

นิพนธ์ต้นฉบับ

การเพิ่มประสิทธิภาพของโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย แบบลดขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ธีรภัทร ศรีรัตนโชติ¹ ขจรศิลป์ ผ่องสวัสดิ์กุล² ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี¹ และ เนรัญชลา สุวรรณคนธ์¹

¹มหาวิทยาลัยพะเยา ²โรงพยาบาลพะเยา

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันยังคงมีเด็กเกิดใหม่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงแม้ว่าโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียจะได้รับการสนับสนุนอย่างเต็มที่ เนื่องจากปัญหานี้เกิดจากกระบวนการคัดกรองและกำหนดหาคู่สมรสเสี่ยง งานวิจัยนี้ต้องการแสดงให้เห็นว่าการกำหนดชนิดการกลายพันธุ์ของธาลัสซีเมียโดยวิธีลดขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย ผู้เข้าร่วมโครงการได้แก่หญิงฝากครรภ์และสามีจากคลินิกฝากครรภ์ โรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยากลุ่มที่หนึ่ง 1,377 รายได้รับการตรวจคัดกรองตามขั้นตอนปกติกลุ่มที่สองจำนวน 1,581 รายถูกส่งไปตรวจโดยวิธีลดขั้นตอนที่หน่วยธาลัสซีเมียมหาวิทยาลัยพะเยาโดยตรง ในกลุ่มแรกพบคู่สมรสเสี่ยง 19 คู่พบ fetus เป็นโรค Hb Bart's hydrops fetalis 1 ราย และโรค β -thalassemia/Hb E 1 ราย กลุ่มที่สองพบมีคู่สมรสเสี่ยง 32 คู่พบ fetus เป็นโรค Hb Bart's hydrops fetalis 3 ราย β -thalassemia/Hb E 5 รายและ β -thalassemia major 1 ราย เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาพบว่าวิธีลดขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการให้ผลสัมฤทธิ์ในการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) วิธีลดขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการในการศึกษาครั้งนี้เป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อนได้ผลรวดเร็ว สามารถเพิ่มผลสัมฤทธิ์ให้กับโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ : ● วิธีลดขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ● การป้องกันโรคธาลัสซีเมีย

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2560;27:233-9.

Original Article

Improved Efficiency of Thalassemia Prevention Using Fast Track Strategy

Teerapat Seeratanachot¹, Khajohnsilp Pongsawatkul², Torpong Sanguansermsri¹ and Narutchala Suwannakhon¹

¹University of Phayao; ²Phayao Hospital

Abstract:

Sporadic reports concerning birth of thalassemia major have occurred, even though prevention programs had been fully supported. The cause of failure was mostly due to the local policies of thalassemia screening. The objective of this study was to show that fast track strategy, modified from conventional screening, could enhance the effectiveness of thalassemia prevention programs. Subjects of this study comprised pregnant women attending antenatal care clinics and their spouses. The first group totaled 1,377 samples screened for couple at risk of thalassemia using the conventional method. The second group totaled 1,581 samples. Every subject of this group was directly sent to the Thalassemia Unit, University of Phayao to determine the mutation using fast track strategy. Nineteen couples were at risk of thalassemia in the first group. One carried a fetus with Hb Bart's hydrops fetalis and 1 with β -thalassemia/Hb E disease. Thirty-two couples were at risk of thalassemia in the second group. Three them a fetus with Hb Bart's hydrops fetalis, 5 β -thalassemia/Hb E diseases and 1 β -thalassemia major. The fast track strategy is uncomplicated and a faster procedure to determine couples at risk of thalassemia. This new strategy has better outcomes than the conventional strategy ($p < 0.001$). The fast track strategy could be considered a reliable strategy for the thalassemia prevention programs.

Keywords : ● Fast track strategy ● Thalassemia prevention

J Hematol Transfus Med 2017;27:233-9.

บทนำ

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมพบได้บ่อยในคนไทย ชนิดที่ยังเป็นปัญหาในด้านการรักษา ได้แก่ β -thalassemia/Hb E, β -thalassemia major และ homozygous β^0 -thalassemia หญิงตั้งครรภ์ที่เป็นคนไทยร้อยละ 2-3 พบเป็นคู่สมรสเสี่ยงที่อาจให้บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย ผู้ที่เกิดมาและเป็นโรคธาลัสซีเมีย (3,000-5,000 รายต่อปี) เมื่ออายุมากขึ้นมักมีโรคแทรกซ้อนเกิดขึ้นมากมาย มีค่าใช้จ่ายเพื่อการรักษาสูงมาก ส่วนใหญ่เป็นค่าใช้จ่ายด้านการรับเลือดและการใช้ยาขับธาตุเหล็กทุกเดือน มีผู้ป่วยเป็นจำนวนมากไม่สามารถจ่ายค่ารักษาพยาบาลได้ ทำให้คุณภาพชีวิตไม่ดี และอายุสั้น ดังนั้นการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย มีความคุ้มค่าในการลงทุนเป็นอย่างยิ่ง¹ ปัจจุบันรัฐบาลได้ให้การสนับสนุนและช่วยรับผิดชอบค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นแบบครบวงจร ทั้งในด้านการรักษา การควบคุมโรค และการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียมาเป็นเวลานานกว่า 15 ปีในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียรัฐบาลได้สนับสนุนค่าบริการต่างๆ ให้กับหญิงตั้งครรภ์และสามีให้ได้รับการตรวจต่างๆ เพื่อนำไปสู่การวินิจฉัยก่อนคลอดที่เป็นไปตามขั้นตอนแบบสากล (conventional strategy) ประกอบด้วย การให้คำปรึกษาการตรวจคัดกรอง การตรวจเพื่อกำหนดชนิดการกลายพันธุ์ (mutation) ของธาลัสซีเมีย การวินิจฉัยก่อนคลอดและการยุติการตั้งครรภ์ให้กับหญิงตั้งครรภ์ในรายที่ fetus ในครรภ์เป็นโรคธาลัสซีเมีย²⁻⁹

ในปี พ.ศ. 2555 เมื่อมีการประเมินผลการดำเนินโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียในเขตภาคเหนือตอนบน พบว่ามีหญิงตั้งครรภ์มากกว่าร้อยละ 50 ไม่สามารถเข้าถึงขบวนการวินิจฉัยก่อนคลอดได้ สาเหตุหลักคือขบวนการตรวจคัดกรองยังมีปัญหาในทางปฏิบัติอยู่มากและมีผลทำให้การกำหนดคู่สมรสเสี่ยง¹ ได้ผลล่าช้าจนเกินเวลาสำหรับที่จะให้คำแนะนำเพื่อการวินิจฉัยก่อนคลอด นอกจากนี้ผลการให้สัมภาษณ์ผู้ปกครองของครอบครัวที่มีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียที่มีอายุน้อยกว่า 5 ปี พบว่าผู้ปกครองหลายรายไม่เข้าใจในการให้คำปรึกษาว่าจะให้ทำอย่างไรสำหรับการที่ได้มาฝากครรภ์ในครั้งที่ผ่านมา (communication failure) แม้ว่าได้รับการนัดหมายให้กลับไปกลับมาหลายครั้ง ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับผู้ให้คำปรึกษา (counsellor) ผลการให้สัมภาษณ์ของผู้ให้คำปรึกษา โดยเฉพาะจากโรงพยาบาลประจำอำเภอ กล่าวถึงการได้รับผลตรวจจากห้องปฏิบัติการว่า ได้รับผลตรวจล่าช้า ทำให้หญิงที่ตั้งครรภ์เสี่ยงให้บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียไม่สามารถขอเข้าสู่กระบวนการวินิจฉัยก่อนคลอดโดยการเจาะตรวจน้ำคร่ำ (amniocentesis) ได้ทันระยะเวลา จึงจำเป็นต้องเข้าสู่กระบวนการวินิจฉัยก่อนคลอดโดยการเจาะเลือดจากสายสะดือ (cordocentesis) แทน¹⁰⁻¹¹

วัตถุประสงค์

เพื่อต้องการแสดงให้เห็นว่าโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่ใช้อยู่ในปัจจุบันตามขั้นตอนปกติซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนหลักคือ การตรวจคัดกรองที่หน่วยพยาบาลเบื้องต้น และส่งการตรวจยืนยันที่ห้องปฏิบัติการเฉพาะทาง จนนำไปสู่การกำหนดค่าคู่สมรสเสี่ยง¹ เมื่อเปลี่ยนเป็นวิธีการลดขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (fast track strategy) โดยการส่งเลือดตัวอย่างหญิงตั้งครรภ์และสามี ไปยังหน่วยธาลัสซีเมียมหาวิทยาลัยพะเยาซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการเฉพาะทางเพื่อใช้เทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์ในการกำหนดชนิดการกลายพันธุ์ของธาลัสซีเมียโดยตรงทำให้ได้ผลการตรวจที่รวดเร็ว โดยส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการให้คำปรึกษาแนะนำ ช่วยให้หญิงตั้งครรภ์และสามีสามารถตัดสินใจขอเข้ารับบริการการวินิจฉัยก่อนคลอดเพิ่มมากขึ้น

วัสดุและวิธีการ

โครงการนี้ได้ผ่านการพิจารณาและการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยพะเยา เลขที่รับรองโครงการ 58 02 04 0004 ตัวอย่างศึกษาเป็นหญิงตั้งครรภ์และสามี ที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยาหญิงฝากครรภ์มีอายุครรภ์เฉลี่ยที่ 12 ± 6 สัปดาห์โดยแบ่งการศึกษาเป็นสองช่วงเวลากลุ่มแรก ทำการศึกษาระหว่างวันที่ 1 ธันวาคม 2556 ถึง 31 ธันวาคม 2557 กลุ่มที่สองระหว่างวันที่ 1 มกราคม 2558 ถึง 31 มกราคม 2559

กลุ่มที่หนึ่ง มีหญิงฝากครรภ์ 791 ราย และรวมสามีเป็นจำนวนทั้งสิ้น 1,377 ราย หญิงตั้งครรภ์ทุกรายได้รับการให้คำปรึกษาเกี่ยวกับเรื่องโรคธาลัสซีเมียตัวอย่างเลือดของหญิงตั้งครรภ์และสามีของกลุ่มแรก ถูกส่งให้ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยาเพื่อตรวจคัดกรองก่อนตามวิธีที่เป็นสากล ได้แก่ การตรวจหาค่าดัชนีของเม็ดเลือดแดง (MCV และ MCH) ตรวจหาผู้ที่เป็นพาหะของ Hb E ด้วยวิธี DCIP ใช้ automated Hb typing เพื่อวัดสัดส่วนของ Hb A₂ และ Hb ผิดปกติและตรวจ α^0 -thalassemia ด้วยวิธี conventional gap-PCR เมื่อตรวจคัดกรองพบเป็นคู่สมรสเสี่ยง¹ เลือดตัวอย่างจะถูกส่งไปตรวจหาชนิดการกลายพันธุ์ของธาลัสซีเมียยังหน่วยธาลัสซีเมียมหาวิทยาลัยพะเยา การตรวจใช้เวลา 7-10 วันและส่งผลกลับให้โรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยา เพื่อให้บริการเวชพันธุศาสตร์ที่เหมาะสมต่อไป¹²⁻¹⁴

กลุ่มที่สองระหว่างวันที่ 1 มกราคม 2558 ถึง 31 มกราคม 2559 เป็นหญิงตั้งครรภ์ 873 รายและรวมสามีเป็นจำนวนทั้งสิ้น 1,581 รายเลือดตัวอย่างถูกส่งมายังหน่วยธาลัสซีเมียมหาวิทยาลัยพะเยาโดยไม่มีการตรวจคัดกรองมาก่อนเลือดตัวอย่างทั้งหมดถูกนำไปตรวจหาการกลายพันธุ์ของ β -thalassemia โดยเริ่มจากการ

วัดสัดส่วนของ Hb A₂ ด้วยวิธี Q-Sepharose micro-column chromatography¹⁵ ผู้ที่มีสัดส่วนของ HbA₂ เท่ากับหรือมากกว่าร้อยละ 4 ถูกนำไปตรวจเพื่อกำหนดชนิดของ β -thalassemia และหรือ HbE ด้วยวิธี high resolution DNA melting (HRM) analysis¹⁶⁻¹⁸ และหรือ direct DNA sequencing¹⁹⁻²⁰ การตรวจหา α^0 -thalassemia ชนิด SEA และ THAI deletion ใช้วิธี quantitative real-time PCR (qPCR)²¹⁻²⁵ ผลการตรวจจะถูกแจ้งไปยังหน่วยบริการเวชพันธุศาสตร์ของโรงพยาบาลพะเยาภายใน 7-10 วัน เพื่อให้บริการเวชพันธุศาสตร์เช่นเดียวกับในกลุ่มแรก

การวินิจฉัยก่อนคลอดใช้ตัวอย่าง DNA จากเซลล์ในน้ำคร่ำจำนวน 10 มิลลิลิตรสกัดด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) การตรวจหา α^0 -thalassemia ชนิด SEA และ THAI deletion ใช้วิธี qPCR ทั้งระบบ DNA intercalating dye และ Taqman[®] probe²⁶⁻²⁷ การตรวจ β -thalassemia ใช้วิธี HRM analysis¹⁶⁻¹⁸ ร่วมกับวิธี direct DNA sequencing¹⁹⁻²⁰

ผลการศึกษา

กลุ่มแรกเป็นหญิงตั้งครรภ์ 791 ราย และรวมสามีเป็น 1,377 ราย เข้าร่วมโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียตามวิธีที่เป็นสากลพบคู่สมรสเสี่ยงที่อาจให้บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย 19 คู่ แต่มาเข้ารับการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด 15 คู่ ผลการวินิจฉัยก่อนคลอดพบ fetus เป็นโรค Hb Bart's hydrops fetalis 1 ราย และ β -thalassemia/Hb E1 ราย (Table 1)

กลุ่มที่สองเป็นหญิงตั้งครรภ์ 873 ราย และรวมสามีเป็น 1,581 ราย เข้าร่วมโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียแบบลดขั้นตอน เลือดตัวอย่างถูกส่งมายังหน่วยธาลัสซีเมียมหาวิทยาลัยพะเยาโดยไม่มีการตรวจคัดกรองมาก่อน พบพาหะของ α^0 -thalassemia ชนิด SEA deletion 132 คน และ THAI deletion 1 คน (Figure 1) รวมคิดเป็นร้อยละ 8.41 สามารถคำนวณความถี่ของยีน α^0 -thalassemia ได้เท่ากับ 0.042 พบพาหะของ β -thalassemia 63 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.98 พาหะ Hb E 271 ราย คิดเป็นร้อยละ 17.14 พบผู้ที่เป็น homozygous Hb E 22 ราย คิด

Table 1 Comparison of accomplishment between the conventional and fast track strategy in thalassemia prevention programs

Period of the study	December 1 st 2556 to December 31 st 2557	January 1 st 2558 to January 31 st 2559
Total pregnant women	791	873
Total couple at risk of thalassemia	19	32*
Couple at risk of β -thalassemia Major	3	1
Couple at risk of β -thalassemia/Hb E	13	18
Couple at risk of Hb Bart's hydrops fetalis	3	12
Couple at risk of both β -thalassemia Major and β -thalassemia/Hb E	0	1
Total prenatal diagnosis	15	30
β -thalassemia Major found	0	1
β -thalassemia/Hb E found	1	5
Hb Bart's hydrops fetalis found	1	3

*2 cases were spontaneous abortion

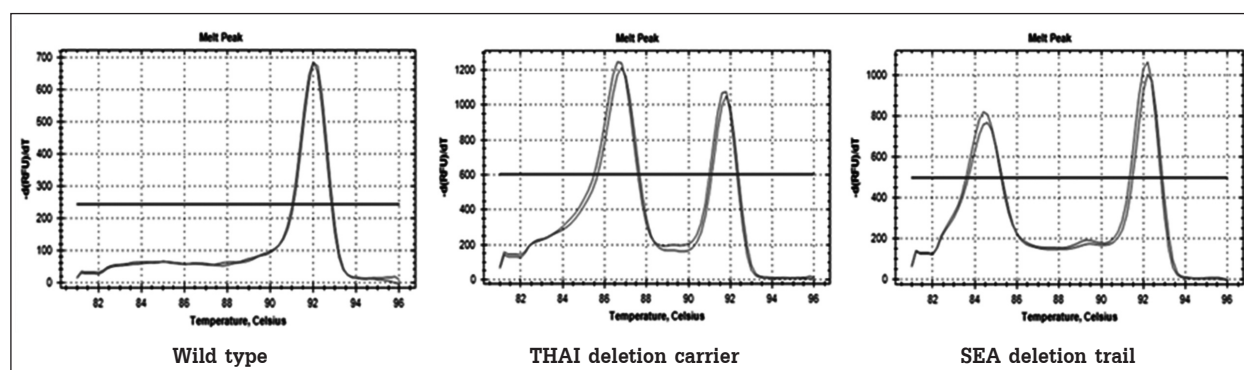


Figure 1 Melt peaks acquired from α^0 -thalassemia carrier diagnosis by qPCR. Left figure shows single peak at 92°C from wild type individual. Middle figure shows 2 peaks at 86.4°C and 92°C from THAI deletion carrier. Right figure shows 2 peaks at 84.2°C and 92°C from SEA deletion carrier.

เป็นร้อยละ 1.39 และพบผู้ที่ เป็น β -thalassemia/Hb E 9 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.57 สามารถคำนวณความถี่ของยีน β -thalassemia และ Hb E ได้เท่ากับ 0.023 และ 0.102 ตามลำดับ

ผู้ที่มียีน β -thalassemia ที่ตรวจพบทั้งหมด 72 รายประกอบด้วย การกลายพันธุ์ชนิดต่างๆ คือ codon 17 (A $\rightarrow$ T) และ codon 41/42 (-CTTT) ชนิดละ 20 ราย คิดเป็นร้อยละ 27.78 IVSI- nucleotide 1(G $\rightarrow$ T)และ nucleotide-28 (A $\rightarrow$ G) ชนิดละ 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 8.33 codon35 (C $\rightarrow$ A) 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.16 IVSI- nucleotide 5 (G $\rightarrow$ C) และ codon 27/28 (+C) ชนิดละ 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.78 codon 43 (G $\rightarrow$ T) codon 41 (-C)nucleotide -87 (C $\rightarrow$ A) และ -3.4 kb deletion ชนิดละ 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.39

พบคู่สมรสเสี่ยงที่อาจให้บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย 32 คู่ มีการแท้งที่เกิดขึ้นเอง (spontaneous abortion) 2 คู่ มาเข้ารับการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดจากตัวอย่างน้ำคร่ำ (amniocentesis) ที่

โรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยา 29 ราย และอีก 1 รายส่งไปทำการเจาะเลือดสายสะดือที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ ผลการวินิจฉัยก่อนคลอดพบ fetus เป็นโรค Hb Bart's hydrops fetalis 3 ราย β -thalassemia/Hb E 5 ราย โดยมีชนิดของยีน β -thalassemia เป็น codon 41/42 2 ราย codon 17 2 ราย และ codon 35 1 ราย และพบ fetus ที่ เป็น β -thalassemia major 1 รายเป็นชนิด homozygous codon 17 (Table 1) ตัวอย่างผลจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี HRM และผลการทำ direct DNA sequencing ของทารกที่เป็น compound heterozygous codon 17/ Hb E แสดงใน Figure 2 และ 3 ตามลำดับ

การเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ของโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียโดยวิธีลดขั้นตอนทางห้องปฏิบัติการกับวิธีที่เป็นสากลทางสถิติโดยการทดสอบ Chi-squared พบว่าวิธีลดขั้นตอนทางห้องปฏิบัติการให้ผลสัมฤทธิ์ของโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)

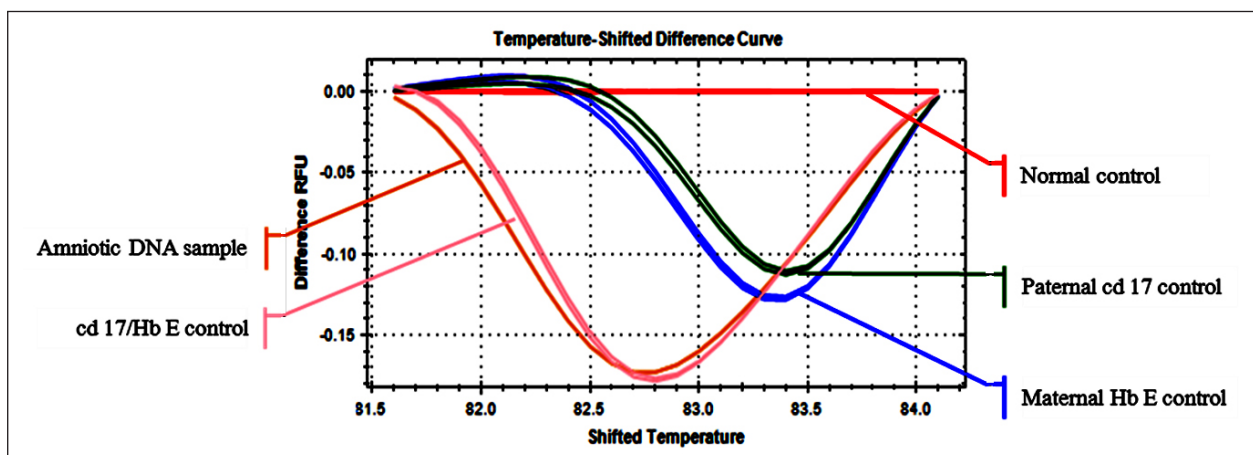


Figure 2 Temperature-shift different curves from prenatal diagnosis by HRM analysis. Amniotic DNA sample was diagnosed as compound heterozygous codon 17/Hb E because it has the same curve's character as the codon 17/Hb E control.

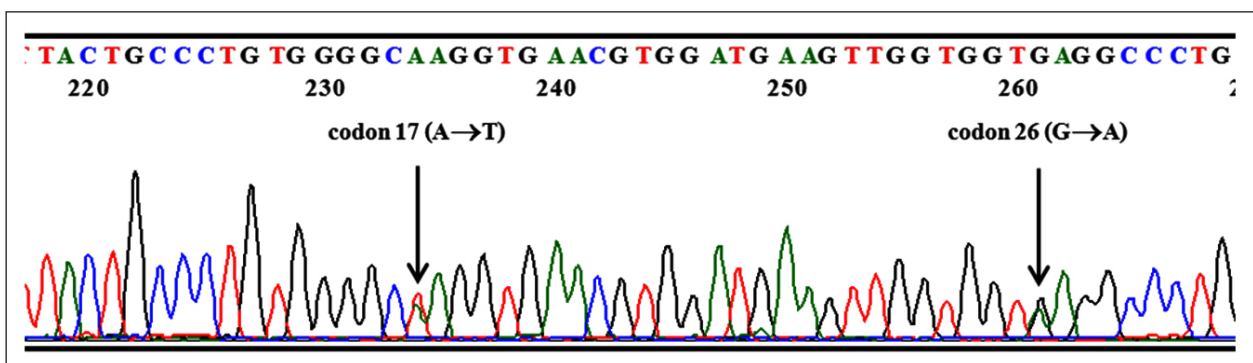


Figure 3 Electropherogram of β -globin gene shows compound heterozygous codon 17/Hb E. The AAG of codon 17 mutates to TAG cause changing of lysine amino acid to stop codon of polypeptide synthesis. The other point mutation is the GAG to AAG of codon 26 which cause mutating of glutamic acid to lysine (Hb A to Hb E).

วิจารณ์

ในเขตภาคเหนือตอนบนเป็นพื้นที่ที่พบพันธุกรรมของโรคธาลัสซีเมียในอัตราสูงที่สุดในประเทศไทยคู่สมรสส่วนใหญ่มีความรู้และความเข้าใจต่อพันธุภัยจากการตั้งครรภ์และมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียน้อยมาก การฝากครรภ์มักเริ่มต้นช้าส่วนใหญ่ฝากครรภ์ เมื่อ fetus อายุได้ 3 เดือนมีเวลาเหลือเพียง 4-6 สัปดาห์ ไม่เพียงพอสำหรับการดำเนินการตามขั้นตอนในการตรวจคัดกรองและการกำหนดหาคู่สมรสเสี่ยงฯ ซึ่งมีหลายขั้นตอนโดยเฉพาะคู่สมรสการตรวจคัดกรองเบื้องต้นให้ผลเป็นบวกทำให้ต้องใช้เวลารวบรวมเพิ่มเติมอีกหลายสัปดาห์ เป็นเหตุให้คู่สมรสหลายคู่หมดโอกาสในการเข้าร่วมโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียในเวลาอันสมควร

ผลการสำรวจการตรวจคัดกรองและการกำหนดคู่สมรสเสี่ยงฯ เบื้องต้น เมื่อศึกษาย้อนหลังไป ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550-2555 ในพื้นที่เขตภาคเหนือตอนบน ข้อมูลจากห้องปฏิบัติการธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ พบว่าตัวอย่างเลือดของคู่สมรส ที่ส่งมาตรวจชนิดการกลายพันธุ์ของธาลัสซีเมียเฉลี่ยปีละ 2,500 คู่ มีประมาณร้อยละ 3 ที่มีความถูกต้องเป็นคู่สมรสเสี่ยงฯ จริง การศึกษาผลสัมฤทธิ์ของโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียในครั้งนี้ ในกลุ่มแรก ได้รับข้อมูลตามบันทึกของโรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยาซึ่งได้จัดทำขึ้นรวมระยะเวลา 13 เดือน จำนวนหญิงตั้งครรภ์ที่เข้าโครงการทั้งสิ้น 791 ราย การตรวจคัดกรองและการกำหนดคู่สมรสเสี่ยงฯ เบื้องต้น ตรวจที่ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลพะเยาหญิงตั้งครรภ์ที่ได้รับการวินิจฉัยก่อนคลอดโดยการเจาะตรวจน้ำคร่ำที่แผนกสูติ-นรีเวชศาสตร์โรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยา ส่วนการตรวจชนิดการกลายพันธุ์ของธาลัสซีเมียถูกส่งตรวจที่หน่วยวิจัยธาลัสซีเมียมหาวิทยาลัยพะเยาเมื่อสิ้นสุดโครงการพบคู่สมรสเสี่ยงฯ 19 คู่ และมีหญิงตั้งครรภ์ที่มาเข้ารับการวินิจฉัยก่อนคลอดมีเพียง 15 ราย และพบ fetus เป็นโรคธาลัสซีเมียเพียง 2 ราย ซึ่งไม่เป็นไปตามหลักเกณฑ์การถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal recessive เมื่อประเมินผลสัมฤทธิ์ของวิธีการพบว่ากว่าร้อยละ 50 ของคู่สมรสเสี่ยงฯ ที่แท้จริง ที่ไม่ได้เข้าสู่กระบวนการการวินิจฉัยก่อนคลอด

จากข้อมูลผลการสำรวจการตรวจคัดกรองและการกำหนดคู่สมรสเสี่ยงฯ เบื้องต้น และการศึกษาผลสัมฤทธิ์ของโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยา อาจพอแสดงให้เห็นได้ว่าทราบว่าการตรวจคัดกรองและการกำหนดคู่สมรสเสี่ยงฯ น่าจะเป็นปัญหาต่อการเข้าสู่การวินิจฉัยก่อนคลอด

ในปี พ.ศ. 2558 หน่วยธาลัสซีเมียมหาวิทยาลัยพะเยา เสนอวิธีการลดขั้นตอนทางห้องปฏิบัติการให้กับโรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยาและได้รับการสนับสนุนให้ดำเนินโครงการเป็นระยะเวลา 13 เดือนเมื่อสิ้นสุดโครงการพบคู่สมรสเสี่ยงฯ 32 คู่ หญิงตั้งครรภ์

ทุกรายได้รับการวินิจฉัยก่อนคลอด พบ fetus เป็นโรคธาลัสซีเมีย 9 ราย ซึ่งสอดคล้องกับหลักเกณฑ์การถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal recessive เมื่อเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ของโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียพบว่าวิธีการใหม่ที่น่าสนใจนั้นให้ผลสัมฤทธิ์ที่ดีกว่าวิธีปฏิบัติตามขั้นตอนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผลการตรวจที่ได้จากหน่วยธาลัสซีเมีย มหาวิทยาลัยพะเยา เป็นในรูปแบบของการกำหนดชนิดของธาลัสซีเมียอย่างชัดเจน และการลดขั้นตอนในกระบวนการทำให้ได้ผลตรวจที่รวดเร็ว ทำให้คู่เสี่ยงฯ ได้รับการให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปัจจุบันการตรวจชนิดการกลายพันธุ์ของทั้ง α - และ β -thalassemia ไม่ใช่เป็นเรื่องยุ่งยากอีกต่อไป ราคาตรวจแต่ละรายถูกลงมาก และเครื่องมือสำหรับการทำ qPCR หรือ HRM สามารถใช้ตรวจได้ทั้ง α - และ β -thalassemia การตรวจด้วย qPCR หรือ HRM แต่ละครั้งสามารถตรวจได้มากกว่า 40 ตัวอย่าง และมากถึง 120 ตัวอย่างภายในหนึ่งวัน นอกจากนี้ การตรวจหาการกลายพันธุ์ชนิดที่ไม่พบบ่อยยังสามารถตรวจได้ด้วยวิธี DNA sequencing ดังนั้น เมื่อใช้วิธีการลดขั้นตอนทางห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคโนโลยีด้านอนุพันธ์พันธุศาสตร์ซึ่งเป็นวิธีให้คำตอบทางพันธุกรรมของโรคธาลัสซีเมียโดยตรงกับคู่สมรส ส่งผลให้กระบวนการให้คำปรึกษาด้านพันธุศาสตร์มีประสิทธิภาพสูงขึ้นจึงทำให้โครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียมีผลสัมฤทธิ์สูงขึ้นด้วยเช่นกัน

สรุป

โครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียมีประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับประเทศไทยการรายงานครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าระบบการตรวจคัดกรองและการกำหนดหาคู่สมรสเสี่ยงฯ ที่ดำเนินการอยู่ในปัจจุบันยังมีปัญหาในการปฏิบัติการวิธีการลดขั้นตอนทางห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคโนโลยีด้านอนุพันธ์พันธุศาสตร์เป็นวิธีให้คำตอบทางพันธุกรรมของโรคธาลัสซีเมียโดยตรงกับหญิงฝากครรภ์และสามี นอกจากนี้วิธีการลดขั้นตอนทางห้องปฏิบัติการอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถเพิ่มผลสัมฤทธิ์ให้กับโครงการป้องกันการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียได้ และน่าจะมีความคุ้มค่าต่อการลงทุน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณรายได้คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา และขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์พิเศษ ดร.มณฑล สงวนเสริมศรี อธิการบดีมหาวิทยาลัยพะเยา ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนจากมหาวิทยาลัยจนโครงการวิจัยจนสำเร็จ ลุล่วง ขอขอบพระคุณแพทย์และพยาบาลของคลินิกฝากครรภ์ โรงพยาบาลประจำจังหวัดพะเยา และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของหน่วยธาลัสซีเมีย มหาวิทยาลัยพะเยา

เอกสารอ้างอิง

1. Fucharoen S, Weatherall DJ. Progress toward the Control and Management of the Thalassemias. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2016;30:359-71.
2. Cao A, Kan YW. The Prevention of Thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013;3:a011775.
3. Chareonkul P, Kraisin J. Prevention and control of thalassemia at Saraburi Regional Hospital. *J Med Assoc Thai.* 2004;87:8-15.
4. Ratanasiri T, Charoenthong C, Komwilaisak R, et al. Prenatal prevention for severe thalassemia disease at Srinagarind Hospital. *J Med Assoc Thai.* 2006;89(Suppl 4):S87-93.
5. Pansatiankul B, Saisorn S. A community -based thalassemia prevention and control model in northern Thailand. *J Med Assoc Thai.* 2003;86(Suppl 3):S576-82.
6. Tongsong T, Wanapirak C, Sirivatanapa P, et al. Prenatal eradication of Hb Bart's hydrops fetalis. *J Reprod Med.* 2001;46:18-22.
7. Li DZ, Li Y, Li J, Li SC, Li R. Prevention of Hb Bart's (γ 4) Disease Associated with the α (0) Thalassemia Deletion in Mainland China. *Hemoglobin* 2015;39:412-4.
8. Siriratmanawong N, Pinmuang-Ngam C, Fucharoen G, Fucharoen S. Prenatal diagnosis of Hb Bart's hydrops fetalis caused by a genetic compound heterozygosity for two different alpha-thalassemia determinants. *Fetal Diagn Ther.* 2007;22:264-8.
9. Karnpean R, Fucharoen G, Fucharoen S, Sae-ung N, Sanchain suriya K, Ratanasiri T. Accurate prenatal diagnosis of Hb Bart's hydrops fetalis in daily practice with a double-check PCR system. *Acta Haematol.* 2009;121:227-33.
10. Wanapirak C, Muninthorn W, Sanguansermsri T, Dhananjaya-nonda P, Tongsong T. Prevalence of thalassemia in pregnant women at Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital. *J Med Assoc Thai.* 2004;87:1415-8
11. 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.
12. Brancaleoni V, Di Pierro E, Motta I, Cappellini MD. Laboratory diagnosis of thalassemia. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(Suppl 1): 32-40.
13. Sirichotiyakul S, Maneerat J, Sa-nguansemsri T, Dhananjaya-nonda P, Tongsong T. Sensitivity and specificity of mean corpuscular volume testing for screening for alpha-thalassemia-1 and beta-thalassemia traits. *J Obstet Gynaecol Res.* 2005;31: 198-201.
14. Sirichotiyakul S, Wanapirak C, Srisupundit K, Luewan S, Tongsong T. A comparison of the accuracy of the corpuscular fragility and mean corpuscular volume tests for the alpha-thalassemia 1 and beta-thalassemia traits. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009;107:26-9.
15. Wong P, Sritippayawan S, Suwannakhon N, Tapprom A, Deoisares R, Sanguansermsri T. Q Sepharose micro-column chromatography: A simple screening method for identifying beta thalassemia traits and hemoglobin E carriers. *Clin Biochem.* 2016;49(8-17):1288-91
16. 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.
17. Shih HC, Er TK, Chang TJ, Chang YS, Liu TC, Chang JG. Rapid identification of HBB gene mutations by high-resolution melting analysis. *Clin Biochem.* 2009;42(16-17):1667-76.
18. Prathomtanapong P, Pornprasert S, Phusua A, Suanta S, Saetung R, Sanguansermsri T. Detection and identification of beta-thalassemia 3.5 kb deletion by SYBR Green1 and high resolution melting analysis. *Eur J Haematol.* 2008;82:159-60.
19. Sanguansermsri P, Shimbhu D, Wongvilairat R, Saetung R, Sanguansermsri T. Homogeneity of beta (0)-thalassemia codon 17 (A-->T) alleles in Northern Thailand using a direct DNA sequencing method. *J Med Assoc Thai.* 2004;87:883-6.
20. 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.
21. Pornprasert S, Phusua A, Suanta S, Saetung R, Sanguansermsri T. Detection of alpha-thalassemia-1 Southeast Asian type using real-time gap-PCR with SYBR Green1 and high resolution melting analysis. *Eur J Haematol.* 2008;80:510-4.
22. Sirichotiyakul S, Wanapirak C, Saetung R, Sanguansermsri T. High resolution DNA melting analysis: an application for prenatal control of alpha-thalassemia. *Prenat Diagn.* 2010;30:348-51.
23. Seeratanachot T, Sanguansermsri T, Shimbhu D. Detection of Hb H disease genotypes common in northern Thailand by quantitative real-time polymerase chain reaction and high resolution melting analyses. *Hemoglobin.* 2013;37:574-83.
24. Suwannakhon N, Seeratanachot T, Mahingsa K, Sanguansermsri T. Molecular Diagnosis of α^0 -Thalassemia Through Urine DNA: A Novel DNA Source to Facilitate Prevention Programs in Remote Geographical Areas. *Hemoglobin* 2015;39:270-3.
25. Pharephan S, Sirivatanapa P, Makonkawkeyoon S, Tuntiwechapikul W, Makonkawkeyoon L. Prevalence of α -thalassaemia genotypes in pregnant women in northern Thailand. *Indian J Med Res.* 2016;143:315-22.
26. Sirichotiyakul S, Charoenkwan P, Sanguansermsri T. Prenatal diagnosis of homozygous alpha-thalassemia-1 by cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2012;32:45-9
27. Pornprasert S, Kaewbundit A, Phusua A, Suanta S, Saetung R, Sanguansermsri T. Comparison of real-time polymerase chain reaction SYBR Green1 with high resolution melting analysis and TaqMan[®] MGB probes for detection of alpha-thalassemia-1 South-East Asian type on dried blood spots. *Eur J Haematol.* 2008;81: 405-7.

