



THALASSEMIA CPG: DIAGNOSIS, WHAT'S NEW IN 2014

พอ. รศ. นพ.กิตติ ต่อจรัส
กองกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

ชนิดของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

ชนิดของธาลัสซีเมีย	ลักษณะของยีน (genotype)
Hb Bart's hydrops fetalis (homozygous α-thal 1)	α -thal 1/ α -thal 1 หรือ - -/- -
Hb H disease	α -thal 1/ α -thal 2 หรือ - -/- α
Hb H with Hb CS disease	α -thal 1/Hb CS หรือ - -/ α^{CS} α
β-thalassemia major (homozygous β-thalassemia disease)	β^0/β^0
β-thalassemia/Hb E disease	β^0/β^E หรือ β^+/β^E

ระดับความรุนแรง (Clinical severity)

- ปัจจัยในการแบ่งระดับประกอบด้วย
 - อาการทางคลินิก (**clinical**)
 - ระดับความเข้มข้นของเลือดในภาวะปกติ (**steady-state hemoglobin level**)
 - ชนิดของโรค พาหะ หรือภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติ (**thalassemia type**)
- ระดับความรุนแรงมี 4 ระดับ
 - มาก (**severe**)
 - ปานกลาง (**moderate**)
 - น้อย (**mild**)
 - ไม่มีอาการ (**asymptomatic**)

ระดับความรุนแรงของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

ความรุนแรง	อาการทางคลินิก	Hb (g/dl)	ชนิดของธาลัสซีเมีย
Severe	-ซีดภายในอายุ 2 ปี -ได้รับเลือดครั้งแรกก่อนอายุ 4 ปี -น้ำหนักส่วนสูงต่ำกว่าเกณฑ์ -หน้าตาเปลี่ยน -ม้ามโตมาก	< 7	Homo.β-thal (β^0/β^0 และ β^0/β^+ บางราย) β^0-thal/Hb E (β^0/β^E) บางราย Hb Bart's hydrops fetalis ที่รอดชีวิต Non-deletional Hb H บางราย

ระดับความรุนแรงของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

ความรุนแรง	อาการทางคลินิก	Hb (g/dl)	ชนิดของธาลัสซีเมีย
Moderate	-ซีด -เหลือง -ตับโต -ม้ามโต	> 7 – 9	Homo. β -thal (β^0/β^+) บางราย, β^0 -thal/Hb E (β^0/β^E) บางราย Hb H (- -/- α หรือ - -/ $\alpha^{CS}\alpha$) บางราย
Mild	ซีดม้ามโตเล็กน้อย	> 9	Homo. β -thal (β^+/β^+) β^+ -thal/Hb E (β^+/β^E) Hb H (- -/- α หรือ - -/ $\alpha^{CS}\alpha$)
Asymptomatic	ไม่มีอาการทางคลินิก และไม่ถือว่าเป็นโรค	normal	Thalassemia trait, Hb E trait, Homozygous Hb E

การแบ่งกลุ่มธาลัสซีเมียตามความรุนแรงของโรคเพื่อนำมากำหนดการวางแผนการรักษา (1)

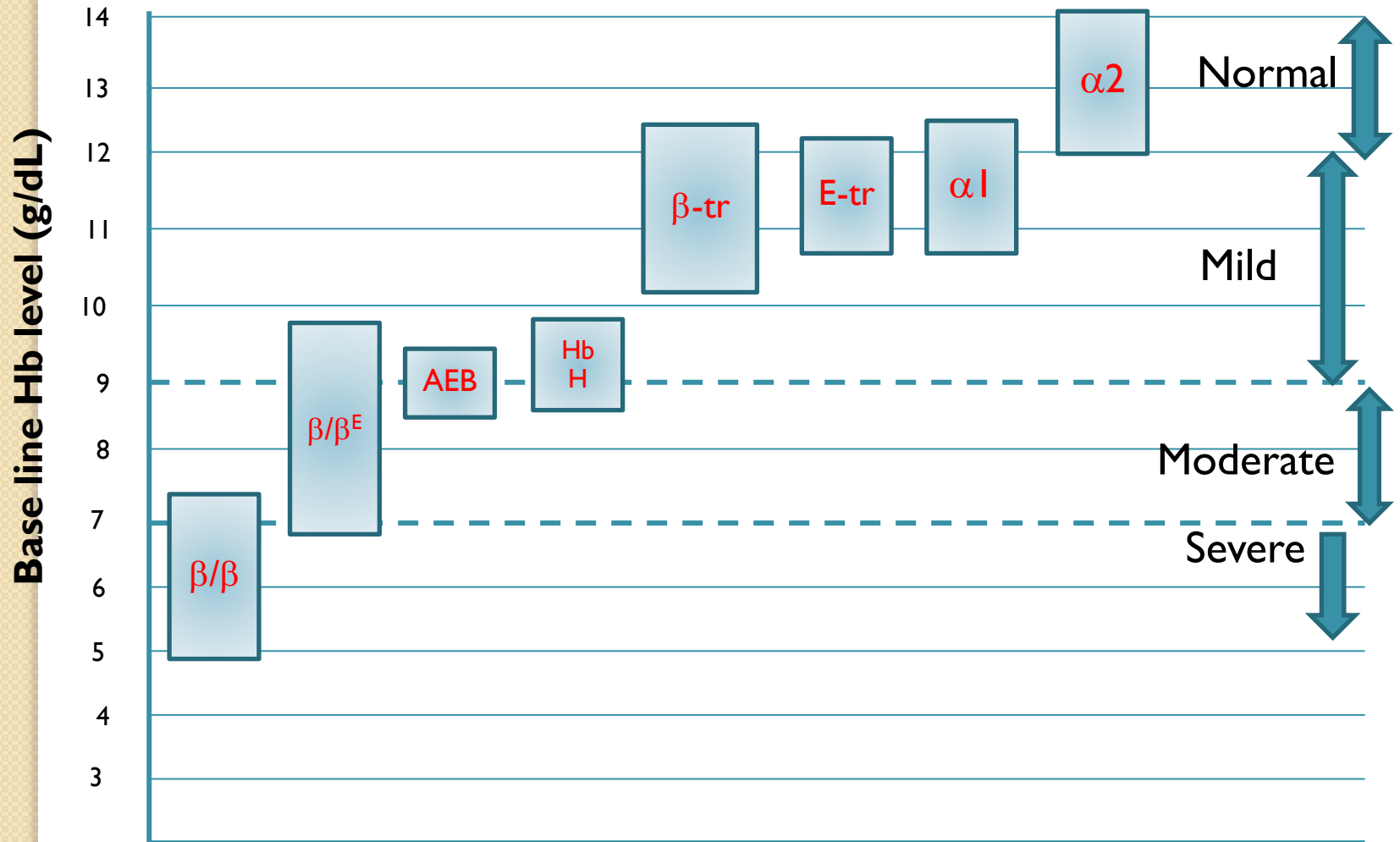
- **Thalassemia major (Transfusion-dependent thalassemia; TDT)**

- มีอาการรุนแรงมาก มีอาการชดตั้งแต่อายุระหว่าง 6-24 เดือน
- จำเป็นต้องได้รับเลือดเป็นประจำ (**regular transfusion**)
- กรณีให้เลือดรักษาระดับ **Hb = 9.5-10.5 g/dl** ร่วมกับให้ยาขับธาตุเหล็กอย่างสม่ำเสมอผู้ป่วยสามารถมีชีวิตอยู่ได้มากกว่า 40 ปี
- ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้แก่
 - **Homo. β -thal (β^0/β^0)** และบางส่วนของ **β -thal/Hb E (β^0/β^E)** และ **Hb Bart's hydrops fetalis** ที่รอดชีวิต

การแบ่งกลุ่มธาลัสซีเมียตามความรุนแรงของโรคเพื่อนำมากำหนดการวางแผนการรักษา (2)

- **Thalassemia intermedia (Non-transfusion-dependent thalassemia; NTDT)**
 - มีอาการรุนแรงน้อยและรุนแรงปานกลาง
 - ส่วนใหญ่จะได้รับการวินิจฉัยเมื่อมีอายุระหว่าง 2-6 ปี อาการซีดจะไม่มาก
 - **Hb 7-10 g/dl**
 - เมื่อมีภาวะการติดเชื้อมัทำให้ซีดลงอาจได้รับเลือดเป็นบางครั้ง (occasional transfusion)
 - ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้แก่
 - β -thalassemia intermedia (β^0/β^+ หรือ β^+/β^+), β -thal/Hb E (β^0/β^E หรือ β^+/β^E) บางราย และ Hb H disease

การแบ่งความรุนแรงโดยใช้ระดับความเข้มข้นของเลือดใน ภาวะปกติ



β/β = Homo β -thal; β/β^E = β -thal/Hb E; AEB=Hb A E Bart's; Hb H= Hb H disease; β -tr= β -trait; E-tr=Hb E trait; $\alpha 1$ = α -thal 1 trait; $\alpha 2$ = α -thal 2 trait

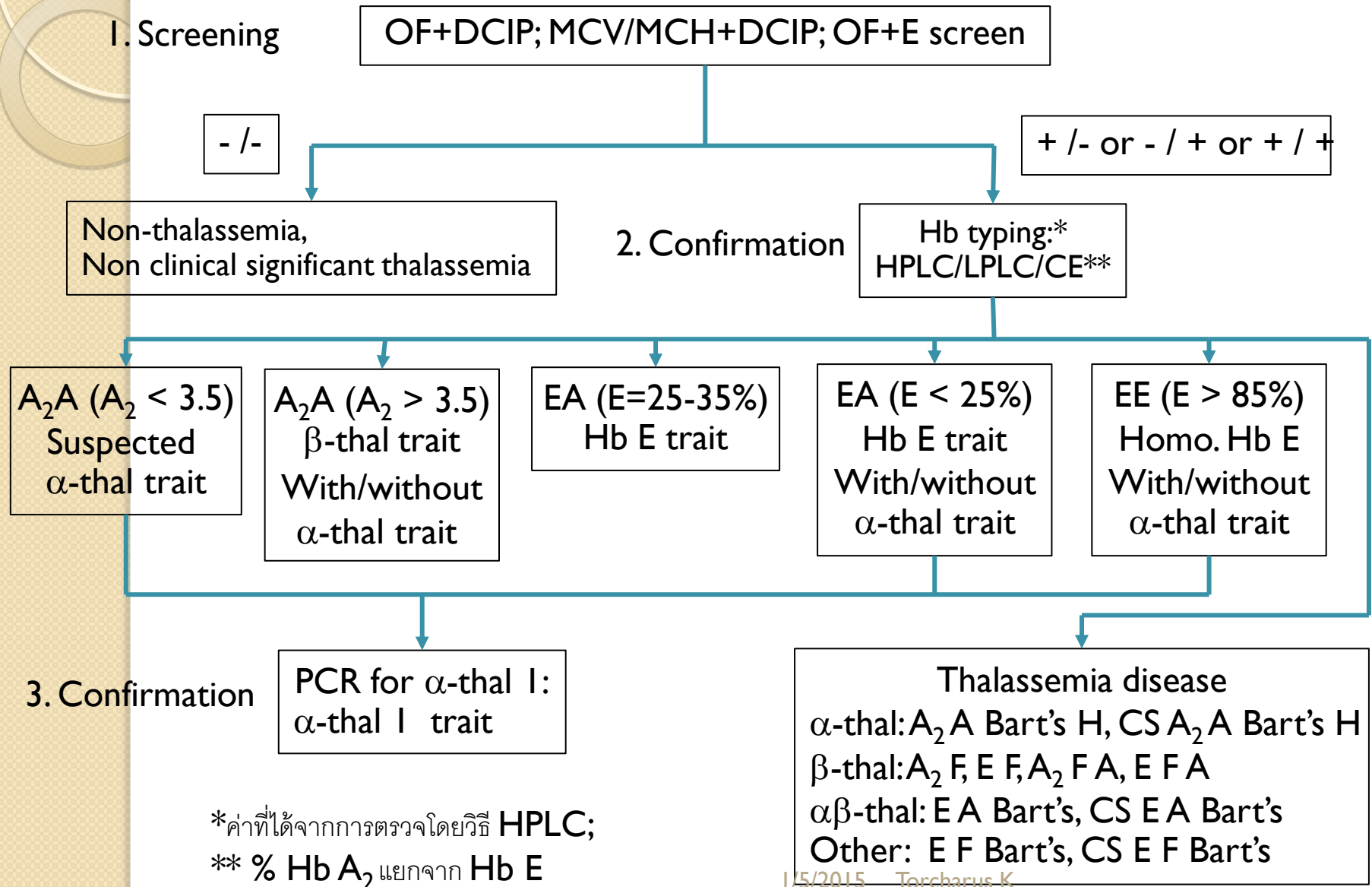
แนวทางการวินิจฉัยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

- อาการทางคลินิกได้แก่ ซีด เหลือง ตับม้าม
- ประวัติการเจ็บป่วยในอดีต การได้รับเลือด การตรวจเลือด (**CBC**)
- ประวัติในครอบครัวมีญาติเป็นธาลัสซีเมีย
- การตรวจเลือดจะให้การวินิจฉัย
 - **CBC**
 - **Hb H inclusion body**
 - **Hb typing**
 - การตรวจในระดับอนุพันธุศาสตร์
 - **Gap-PCR for α -thal 1, α -thal 2, Hb CS, Hb PS**
 - **Mutation of β -thalassemia: ARMS-PCR, RDB, HRM, Gap-PCR**

การตรวจกรองพาหะโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

- ดัชนีเม็ดเลือดแดง (**red cell indices**): **MCV, MCH**
- ความเปราะของเม็ดเลือดแดง (**osmotic fragility**)
- การตกตะกอนด้วย ดีซีไอพี (**DCIP**)
- ฮีโมโกลบิน อี สกรีน (**Hb E screen**)
- การตรวจยืนยันโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย
 - **Hemoglobin typing**
 - **PCR for α -thal 1 และ α -thal 2**
 - **Mutation of β -thalassemia**

แผนภูมิ การตรวจกรองและการตรวจยืนยันการวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ



Hemoglobin (Hb) pattern analysis (Hb typing) and Hb A₂ quantitation

- High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
 - สามารถให้การวินิจฉัยที่ accurate และ high throughput
- Capillary Electrophoresis (CE)
 - ให้การวินิจฉัย เช่นเดียวกับ HPLC
- Isoelectric focusing (IEF)
 - มีข้อจำกัดต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการแปลผล
- Hb electrophoresis (Cellulose acetate at pH 8.6 and Starch gel electrophoresis)
 - มีข้อจำกัดกระบวนการตรวจวิเคราะห์ใช้เวลานาน ไม่เป็นที่นิยม
- Micro – column chromatography
 - การตรวจวัดปริมาณ Hb A₂ ให้การวินิจฉัยที่ accurate แต่ time – consuming

คำแนะนำสำหรับการตรวจ Hb typing และค่า Hb A₂

- เมื่อพบ **abnormal Hb** ให้ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยอีกวิธีหนึ่ง เช่น ตรวจด้วยวิธี **HPLC** และ **CE**
- **Chromatogram** ของ **Hb A₂** จะแยกจาก **Hb E** เมื่อตรวจด้วยวิธี **CE**
- **Hb electrophoresis with automatic densitometry** เพื่อหาปริมาณ **Hb A₂** ไม่แนะนำให้ทำ เนื่องจากค่าที่ได้ไม่ถูกต้อง
- แนะนำให้หาปริมาณ **Hb A₂ (WHO recommendation)** ด้วยวิธี
 - **HPIC, CE และ micro-column chromatography**
 - ค่า **cut – off value** ของ **β-thalassemia heterozygous** ใช้ค่า **Hb A₂ > 3.5%**

Old J, Harteveld CL, Traeger-Synodinos J, et al: (ed 2014/03/28), 2012

Quantitation of Hb F และการแปลผล

- Alkali denaturation test
 - เป็นวิธีที่ง่าย (excellent reproducibility)
- HPLC
- CE
- การแปลผล
 - ค่าปกติ Hb F < 1%
 - $\delta\beta$ -thalassemia heterozygous ค่า Hb F > 5% ในกรณีที่มี low red cell indices และ normal Hb A₂
 - การตั้งครรภ์ ค่า Hb F = 1-3%
 - Hetero cellular HPFH ค่า Hb F = 3-5%
 - Deletional HPFH ค่า Hb F > 20%

Old J, Harteveld CL, Traeger-Synodinos J, et al: (ed 2014/03/28), 2012

Molecular diagnosis

- การตรวจ **α -thalassemia**
 - gap-PCR การวินิจฉัย common deletion ได้แก่ - SEA, - Thai, - Fil, - $\alpha^{3.7}$, - $\alpha^{4.2}$
 - Multiplex ligation-dependent probe analysis (MLPA) ใช้แทน Southern blot analysis ในการวินิจฉัย rare mutation
 - DNA sequencing, ARMS และ selective amplification and restriction endonuclease analysis ในการวินิจฉัย non-deletion mutation เช่น - α^{CS}
- การตรวจ **β -thalassemia**
 - Reverse dot blot (RDB) with allele specific oligonucleotide probe สำหรับ known mutation
 - Amplification refractory mutation system (ARMS)
 - Restriction enzyme analysis of amplified β -gene
 - Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), Single strand conformation polymorphism (SSCP) and DNA sequencing สำหรับการวินิจฉัย possible และ unknown mutation
 - Gap PCR วินิจฉัย small deletion เช่น Hb Lepore, $\delta\beta$ -thalassemia

Old J, Harteveld CL, Traeger-Synodinos J, et al: (ed 2014/03/28), 2012

สรุปการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

- การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย CBC, Hb typing
- Molecular diagnosis ขึ้นอยู่กับความพร้อมทางห้องปฏิบัติการและความผิดปกติในระดับโมเลกุลของในแต่ละภูมิภาค

ขอบคุณครับ

