



ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์กลูโคส 6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส และ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนจีซิกพีดีในชาวกะเหรี่ยง

อาภากร กาญจนวิทยากุล¹, ชาลิสา หลุยเจริญ ชีพสุนทร^{2*}

บทคัดย่อ

ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์กลูโคส 6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส และความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนจีซิกพีดี
ในชาวกะเหรี่ยง

อาภากร กาญจนวิทยากุล¹, ชาลิสา หลุยเจริญ ชีพสุนทร^{2*}

บทนำ : ภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD เป็นความผิดปกติของเอนไซม์ที่พบได้บ่อยในบริเวณที่มลาเรียระบาด เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* บนโครโมโซมเพศ X การกลายพันธุ์นี้มีความจำเพาะต่อเชื้อชาติ ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีการกลายพันธุ์ที่พบบ่อย 2 ชนิด คือ *G6PD Viangchan* (871 G>A : Val 291 Met) พบมากในชาวไทย ลาวและเขมร และ *G6PD Mahidol* (487 G>A : Gly 163 Ser) พบมากในชาวมอญ และมอญ ในขณะที่ชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปายกะญอ เป็นชาติพันธุ์หนึ่งที่อาศัยอยู่ในภูมิภาคนี้ซึ่งยังไม่มีการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร วัตถุประสงค์ : ศึกษาความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD และการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* ในชาวกะเหรี่ยงกลุ่มดังกล่าว วัสดุและวิธีการ : เก็บตัวอย่างเลือดทั้งหมด 230 ราย (ชาย 106 ราย หญิง 124 ราย) ศึกษาภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ด้วยวิธี fluorescence spot test และ quantitative *G6PD* activity assay และศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* ด้วยวิธี PCR-RFLP ผลการศึกษา : พบภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD จากวิธี fluorescence spot test 20 ราย คิดเป็น 8.70 % (ชาย 14.15%, หญิง 4.03%) และจากวิธี quantitative *G 6-PD* activity assay 26 ราย คิดเป็น 11.30 % (ชาย 16.04%, หญิง 7.26%) โดยกลุ่มพร่องเอนไซม์ G 6-PD มีค่าการทำงานของเอนไซม์เท่ากับ 0.195 ± 0.28 IU/g Hb เมื่อศึกษาการกลายพันธุ์ในกลุ่มพร่องเอนไซม์ 26 ราย พบ *G6PD Mahidol* มากที่สุด คิดเป็น 65.38 % (17 ใน 26 ราย) มีค่าความถี่ของอัลลีล เท่ากับ 0.14 ของอัลลีลในประชากรทั้งหมด และพบ *G6PD Canton* 7.69% (2 ใน 26 ราย) ผลการศึกษา SNPs nt1311C>T และ nt93T>C ในอัลลีลปกติ (*G6PD B*) พบรูปแบบ haplotype 1311C, 93T มากที่สุด 69.41 % (211 ใน 304 อัลลีล) และพบ haplotype 1311C, 93C น้อยที่สุดเท่ากับ 7.24 % (22 ใน 304 อัลลีล) ขณะที่อัลลีล *G6PD Mahidol* ทั้งหมดพบ haplotype 1311C, 93T สรุปผล : ภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ในชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปายกะญอ พบได้มากเช่นเดียวกับชาติพันธุ์อื่นๆ ในภูมิภาคนี้ซึ่งมีมลาเรียระบาด อีกทั้งพบ *G6PD Mahidol* และ haplotype 1311C, 93T มากที่สุดเช่นเดียวกับชาวมอญและมอญ ซึ่งแตกต่างจากชาวไทย ลาวและเขมร ดังนั้นการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* แสดงให้เห็นว่าชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปายกะญอ น่าจะสืบเชื้อสายชาติพันธุ์ร่วมกับชาวมอญและมอญ โดยมี *G6PD B* haplotype 1311C, 93T เป็นอัลลีลบรรพบุรุษ

คำสำคัญ : ภาวะพร่องเอนไซม์กลูโคส 6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส, จีซิกพีดีมิดิล, จีซิกพีดีเวียงจันทน์, ชาวกะเหรี่ยง

Abstract

Prevalence of G 6-PD Deficiency and Molecular Genetics of *G6PD* in Karen

Kanchanavithayakul A¹, Louicharoen Cheepsunthorn C^{2*}

Introduction : Mutations in the *G6PD* gene can lead to G 6-PD deficiency, an X-linked hereditary enzymopathic disorder, which highly frequent in Southeast Asians. Southeast Asia composes of many ethnic groups and minority tribes, whose distributions have been historically dynamic. There are two common *G6PD* mutations are *G6PD Viangchan* (871G>A : Valine

¹นิสิตปริญญาโท ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

²Ph.D., อาจารย์ประจำภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

*ติดต่อผู้พิมพ์: อาจารย์ ดร. ชาลิสา หลุยเจริญ ชีพสุนทร ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทร (66 2) 2564482

E-mail : Chalisa_loui@yahoo.com

¹ Master student of Medical Biochemistry Program, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

² Ph.D., Lecturer, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

*Corresponding author : Chalisa Louicharoen Cheepsunthorn, Ph.D., Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

Tel (66 2) 2564482 E-mail : Chalisa_loui@yahoo.com



291 Methionine) and G6PD Mahidol (487 G > A : Glycine 163). G6PD Viangchan^{871A} was the most common in Thais, Loatains and Combodians, In contrast, G6PD Mahidol^{487A} was the most common in Burmese and Mon. To date, there has been no report of G 6-PD deficiency and its molecular genetics in Karen, an ethnic group belong to the Sino-Tibetan language group and found predominantly in Myanmar and on the Thai-Myanmar border. **Objectives** : To study the prevalence of G 6-PD deficiency and the *G6PD* mutations. **Materials and methods** : We collected 230 Karen blood samples (Male 106, Female 124) to study the prevalence of G 6-PD deficiency and the *G6PD* mutations. In G 6-PD activity assay, we screened by using fluorescence spot test and quantitative G 6-PD activity assay. In mutation analysis, we screened by using PCR-RFLP technique. **Results** : G 6-PD deficiency was found in 17 (16.04%) of 106 males and 9 (7.26%) of 124 females in the study population. Molecular analysis was performed in G 6-PD deficient subjects to identify *G6PD* mutations, which varies with ethnic groups. Eight *G6PD* mutations were characterized: G6PD Mahidol (65.38 %) was the most dominant mutation followed by G6PD Canton (7.69 %), and seven G 6-PD deficient unidentified mutations. The exon11 nt1311C→T and IVS11 nt93T→C haplotypes were characterized in all 230 Karen individuals (354 alleles).

Conclusion : All G6PD Mahidol alleles shared the same haplotype (1311C, 93T), as has been previously reported in G6PD Mahidol in Burmese and Mon. Our study suggests that Karen share a common ancestry with Burmese and Mon. G6PD Canton in Karen likely stem from gene flow throughout Chinese rather than founder effect.

Keywords: G 6-PD deficiency, G6PD Mahidol, G6PD Viangchan, Karen

บทนำ

เอนไซม์กลูโคส 6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (G 6-PD) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) ในวิถีเพนโทส ฟอสเฟต (Pentose phosphate pathway) ที่ช่วยรักษาสสมดุลของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ของเซลล์ (Beutler, 1994) ดังนั้นภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD (G 6-PD deficiency) จึงทำให้เกิดภาวะโลหิตจางซึ่งมีสาเหตุมาจากเม็ดเลือดแดงแตกง่าย (acute hemolytic anemia) ภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD มักพบบ่อยในประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มalaria ระบาด เช่น อัฟริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยพบว่า ในชาวไทยมีความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ร้อยละ 11.1 ในเพศชาย และร้อยละ 5.8 ในเพศหญิง จากการที่พบภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ในบริเวณที่มalaria ระบาด มีข้อสันนิษฐาน (Beutler, 2008) ว่าในอดีตโรคมาลาเรียหรือโรคติดเชื้พลาสโมเดียม (*Plasmodium*) เป็นสาเหตุสำคัญของการตายของมนุษย์ในลำดับต้นๆ เป็นแรงผลักดันให้จีโนมของมนุษย์มีวิวัฒนาการในการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ เพื่อให้ร่างกายมนุษย์สามารถป้องกันหรือลดความรุนแรงของเชื้อพลาสโมเดียม ตัวอย่างเช่น การกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* ที่ก่อให้เกิดภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD (Carter and Mendis, 2002)

การกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* มีการถ่ายทอดแบบ X-linked recessive (Nuchprayoon *et al.*, 2008) จึงพบภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง อีกทั้งรูปแบบการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* จะมีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ ทำให้เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาประวัติศาสตร์และความสัมพันธ์ของชาติพันธุ์ อาทิเช่น ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มีความหลากหลายทางเชื้อชาติ ภาษาและวัฒนธรรม พบว่าการกลายพันธุ์ที่พบบ่อย 2 ชนิดคือ ชนิดเวียงจันทน์ (G6PD Viangchan : 871G>A : Valine 291 Methionine) ซึ่งพบมากในชาวไทย (Nuchprayoon *et al.*, 2002) ลาว (Iwai *et al.*, 2001) และเขมร (Louicharoen and Nuchprayoon, 2005) และชนิดมหิดล (G6PD Mahidol : 487 G>A : Glycine 163 Serine) ที่พบมากในชาวพม่า (Matsuoka *et al.*, 2004; Nuchprayoon *et al.*, 2008) และมอญ (Nuchprayoon *et al.*, 2008) แต่อย่างไรก็ตามยังมีชาติพันธุ์อื่นๆ เช่น กะเหรี่ยงกลุ่มปากะญอ ที่อาศัยอยู่ในภูมิภาคนี้โดยที่ยังไม่มีการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ประชากร เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างชาวกะเหรี่ยงและกลุ่มประชากรอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในบริเวณดังกล่าว

ชาวกะเหรี่ยงเป็นชนกลุ่มใหญ่ในประเทศพม่าและเป็นชนกลุ่มน้อยที่อพยพมาอาศัยอยู่ในประเทศไทยกว่า 300,000 คน



(Foundation, 2010) ชาวกะเหรี่ยงมีหลายกลุ่ม เช่น กะเหรี่ยงโปว์ และกะเหรี่ยงปกาเกอญอ ชาวกะเหรี่ยงมีลักษณะสังคมปิดที่ไม่ค่อยติดต่อกับชนเผ่าอื่น มีเอกลักษณ์ทางด้านศิลปะและวัฒนธรรมที่โดดเด่นเป็นของตนเอง ใช้ภาษากะเหรี่ยงซึ่งจัดอยู่ในตระกูลภาษาจีน-ทิเบต สาขาทิเบต-พม่าเป็นภาษาหลักและเมื่อดูจากลักษณะทางกายภาพพบว่าชาวกะเหรี่ยงมีลักษณะโครงหน้าคล้ายคลึงกับคนจีนและทิเบต (Schliesinger, 2000) จึงมีการตั้งข้อสันนิษฐานว่า ชาวกะเหรี่ยงน่าจะมีแหล่งกำเนิดอยู่ที่ทิเบตหรือประเทศจีน (Besaggio *et al.*, 2007) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาหรือหลักฐานใดที่จะอธิบายถึงพันธุศาสตร์ประชากรของชาติพันธุ์กะเหรี่ยง ด้วยเหตุผลทั้งหมดจึงเป็นที่มาของการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของชาวกะเหรี่ยง โดยผ่านการศึกษาความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD และการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างชาติพันธุ์กะเหรี่ยงและชาติพันธุ์อื่นๆในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

วิธีดำเนินการวิจัย

กลุ่มประชากรที่ศึกษา

ชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปกาเกอญอ จำนวน 230 คนที่อาศัยอยู่ที่บ้านแม่สาน ตำบลแม่ส่า อำเภอสหัสขันธ์ จังหวัดสุโขทัย โดยการวิจัยได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการวิจัยได้สอบถามข้อมูล เช่น อายุ เพศ เชื้อชาติ สัญชาติ ที่อยู่และประวัติครอบครัว เก็บตัวอย่างเลือดในหลอด Acid citrate dextrose (ACD) ที่ 4 °C สำหรับวัดการทำงานของเอนไซม์ G 6-PD และหลอด Ethylenediaminetetraacetate (EDTA) เก็บที่ -20 °C สำหรับศึกษาการกลายพันธุ์และความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *G6PD*

การศึกษาภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD

คัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ด้วยวิธี fluorescence spot test และบันทึกการเรืองแสงโดยเรืองแสงสว่างมากหมายถึง เอนไซม์มีค่าการทำงานในระดับปกติ เรืองแสงสว่างน้อยแสดงว่าเอนไซม์มีค่าการทำงานในระดับกลาง และเรืองแสงสว่างน้อยมากหรือไม่เรืองแสงหมายถึง พร่องเอนไซม์ G 6-PD นอกจากนี้ ยังศึกษาเชิงปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative G 6-PD activity assay) ซึ่งเป็นการทดลองตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก (WHO) (Dehydrogenase, 1967) ซึ่งต้องทำการทดลองภายใน 7 วัน ภายหลังจากเจาะเลือด หลักการของวิธีนี้ อาศัยการวัดค่าดูดกลืนแสง

(absorbance) ที่ความยาวคลื่น 340 nm ของ NADPH ภายหลังการเติม G 6-P และ NADP^+ ลงใน hemolysate ที่มีเอนไซม์ G 6-PD เป็นองค์ประกอบ โดยแสดงผลเป็น IU/g Hb

$$\text{Activity (IU)/g Hb} = \frac{1 \times \text{XOD/min} \times \text{Xdilution} \times 100 \times \text{TCF}}{6.22 \times 0.05 \times \text{XHb (g/dL)}} \quad \text{IU/g Hb}$$

โดยที่ TCF = Temperature correction factor เป็นค่าคงที่ที่แปรตามอุณหภูมิในหลอดทดลองขณะทำปฏิกิริยาการศึกษาการกลายพันธุ์และความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *G6PD*

นำ DNA ของผู้พร่องเอนไซม์ G 6-PD ที่สกัดด้วยวิธี phenol chloroform มาศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* ด้วยวิธี PCR-RFLP โดยใช้ primer ที่มีการออกแบบไว้แล้วในการศึกษาก่อนหน้านี้ (Louicharoen, 2008) เบื้องต้นตรวจหาการกลายพันธุ์ชนิดที่พบบ่อยในชาวพม่าและมอญคือ *G6PD Mahidol* (487G>A) หากตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ดังกล่าวจะตรวจการกลายพันธุ์ที่พบบ่อยในภูมิภาคนี้อีก 7 ชนิด ได้แก่ *G6PD Viangchan* (871G>A), *G6PD Union* (1360C>T), *G6PD Canton* (1376G>T), *G6PD Kaiping* (1388G>A), *G6PD Chinese-4* (392G>T), *G6PD Coimbra* (592C>T) และ *G6PD Chinese-5* (1024C>T) และศึกษา SNPs nt1311C>T และ nt93T>C โดยตรวจสอบขนาดชิ้นส่วนของ PCR-RFLP ด้วยการใส่ 8-12% Polyacrylamide gel electrophoresis (Sambrook and Russell, 2001) จากนั้นย้อมเจลที่ได้ด้วย Ethidium bromide สำหรับตัวอย่างที่ไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* จะส่ง sequencing ต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic) โดยวิเคราะห์ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ในชาวกะเหรี่ยงทั้งเพศชายและหญิง และนำเสนอค่าการทำงานของเอนไซม์ G 6-PD ในผู้พร่องเอนไซม์ทั้งเพศชายและหญิงในรูปของค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, S.D.) จากนั้นนำเสนอในรูปตารางและกราฟ พร้อมทั้งวิเคราะห์ข้อมูล genotype โดยนำเสนอความถี่อัลลีล (allele frequency) ของการกลายพันธุ์และวิเคราะห์ haplotype ของ SNPs ที่เกิดขึ้นบนอัลลีล *G6PD Mahidol* และอัลลีลปกติ (*G6PD B*)

ผลการวิจัย

การเก็บตัวอย่างเลือดของชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปกาเกอญอทั้งหมด 230 ราย แบ่งเป็นชาย 106 ราย และหญิง 124 ราย

ผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD

ผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD เชิงคุณภาพ วิเคราะห์ โดยใช้ Fluorescence spot test พบภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD 20 ราย คิดเป็นร้อยละ 8.7 (ชาย 15 คน คิดเป็นร้อยละ 14.15, หญิง 5 คน คิดเป็นร้อยละ 4.03) พบพาหะ 27 ราย คิดเป็นร้อยละ 11.74 (ชาย 8 คน คิดเป็นร้อยละ 7.55, หญิง 19 คน คิดเป็นร้อยละ 15.32) และพบคนปกติ 183 ราย คิดเป็นร้อยละ 79.56 (ชาย 83 คน คิดเป็นร้อยละ 78.30, หญิง 100 คน คิดเป็นร้อยละ 80.64) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD โดยใช้ Fluorescence spot test

Status	Male (%)	Female (%)	Total (%)
G 6-PD deficiency	15 (14.15)	5 (4.03)	20 (8.70)
Intermediate	8 (7.55)	19 (15.32)	27 (11.74)
Normal	83 (78.30)	100 (80.64)	183 (79.56)
Total	106 (100)	124 (100)	230 (100)

ในขณะทำการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ด้วยวิธี Quantitative G 6-PD activity assay ผลการทดสอบค่าการทำงานของเอนไซม์ ดังแสดงในกราฟการกระจายตัวปกติ (Normal distribution curve) รูปที่ 1 โดยผู้ที่มีค่าการทำงานของเอนไซม์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.99 IU/g Hb จัดเป็นผู้พร่องเอนไซม์ G 6-PD ดังนั้น พบผู้พร่องเอนไซม์ G 6-PD ทั้งหมด 26 ราย คิดเป็นร้อยละ 11.30 แบ่งเป็นชาย 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 16.04 หญิง 9 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.26 โดยกลุ่มพร่อง

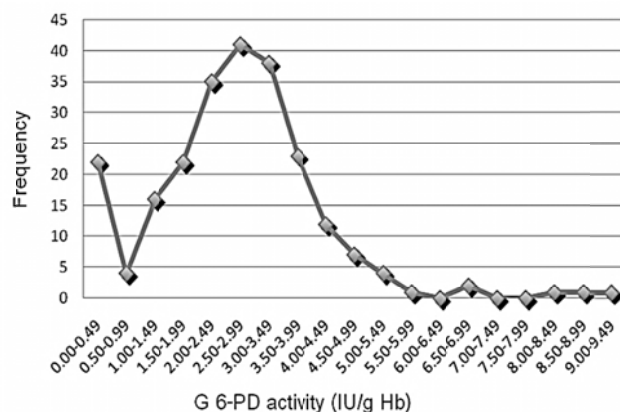
ตารางที่ 2 การกลายพันธุ์ของยีน G6PD ที่พบในชาวกะเหรี่ยง

G6PD mutations	Base change	Status	N	G 6-PD activity Mean $\pm$ SD (IU/g Hb)
Mahidol	487G $\rightarrow$ A	Hemizygote	14	0.16 $\pm$ 0.17
		Heterozygote	3	0.30 $\pm$ 0.52
Canton	1376G $\rightarrow$ T	Hemizygote	1	0
		Heterozygote	1	0.31
Unknown	-	-	7	0.24 $\pm$ 0.38
Total	-	-	26	-

ผลการศึกษา Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

ผลการศึกษา nt 1311C>T และ nt 93T>C ในทุกตัวอย่างทั้งอัลลีลปกติ (G6PD B) และอัลลีลที่พบการกลายพันธุ์พบว่า G6PD B มีรูปแบบ haplotype 1311C, 93T มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 69.41 (211 ใน 304 อัลลีล) ถัดมาเป็น haplotype 1311T, 93C พบร้อยละ 15.46 (47 ใน 304 อัลลีล),

เอนไซม์ G 6-PD มีค่าการทำงานของเอนไซม์ เท่ากับ 0.195 ± 0.28 IU/g Hb แบ่งเป็นเพศชาย มีค่าการทำงานของเอนไซม์ เท่ากับ 0.184 ± 0.25 IU/g Hb และเพศหญิง มีค่าการทำงานของเอนไซม์ เท่ากับ 0.215 ± 0.33 IU/g Hb



รูปที่ 1 กราฟแสดงการกระจายตัวปกติของค่าการทำงานของเอนไซม์ G 6-PD ในชาวกะเหรี่ยง

ผลการศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน G6PD

จากการศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน G6PD ชนิดต่างๆ ในกลุ่มที่พร่องเอนไซม์ G 6-PD ทั้งหมด 26 ราย พบการกลายพันธุ์ชนิดมหิตลามากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 65.38 (17 ใน 26 ราย) และมี allele frequency เท่ากับ 0.14 ของอัลลีลของประชากรทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบการกลายพันธุ์ G6PD Canton คิดเป็นร้อยละ 7.69 (2 ใน 26 ราย) ในขณะที่อีก 7 ราย ไม่พบการกลายพันธุ์จากการทำ sequencing

haplotype 1311T, 93T พบร้อยละ 7.89 (24 ใน 304 อัลลีล) และ haplotype 1311C, 93C พบน้อยที่สุดหรือร้อยละ 7.24 (22 ใน 304 อัลลีล) ดังตารางที่ 3 ในขณะที่ อัลลีล G6PD Mahidol ทั้งหมดพบรูปแบบ haplotype 1311C, 93T ส่วนอีก 7 รายที่ไม่พบการกลายพันธุ์มี haplotype ทั้งชนิด 1311C, 93T และ 1311T, 93C



ตารางที่ 3 haplotype ของอัลลีลต่างๆ บนยีน G6PD

Haplotype nt1311, nt93	G6PD mutations (N (%))			Total
	G6PD B	Mahidol	Canton	
C, T	211 (69.41)	48 (100)	2 (100)	261 (73.73)
C, C	22 (7.24)	0	0	22 (6.21)
T, T	24 (7.89)	0	0	24 (6.78)
T, C	47 (15.46)	0	0	47 (13.28)
Total	304	48	2	354*

* ค่าของอัลลีลทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา กล่าวคือ ชาย 106 คน มี allele ทั้งหมด 106 alleles หญิง 124 คน มี allele ทั้งหมด 248 alleles

สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ในชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปากะญอ ด้วยวิธีเชิงคุณภาพและปริมาณวิเคราะห์ พบภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง เนื่องจากการกลายพันธุ์ของยีน G6PD มีลักษณะการถ่ายทอดแบบ X-linked recessive หากผู้หญิงเป็นพาหะ (heterozygote) จะมีโครโมโซมที่มีการกลายพันธุ์ของยีน G6PD เพียงโครโมโซมเดียว ทำให้ลักษณะที่แสดงออกถูกควบคุมด้วย Random X-inactivation ดังนั้นผู้หญิงที่เป็น heterozygote จึงมีสัดส่วนของเม็ดเลือดแดงปกติและเม็ดเลือดแดงที่พร่องเอนไซม์ G 6-PD เป็นตัวควบคุมความรุนแรงและอาการของโรค (Desforges and Beutler, 1991) ดังจะเห็นได้จากค่าการทำงานของผู้หญิงจะสูงและมีช่วง range ที่กว้างกว่าในผู้ชาย นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะพร่องเอนไซม์ G 6-PD ในชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปากะญอ ยังพบได้มากเช่นเดียวกับชาติพันธุ์อื่นๆ ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากภาวะ positive selection ที่มีต่อการระบาดของมาลาเรีย (Louicharoen *et al.*, 2009)

จากการศึกษาการกลายพันธุ์ของยีน G6PD ในชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปากะญอ พบการกลายพันธุ์ของยีน G6PD ชนิด G6PD Mahidol มากที่สุด อีกทั้งยังพบ G6PD B haplotype 1311C, 93T มากที่สุด เช่นเดียวกับชาวพม่าและมอญ (Nuchprayoon *et al.*, 2008) จึงแสดงให้เห็นว่าชาวกะเหรี่ยงกลุ่มปากะญอ น่าจะสืบเชื้อสายชาติพันธุ์ร่วมกับชาวพม่าและมอญ โดยมี G6PD B haplotype 1311C, 93T เป็นอัลลีลบรรพบุรุษของประชากรกลุ่มดังกล่าว ถึงแม้ว่าชาวกะเหรี่ยงปากะญอจะใช้ภาษาถิ่นที่ต่างจากชาวมอญซึ่งใช้ภาษาออสโตรเอเชียติกก็ตาม แต่ชาวกะเหรี่ยงกลุ่มนี้ก็ยังคงใช้ภาษาในตระกูลภาษาจีน-ทิเบต สาขาทิเบต-พม่าเป็นภาษาหลักเช่นเดียวกับพม่า นอกจากนี้ยังสามารถพบการกลายพันธุ์ชนิด G6PD Canton ซึ่ง

เป็นการกลายพันธุ์ที่พบบ่อยในชาวจีน (McCurdy *et al.*, 1966) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากการเคลื่อนย้ายยีน (Gene flow) จากชาวจีนมาสู่ชาวกะเหรี่ยงมากกว่าอิทธิพลของ founder effect เนื่องจากพบอัลลีลดังกล่าวไม่มากนัก อีกทั้งยีน G6PD ของชาวกะเหรี่ยงมีลักษณะ homogeneity อาจเป็นผลมาจากการมีลักษณะสังคมปิดที่ไม่ค่อยติดต่อสัมพันธ์กับชาติพันธุ์อื่นๆ จึงทำให้การกลายพันธุ์ไม่หลากหลายเหมือนชาติพันธุ์อื่นๆ ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา คณะแพทยศาสตร์ Grant No. RA 71/53(2) และทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกว. สัญญาเลขที่ MRG5380150 อาจารย์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา ตึก สก. ชั้น 9 และตึกแพทยพัฒน์ ชั้น 8 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

References

- Besaggio D, Fuselli S, Srikumool M, Kampuansai J, Castri L, Tyler-Smith C, Seielstad M, Kangwanpong D, Bertorelle G. Genetic variation in Northern Thailand Hill Tribes: origins and relationships with social structure and linguistic differences. *BMC evolutionary biology* 2007; 7: S12.
- Beutler E. G6PD deficiency. *BLOOD-NEW YORK* 1994, 84: 3613-3613.
- Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. *Blood* 2008, 111: 16-24.



- Carter R, Mendis KN. Evolutionary and historical aspects of the burden of malaria. *Clinical Microbiology Reviews* 2002, 15: 564.
- Dehydrogenase WHOSGotSoPftSoG--P. Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase: report of a WHO scientific group. In: *World Health Organ Tech Rep Ser* 1967 : 1-53.
- Desforges JF, Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *New England Journal of Medicine* 1991, 324: 169-174.
- Foundation TKBDD. The Karen people : culture, faith and history. 2010 : 1-47.
- Iwai K, Hirono A, Matsuoka H, Kawamoto F, Horie T, Lin K, Tantular IS, Dachlan YP, Notopuro H, Hidayah NI. Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations in Southeast Asia. *Human genetics* 2001, 108: 445-449.
- Louicharoen C. A role for G6PD Mahidol in Protection against malaria in Southeast Asia. In: *Biomedical Science*. Bangkok: Chulalongkorn university 2008 : 214.
- Louicharoen C, Nuchprayoon I. G6PD Viangchan (871G> A) is the most common G6PD-deficient variant in the Cambodian population. *Journal of human genetics* 2005, 50: 448-452.
- Louicharoen C, Patin E, Paul R, Nuchprayoon I, Witoonpanich B, Peerapittayamongkol C, Casademont I, Sura T, Laird NM, Singhasivanon P. Positively selected G6PD-Mahidol mutation reduces Plasmodium vivax density in Southeast Asians. *Science* 2009, 326: 1546.
- Matsuoka H, Wang J, Hirai M, Arai M, Yoshida S, Kobayashi T, Jalloh A, Lin K, Kawamoto F. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Myanmar: G6PD Mahidol (487G> A) is the most common variant in the Myanmar population. *Journal of human genetics* 2004, 49: 544-547.
- McCurdy P, Kirkman H, Naiman J, Jim R, Pickard B. A Chinese variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1966, 67: 374.
- Nuchprayoon I, Louicharoen C, Charoenvej W. Glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations in Mon and Burmese of southern Myanmar. *Journal of human genetics* 2008, 53: 48-54.
- Nuchprayoon I, Sanpavat S, Nuchprayoon S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Thailand: G6PD Viangchan (871G> A) is the most common deficiency variant in the Thai population. *Human Mutation* 2002, 19: 185-185.
- Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: a laboratory manual, 3 ed: 2001, CSHL press.
- Schliesinger J. Ethnic groups of Thailand: non-Tai-speaking peoples: 2000, White Lotus Co Ltd.