

บทความพิเศษ

Diagnosis of Thalassemia

กิตติ ต่อจรัส

กองพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียมีอุบัติการณ์สูงพบผู้ที่เป็นพาหะร้อยละ 30-40 หรือประมาณ 18-24 ล้านคน และมีผู้ที่เป็นโรคประมาณร้อยละ 1 ของประชากร หรือประมาณ 6 แสนคน และมีเด็กเกิดใหม่แต่ละปีป่วยเป็นโรคเพิ่มขึ้นประมาณ 12,000 ราย ธาลัสซีเมียจึงเป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุขซึ่งไม่เพียงแต่มีผลต่อผู้ป่วยและครอบครัวเท่านั้น หากยังส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมของประเทศอีกด้วย¹

ชนิดของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

ธาลัสซีเมียเป็นโรคโลหิตจางที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal recessive ผู้ที่เป็นโรคจะมีธาลัสซีเมียที่ตำแหน่งเดียวกัน (locus) 2 ยีน ผู้ที่เป็นพาหะจะมีธาลัสซีเมียและยีนปกติอย่างละ 1 ยีน ผลของธาลัสซีเมียทำให้การสร้าง globin polypeptide ไม่ได้หรือสร้างได้น้อยลง โดยทั่วไปสามารถจำแนกโรคธาลัสซีเมียที่พบบ่อยตามชนิดของ alpha (α) และ beta (β) globin polypeptide ได้ดังนี้

Alpha- thalassemia

1. Hb Bart's hydrops fetalis หรือ homozygous alpha-thalassemia 1 มีลักษณะของยีน (genotype) เป็น α -thal 1/ α -thal 1 หรือเขียนเป็น - /- - เป็นโรคธาลัสซีเมียที่รุนแรงที่สุดผู้ป่วยจะเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือหลังคลอด ปัญหาที่พบในแม่ระหว่างตั้งครรภ์คือ ความดันโลหิตสูง บวม และครรภ์เป็นพิษ²
2. Hb H disease มี genotype 2 ชนิดคือ α -thal 1/ α -thal 2 หรือ - /- α และ α -thal 1/Hb CS หรือ - / $\alpha^{CS}\alpha$ ส่วนใหญ่มีอาการน้อยถึงปานกลางได้แก่ ซีด เหลือง ตับม้ามโตเล็กน้อย แต่ถ้ามีไข้สูง จะมีภาวะซีดลงอย่างรวดเร็ว³

Beta-thalassemia

1. Thalassemia major หรือ homozygous β -thalassemia disease มี genotype เป็น β^0/β^0 เริ่มมีอาการซีดภายใน

อายุ 2 ปี อาการอื่นๆ ที่พบได้คือ ตับ ม้ามโต รูปโครงสร้างใบหน้าเปลี่ยน (thalassemic faces) การเจริญเติบโตไม่สมอายุ หากไม่ได้รับเลือดจะมีอาการซีด หัวใจล้มเหลว

2. β -thalassemia/Hb E disease มี genotype เป็น β^0/β^E หรือ β^+/ β^E อาการทางคลินิกพบได้ 3 แบบได้แก่ อาการรุนแรงมาก ปานกลางและน้อย

ระดับความรุนแรง (Clinical severity)

อาการทางคลินิกของเบต้าธาลัสซีเมียมีความแตกต่างกันมากตั้งแต่ซีดมากจำเป็นต้องได้รับเลือดเป็นประจำ (transfusion dependent) จนถึงไม่มีอาการหรือเป็นพาหะ⁴ ดังนั้นจึงแบ่งระดับความรุนแรงได้เป็น ความรุนแรงมาก (severe) ปานกลาง (moderate) น้อย (mild) และไม่มีอาการ (asymptomatic) โดยใช้ปัจจัยในการแบ่งประกอบด้วย อาการทางคลินิก (clinical) ระดับความเข้มข้นของเลือดในภาวะปกติ (steady-state hemoglobin level, Hb) และชนิดของโรค พาหะหรือภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติ (thalassemia type) ดังตารางที่ 1

การแบ่งกลุ่มธาลัสซีเมียตามความรุนแรงของโรคในบางครั้งเพื่อนำมากำหนดการวางแผนการรักษาดังนี้

1. Thalassemia major

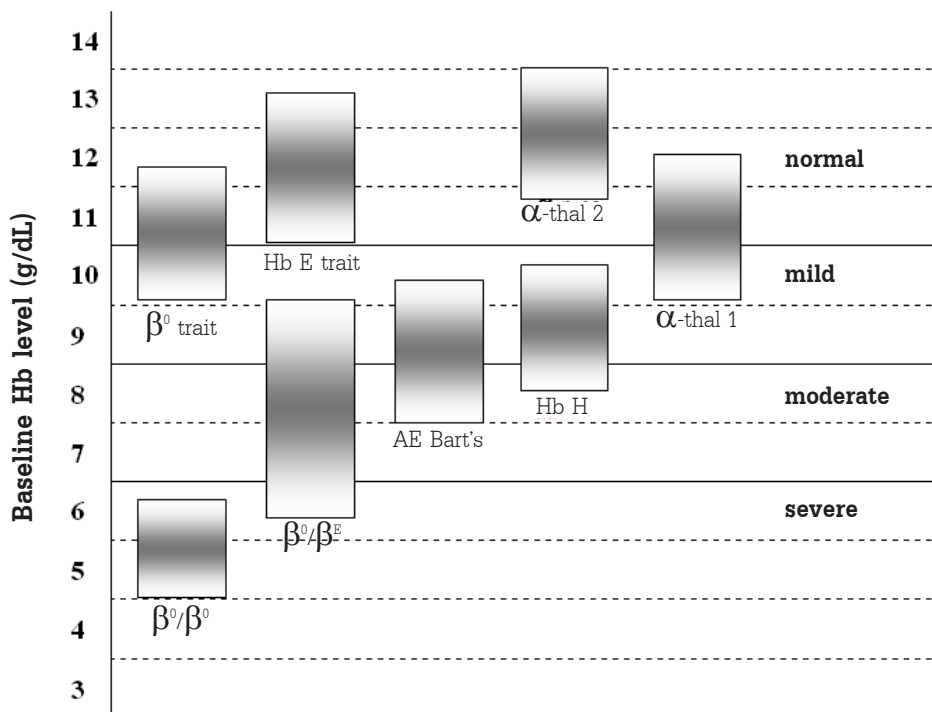
หมายถึงโรคในกลุ่มเบต้าธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรงมากมีอาการซีดระหว่างอายุ 6-24 เดือนซึ่งจำเป็นต้องให้เลือดและถ้าผู้ป่วยได้รับเลือดเป็นประจำ (regular transfusion) โดยรักษาระดับ Hb ให้อยู่ระหว่าง 9.5-10.5 g/dL ร่วมกับให้ยาขับธาตุเหล็กอย่างสม่ำเสมอผู้ป่วยสามารถมีชีวิตอยู่ได้ถึง 40 ปี⁵ ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้แก่ homozygous β -thalassemia (β^0/β^0) และบางส่วนของ β -thalassemia/Hb E (β^0/β^E)

2. Thalassemia Intermedia

หมายถึงผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงน้อยและรุนแรงปานกลาง ส่วนใหญ่จะได้รับการวินิจฉัยเมื่อมีอายุระหว่าง 2-6 ปี อาการซีดจะไม่มากโดยมีระดับ baseline Hb จะอยู่ประมาณ 7-10 g/dL⁶ เมื่อมีภาวะ

ตารางที่ 1 แสดงระดับความรุนแรงของธาลัสซีเมียแบ่งตามอาการทางคลินิก ระดับความเข้มข้นของเลือดและชนิดของธาลัสซีเมีย

Severity	Clinical	Steady-state Hb	Thalassemia type (genotype)
Severe	ซีดภายในอายุ 2 ปี ได้รับเลือดครั้งแรกอายุ 4 ปี น้ำหนักส่วนสูงต่ำกว่าเกณฑ์ หน้าตาเปลี่ยน ม้ามโตมาก	Hb ≤ 7 g/dL	Homo. β -thal (β^0/β^0) β -thal /Hb E (β^0/β^E)
Moderate	ซีด เหลือง ตับโต ม้ามโต	Hb $> 7 - 9$ g/dL	Homo. β -thal (β^0/β^+) β -thal /Hb E (β^+/ β^E)
Mild	ซีด ม้ามโตเล็กน้อย	Hb > 9 g/dL	Homo. β -thal (β^+/ β^+) β -thal /Hb E (β^+/ β^E) Hb H (- -/- α หรือ - -/ $\alpha^{CS} \alpha$)
Asymptomatic	ซีดเล็กน้อย ไม่มีอาการทางคลินิก	Normal Hb for age or low normal	Thalassemia trait, Hb E trait, Homo. Hb E



รูปที่ 1 แสดงการแบ่งความรุนแรงโดยใช้ระดับฮีโมโกลบินในสภาวะปกติ (baseline Hb level) ในธาลัสซีเมียที่พบบ่อย

การติดเชื้อจะทำให้ซีดลงอาจได้รับเลือดเป็นบางครั้ง (occasional transfusion)⁷ ตัวอย่างของผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้แก่ Homozygous β -thalassemia (β^0/β^+ หรือ β^+/ β^+), β -thalassemia/Hb E (β^+/ β^E), Hereditary persistent fetal hemoglobin (HPFH) และ Hemoglobin H disease การแบ่งระดับความรุนแรงสามารถแสดงดังรูปที่ 1

แนวทางการวินิจฉัยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

ผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียจะมีอาการทางคลินิกดังกล่าวข้างต้นและการตรวจเลือดพบได้ดังนี้

1. การตรวจเลือด (complete blood count, CBC) พบว่าซีด ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (MCV, MCH) มีค่าต่ำกว่าปกติ เม็ดเลือดแดงบนสเมียร์เลือดมีลักษณะติดสีจาง (hypochromic) ขนาด

เล็ก (microcytic) และรูปร่างผิดปกติ (poikilocytosis)

2. การตรวจ inclusion body ให้ผลบวกในโรค Hb H disease

3. การตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (Hb typing, hemoglobin analysis) เป็นการตรวจยืนยัน (definite diagnosis) เพื่อจำแนกชนิดของโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติให้แน่นอน^{2,8-9} (ตารางที่ 2 และ 3) แพทย์ควรส่งตรวจชนิดของฮีโมโกลบินก่อนให้เลือดครั้งแรกหรืออย่างน้อย 3 เดือนหลังจากให้เลือดครั้งสุดท้ายเพื่อการแปลผลที่ถูกต้อง

แนวทางการวินิจฉัยภาวะของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ

การตรวจกรองพาหะ (screening test) ของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติมีจุดประสงค์เพื่อค้นหาผู้ที่เป็พาหะของ β -thalassemia,

α -thalassemia 1 และ Hb E เพื่อควบคุมและป้องกันโรคเป้าหมาย 3 โรคได้แก่ homozygous β -thalassemia, β -thalassemia/Hb E และ Hb Bart's hydrops fetalis ถ้าได้ผลบวกจากการตรวจกรองต้องทำการตรวจยืนยัน (confirmation test) โดยวิธีมาตรฐานต่อไป การตรวจพาหะประกอบด้วย

การตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมีย ที่ใช้ในปัจจุบันมี 3 วิธีได้แก่

1. ดัชนีเม็ดเลือดแดง (red cell indices) ประกอบด้วย MCV (mean cell volume) และ MCH (mean cell hemoglobin) เป็นค่าที่ตรวจวัดโดยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ ในผู้ใหญ่ค่า MCV < 80 fL และหรือ MCH < 27 pg พบในพาหะของ β -thalassemia หรือ α -thalassemia 1 สำหรับในเด็กเนื่องจากค่าปกติทางโลหิตวิทยาในอายุต่างๆ จะขนาดมีค่าแปรตามอายุ

ตารางที่ 2 แสดงการตรวจชนิดฮีโมโกลบินในภาวะ Normal and Alpha-thalassemia syndrome

ภาวะหรือชื่อโรค	ความผิดปกติของยีน (genotype)	MCV (fL)	MCH (pg)	ผลการตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (Hb typing)
Normal	$(\alpha\alpha/\alpha\alpha) (\beta/\beta)$	80-100	27-34	Hb A ₂ A (A ₂ = 2.5-3.5%)
Hb Bart's hydrops	(- -/- -)	96 ± 8	26 ± 2	Hb Bart's >80%
Hb H disease	(- - / - α)	< 80	< 27	Hb A ₂ A H หรือ Hb A ₂ A Bart's H
Hb H with Hb CS	(- - / $\alpha^{CS}\alpha$)	< 80	< 27	Hb CS A ₂ A H หรือ Hb CS A ₂ A Bart's H
Homozygous Hb CS	$(\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{CS}\alpha)$	< 80	< 27	Hb CS A ₂ A Bart's
Hb CS trait	$(\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha)$	< 80 or normal	< 27 or normal	Hb CS A ₂ A
α -thal 1 trait	(- - / $\alpha\alpha$)	< 80	< 27	Hb A ₂ A (A ₂ < 3.5%)
α -thal 2 trait	(- α / $\alpha\alpha$)	> 80	> 27	Hb A ₂ A (A ₂ < 3.5%)

ตารางที่ 3 แสดงการตรวจชนิดฮีโมโกลบินใน Beta-thalassemia syndrome และ Alpha & Beta-thalassemia interaction

ภาวะหรือชื่อโรค	ความผิดปกติของยีน (genotype)	MCV (fL)	MCH (pg)	ผลการตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (Hb typing)
Homo. β -thalassemia	(β^0/β^0) or (β^0/β^+) , (β^+/ β^+)	< 80	< 27	Hb A ₂ F or Hb A ₂ FA
β -thalassemia / Hb E	(β^0/β^E) or (β^+/β^E)	< 80	< 27	Hb EF or Hb EFA
Homozygous HbE	(β^E/β^E)	< 80	< 27	Hb EE (Hb E ≥ 80%, Hb F ≤ 5%)
Hb E trait	(β^E/β)	< 80 or normal	< 27 or normal	Hb EA (E = 25-35%)
β -thalassemia trait	(β^0/β) or (β^+/β)	< 80	< 27	Hb A ₂ A (A ₂ > 3.5%)
Hb AE Bart's disease	(- - / - α) (β^E/β)	< 80 or normal	< 80 or normal	Hb AE Bart's
Hb AE Bart's with CS	(- - / $\alpha^{CS}\alpha$) (β^E/β)	< 80	< 27	Hb A E CS Bart's
Hb EF Bart's disease	(- - / - α) (β^E/β^E) or $(- - / -\alpha) (\beta^0/\beta^E)$	< 80	< 27	Hb EF Bart's

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (-2 SD) ของ Hb, Hct และ MCV ในอายุต่างๆ*

Age	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)
	Mean (-2 SD)	Mean (-2 SD)	Mean (-2 SD)
0.5-1.9 years	12.5 (11.0)	37 (33)	77 (70)
2-4 years	12.5 (11.0)	38 (34)	79 (73)
5-7 years	13.0 (11.5)	39 (35)	81 (75)
8-11 years	13.5 (12.0)	40 (36)	83 (76)
12-14 years			
Female	13.5 (12.0)	41 (36)	85 (78)
Male	14.0 (12.5)	43 (37)	84 (77)
15-17 years			
Female	14.0 (12.0)	41 (36)	87 (79)
Male	15.0 (13.0)	46 (38)	86 (78)
18-49 years			
Female	14.0 (12.0)	42 (37)	90 (80)
Male	16.0 (14.0)	47 (40)	90 (80)

*ที่มาของข้อมูล Brugnara C, Oski FA, Nathan DG. *Diagnostic Approach to the Anemic Patient*. In: Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE, editors. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 7th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2009:456-66.

ดังนั้นผู้ที่เป็พหะธาลัสซีเมียจะมีค่าต่ำกว่า 2 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (-2 SD)¹⁰ ตามตารางที่ 4

2. การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว

(one tube osmotic fragility หรือ OF) โดยเม็ดเลือดแดงของคนปกติจะแตกหมด (negative) แต่พหะของโรคธาลัสซีเมียจะไม่แตก (ขุ่น) อานผลเป็นบวก (positive)¹¹ การทดสอบนี้ให้ผลบวกในพหะของ β -thalassemia หรือ α -thalassemia 1 ห้องปฏิบัติการใดที่มีการตรวจ MCV แล้วไม่จำเป็นต้องตรวจ OF

3. การทดสอบฮีโมโกลบินไม่เสถียรโดยการตกตะกอนสีด้วยดีซีไอพี [dichlorophenol indol phenol (DCIP) precipitation test]¹² สี DCIP ทำให้โมเลกุลของฮีโมโกลบินไม่เสถียร (unstable hemoglobin) เกิดการสลายตัวและตกตะกอนหรือให้ผลบวก (positive) ใน Hb E trait, homozygous Hb E แต่ในคนปกติจะให้ผลลบ (negative)

การตรวจยืนยันธาลัสซีเมีย หลังการตรวจกรองให้ผลบวกให้ตรวจยืนยันดังนี้

1. Hemoglobin typing สามารถให้การวินิจฉัยพหะของ β -thalassemia โรคธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ และฮีโมโกลบินผิดปกติแต่ละชนิดได้ ปัจจุบันมีการตรวจวิเคราะห์หาชนิดฮีโมโกลบินด้วยเครื่องอัตโนมัติเช่น High performance liquid chromatography (HPLC), Low pressure liquid chromatography (LPLC) และ

Capillary electrophoresis (CE) ผลการตรวจ Hb typing ซึ่งสามารถให้การวินิจฉัย

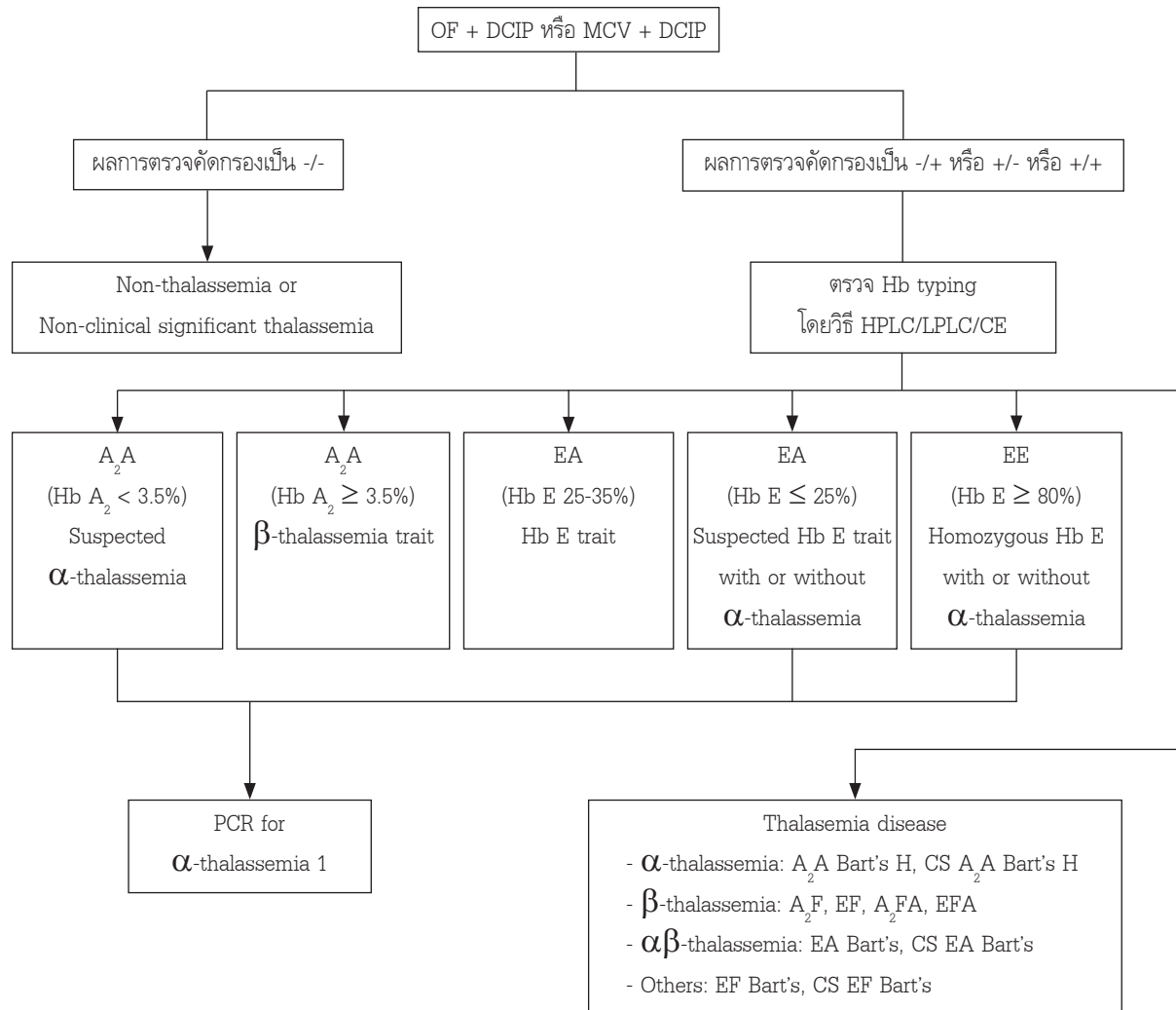
- 1) β -thalassemia trait โดยการตรวจวัดปริมาณ HbA₂ จะมีค่า Hb A₂ >3.5%¹³
- 2) Hemoglobinopathies ได้แก่ Hb E trait, homozygous Hb E, Hb CS trait, homozygous Hb CS เป็นต้น
- 3) Thalassemia disease ได้แก่ Hb H disease, β -thalassemia /Hb E เป็นต้น

2. PCR for α -thalassemia 1 และ α -thalassemia 2

การตรวจหาพหะของ α -thalassemia โดยการตรวจวิเคราะห์ DNA หรือ Gap PCR (amplification across the breakpoints of α deletion) ในคนไทยพบ α -thal 1 trait ชนิด Southeast asian deletion (--^{SEA}) และ THAI deletion (--^{THAI}) ส่วน α -thal 2 trait พบชนิด 3.7 (- α ^{3.7}) และ 4.2 deletion (- α ^{4.2})

การตรวจกรองและการตรวจยืนยันสำหรับวินิจฉัยพหะของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติสามารถทำเป็นขั้นตอนอาจใช้ OF และ DCIP หรือ MCV และ DCIP อย่างใดอย่างหนึ่งขึ้นอยู่กับความพร้อมของห้องปฏิบัติการในแต่ละโรงพยาบาล ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1

สรุป อุบัติการณ์ของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียพบได้บ่อย ร้อยละ 30-40 ของประชากรเป็นพหะ และร้อยละ 1 เป็นโรค ปฏิสัมพันธ์ของ



แผนภูมิที่ 1 แสดงขั้นตอนการตรวจกรองและการตรวจยืนยันสำหรับวินิจฉัยภาวะของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ (ดัดแปลงจาก คู่มือทางห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียและปริมาณฮีโมโกลบินผิดปกติ. 2 ed. นนทบุรี: บริษัท หมดเด็ด จำกัด; 2552. p. 23.)

ยีนธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติทำให้เกิดชนิดของโรคธาลัสซีเมียที่มีความหลากหลายและความรุนแรงของอาการทางคลินิกที่แตกต่างกัน จึงมีความจำเป็นในการวินิจฉัยโรคและภาวะของธาลัสซีเมียเพื่อการควบคุมและป้องกันไม่ให้โรคธาลัสซีเมียเพิ่มมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Panich V, Pornpatkul M, Siroongrueng W. The problem of thalassemia in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1992;23(Suppl 2):1-6.
- Vichinsky EP. Alpha thalassemia major--new mutations, intrauterine management, and outcomes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009;35-41.
- Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009;26-34.
- Thein SL. Genetic modifiers of beta-thalassemia. *Haematologica*. 2005;90:649-60.
- Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:11.
- Taher A, Isma'eel H, Cappellini MD. Thalassemia intermedia: revisited. *Blood Cells Mol Dis* 2006;37:12-20.
- Borgna-Pignatti C. Modern treatment of thalassaemia intermedia. *Br J Haematol* 2007;138:291-304.
- The laboratory diagnosis of haemoglobinopathies. *Br J Haematol* 1998;101:783-92.
- การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน ใน: คณะกรรมการจัดทำ คู่มือการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน, บรรณาธิการ. คู่มือการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน. นนทบุรี: บริษัท หมดเด็ด จำกัด 2553:1-14.

10. Brugnara C, Oski FA, Nathan DG. *Diagnostic Approach to the Anemic Patient*. In: Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE, editors. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 7th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier 2009:456-66.
11. คู่มือทางห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยหาลัสซีเมียและปริมาณฮีโมโกลบินผิดปกติ. 2 ed. นนทบุรี: บริษัท หมดเด็ค จำกัด 2552:1-18.
12. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassaemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. *Bull World Health Organ* 2004;82:364-72.
13. Giambona A, Passarello C, Renda D, Maggio A. The significance of the hemoglobin A(2) value in screening for hemoglobinopathies. *Clin Biochem* 2009;42:1786-96.