บทบรรณาธิการ

ภาวะพาหะของโรคธาลัสซีเมีย

ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี

หน่วยธาลัสซีเมีย สถาบันมนุษย์พันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

บทนำ

ประเทศไทย มีผู้ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ รวมกันมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 1 ของประชากร ด้วยจำนวนประชากรขณะนี้จำนวนประมาณ 60 ล้านคน จะมีจำนวนผู้ป่วยธาลัสซีเมียประมาณ 600,000 คน โดยมีผู้ป่วยเกิดใหม่ในแต่ละปีเป็นโรค beta thalassemia major 625 ราย hemoglobin E beta thalassemia 3,250 ราย hemoglobin Bart's hydrops fetalis 1,250 ราย และ hemoglobin H disease 7,000 ราย ความชุกของธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินผิดปกติในประเทศไทย พบอัลฟาธาลัสซีเมียร้อยละ 20 ในคนกรุงเทพฯ เบต้าธาลัสซีเมียร้อยละ 3-9 ฮีโมโกลบินอีร้อยละ 10-13 และฮีโมโกลบินคอนสแตนสปริงร้อยละ 1-8 (ประเวศ วะสี http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc)

ในเขตภาคเหนือตอนบน รวม 8 จังหวัดได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง พะเยา ลำพูน แพร่ น่าน แม่ฮ่องสอน มีหญิงตั้งครรภ์ และคลอดบุตรปีละ 60,000 ราย มีผู้ป่วยเกิดใหม่ในแต่ละปีเป็นโรค beta thalassemia major 60 ราย hemoglobin E beta thalassemia 180 ราย hemoglobin Bart's hydrops fetalis 120 ราย และ hemoglobin H disease 540 ราย ความชุกของพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ ได้แก่ อัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย พบได้ร้อยละ 8-16 อัลฟา (+)-ธาลัสซีเมียชนิด -α (3.7) deletion พบได้ร้อยละ 18.4-22 ชนิด -α (4.2) deletion พบได้ร้อยละ 0.8-1.6 และอัลฟา (+)-ธาลัสซีเมียชนิด non-deletion ได้แก่ ฮีโมโกลบินคอนสแตนสปริงพบได้ร้อยละ 2.8-6.5 เบต้าธาลัสซีเมียพบได้ร้อยละ 4-6 และฮีโมโกลบินอีพบได้ร้อยละ 10-12[1-4]

การป้องกันการเกิดบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงมีความจำเป็นและคุ้มค่าในเชิงเศรษฐศาสตร์สาธารณสุข ซึ่งต่อมาโครงการป้องกันการเกิดบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย ได้ถูกจัดให้มีการดำเนินการอย่างแพร่หลายทั่วประเทศ ภายใต้การสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่างๆ อย่างเต็มที่จากภาครัฐ แต่ผลสำเร็จของโครงการป้องกันการเกิดบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือ พบว่าคู่สมรสที่เข้าสู่กระบวนการการวินิจฉัยก่อนคลอด เมื่อคำนวณจากหญิงตั้งครรภ์ในแต่ละปี มีจำนวนน้อยกว่าร้อยละ 25 ทั้งนี้สาเหตุหลักน่าจะเกี่ยวข้องกับนโยบายในการคัดกรอง เพื่อหาคู่สมรสเสี่ยงที่อาจให้บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย ไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร[5-7] ดังนั้นการเข้าใจถึงภาวะพาหะชนิดต่างๆ ของโรคธาลัสซีเมีย น่าจะช่วยให้การให้บริการ thalassemia counseling มีประสิทธิภาพดีขึ้น

ภาวะพาหะของโรคธาลัสซีเมีย

พาหะชนิดอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย ชนิดที่พบได้บ่อยคือ ชนิด Southeast Asian (SEA) พาหะชนิดนี้ มีอัลฟาโกลบินยีน 2 โลคัส HBA2 และ HBA1 บนโครโมโซมข้างหนึ่งขาดหายไป เหลือโครโมโซมอีกข้างหนึ่งเป็นปกติ พาหะอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมียชนิด SEA มีอุบัติการณ์สูงสุดในเขตภาคเหนือตอนบน พาหะอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย อีกชนิดคือ ชนิด Thai ซึ่งมีอัลฟาโกลบินยีนบนโครโมโซมข้างหนึ่งมีการขาดหายไปของอัลฟาโกลบินยีนถึง 3 โลคัส HBZ, HBA2 และ HBA1 ยีน เหลือยีนปกติข้างเดียว พาหะอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมียชนิด Thai มีอุบัติการณ์อยู่ที่ร้อยละ 0.2

การตรวจพาหะชนิดอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย ทางโลหิตวิทยาพบ MCV มีค่าต่ำกว่า 80 fL MCH มีค่าต่ำกว่าร้อยละ 27 การตรวจยืนยันชนิดของยีนอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย ใช้วิธี multiplex quantitative real-time PCR เป็นวิธีตรวจ วิธีนี้ทำการตรวจได้ง่ายและมีความแม่นยำสูง โดยอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย ชนิด SEA จะให้ specific melt temperature ที่อุณหภูมิ 87.3°ซ และชนิด Thai จะให้ specific melt temperature ที่อุณหภูมิ 84.5°ซ สำหรับของคนปกติ จะให้ specific melt temperature ที่อุณหภูมิ 92.5°ซ[8-9]

ความสำคัญของผู้ที่เป็นพาหะอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย คู่สมรสที่เป็นพาหะอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมียอาจให้บุตรเป็นโรค Hemoglobin Bart's hydrops fetalis syndrome ได้ ทารกในครรภ์ที่เป็นโรคชนิดนี้เสียชีวิตทุกราย การวินิจฉัยก่อนคลอดให้ได้เร็วและยุติการตั้งครรภ์ จะสามารถช่วยป้องกันโรคแทรกซ้อนชนิดรุนแรงที่อาจเกิดขึ้นกับมารดาได้

พาหะชนิดอัลฟา (+)–ธาลัสซีเมีย พาหะอัลฟา (+)-ธาลัสซีเมีย พาหะชนิดนี้เหลืออัลฟาโกลบินยีนที่ function ได้เพียงโลคัสเดียวบนโครโมโซมข้างหนึ่ง โครโมโซมอีกข้างหนึ่งยีนมีจำนวนปกติ พาหะอัลฟา (+)-ธาลัสซีเมียมีสองชนิดคือ deletion กับ non-deletion อัลฟา (+)-ธาลัสซีเมีย

พาหะชนิด deletion อัลฟา (+)-ธาลัสซีเมีย ที่พบได้บ่อยในประเทศไทยมีสองชนิดคือ ชนิด -α (3.7) และชนิด -α (4.2) พาหะชนิด -α (3.7) deletion เป็นชนิดที่พบได้บ่อยที่สุด เกิดจากการขาดหายไปของเนื้อยีน (DNA sequence) ของอัลฟาโกลบินยีน ระหว่าง HBA2 และ HBA1 จำนวน 3.7 กิโลเบส อัลฟาโกลบินยีนที่เหลือเป็นยีนลูกผสมระหว่างส่วนที่เหลือด้าน 5' ของ HBA2 กับส่วนที่เหลือด้าน 3' ของ HBA1 ยีน (HBA2-HBA1) พาหะชนิด -α (4.2) เกิดจากการขาดหายไปของ DNA sequence ของอัลฟาโกลบินยีนบริเวณ HBA2 ยีนจำนวน 4.2 กิโลเบส (ทั้งโลคัส) เหลือแต่เพียง HBA1 ยีนที่ function ได้เพียงโลคัสเดียว โครโมโซมอีกข้างหนึ่งมีจำนวนยีนเป็นปกติ

พาหะชนิด non-deletion อัลฟา (+)-ธาลัสซีเมีย พาหะชนิดนี้มักเกิดจากมี molecular mutation บริเวณที่เป็น coding DNA sequence ของ HBA2 ยีน เช่น hemoglobin Suan-Dok [codon 109 (CTG-CGG)], hemoglobin Constant Spring [codon 142 TAA-CAA], hemoglobin Pakse [codon 142 TAA-TAT] โดยการกลายพันธุ์ของ HBA2 เป็นการกลายพันธุ์แบบ missense ซึ่งมี defective gene mRNA ที่ถูกสร้างขึ้นไม่ stable สร้างฮีโมโกลบินได้น้อยและยังเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติ เหลือการทำงานได้เฉพาะ HBA1 โลคัสเดียว non-deletion อัลฟา (+)-ธาลัสซีเมียชนิดที่พบได้บ่อยที่สุดคือ hemoglobin Constant Spring (HbCS)[10]

การตรวจเพื่อกำหนดชนิดของผู้เป็นพาหะอัลฟา (+)-ธาลัสซีเมีย การตรวจคัดกรองด้วยวิธี routine hematological technique ไม่สามารถใช้กำหนดชนิดของพาหะอัลฟา (+)-ธาลัสซีเมียได้ การตรวจต้องเป็นวิธี DNA base- technique เท่านั้น วิธีที่ใช้ตรวจพาหะชนิด -α (3.7) และชนิด -α (4.2) เป็นวิธี conventional gap-PCR วิธีตรวจ Hb CS ต้องใช้วิธี ARMS-PCR และหรือวิธี direct DNA sequencing ตรงบริเวณ terminal region ของ HBA2 gene ปัจจุบันหน่วยงานฯ ได้พัฒนาวิธีตรวจพาหะชนิด -α (3.7) และชนิด -α (4.2) ด้วยวิธี relative gene quantification real-time PCR assay และตรวจ Hb CS ด้วยวิธี high resolution DNA melting analysis ซึ่งเป็นวิธีตรวจที่ง่าย ให้ผลได้รวดเร็วและมีความแม่นยำเท่ากับวิธี conventional gap-PCR[11]

ความสำคัญของผู้ที่เป็นพาหะอัลฟา (+)–ธาลัสซีเมีย ในกรณีที่คู่สมรสคนหนึ่งเป็นพาหะอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย ส่วนอีกคนเป็นพาหะอัลฟา (+)-ธาลัสซีเมีย ทารกในครรภ์อาจเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิด hemoglobin H disease ได้ และถ้าทารกในครรภ์เป็น hemoglobin H-Hb CS อาจพัฒนาไปเป็น hemoglobin H hydrops fetalis syndrome และเสียชีวิตขณะอยู่ในครรภ์ได้[12]

พาหะชนิดเบต้าธาลัสซีเมีย พาหะชนิดเบต้าธาลัสซีเมีย เกิดจากมี molecular mutation บน beta globins gene (HBB gene; NCBI GenBank: U01317.1, nucleotide; 62137..63742) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ genetic code มีผลทำให้ beta globins gene ไม่สามารถสร้าง beta globins polypeptide chain ได้อย่างปกติ พาหะของเบต้าธาลัสซีเมียแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ พาหะชนิดเบต้า (0)-ธาลัสซีเมีย และพาหะชนิดเบต้า (+)-ธาลัสซีเมีย

พาหะชนิดเบต้า (0)-ธาลัสซีเมีย beta globins gene ที่ mutate ไปจะสร้าง polypeptide chain ได้เพียงเส้นสั้นๆ และสลายไปในที่สุด ตัวอย่างเช่น พาหะเบต้า (0)-ธาลัสซีเมียชนิด codon 17 (AAG-TAG) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจัดเป็น non-sense mutation codon 17 (TAG) ที่เกิดขึ้นใหม่ เป็น genetic code สำหรับให้ยุติการสร้างสาย beta globins polypeptide chain (stop codon) และอีกตัวอย่าง เช่น พาหะเบต้า (0)-ธาลัสซีเมียชนิด codon 41-42 (-CTTT) พาหะชนิดนี้มีการขาดหายไปของนิวคลีไทด์ 4 ตัวคือ CTTT การเปลี่ยนแปลงของ beta globins gene ชนิดนี้เป็นแบบ frame shift mutation ทำให้เกิดการเรียงลำดับใหม่ของ DNA sequence เกิดเป็น genetic code ใหม่ตั้งแต่ codon ที่ 43 เป็นต้นไป จนถึง codon 59 ซึ่งเป็น stop codon สำหรับให้ยุติการสร้างสาย beta globins polypeptide chain พาหะเบต้า (0)-ธาลัสซีเมียชนิด codon 17 (AAG-TAG) และชนิด codon 41-42 (-CTTT) เป็นพาหะเบต้า (0)-ธาลัสซีเมียชนิดที่พบได้บ่อยที่สุดในประเทศ

พาหะชนิดเบต้า (+)-ธาลัสซีเมีย mutation ของพาหะชนิดนี้ จะอยู่ที่ gene บริเวณ promoter region ของ beta globins DNA sequence บริเวณนี้ ทำหน้าที่เกี่ยวกับยีน transcription เมื่อมี mutation บริเวณ promoter ของ beta globins gene จะทำให้ mRNA ถูกสร้างในจำนวนจำกัด ทำให้ beta globins polypeptide chain ผลิตได้น้อยลง พาหะชนิดเบต้า (+)-ธาลัสซีเมียที่พบบ่อยได้แก่ nucleotide -28 (A-G), nucleotide -31(A-G) และ nucleotide -87 (C-A)

การตรวจเพื่อกำหนดชนิดของผู้เป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย การตรวจทางโลหิตวิทยา ผู้เป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย มีค่า MCV ต่ำกว่า 80 fL MCH น้อยกว่าร้อยละ 27 ทุกราย ค่า HbA_2 อยู่ระหว่างร้อยละ 4.0-8.0 และตรวจ molecular analysis ของ beta thalassemia mutation จะแยกชนิดของพาหะชนิดเบต้า (0)-ธาลัสซีเมีย และพาหะชนิดเบต้า (+)-ธาลัสซีเมียได้[13-14]

ความสำคัญของผู้ที่เป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย คู่สมรสที่เป็นพาหะชนิดเบต้า (0)-ธาลัสซีเมียและคู่สมรสที่เป็นพาหะชนิดเบต้า

(0)-ธาลัสซีเมียกับเบต้า (+)–ธาลัสซีเมีย อาจให้บุตรเป็นโรค transfusion dependent beta thalassemia major ได้ ส่วนคู่สมรสที่เป็นพาหะชนิดเบต้า (+)-ธาลัสซีเมียทั้งสองคน อาจให้บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย ที่เป็นได้ทั้ง transfusion และ หรือ non-transfusion dependent beta thalassemia major

พาหะชนิด Hemoglobin E (HbE) HbE เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้ทั่วไปในประเทศ ความผิดปกติเกิดบน beta globins gene มี molecular mutation ที่ codon 26 (GAG-AAG) การกลายพันธุ์ทำให้เกิด cryptic splices site ขึ้น mutation ชนิดนี้ มีผลต่อกระบวนการ mRNA processing ผู้เป็นพาหะจะสร้าง HbE ได้น้อยลง และ HbE ที่สร้างได้ยังเป็นฮีโมโกลบินในกลุ่มฮีโมโกลบินไร้เสถียรภาพ การตรวจเพื่อกำหนดพาหะ HbE การตรวจทางโลหิตวิทยาพบว่า ผู้เป็นพาหะของ HbE ประมาณร้อยละ 70 มีค่า MCV ต่ำกว่า 80 fL และตรวจวัด HbE ด้วยวิธี high performance liquid chromatography มีค่า HbE (A_2+E) เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 25.2 ± 2.1 ผู้เป็นพาหะ HbE/พาหะอัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย มีค่า HbE (A_2+E) เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 18.3 ± 3.5 HbE/พาหะชนิดเบต้าธาลัสซีเมีย มีค่า HbE (A_2+E) เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 53.8 ± 11.7 และ homozygous HbE มีค่า HbE (A_2+E) เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 77.8 ± 6.9 อย่างไรก็ตาม ค่าการตรวจ HbE ที่มากกว่าร้อยละ 65 ขึ้นไปส่วนใหญ่เป็น homozygous HbE แต่มีบางรายอาจเป็น HbE/เบต้าธาลัสซีเมีย ซึ่งจะสังเกตเพิ่มเติมได้จากภาพการตรวจดูรูปร่างของเม็ดเลือดแดงบน peripheral blood smear จะเห็นเป็น thalassemic blood picture กับมีค่าระดับฮีโมโกลบินต่ำอย่างผิดปกติ อีกกรณีคือค่าการตรวจ HbE ตั้งแต่ร้อยละ 8-22 มักเป็นพาหะชนิด HbE/อัลฟา (0)-ธาลัสซีเมีย แต่ต้องตรวจเพิ่มเติมด้วยวิธี molecular techniques[15] ซึ่งเป็น final diagnosis มีความสำคัญต่อกระบวนการให้ thalassemia counseling

ความสำคัญของผู้ที่เป็นพาหะ HbE พาหะ HbE เป็นพาหะที่คล้ายพาหะชนิด เบต้า (+)-ธาลัสซีเมีย ผู้ที่เป็นพาหะของ HbE ยีน HbE ยังสามารถสร้าง HbE และ HbE ที่ถูกสร้างขึ้นยัง function เป็น oxygen transporter ได้ คู่สมรสที่เป็นพาหะ HbE กับพาหะเบต้า (0)-ธาลัสซีเมีย อาจให้บุตรเป็นโรค HbE/เบต้า (0)-ธาลัสซีเมีย ซึ่งมีผู้ป่วยด้วยโรคนี้จำนวนหนึ่งในวัยเด็กมีการดำเนินของโรคคล้าย beta thalassemia major แต่ส่วนใหญ่ของผู้ป่วยชนิดนี้ มีการดำเนินของโรคเป็นไปในแบบ thalassemia intermedia คือ ภาวะ chronic hemolytic anemia และ ภาวะ iron overload จะมีความรุนแรงมากขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น

สรุป การเข้าใจถึงภาวะพาหะของโรคธาลัสซีเมียเป็นอย่างดีจะช่วยให้ผู้ที่ให้บริการ thalassemia counseling สามารถกำหนดหญิงฝากครรภ์และคู่สมรส เป็นคู่สมรสเสี่ยงที่อาจจะมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียได้ ตลอดจนจัดการให้คู่สมรสเสี่ยง เข้าถึงกระบวนการการวินิจฉัยก่อนคลอด ติดตามผลสัมฤทธิ์ของทารกที่คลอด และไม่เป็นโรคธาลัสซีเมีย เป็นไปตามเป้าหมายได้อย่างถูกต้อง ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียเป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. *Tienthavorn V, Pathanapongsathorn J, Charoensak S, Jindadamrongwech S, Boonsiri T, Panichkul S, et al. Prevalence of thalassemia carriers in Thailand. Thai J Hematol Transf Med 2006;16:307-12.*
2. *Wong P, Thanormrat P, Srithipayawan S. Taytiwat P, Jermnim N, Niyomthom S, et al. Prevalence of thalassemia trait from screening programs in pregnant woman of Phitsanulok. Thai J Hematol Transfus Med 2004;14:181-6.*
3. *Lemmens-Zygulska M, Eigel A, Helbig B, Sanguansermsri T, Horst J, Flatz G. Prevalence of alpha-thalassemias in northern Thailand. Hum Genet 1996;98:345-7.*
4. *Hundrieser J, Sanguansermsri T, Papp T, Flatz G. Alpha-thalassemia in northern Thailand. Frequency of deletional types characterized at the DNA level. Hum Hered 1988;38:211-5.*
5. *Nipaporn S, Sirasoonthorn P, Pannarunothai S. Experiences of pregnant women at risk of having babies with severe thalassemia in Phitsanulok Province, Thailand. J Pub Health Dev 2011;9:18-28.*
6. *Jopang Y, Thinkhamrop B, Puangpruk R, Netnee P. False positive rates of thalassemia screening in rural clinical setting: 10-year experience in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2009;40:576-80.*
7. *Tongsong T, Charoenkwan P, Sirivatanapa P, Wanapirak C, Piyamongkol W, Sirichotiyakul S, et al. Effectiveness of the model for prenatal control of severe thalassemia. Prenat Diagn 2013;33:477-83.*
8. *Pornprasert S, Phusua A, Santa S, Saetung R, Sanguansermsri T. Detection of alpha-thalassemia-1 Southeast Asian type using real-time gap-PCR with SYBR Green 1 and high resolution melting analysis. Eur J Haematol 2008;80:510-4.*
9. *Suwannakhon N, Seeratanachot T, Mahingsa K, Namwong P, Sanguansermsri T. Prevalence of alpha thalassemia trait in the volunteered personals of Phayao University. J Hematol Transfus Med 2014;24:129-13.*
10. *Sornkayasit K, Fucharoen G, Chewasateanchai M, Chaibunruang A. Chewasateanchai M, Phanich P, et al. Incidence of Hb Constant Spring and Hb Paksé in Khon Kaen province: Examination using capillary electrophoresis and DNA analysis. J Med Tech Phy Ther 2012;24:291-8.*

11. *Seeratanachot T, Sanguansermsri T, Shimbhu D. Detection of HbH disease genotypes common in northern Thailand by quantitative real-time polymerase chain reaction and high resolution melting analyses. Hemoglobin 2013;37:574-83.*
12. *Chui DH, Fucharoen S, Chan V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. Blood 2003;101:791-800.*
13. *Sirichotiyakul S, Saetung R, Sanguansermsri T. Analysis of beta-thalassemia mutations in northern Thailand using an automated fluorescence DNA sequencing technique. Hemoglobin 2003;27:89-95.*
14. *Saetung R, Ongchai S, Charoenkwan P, Sanguansermsri T. Genotyping of beta thalassemia trait by high-resolution DNA melting analysis. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2013;44:1055-64.*
15. *Charoenkwan P, Wanapirak C, Thanarattanakorn P, Sekararithi R, Sae-Tung R, Sittipreechacharn S, et al. Hemoglobin levels in double heterozygots of hemoglobin E and SEA-type α-thalassemia. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005; 36:467-70.*