClinPathol* 2006; 125: 608-14.
  10. Bhagat P, KaurSachdeva R, Sharma P, Updesh Singh Sachdeva M, Chhabra S, Sharma A, et al. Effect of antiretroviral therapy on hemoglobin A2 values can have implications in antenatal beta-thalassemia screening programs. *Infect Dis (Lond)* 2016; 48: 122-6.
  11. Yang Z, Chaffin CH, Easley PL, Thigpen B, Reddy VV. Prevalence of elevated hemoglobin A2 measured by the CAPILLARYS system. *Am J ClinPathol* 2009; 131: 42-8.
  12. Bard H. The postnatal decline of hemoglobin F synthesis in normal full-term infants. *J Clin Invest* 1975; 55: 395-8.
  13. Manca L, Masala B. Disorders of the synthesis of human fetal hemoglobin. *IUBMB Life* 2008; 60: 94-111.
  14. Wasi P, Pootrakul S, Na Nakorn S. Hereditary persistence of foetalhaemoglobin in a Thai family: The first instance in the Mongol race and in association with haemoglobin E. *Br J Haematol* 1968; 14: 501-6.
  15. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia and abnormal hemoglobin. *Int J Hematol* 2001; 76 suppl2: 83-9.
  16. Pornprasert S, Jaiping K. Blood transfusion from aHb E trait donor can affect  $\beta$ -thalassemia diagnosis. *Hemoglobin* 2014; 38: 295-8. doi: 10.3109/03630269.2014.926913.
  17. Nuinoon M, Kruachan K, Sengking W, Horpet D, Sungyuan U. Thalassemia and hemoglobin E in Southern Thai blood donors. *AdvHematol* 2014; 932306. doi: 10.1155/2014/932306.
  18. Yadav M, Chandra Sharma D, Singhal S, Iyanger S, Rai S, Tripathi L. Hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH): A case report. *Asian J TransfusSci* 2015; 9: 45-119.
  19. สุภารัตน์ชายเกตุ, สุวิมลศิริวรรณเวชกุล, สุมาลีจินดาดำรงเวช. การตรวจยืนยันฮีโมโกลบินเอฟในผลการตรวจแยกฮีโมโกลบินด้วยวิธี Acid Elution Test. *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต* 2561; 28: 45-50.
  20. Figueiredo MS. The importance of hemoglobin A2 determination. *Rev Bras HematolHemoter* 2015; 37: 287-9.