

## ฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริงกับการคัดกรองธาลัสซีเมีย ในห้องฝากครรภ์

สมชาย อินทศิริพงษ์, พ.บ.\*

ฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริง (Hemoglobin Constant spring) เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่เกิดจากสายโซ่แอลฟาโกลบินมีจำนวนกรดอะมิโนเพิ่มอย่างผิดปกติอีก 31 ตัวรวมเป็น 172 ตัว เนื่องจาก termination codon มีจุดกลายพันธุ์จาก TAA เป็น CAA รวมกับสายโซ่เบต้าโกลบินอย่างละ 2 สาย, mRNA ที่สร้างสายโซ่คอนสแตนต์สปริงมีความไม่เสถียรมาก สลายตัวแม้การสร้างสายโซ่แอลฟาจะมากกว่าสายเบต้าเป็นอัตรา  $1.34 \pm 0.08$  ใน heterozygote และ  $1.6$  ใน homozygote เทียบกับ  $1.07 \pm 0.03$  ของคนปกติ<sup>(1)</sup> แต่การจับตัวระหว่างสายโซ่แอลฟาที่เป็นคอนสแตนต์สปริงกับสายโซ่เบต้ามีน้อยตัวฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริงเองก็ไม่ค่อยเสถียรจึงตรวจพบได้ปริมาณเพียงเล็กน้อยในภาวะต่าง ๆ

ฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริงเป็นความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ที่มีความชุกมากในประเทศไทยและประเทศอื่น ๆ ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งภาคใต้ของสาธารณรัฐประชาชนจีนในเขตภาคกลางของไทยพบได้ร้อยละ  $5.8^{(2)}$  ในจังหวัดขอนแก่น พบ

ร้อยละ 5 ส่วนฮีโมโกลบินปากเซซึ่งไม่สามารถแยกจากฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริงด้วยวิธีตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินได้อีกร้อยละ  $1.5^{(3)}$  ในภาคเหนือมีฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริงร้อยละ  $4.2^{(4)}$  ครั้งหนึ่งของทารกที่เกิดเป็นโรคฮีโมโกลบินเอชในภาคเหนือจะเป็นโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนต์สปริง<sup>(5)</sup>

ในผู้ที่เป็นพาหะของฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริง (Hb Constant spring heterozygote) มักไม่มีอาการหรืออาการแสดงใด ๆ ถ้าตรวจ CBC ก็มักพบว่าค่า MCV ปกติ  $83.3 \pm 6.1$  เฟมโตลิตรความเข้มข้นฮีโมโกลบินก็ปกติ  $12.0 \pm 1.3$  กรัม%<sup>(6)</sup> ถ้าตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งนิยมใช้ในหน่วยงานของกระทรวงสาธารณสุขทั่วไปจะมีโอกาสพลาดได้บ่อย Waneesorn และคณะ ได้แสดงให้เห็นว่าถ้าตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินด้วยวิธี Ca-pillary electrophoresis (CE) จะตรวจพบฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริง ในผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริง เป็นโรคฮีโมโกลบินคอนสแตนต์สปริง

\* นายแพทย์ทรงคุณวุฒิ (ด้านเวชกรรม สาขาอายุรกรรม) โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา จ.นครราชสีมา 30000

และโรคเอชคอนสะแตนท์สะปริงทุกรายแต่วิธี HPLC จะพบได้เพียงร้อยละ 26.3, 42.8 และ 90 ตามลำดับ<sup>(7)</sup> ผู้เชี่ยวชาญบางท่านจึงแนะนำให้ตรวจหาฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริงด้วยวิธี CE ซึ่งวิธีนี้ตรวจพบสัดส่วนฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริงทุกรายโดยในพาหะฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริง, โรคฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริง และโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสะแตนท์สะปริงมีร้อยละ 0.4±0.2, 1.9±1.8 และ 2.8±1.3 ตามลำดับ<sup>(8)</sup>

นอกจากการหลุดรอดจากการตรวจวิเคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินด้วยวิธี HPLC แล้วในการตรวจคัดกรองภาวะพาหะฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริงก็ไม่สามารถใช้ค่า mean corpuscular volume (MCV) ที่ต่ำกว่า 80 เฟมโตลิตรได้เพราะส่วนมากค่า MCV ปกติ<sup>(9)</sup> ใช้ single tube osmotic fragility test หรือ DCIP ก็ไม่ได้เพราะมักจะให้ผลลบ<sup>(10)</sup> นอกจากนี้การตรวจวิเคราะห์ชนิดฮีโมโกลบินด้วยวิธี CE ก็ยังมีโอกาสหลุดรอดได้มาแล้ว<sup>(11)</sup> จนกว่าจะมีวิธีการตรวจระดับ DNA จึงจะมีความไวพอสำหรับการตรวจหาภาวะพาหะฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริง<sup>(12)</sup>

ผู้ที่เป็นโรคฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริง (homozygous hemoglobin Constant spring) ส่วนมากจะมีอาการโลหิตจางเล็กน้อยเนื่องจากภาวะ hemolysis ความเข้มข้นฮีโมโกลบินเฉลี่ย 9.9±0.8 กรัม% แต่ขนาดเม็ดเลือดแดงอาจจะปกติ MCV 82.8±8.5 เฟมโตลิตร<sup>(6)</sup>, reticulocyte 11 %, อาจจะมีสัดส่วนฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริงมากได้ถึงร้อยละ 6.8<sup>(13)</sup> มีม้ามโตได้เล็กน้อยในบางรายเทียบกับ homozygous alpha thalassemia-2 ซึ่งใกล้เคียงกับ heterozygous alpha thalassemia-1 คือความเข้มข้นฮีโมโกลบิน 11.3±1.7 กรัม%, MCV 67.8±7.2 เฟมโตลิตร, reticulocyte 1.3±1.6 %<sup>(14)</sup> เห็นได้ชัดว่าโรคฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริงอาการซีดชัดกว่าแต่ซ่อนรูปกว่าคือ MCV ก่อนข้างปกติแต่เมื่อมีไข้ ผู้ป่วยโรคฮีโม

โกลบินคอนสะแตนท์สะปริงบางรายอาจจะเกิดภาวะวิกฤตเม็ดเลือดแดงแตกรุนแรงเฉียบพลันแบบ hemolytic crisis ได้<sup>(15)</sup> ความเข้มข้นฮีโมโกลบินลดลงจาก 10.5 เหลือเพียง 5.1 กรัม% ก็ได้<sup>(16)</sup> ความรุนแรงของโรคฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริงอาจจะพบได้ในทารกในครรภ์บางรายที่มีอาการโลหิตจางขั้นรุนแรงมากจนหัวใจวาย บวมน้ำเข้าชั้น hydropsfetalis แบบเดียวกับที่พบในทารกโรค homozygous alpha thalassemia-1 ก็ได้<sup>(17, 18)</sup>

โรคฮีโมโกลบินเอชคอนสะแตนท์สะปริงเกิดจากการถ่ายทอดร่วมกันระหว่างยีนส์แอลฟาซาลัสซีเมีย-1 กับยีนส์ฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริง ผู้ป่วยจะมีอาการโลหิตจางปานกลาง จนถึงขั้นรุนแรงฮีโมโกลบินเฉลี่ย 8.7±1.5 กรัม%<sup>(19)</sup> ตับม้ามโต ตาเหลือง บางรายหน้าตาเปลี่ยนแปลงซาลัสซีเมียก็มี โดยจะเริ่มแสดงอาการตั้งแต่อายุเพียง 1.5±2.1 ปี และเริ่มให้เลือดครั้งแรกตั้งแต่อายุ 3.0±2.5 ปี และมีที่ต้องให้เลือดเรื่อย ๆ ถึงร้อยละ 50 และมีถึงร้อยละ 15 ที่มีการเจริญเติบโตล่าช้าร่วมด้วยได้โดยรวม คือผู้ป่วยจะมีอาการรุนแรงกว่าและมีภาวะแทรกซ้อนมากกว่ารุนแรงกว่าผู้ป่วยโรคฮีโมโกลบินเอชที่เกิดจากยีนส์แอลฟาซาลัสซีเมีย-1 กับแอลฟาซาลัสซีเมีย-2<sup>(20)</sup> ในอเมริกาผู้ป่วยโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสะแตนท์สะปริงต้องเติมเลือดประจำมีประมาณร้อยละ 24 เทียบกับโรคฮีโมโกลบินเอช ที่ต้องการเลือดประจำเพียงร้อยละ 2 เท่านั้น<sup>(19)</sup> เมื่อมีไข้ผู้ป่วยอาจจะเกิด hemolytic crisis ได้มากกว่าไวกว่าโรคฮีโมโกลบินเอช<sup>(21)</sup> และเคยมีรายงานว่าทำให้ทารกเกิดอาการ โลหิตจางรุนแรงในครรภ์มารดาโดยความเข้มข้นฮีโมโกลบินเหลือเพียง 4.8 กรัม% ในขณะที่อายุครรภ์ได้ 24 สัปดาห์ร่วมกับอาการหัวใจวายบวมน้ำทั้งตัวทารกเสี่ยงเสียชีวิตขณะคลอดแบบ hydropsfetalis<sup>(22)</sup> การตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินอาจจะตรวจไม่พบฮีโมโกลบินคอนสะแตนท์สะปริงได้เพราะมีปริมาณน้อย และ

ความไม่เสถียร<sup>(22, 23)</sup> การวินิจฉัยจึงเหลือเพียง โรคฮีโมโกลบินเอชเท่านั้นการให้คำแนะนำทางพันธุกรรมจึงขาดความเหมาะสมไปด้วย

คู่สมรสที่มีฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง กับแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 ประเทศไทยยังไม่ถือว่าเป็นคู่เสี่ยงในปัจจุบันเพราะทารกที่เป็นโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริงปัจจุบันยังไม่ได้รับการฉีดให้อยู่ในกลุ่มธาลัสซีเมียรุนแรงประเทศไทยยังคงมุ่งเน้นเฉพาะ 3 โรค คือโรค homozygous alpha thalassemia-1, homozygous beta thalassemia และ beta thalassemia/hemoglobin E ซึ่งถือว่ามีอาการรุนแรงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขและพบบ่อย เช่นในเขตขอนแก่น และบริเวณใกล้เคียงคู่สมรสที่เสี่ยงจะให้ทารกเหล่านี้คือร้อยละ 1.1, 0.01 และ 2.2 ตามลำดับ<sup>(24)</sup> ถ้ามีการคัดกรองหาความเสี่ยงที่จะให้ทารกที่เป็นโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริงและโรคฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงรวมกันน่าจะมี ความชุกมากกว่าร้อยละ 1.1 เพราะความชุกของฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงใกล้เคียงกับ alpha thalassemia-1 คือประมาณร้อยละ 5<sup>(25)</sup>

ในคลินิกฝากครรภ์เมื่อหญิงตั้งครรภ์ได้รับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียตามขั้นตอนแล้วไม่พบฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงซึ่งมีโอกาสเป็นไปได้สูงด้วยเหตุที่ปริมาณฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงมีน้อยและไม่เสถียรหรือไม่พบเพราะตรวจด้วยวิธี OF, DCIP, HPLC ก็ตามโดยหลักการแล้วจะไม่มี การตรวจว่ามีฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริงบางรายแสดงอาการรุนแรงแบบต้องให้เลือดประจำหรือร้ายแรงระดับ hydropsfetalis ได้ จึงมีโอกาสที่จะมีทารกเกิดเป็นโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริงรายใหม่ได้<sup>(11, 26)</sup>

ด้วยความที่โรคฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง ก่อให้เกิดอาการทางคลินิกมากมายตามที่กล่าวมาจึง

ไม่ควรเปิดโอกาสให้มีทารกรายใหม่เกิดเป็นโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริงขึ้นมาอีกคู่สมรสที่มีฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริงควรได้รับการตระหนักว่าเป็นคู่สมรสที่เสี่ยงต่อการตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงก็ไม่ควรจะใช้วิธีที่ทำกันอยู่ไม่ว่าจะเป็น MCV, OF, DCIP, Hb analysis by HPLC น่าจะใช้เทคนิคที่มีความไวและความจำเพาะมากขึ้น เช่น mutation specific restriction enzyme digestion ใช้สำหรับคัดกรอง และอาจจะยืนยันด้วยวิธี amplification refractory mutation system (ARMS)<sup>(12)</sup> รวมทั้งวิธีอื่น ๆ ที่ความไวความจำเพาะและราคาไม่แพงอื่น ๆ และถ้าพบว่ามารดาที่มาฝากครรภ์มีฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงจริงก็มีความจำเป็นต้องเรียกตรวจบิดาด้วยว่ามีแอลฟาธาลัสซีเมีย-1 แฝงหรือไม่การดำเนินการป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจึงจะเป็นไปอย่างเหมาะสม

สรุปโรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริง และอาจจะรวมทั้งโรคฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง น่าจะได้รับการจัดหมวดหมู่ให้อยู่ในกลุ่มธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่ต้องเฝ้าระวังและการคัดกรองหาพาหะฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงในหญิงที่มาฝากครรภ์ต้องดำเนินไปอย่างจริงจังและด้วยวิธีที่ไวพอด้วย

## เอกสารอ้างอิง

1. Pongsamart S, Pootrakul S, Wasi P, Na-Nakorn S. Hemoglobin constant spring: Hemoglobin synthesis in heterozygous and homozygous states. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 64: 681-6.
2. Pichanun D, Munkongdee T, Klamchuen S, Butthep P, Winichagoon P, Fucharoen S, et al. Molecular screening of the Hbs Constant Spring (codon 142, TAA>CAA, á2) and Paksé (codon 142, TAA>TAT, á2) mutations in Thailand. *Hemoglobin* 2010; 34: 582-6.

3. กานดา ศรกายสิทธิ์, กุลนภา ฟูเจริญ, สุพรรณ ฟูเจริญ, อัฐวุฒิ ไชยบุญเรือง, มัทนี ชิวเสถียรชัย, พัชรารัตน์ ผานิช และคณะ. อุบัติการณ์ของฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงและฮีโมโกลบินปากเซที่จังหวัดขอนแก่น: สํารวจด้วยวิธี capillary electrophoresis และการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2555; 24: 291-8.
4. Pharephan S, Sirivatanapa P, Sanit Makonkawkeyoon S, Tuntiwechapikul W, LuksanaMakonkawkeyoon. Prevalence of  $\alpha$ -thalassaemia genotypes in pregnant women in northern Thailand. *Indian J Med Res* 2016; 143: 315-22.
5. Charoenkwan P, Taweephon R, Sirichotiyakul S, Tantiprabha W, Sae-Tung R, Suanta S, et al. Cord blood screening for alpha thalassaemia and hemoglobin variants by isoelectric focusing in Northern Thai neonates: correlation with genotypes and hematological parameters. *Blood Cells Mol Dis* 2010; 45: 53-7.
6. Jomoui W, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Nguyen VH, Fucharoen S. Hemoglobin Constant Spring among Southeast Asian Populations: haplotypic heterogeneities and phylogenetic analysis. *PLoS ONE* 2015; 10(12): e0145230. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145230>
7. Waneesorn J, Panyasai S, Kongthai K, Singboottra 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. Pornprasert S, Panyasai S, Waneesorn J, Kongthai K, Singboottra P. Quantification of hemoglobin Constant Spring in heterozygote and homozygote by a capillary electrophoresis method. *Int J Lab Hematol* 2012; 34: 143-7.
9. Insiripong S, Yingsitsiri W, Boondumrongsagoon J. Thalassaemia and hemoglobinopathy despite normal level of hemoglobin concentration and normal mean corpuscular volume. *Bull Department Med Service* 2012; 37: 215-21.
10. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassaemia and haemoglobin E in rural communities in southeast Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 364-72.
11. สมชาย อินทรศิริพงษ์. โรคฮีโมโกลบินเอชคอนสแตนท์สปริงใน เด็กที่เลือดลอดผ่านขบวนการคัดกรองธาลัสซีเมียในระหว่างการฝากครรภ์ของมารดา: รายงานผู้ป่วย. *วารสารกุมารเวชศาสตร์* 2560; 56: 244-8.
12. Tangvarasittichai O, Jeenapongsa R, Sitthiworanan C, Sanguansermisri T. Laboratory investigations of Hb Constant spring. *Clin Lab Haematol* 2005; 27: 47-9.
13. Derry S, Wood WG, Pippard M, Clegg JB, Weatherall DJ, Wickramasinghe SN, et al. Hematologic and biosynthetic studies in homozygous Hemoglobin Constant Spring. *J Clin Invest* 1984; 73: 1673-82.
14. Ahmad R, Saleem M, Aloysious NS, Yelumalai P, Mohamed N, Hassan S. Distribution of alpha thalassaemia gene variants in diverse ethnic populations in Malaysia: Data from the Institute for Medical Research. *Int J MolSci* 2013; 14: 18599-614.
15. Viprakasit V, Veerakul G, Sanpakit K, Pongtanakul B, Chinchang W, Tanphaichitr VS. Acute haemolytic crisis in a Thai patient with homozygous haemoglobin Constant Spring (Hb CS/CS): a case report. *Ann Trop Paediatr* 2004; 24: 323-8.
16. Insiripong W, Insiripong S. Acute hemolytic crisis in a patient with hemoglobin Constant spring disease: a case report. *Birth Defect* 2017; 1(2).doi: 10.1 5761/BDj. 1000108.
17. Charoenkwan P, Sirichotiyakul S, Chanprapaph P, Tongprasert F, Taweephon R, Sae-Tung R, et al. Anemia and hydrops in a fetus with homozygous constant spring. *J PediatrHematolOncol* 2006; 28: 827-30.
18. He Y, Zhao Y, Lou JW, Liu YH, Li DZ. Fetal anemia and hydropsfetalis associated with homozygous Constant spring (HBA2: c.427T>C). *Hemoglobin* 2016; 40: 97-101.

19. Singer ST, Kim H-Y, Olivieri NF, Kwiatkowski JL, Coates TD, Carson S, et al. Hemoglobin H-constant spring in North America: an alpha Thalassemia with frequent complications. *Am J Hematol* 2009; 84: 759-61. doi: 10.1002/ajh.21523
20. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009: 26-34. doi: 10.1182/asheducation-2009.1.26.
21. Styles LA, Foote DH, Kleman KM, Vichinsky E. Hemoglobin H-Constant Spring Disease: an under recognized, severe form of  $\alpha$ -thalassemia. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1997; 4: 69-74.
22. He S, Zheng C, Meng D, Chen R, Zhang Q, Tian X, et al. Hb H hydropsfetalis syndrome caused by association of the-(SEA) deletion and Hb Constant spring (HBA2: c.427T>C) mutation in a Chinese family. *Hemoglobin* 2015; 39: 216-9.
23. Li D, Liao C, Li J. Misdiagnosis of Hb constant spring ( $\alpha$ 142, Term->Gln, TAA->CAA in  $\alpha$ 2) in a Hb H ( $\beta$ 4) disease child. *Hemoglobin* 2007; 31: 105-8.
24. สุทัศน์วีร์ วิมลเศรษฐ, ชาลี วิมลเศรษฐ, รัชมี ออมสิน, อุดมเกียรติ พรรชนประเทศ. ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในหญิงตั้งครรภ์ในเขตสุขภาพที่ 7. *วารสารวิชาการสาธารณสุข* 2559; 25: 211-7.
25. วิชัย เทียนถาวร, จินตนา พัฒนพงษ์ธร, สมยศ เจริญศักดิ์, รัตน์ติกา แซ่ตั้ง, พิมพ์ลักษณ์ เจริญขวัญ, ต่อพงษ์ สงวนเสริมศรี. ความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในประเทศไทย. *วารสารโลหิตและเวชศาสตร์บริการโลหิต* 2549; 16: 307-12.
26. Pornprasert S, Saoboontan S, Wiengkum T. Hemoglobin Constant spring (Hb CS) missed by HPLC in an Hb E trait pregnancy resulting in Hb H-CS disease in a Thai girl: utility of capillary electrophoresis. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2016; 32(suppl 1): 254-7.