การใช้ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ในการคัดกรอง เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝง

สมชาย อินทรศิริพงษ์, พ.บ.*

ในการตรวจคัดกรองผู้ที่สงสัยว่าจะมีธาลัสซีเมีย หรือฮีโมโกลบินผิดปกติแฝง ไม่ว่าจะในหญิงตั้งครรภ์ หรือในบุคคลทั่วไปก็ตาม มักจะใช้การตรวจแยกชนิดของฮีโมโกลบินเป็นหลัก ซึ่งมีหลายวิธีย่อย ๆ ทำให้สามารถแยกได้ว่า เป็นคนปกติ, เป็นเบต้าธาลัสซีเมียแฝง หรือมีฮีโมโกลบิน อี แฝง โดยดูว่ามีสัดส่วนของฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เท่าใด ถ้าค่าระหว่างร้อยละ 2.3-3.2 โดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) หรือร้อยละ 1.5-3.2 ด้วยวิธี capillary isoelectric focusing จะถือว่าปกติ และถ้าฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ได้ร้อยละ 4.0-6.7 และ 4.4-6.9 ตามลำดับ จะถือว่าเป็นเบต้า ธาลัสซีเมียแฝง[1] มีน้อยมากที่ค่า ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ของผู้ที่เป็นเบต้าธาลัสซีเมีย แฝง จะมีค่านอกพิสัย 3.5-7.0[2] และถ้าค่าประมาณร้อยละ 29.4±2.3 ก็ถือว่าเป็น ฮีโมโกลบิน อี แฝง[1] ส่วนในกลุ่มที่ค่า ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ อยู่ระหว่างร้อยละ 3.1-3.9 ถือเป็นกลุ่มชวนสงสัย ในประเทศอิตาลี ซึ่งถือว่าเป็นแหล่งที่มียีนส์ เบต้า ธาลัสซีเมีย ชุกชุม พบว่าร้อยละ 22.9[3] มีแอลฟ่า, เบต้า, หรือเดลต้า ยีนส์บกพร่องอย่างใดอย่างหนึ่ง โดยเฉพาะสายเบต้า ยีนส์ สัดส่วนของฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในคนที่เป็น เบต้าธาลัสซีเมียแฝงนี้ อาจจะถูกรบกวนให้ลดลงได้ด้วยปัจจัยหลายประการ ทั้งแบบที่เป็นมาโดยกำเนิด เช่น การมียีนส์แอลฟ่า ธาลัสซีเมีย แฝง[4], การมียีนส์ เดลต้า ธาลัสซีเมีย แฝง ถ่ายทอดร่วมด้วย[5] และปัจจัยที่เกิดซ้ำเติมในภายหลัง เช่น การขาดธาตุเหล็กทำให้ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ต่ำได้จากร้อยละ 5.8±0.9 เป็น 5.4±0.9[6] แม้จะมีฝ่ายค้านว่าไม่มีผลในการลดก็ตาม[7,8] ส่วนผู้ที่มีทั้งแอลฟ่าธาลัสซีเมีย-1 แฝง และ เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝงร่วมกัน จะมีฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เฉลี่ยร้อยละ 4.5±0.5, ค่า MCV เฉลี่ย 72.7±3.1 เฟมโตลิตร เทียบกับผู้ที่มี เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝงอย่างเดียวคือ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ร้อยละ 5.2 และ ค่า MCV 69.0±0.9 เฟมโตลิตร[9] นอกจากปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำให้ค่าฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ใน เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝง ลดลงไปกว่าที่ควรแล้ว ยังมีผู้ที่เป็น เบต้า ธาลัสซีเมีย ที่ปริมาณฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ไม่เพิ่มขึ้น และยังคงอยู่ในระดับปกติก็มี[10] ภาวะอื่นที่ทำให้ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ลดได้บ้าง เช่น ภาวะโลหิตจางจากการอักเสบเรื้อรัง, sideroblastic anemia, ภาวะโลหิตจางจากพิษของสารตะกั่ว, ไขกระดูกฝ่อ ไธรอยด์ต่ำ[11]

ในทางตรงข้าม ในคนที่ไม่ได้เป็น เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝง ก็อาจจะมีปริมาณ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เพิ่มขึ้นจนทับซ้อนกับปริมาณของ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ของผู้ที่มี เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝงจริงได้ ซึ่งสาเหตุก็มีทั้งที่เป็นมาโดยกำเนิด เช่น sickle cell trait[12] มีฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เฉลี่ยร้อยละ 4.1±0.4

*กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา จ.นครราชสีมา 30000

(พิสัย 2.2-5.2), ส่วนของผู้ที่เป็นโรค sickle cell คือ ร้อยละ 3.9±1.1 (พิสัย 0.6-5.9) เทียบกับ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ของคนที่เป็น เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝง คือ ร้อยละ 4-9[13], ผู้ที่มีฮีโมโกลบิน อี แฝง (hemoglobin E trait) จะมีฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ร้อยละ 3.4±0.4 และร้อยละ 4.4 สำหรับคนที่มีโรคฮีโมโกลบิน อี[14], ส่วนสาเหตุที่เป็นในภายหลังที่ทำให้ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เพิ่มได้ในผู้ป่วยบางราย เช่น ผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวี โดยเฉพาะ zidovudine[15] การติดเชื้อเอชไอวี, megaloblastic anemia[11] และภาวะไธรอยด์เป็นพิษที่ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เพิ่มขึ้นได้ประมาณ ร้อยละ 3.3±0.5[16]

ในกรณีที่ ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เพิ่มขึ้นโดยไม่ได้เป็น เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝง จากภาวะเหล่านี้ต้องใช้อาการและอาการแสดงทางคลินิกร่วมกับข้อมูลพื้นฐานจากห้องปฏิบัติการที่เหมาะสม ก็พอจะช่วยวินิจฉัยแยกโรคได้อยู่แล้ว เช่น sickle cell ไม่ค่อยพบในคนไทย ฮีโมโกลบิน อี แฝง วินิจฉัยได้ง่ายด้วยการตรวจแยกชนิดของฮีโมโกลบิน ส่วน megaloblastic anemia ก็เห็นได้ง่ายจากการตรวจ CBC แล้วพบค่า MCV เพิ่มขึ้นมากกว่า 100 เฟมโตลิตร ในกรณีที่แยกไม่ออกจริง ๆ ก็ต้องใช้การตรวจยีนส์ของ เบต้า ธาลัสซีเมีย เข้าช่วย ธาลัสซีเมีย-1 แฝงด้วย จะมีฮีโมโกลบินธาลัสซีเมีย-1 แฝงด้วย

นอกจาก ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยแล้ว ดัชนีเม็ดเลือดแดงของผู้ที่เป็น เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝงยังมีการเปลี่ยนแปลงด้วย นั่นคือ MCV 66.8±8.9 เฟมโตลิตร. MCH 20.8±4.7 พิโครกรัม, MCHC 31.1±2.2 กรัม%[17], RDW 16.3 % (พิสัย 13.8-22.1)[18] Hereditary spherocytosis (HS) เป็นความผิดปกติโดยกำเนิดของผิวเม็ดเลือดแดง เนื่องจากการขาดโปรตีนบางชนิด เช่น spectrin, ankyrin, protein 4.1 ฯลฯ[19] ทำให้เล็ดเลือดแดงเสียพื้นที่ผิวไปบางส่วน ผลคือทำให้เม็ดเลือดแดงกลายเป็นทรงกลม ไม่มี central pallor และ ไม่มี deformability ทำให้ถูกกักเก็บและทำลายในม้ามจำนวนมาก เม็ดเลือดแดงจึงมีอายุสั้นกว่าปกติ[20] ผู้ป่วยจะมีอาการ โลหิตจางเล็กน้อย ร่วมกับค่า ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ประมาณร้อยละ 8.9 กลไกการเกิดยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จึงมีคนตั้งสมมุติฐานว่าเนื่องจากความเครียดที่มีโลหิตจางมาโดยกำเนิด ทำให้การกดยีนส์ที่สร้างสาย แกมม่า และ เดลต้า ทำไม่ได้อย่างแนบสนิท จึงเหลือยีนส์พอจะสร้างฮีโมโกลบิน เอ$_2$ และ ฮีโมโกลบิน เอฟได้บ้าง หรืออาจจะเกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างเม็ดเลือดแดงที่เร่งสร้างจนมีเม็ดเลือดแดงที่อายุยังน้อยจำนวนมาก และเซลล์ที่อายุน้อยมักจะมีสาย แกมม่า และเดลต้า มากกว่าที่ควร ความสามารถนี้จะหายไปหลังจากที่ได้รับการตัดม้ามไปได้ระยะหนึ่ง จนผู้ป่วยหายซีดแล้ว[21] โดยค่า MCHC และ RDW ของ HS คือ 35.9±0.9 เฟมโตลิตร และ 19.5±4.0 %[22]

ส่วนที่แตกต่างกันอย่างเด่นชัดระหว่าง HS กับเบต้า ธาลัสซีเมียแฝง คือ MCHC และ RDW ซึ่งมีค่าเท่ากับ 31.1±2.2[17] และ 16.3 %[18] ในกลุ่มเบต้าธาลัสซีเมีย แฝงเมื่อเทียบกับ 35.7±1.3 กรัม% และ 20.6±4.5 %, ในผู้ป่วย HS[23]

ในกรณีที่ผู้ป่วยเป็น เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝง ร่วมกับ HS จะมีค่าต่าง ๆ ดังนี้ ฮีโมโกลบิน 10.3-12.1 กรัม%, MCV 63.7-64.2 เฟมโตลิตร MCH 19.2-19.3 พิโครกรัม MCHC 29.9-30.3 กรัม%, RDW 16.1-20.7 % ฮีโมโกลบิน เอ$_2$ ร้อยละ 4.8-5.1[24]

ปัจจุบันในประเทศอิตาลี ซึ่งมีธาลัสซีเมียชุกชุม ยังไม่แนะนำให้ตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในระดับ molecular analysis ในการวินิจฉัย เบต้า ธาลัสซีเมีย แฝง แนะนำเฉพาะ แอลฟ่า ธาลัสซีเมีย เท่านั้น[25] ในประเทศอินเดีย ซึ่งมีธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติมากมาย เหมือนประเทศไทยผู้เชี่ยวชาญก็เริ่มตั้งคำถามแล้วว่าการคัดกรอง เบต้า ธาลัสซีเมีย ควรจะมีการเปลี่ยนแปลงการตรวจคัดกรองที่มากไปกว่าการตรวจแยกชนิดของ ฮีโมโกลบิน เพียงอย่างเดียวหรือไม่[26] ส่วนในประเทศไทย ถ้ายังพึ่งการคัดกรองด้วยวิธี OF, DCIP, MCV ต่อด้วย Hb electrophoresis ซึ่งถือว่าเป็น surrogate หรือตัวแทนของการตรวจยีนส์ ธาลัสซีเมียเท่านั้น ความสำเร็จในการลดผู้ป่วย

ธาลัสซีเมีย และ ฮีโมโกลบิน ผิดปกติชนิดรุนแรง คงจะถูกจำกัดอยู่ที่ระดับหนึ่งเท่านั้น จนกว่าจะยอมรับการตรวจคัดกรองที่ละเอียดระดับยีนส์

เอกสารอ้างอิง

1. Craver RD, Abermanis RP, Warrier RP, Ode DL, Hempe JM. Capillary isoelectric focusing; Hemoglobin A_2 in healthy persons, sickle cell disease, sickle cell trait, and beta thalassemia by capillary isoelectric focusing. Am J Clin Pathol 1997; 107: 88-91.
2. Stephens AD, Angastiniotis M, Baysal E, Chan V, Davis B, Fucharoen S, et al. ICSH recommendations for the measurement of haemoglobin A_2. Int J Lab Hematol 2012; 34: 1-13.
3. Giambona A, Passarello C, Vinciguerra M, Li Mudi R, Teresi P, Anza M, et al. Significance of borderline hemoglobin A_2 values in an Italian population with a high prevalence of beta thalassemia. Haematologica 2008; 93: 1380-4.
4. Saleh-Gohari N, Khademi Bami M, Nikbakht R, Karimi-Maleh H. Effects of β-thalassaemia mutations on the haematological parameters of ß-thalassaemia carriers. J Clin Pathol 2015; 68: 562-6. doi: 10.1136/ jclinpath-2014-202825. Epub 2015 May 2.
5. Vinodh Kumar B, Choccalingam C, Samuel P. Incidental identification of possible delta-beta thalassemia trait in a family: A rare cause of elevated Hb F. J Clin Diagn Res 2016; 10: BD01-BD02.
6. Verma S, Gupta R, Kudesia M, Mathur A, Krishan G, Singh S. Coexisting iron deficiency anemia and beta thalassemia trait: Effect of iron therapy on red cell parameters and hemoglobin subtypes. ISRN Hematology 2014 (2014), Article ID 293216, 5 pages
7. Amid A, Haghi-Ashtiani B, Kirby-Allen M, Haghi-Ashtiani MT. Screening for thalassemia carriers in populations with a high rate of iron deficiency: revisiting the applicability of the Mentzer Index and the effect of iron deficiency on Hb A_2 levels. Hemoglobin 2015; 39: 141-3. doi: 10.3109/03630269. 2015. 1024321. Epub 2015 Mar 25.
8. Sharma P, Das R, Trehan A, Bansal D, Chhabra S, Kaur J, et al. Impact of iron deficiency on hemoglobin A_2% in obligate ß-thalassemia heterozygotes. Int J Lab Hematol 2015; 37: 105-11. doi: 10.1111/ ijlh. 12246. Epub 2014 Apr 23.
9. Kan YW, Nathan DG. Mild thalassemia: the result of interactions of alpha and beta thalassemia genes. J Clin Invest 1970; 49: 635-42.
10. Metaxotou-Mavromati C, Kattamis C, Matathia L, Tzetis M, Kanavakis E. Clinical, haematological, and genetic studies of type 2 normal Hb A_2 beta thalassemia. J Med Genet 1988; 25: 195-9.
11. Figueiredo MS. The importance of hemoglobin A_2 determination. Brazilian J Hematol Hemother 2015; 37: 287-9.
12. Yang Z, Chaffin CH, Easle PLy, Thigpen B, Reddy VVB. Prevalence of elevated hemoglobin A_2 measured by the CAPILLARYS system. Am J Clin Pathol 2009; 131: 42-8.
13. Shokrani M, Terrell F, Turner EA, del Pilar Aguinaga M. Chromatographic measurements of hemoglobin A_2 in blood samples that contain sickle hemoglobin. Ann Clin Lab Sci 2000; 30: 191-4.
14. Mais DD, Gulbranson MT. The range of hemoglobin A_2 in hemoglobin E heterozygotes as determined by capillary electrophoresis. Am J Clin Pathol 2009; 132: 34-8.
15. Bhagat P, Kaur Sachdeva R, Sharma P, Updesh Singh Sachdeva M, Chhabra S, Sharma A, et al. Effect of antiretroviral therapy on hemoglobin A_2 values can have implications in antenatal beta-thalassemia screening programs. Infect Dis (Lond) 2016; 48: 122-6. doi: 10.3109/23744235. 2015. 1089592. Epub 2015 Oct 2.
16. Kendall AG, Bastansky CH. Hemoglobin A_2 in hyperthyroidism. Hemoglobin 1981; 5: 571-7.
17. Hussain Z, Malik N, Chughtai AS. Diagnostic significance of red cell indices in beta thalassemia

trait. Biomedica 2005; 21: 129-31.

18. Harrington AM, Ward PCJ, Kroft SH. Iron deficiency anemia, beta-thalassemia minor, and anemia of chronic disease: A morphologic reappraisal. Am J Clin Pathol 2008; 129: 466-71.
19. Bolton-Maggs PHB, Stevens RF, Dodd NJ, Lamont G, Tittensor P, King MJ. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis.Br J Haematol 2004; 126, 455-74.
20. Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis Lancet 2008; 372: 1411-26. doi: 10.1016/} S0140-6736(08) 61588-3.
21. Harmeling JG, Moquin RB. An abnormal elevation of hemoglobin A_2 in hereditary spherocytosis. Am J Clin Pathol 1967; 47: 454-8.
22. Steward SC, Chauvenet AR, O'Suoji C. Hereditary spherocytosis: Consequences of delayed diagnosis. SAGE Open Med 2014; 2: 2050312114547093. doi: 10.1177/2050312114547093
23. Eberle SE, Sciuccati G, Bonduel M, Diaz L, Staciuk R, Torres AF. Erythrocyte indexes in hereditary spherocytosis. Medicina (B Aires) 2007; 67: 698-700.
24. Sharma S, Sonal Jain M, Richa C. Interaction between hereditary spherocytosis and the beta-thalassemia trait: a case report. Turkish J Hematol 2011; 28: Accession Number 305562542
25. Brancaleoni V, Di Pierro E, Motta I, Cappellini MD. Laboratory diagnosis of thalassemia. Int J Lab Hematol 2016; 38 Suppl 1: 32-40. doi: 10.1111/ijlh. 12527. Epub 2016 May 16.
26. Denic S, Agarwal MM, Al Dabbagh B, El Essa A, Takala M, Showqi S, et al. Hb A_2 lowered by iron deficiency and alpha thalassemia: Should screening recommendation for beta thalassemia change? ISRN Hematol 2013 (2013), Article ID 858294, 5 pages.