

Outcome of The Prenatal Beta-Thalassemia Control Program

Molthicha Soonklang^{*1}, Nopporn Sawatjui¹, Suppagira Soepsrisook²,
Manasicha Mekjarasnapha², and Monthana Chantharaniyom^{1, 3}

¹*Thalassemia Center, Khon Kaen Hospital, Khon Kaen Province, Thailand*

²*Department of Obstetrics and Gynecology, Khon Kaen Hospital, Khon Kaen Province, Thailand*

³*Department of Pediatrics, Khon Kaen Hospital, Khon Kaen Province, Thailand*

Abstract

Beta thalassemia (β -thalassemia) is an inherited hemoglobin disorders and can be found in Thailand. β -thalassemia can be found in 3-9% of Thai population and 13% approximately abnormal hemoglobin E (HbE), which is found mostly in northeastern Thai population. As a result, Thai couples are at risk of giving birth to babies with β -thalassemia major. The objective of this study was to develop a program for control and prevention of β -thalassemia. This retrospective descriptive research collected data from medical records and DNA β -thalassemia records at Khon Kaen Hospital during October, 2016-September, 2018. A total 6,151 couples were screened for thalassemia using complete blood count (CBC) and dichlorophenol indophenols precipitation test (DCIP). All positive screening samples were confirmed by hemoglobin typing (HPLC) and reverse dot blot hybridization (RDB) analysis using β -thalassemia test kit (Southeast Asia Panel, SEA) 22 panels which was a new technique. Only one blood tube was used in the entire process from screening through the molecular confirmation. Couples at risk were assessed by clinician and referred to genetic counseling, prenatal diagnosis and/or termination. The screening tests classified 235 (3.82%) couples as β -thalassemia carriers (MCV<80 fl and MCH<27 pg). Genes that cause thalassemia major were found in 92 (1.5%) couples based on molecular confirmation. After genetic counseling and prenatal diagnosis, 14 (0.23%) fetuses with β -thalassemia major were found. Thirteen couples (0.21%) made decision to terminate their fetuses and only one couple made decision to continue the pregnancy (β^0 -thalassemia/HbE) and planned to receive bone marrow transplantation in the future. In conclusion, the program established in this study is effective for control and prevention of

*Corresponding author E-mail address: bbec01monticha@gmail.com

β -thalassemia by reducing number of new cases with these diseases. This program can suggest a guideline to prevent the birth of babies with β -thalassemia major and related issues.

Keywords: Beta-thalassemia genes, Genetic counseling, Prenatal diagnosis

ผลลัพธ์ของการควบคุมและป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียแบบ ครบวงจรร่วมกับการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

มลทิชา สูญกลาง^{*1} นพพร สวัสดิ์จ้อย¹ ศุภจิรา สืบสีสุข² มนสิชา เมฆจรสณภา²
และ มนธนา จันทรมิณ^{1, 3}

¹ศูนย์ธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ²กลุ่มงานสูติ-นรีเวช โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
³กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

บทคัดย่อ

โรคเบตาธาลัสซีเมียเป็นโรคพันธุกรรมทางโลหิตวิทยาที่สามารถพบได้บ่อยในประเทศไทย โดยพบประชากรที่มียีนเบตาธาลัสซีเมีย (β -Thalassemia) ประมาณร้อยละ 3-9 และพบยีนฮีโมโกลบินผิดปกติชนิด hemoglobin E (Hb E) โดยเฉลี่ยร้อยละ 13 ซึ่งสามารถพบได้มากขึ้นในประชากรภาคอีสาน ส่งผลให้กลุ่มสมรสที่มียีนผิดปกติเสี่ยงต่อการให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (β -thalassemia major) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแนวทางการควบคุมและป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียรายใหม่ เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาโดยใช้ข้อมูลย้อนหลังจากฐานข้อมูลเวชระเบียนโรงพยาบาลขอนแก่น และทะเบียนตรวจดีเอ็นเอเบตาธาลัสซีเมีย ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2561 กลุ่มตัวอย่างเป็นหญิงตั้งครรภ์และสามี ที่มาฝากครรภ์ในโรงพยาบาลขอนแก่น จำนวน 6,151 คู่ โดยทุกรายได้รับการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (CBC) ตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยน้ำยา DCIP ในรายที่มีผลผิดปกติอย่างใดอย่างหนึ่งจะตรวจยืนยันชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน และตรวจยืนยันระดับโมเลกุลด้วยเทคนิค reverse dot blot hybridization (RDB) ซึ่งเป็นชุดตรวจ β -thalassemia (Southeast Asia Panel, SEA) 22 panels ที่ได้พัฒนาขึ้น โดยใช้ตัวอย่างเลือดเพียง 1 หลอดสำหรับการตรวจคัดกรองจนถึงการตรวจยืนยันระดับโมเลกุล (one tube service) จากนั้นประเมินคู่เสี่ยง หากพบว่าหญิงตั้งครรภ์มีโอกาสให้กำเนิดทารกเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง จะให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ และแพทย์เฉพาะทางจะดำเนินการวินิจฉัยทารกในครรภ์ และพิจารณายุติการตั้งครรภ์ จากการศึกษาพบว่าหญิงฝากครรภ์และสามี จำนวน 235 คู่ คิดเป็นร้อยละ 3.82 (235/6,151) มีผลคัดกรองโรคธาลัสซีเมียเบื้องต้นผิดปกติ (MCV<80 fl และ MCH<27 pg) และมีความเสี่ยงต่อการเป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมีย หลังจากการตรวจระดับโมเลกุลเพื่อหาความผิดปกติของเบตาโกลบิน พบว่าหญิงตั้งครรภ์และสามี 92 คู่ คิดเป็นร้อยละ 1.5 (92/6,151) มียีนที่ก่อให้เกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรง โดยหลังจากการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ และวินิจฉัยทารกในครรภ์ พบว่ามีทารกเป็นเบตาธาลัสซีเมียรุนแรง 14 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.23 (14/6,151) ได้รับการยุติการตั้งครรภ์ 13 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.21 (13/6,151) และประสงค์

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: bbec01monticha@gmail.com

ตั้งครรภ์ต่อ 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.02 (1/6,151) โดยต้องการรักษาด้วยวิธีการปลูกถ่ายไขกระดูก โดยสรุปรูปแบบการดำเนินงานเพื่อควบคุมและป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียรายใหม่ที่เกิดขึ้น สามารถควบคุม และลดอุบัติการณ์ของโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งใช้เป็นแนวทางสำหรับการวางแผนป้องกันผลกระทบที่เกิดจากการตั้งครรภ์ทารกที่เป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้

คำสำคัญ: ยีนเบตาธาลัสซีเมีย การให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ การวินิจฉัยทารกในครรภ์

บทนำ

โรคเบตาธาลัสซีเมียเป็นโรคพันธุกรรมทางโลหิตวิทยา โดยพบว่าร้อยละ 3-9 ของประชากรในประเทศไทย มียีนเบตาธาลัสซีเมีย (β -thalassemia) และพบยีนฮีโมโกลบินผิดปกติ hemoglobin E (HbE) ในคนอีสานสูงถึงร้อยละ 30 - 40⁽¹⁾ ผู้ที่มีความผิดปกติของยีนเบตาธาลัสซีเมียบนโครโมโซมเพียงอย่างเดียวจะไม่มีอาการ หรือเรียกว่าพาหะ (trait) ผู้ป่วยที่เป็นโรคซึ่งคิดเป็นประมาณร้อยละ 1 ของประชากร เกิดจากการที่ประชากรไทยมียีนผิดปกติดังกล่าวแฝงอยู่ เมื่อมีการสมรสกันระหว่างหญิง-ชายทำให้เกิดการปฏิสัมพันธ์ (interaction) ของยีนเบตา จึงทำให้พบผู้ป่วยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียได้ ทั้งที่มีความรุนแรงน้อย ปานกลาง และรุนแรงมาก ซึ่งโรคเบตาธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรงมาก (β -thalassemia major) คือ homozygous β -thalassemia (β^0/β^0) เกิดจากการมีความผิดปกติของ beta-globin gene บนโครโมโซมทั้งคู่ทำให้ไม่สามารถสร้าง beta-globin chain ได้ ผู้ป่วยเหล่านี้จะให้ผลการตรวจ Hb typing เป็น A₂F ส่วนโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง (β -thalassemia intermedia) คือ β -thalassemia/Hb E (β^0/β^E) เกิดจากการมีความผิดปกติของ beta-globin gene บนโครโมโซมคู่ที่ 11 ข้างเดียว ทำให้สร้าง beta-globin chain ไม่ได้ และอีกข้างสร้างได้ลดลง การตรวจ Hb typing จะให้ผลเป็น EF หรือ EFA อาการที่สำคัญของทารกที่มีภาวะนี้คือ ทารกจะมีความผิดปกติ ชีต หน้าตาเปลี่ยนแปลง ตับ ม้ามโต ซึ่งต้องได้รับการดูแล และเสียค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมาก โดยมีประมาณการค่าใช้จ่ายในการดูแลทารกที่เป็นโรคนี้สูงถึงรายละ 1.26-6.6 ล้านบาท ในกรณีที่ทารกมีชีวิตรอดจนถึงอายุประมาณ 10-30 ปี⁽³⁾ ดังนั้น การตรวจคัดกรองโรคธาลัสซีเมียในสตรีตั้งครรภ์ และคู่สมรส การตรวจยืนยันและการวินิจฉัยทารกก่อน

คลอดจึงมีความสำคัญ เนื่องจากทั้งคู่มีโอกาสถ่ายทอดพันธุกรรมสู่ทารกในครรภ์ ทำให้ทารกเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้ โรงพยาบาลขอนแก่นมีหน้าที่ให้บริการตรวจ และให้การรักษาที่ดีที่สุดแก่ผู้ป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมีย และควบคุมป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียในเขตสุขภาพที่ 7 (จังหวัดขอนแก่น จังหวัดร้อยเอ็ด จังหวัดมหาสารคาม จังหวัดกาฬสินธุ์) และจังหวัดใกล้เคียง เพื่อลดจำนวนผู้ป่วยรายใหม่ ซึ่งไม่เพียงแต่ลดปัญหาที่จะเกิดกับผู้ป่วยเอง แต่เป็นการลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ สังคม และการกระทบต่อจิตใจของคนในครอบครัว สนองนโยบาย และยุทธศาสตร์แห่งชาติ ซึ่งการดำเนินงานเพื่อให้บรรลุเป้าหมายนั้น กระบวนการและขั้นตอนในการควบคุมและป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมีย จะต้องรวดเร็ว ถูกต้อง เข้าถึง ครบวงจร (one stop service) รวมถึงการให้ความรู้แก่สตรีตั้งครรภ์เกี่ยวกับโรคเบตาธาลัสซีเมีย การถ่ายทอดทางพันธุกรรม ผลกระทบต่อทารกและมารดา การตัดสินใจในการตั้งครรภ์ต่อไป ตลอดจนการยุติการตั้งครรภ์⁽⁴⁾ ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแนวทางการควบคุมป้องกัน และลดอุบัติการณ์การเกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โดยสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการวางแผนป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในอนาคต

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างที่ศึกษา

ศึกษาโดยการรวบรวมข้อมูลย้อนหลังจากหญิงตั้งครรภ์และคู่สมรส ที่มาตรวจคัดกรองโรคธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลขอนแก่น ซึ่งใช้ข้อมูลจากฐานข้อมูลเวชระเบียนผู้ป่วยนอก และทะเบียนตรวจโรคเบตาธาลัสซีเมีย ตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2561 จำนวน 6,151 คู่

วิธีการศึกษา

รวบรวมข้อมูลย้อนหลังจากงานเวชระเบียน ผู้ป่วยนอก และทะเบียนตรวจโรคเบตาธาลัสซีเมีย

โดยคู่ฝากครรภ์จะได้รับการตรวจคัดกรองเพื่อหาพาหะธาลัสซีเมีย ตามแนวทางการตรวจคัดกรอง (Fig. 1) ดังนี้

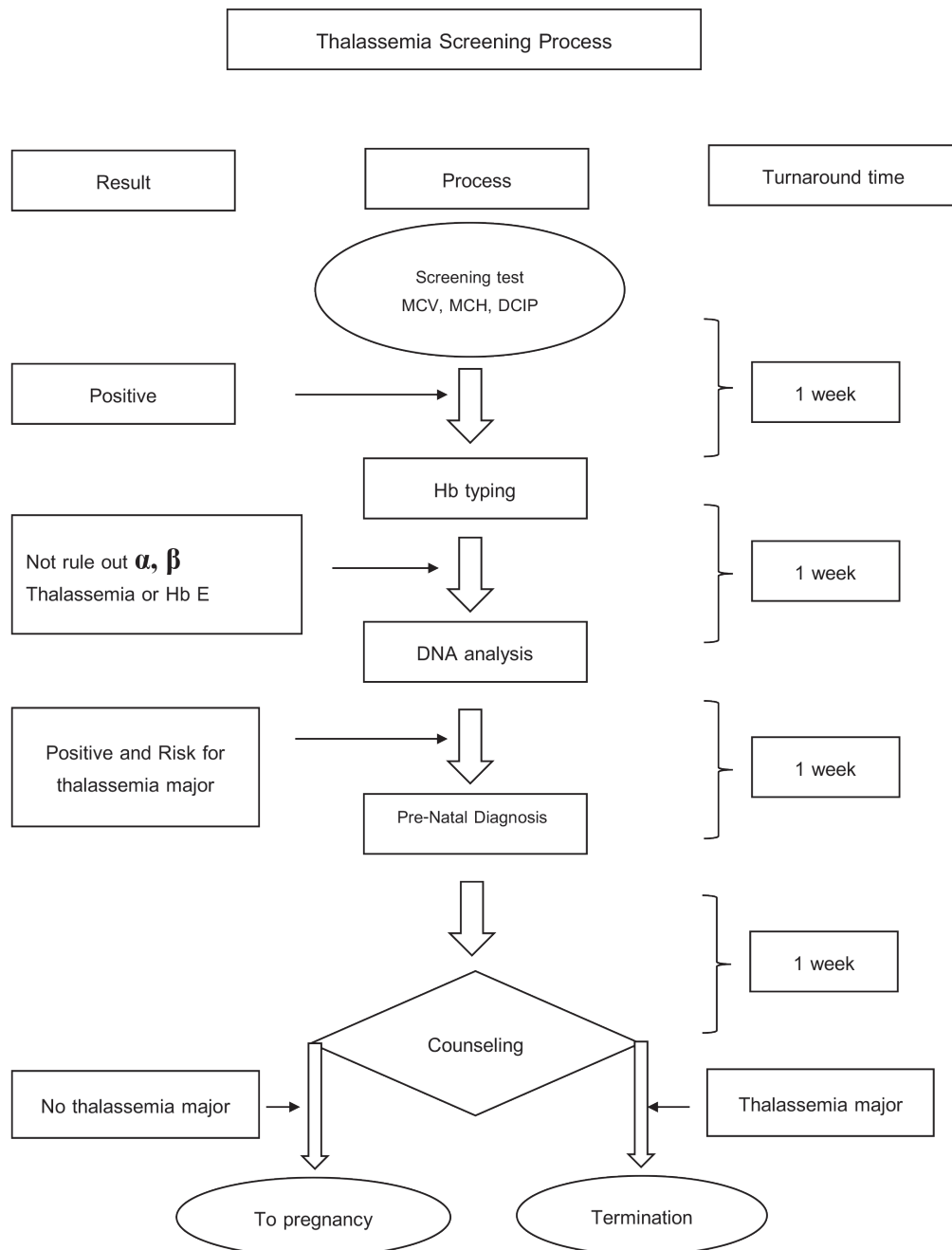


Fig. 1 Thalassemia Screening Process in Khon Kaen Hospital

1. การตรวจคัดกรองด้วยวิธี MCV, MCH และ DCIP

เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณแขน ปริมาตร 1-3 มิลลิเมตร ใส่หลอดเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งตัว ชนิด EDTA 1 หลอด ตรวจคัดกรองความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (CBC) ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ รุ่น Sysmex XE-2100 ใช้หลักการ electrical resistance และ hydrodynamic focusing method ในการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง และ SLS-hemoglobin method ในการวัด hemoglobin เพื่อดู mean corpuscular volume (MCV) และ mean corpuscular hemoglobin (MCH) ตรวจคัดกรองพาหะ Hb E โดยใช้เทคนิค dichlorophenol indophenols precipitation test (DCIP)^(5,6) ด้วยชุดทดสอบ KKU-DCIP-Clear reagent kit หากได้ผลบวกอย่างใดอย่างหนึ่ง ทั้งคู่จะได้รับการตรวจยืนยันด้วยชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน

2. การตรวจยืนยันชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (Hb typing) และการตรวจยืนยันระดับโมเลกุล

ตรวจยืนยันชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ VARIANT II Hemoglobin Testing System ใช้หลักการ high performance liquid chromatography โดยใช้สารมาตรฐาน HbA2/F/S (LP A2 control) เป็นสารควบคุมคุณภาพภายใน จากนั้นนำผลตรวจชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินของคู่ฝากครรภ์มาประเมินความเสี่ยงโอกาสการเกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงของทารกในครรภ์เบื้องต้น ได้แก่ homozygous β^0 -thalassemia (β^0/β^0) และ β^0 -thalassemia/Hb E (β^0/β^E) หากพบว่า มีความเสี่ยง จะได้รับการตรวจยืนยันระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาใหม่เพื่อตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนเบตาโกลบิน โดยใช้เทคนิค reverse dot blot hybridization (RDB) ด้วยชุดตรวจ GenoFlow β -thalassemia Genotyping Test kit (Southeast Asia

Panel, (SEA) 22 panels) ซึ่งเป็นชุดตรวจการกลายพันธุ์ของยีนเบตาโกลบิน จำนวน 22 ชนิดที่พบบ่อยในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ของบริษัท ไบโอแอกทีฟ จำกัด และเป็นเทคนิคที่อาศัยการออกแบบและสังเคราะห์ allele specific oligonucleotide (ASO) probe (Fig. 2) โดยใช้หลอดเลือดหลอดเดิมไม่ต้องเจาะใหม่ (one tube service) ผลตรวจการกลายพันธุ์ของเบตาโกลบินจะถูกนำมาประเมินความเสี่ยงระดับโมเลกุลรายที่มีความเสี่ยงต่อการให้กำเนิดทารกเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรง จะต้องได้รับการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ และการวินิจฉัยทารกในครรภ์ ซึ่งรายที่จะต้องวินิจฉัยทารกในครรภ์ ควรมีอายุครรภ์ไม่เกิน 22 สัปดาห์

3. การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ การให้คำปรึกษา และพิจารณายุติการตั้งครรภ์

ดำเนินการโดยเจ้าหน้าที่ที่มีความเชี่ยวชาญ และผ่านการอบรมการให้คำปรึกษาด้านพันธุศาสตร์ โดยเจ้าหน้าที่จะแจ้งถึงความเสี่ยงของการทำหัตถการทุกครั้ง แพทย์เฉพาะทางเวชศาสตร์ทารกและมารดา (maternal fetal medicine) จะเก็บชิ้นเนื้อรกในหญิงตั้งครรภ์ (CVS) อายุครรภ์ 11-14 สัปดาห์ น้ำคร่ำ (amniocentesis) ในหญิงตั้งครรภ์อายุครรภ์ 17 - 20 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างเลือดจากสายสะดือทารกในครรภ์ (cordocentesis) อายุครรภ์ 18-22 สัปดาห์⁽⁷⁾ อย่างใดอย่างหนึ่งขึ้นกับอายุครรภ์ จากนั้นนำส่งตรวจวินิจฉัยโรคเบตาธาลัสซีเมียทารกในครรภ์ โดยการตรวจระดับโมเลกุล ซึ่งจะต้องระบุการกลายพันธุ์ของยีนเบตาโกลบินของพ่อกับแม่ ลงในใบส่งตรวจและเจาะเลือดของแม่ส่งไปตรวจการปนเปื้อนเลือดแม่ด้วยทุกครั้ง เพื่อผลการตรวจที่ถูกต้องแม่นยำ โดยขั้นตอนการตรวจตั้งแต่การคัดกรอง การตรวจชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน การตรวจระดับโมเลกุลจากเลือด และการวินิจฉัยทารกในครรภ์ ทุกขั้นตอนใช้ระยะเวลา ขั้นตอนละ 1 สัปดาห์ รวมระยะเวลาการคัดกรองโรคธาลัสซีเมียในคู่ฝากครรภ์

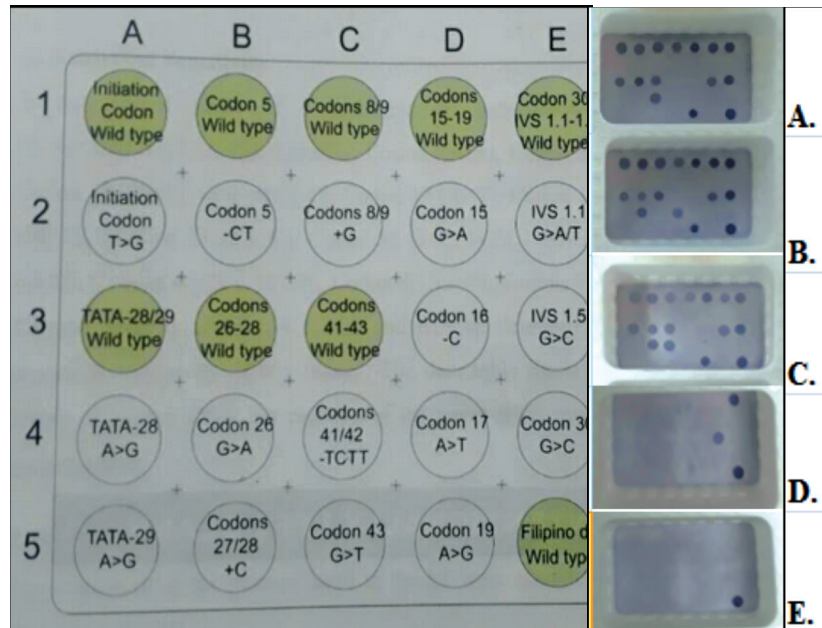


Fig. 2 β -thalassemia test kit (Southeast Asia Panel, (SEA) 22 panels) by Reverse Dot Blot hybridization technique (Green: "Positive Control" result; Blue: "Negative Control" result and White: types of beta globin mutations result.)

A: Positive for Codons 41/42-TCTT,

B: Positive for Compound heterozygous Hb E and Codon 17 A>T

C: Positive for Compound heterozygous Hb E and Codons 41/42-TCTT

D: Positive Control and E: Negative Control

ไม่เกิน 4 สัปดาห์ ซึ่งลดระยะเวลาจากเดิมที่ใช้เวลา 9-10 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มโอกาสเข้าถึงการวินิจฉัยทารกในครรภ์ และลดอาการแทรกซ้อนจากการทำหัตถการถ้าอายุครรภ์เกิน 22 สัปดาห์

อย่างไรก็ตามศักยภาพทางห้องปฏิบัติการของศูนย์ธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลขอนแก่นไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ผลของ ($\delta\beta$)⁰-thalassemia, rare abnormal Hb และสิ่งส่งตรวจจากการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ได้ จึงต้องส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการ

แพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ ห้องปฏิบัติการ บริษัท แอป-ยีนส์ จำกัด

ผลการวิจัย

การตรวจคัดกรองโรคธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์และคู่สมรสของโรงพยาบาลขอนแก่น ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2561 มีผู้เข้ารับบริการ จำนวน 6,151 คู่ สามารถติดตามสามีมารับการตรวจคัดกรองโรคธาลัสซีเมียได้ ร้อยละ 98.2 โดยมีผลตรวจคัดกรองด้วยดัชนีเม็ดเลือดแดง MCV/

MCH และ/หรือ DCIP ผิดปกติอย่างใดอย่างหนึ่ง คือ ค่า MCV<80 fl, MCH<27 pg และ/หรือ DCIP ผลเป็นบวก 5,539 คู่ (ร้อยละ 90) ซึ่งจะได้รับการตรวจยืนยันด้วยชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (Hb typing) ต่อ

จากผลการตรวจคัดกรองและยืนยันด้วยชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน พบว่า ผู้เข้ารับบริการมีผลตรวจผิดปกติ และถูกประเมินว่ามีความเสี่ยงต่อการมีโอกาสดำเนินบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงเบื้องต้นจำนวน 235 คู่ (ร้อยละ 3.82) โดยทารกในครรภ์มีโอกาสเกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงเป็น homozygous β^0 -thalassemia (β^0/β^0) จำนวน 2 คู่ และ β^0 -thalassemia/Hb E (β^0/β^E) จำนวน 233 คู่ จากนั้นนำคู่เสี่ยงทั้งหมด 235 คู่ มาตรวจวิเคราะห์การกลายพันธุ์ของเบตาโกลบิน และประเมินความเสี่ยงต่อการให้กำเนิดบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรง พบว่าหญิงตั้งครรภ์และคู่สมรสจำนวน 100 คู่ (ร้อยละ 1.63) ไม่เสี่ยงต่อการให้กำเนิดบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรง พบคู่เสี่ยงที่เสี่ยงให้กำเนิดบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียที่มีอาการปานกลาง 36 คู่ (ร้อยละ 0.59) โดยมีความเสี่ยงเป็น $\beta^+/Hb E$ thalassemia 34 คู่ และ ($\delta\beta$) $^0/Hb E$ —thalassemia 2 คู่ และพบคู่เสี่ยงที่เสี่ยงต่อการให้กำเนิดบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรง 92 คู่ (ร้อยละ 1.5) เป็นชนิด homozygous β^0 -thalassemia 1 คู่ $\beta^0/Hb E$ thalassemia 89 คู่ $\beta^+/Hb E$ thalassemia ชนิดการกลายพันธุ์ IVS 1.5 (G>C) ซึ่งทำให้เกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรง 1 คู่ และ β^0/β^+ thalassemia 1 คู่ ไม่ทราบชนิดการกลายพันธุ์ 7 คู่

ดำเนินการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์แก่หญิงตั้งครรภ์ที่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 92 ราย ผลการวินิจฉัยทารกในครรภ์พบว่าทารกในครรภ์ปกติ ไม่พบการกลายพันธุ์ของเบตาโกลบิน 26 ราย (ร้อยละ 0.42) เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี

40 ราย (ร้อยละ 0.65) พาหะ β^0 -thalassemia 9 ราย (ร้อยละ 0.15) พาหะ β^+ -thalassemia 2 ราย (ร้อยละ 0.03) โฮโมไซกัสฮีโมโกลบินอี 1 ราย (ร้อยละ 0.02) โรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (homozygous β^0 -thalassemia) 1 ราย (ร้อยละ 0.02) และ $\beta^0/Hb E$ thalassemia 13 ราย (ร้อยละ 0.21)

จากผลการให้คำแนะนำและปรึกษาระดับพันธุศาสตร์แก่พ่อและแม่ที่มีทารกในครรภ์เป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรง 14 ราย (ร้อยละ 0.23) มีหญิงตั้งครรภ์ตัดสินใจตั้งครรภ์ต่อ 1 ราย (ร้อยละ 0.02) และยุติการตั้งครรภ์ 13 ราย (ร้อยละ 0.21) (Table 1) หลังการยุติการตั้งครรภ์และหลังคลอดได้เก็บเลือดจากสายสะดือตรวจยืนยันโรคธาลัสซีเมีย พบว่าผลตรวจถูกต้องตรงกัน เป็นไปตามกฎการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมตามหลักของเมนเดล (Mendelian genetics)

การตรวจการกลายพันธุ์ของเบตาโกลบินและชนิดฮีโมโกลบินในคู่เสี่ยงทั้งหมด 235 คู่ ได้รับการตรวจยืนยันระดับโมเลกุล พบการกลายพันธุ์ของ β^0 -thalassemia 91 ราย ซึ่งเป็นการกลายพันธุ์ชนิด CDs41/42(-TTCT) สูงที่สุด 45 ราย รองลงมาเป็น CD17(A>T), IVS2.654(C>T), IVS1.1 (G>A/T), CDs71/72(+A), IVS2.1(G>A) และ CDs27/28 (+C) จำนวน 21, 12, 6, 4, 2 และ 1 รายตามลำดับ มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A 72 ราย EE/EF 4 ราย EF 13 ราย EFA 1 ราย และ $EE/EFBart's$ 1 ราย พบการกลายพันธุ์ β^+ -thalassemia 35 ราย ซึ่งเป็นการกลายพันธุ์ชนิด -28 (A>G) 32 ราย รองลงมาเป็นชนิด CD 19 (A>G) และ IVS1.5 (G>C) 2 และ 1 รายตามลำดับ มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A 27 ราย EFA 7 ราย และ A_2FA 1 ราย นอกจากนี้ยังพบการกลายพันธุ์ ($\delta\beta$) 0 -thalassemia เป็นชนิด 12.6 kb del 2 ราย โดยให้ผลเป็นลบต่อการตรวจด้วยเทคนิค reverse dot blot hybridization (RDB) ชุดตรวจ GenoFlow B-thalassemia Genotyping Test kit

Table 1 Outcome of the prenatal Beta-thalassemia control program in Khon Kaen Hospital

Test : Result	Total 6,151 (100%)	
CBC and/or DCIP : Positive	5,539 (90%)	
H b typing	235 (3.82%)	
: Risk for homozygous β -thalassemia		2 (0.03%)
: Risk for β /Hb E		233 (3.79%)
DNA analysis		
No risk for β -thalassemia major	100 (1.63%)	
Risk for β -thalassemia intermedia	36 (0.59%)	
: β^+ /Hb E thalassemia		34 (0.55%)
: $(\delta\beta)^0$ /Hb E -thalassemia		2 (0.03%)
Risk for β -thalassemia major	92 (1.5%)	
: β^0/β^0 thalassemia		1 (0.02%)
: β^0 /Hb E thalassemia		89 (1.45%)
: β^+ /Hb E thalassemia		1 (0.02%)
: β^0/β^+ thalassemia		1 (0.02%)
Prenatal Diagnosis	92 (1.5%)	
: Normal		26 (0.42%)
: Hb E carrier		40 (0.65%)
: β^0 -thalassemia carrier		9 (0.15%)
: β^+ -thalassemia carrier		2 (0.03%)
: Homozygous Hb E gene		1(0.02%)
: β^0/β^0 -thalassemia		1(0.02%)
: β^0 /Hb E thalassemia		13 (0.21%)
Continue pregnancy	1(0.02%)	
Termination	13 (0.21%)	

(Southeast Asia Panel, (SEA) 22 panels) ซึ่งมีผลชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2 FA และ EF พบชนิดละ 1 ราย ซึ่งไม่ใช่ชนิดฮีโมโกลบินในคนปกติ จึงได้ส่งตรวจการกลายพันธุ์ยังหน่วยงานที่มีศักยภาพสูงกว่า พบเพียงฮีโมโกลบินอีอื่น ไม่พบการกลายพันธุ์ของเบตาโกลบินอื่น 42 ราย มีผลชนิดฮีโมโกลบินเป็น EFA 1 ราย EF 2 ราย EE/EF 35 ราย EE/EF Bart's 2 ราย และ EA with High Hb F 2 ราย ไม่พบการกลายพันธุ์ของเบตาโกลบินอื่นเลย 58 ราย มีผลชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2 A 53 ราย A_2 FA 3 ราย และ rare abnormal Hb 2 ราย ไม่พบการกลายพันธุ์ 7 ราย มีผลชนิดฮีโมโกลบินเป็น EF 5 ราย และ EFA 2 ราย (Table 2)

จากผลการตรวจเบตาธาลัสซีเมียระดับโมเลกุล นำมาประเมินความเสี่ยงโอกาสการเกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงและให้คำแนะนำปรึกษาในการตั้งครรภ์ ดังนี้

- หญิงตั้งครรภ์ 58 ราย มีผลตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรง ได้รับการแนะนำให้ตั้งครรภ์ต่อไป

- หญิงตั้งครรภ์ 36 ราย มีผลตรวจระดับโมเลกุลเป็น β^+ -thalassemia 34 ราย และเป็น $\delta\beta^0$ -thalassemia 2 ราย แนะนำให้ตั้งครรภ์ต่อไป พร้อมทั้งให้ข้อมูลว่ามีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็น β^+ -thalassemia / Hb E หรือ thalassemia intermedia ซึ่งมีอาการเกิดโรคเบตาธาลัสซีเมียปานกลาง 25 %

- หญิงตั้งครรภ์ 42 ราย มีผลตรวจชนิด EE/EF 35 ราย EF 2 ราย EE/EF Bart's 2 EA with High Hb F 2 ราย และ EFA 1 ราย และตรวจระดับโมเลกุลพบเพียงฮีโมโกลบินอีอื่น จากผลการตรวจดังกล่าว จึงแนะนำให้ติดตามประวัติการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของเบตาธาลัสซีเมียครอบครัว (further investigate for identify β -gene mutation (paternal or maternal) and taking family pedigree history) ไม่พบประวัติการรักษาค่าให้ตั้งครรภ์ต่อไป

- ในรายที่มีผลตรวจเป็น β^0 -thalassemia 91 ราย และ β^+ -thalassemia 1 ราย ชนิด IVS 1.5 (G>C) มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียรุนแรงชนิด β^0/β^E และชนิด β^+/ β^E จึงแนะนำให้รับการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ต่อไป และจากการแนะนำให้หญิงตั้งครรภ์ 7 ราย เข้ารับการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนเบตาโกลบินที่พบการระบาดได้น้อยในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เนื่องจากตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนเบตาโกลบินในชุดตรวจ 22 มิวเตชัน เป็นชนิด EF 5 ราย และ EFA 2 ราย โดยตรวจการกลายพันธุ์ของยีนเบตาโกลบินพบเพียงฮีโมโกลบินอี แต่ผลการคัดกรองเบื้องต้นผิดปกติ อย่างไรก็ตามเนื่องจากการตรวจการกลายพันธุ์เพิ่มเติม จะต้องมีค่าใช้จ่ายเพิ่มเติม จึงไม่ได้ส่งตรวจวิเคราะห์ต่อไป และแพทย์ได้ติดตามประวัติการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของเบตาธาลัสซีเมียครอบครัว (further investigate for identify β -gene mutation (paternal or maternal) and taking family pedigree history) และประวัติการรักษา ซึ่งไม่พบประวัติการรักษาด้วยการรับเลือด จึงให้ตั้งครรภ์ต่อไป

หญิงตั้งครรภ์ที่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมียอาการรุนแรงทั้งหมดได้รับการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ 92 ราย พบว่าทารกในครรภ์เป็น homozygous β^0 -thalassemia (β^0/β^0) 1 ราย เป็นชนิด compound homozygous CD41/42 (-TTCT) และเป็น β^0 -thalassemia/Hb E (β^0/β^E) 13 ราย โดยเป็นชนิด Hb E ร่วมกับ CD41/42 (-TTCT) 8 ราย, CD47/72 (+A) 2 ราย, IVS1.1 (G>A/T) 1 ราย, CD27 (+C) 1 ราย และ CD17 (A>T) 1 ราย จากการให้คำปรึกษาด้านพันธุศาสตร์ พบว่าหญิงตั้งครรภ์ 13 ราย ตัดสินใจยุติการตั้งครรภ์ ส่วน 1 ราย ที่มีผลตรวจ β^0 -thalassemia/Hb E (β^0/β^E) ชนิด CD27 (+C) คู่สมรสต้องการตั้งครรภ์ต่อไป และมีความประสงค์จะเข้ารับการรักษาด้วยการปลูกถ่ายไขกระดูกต่อไป

Table 2 The results of DNA and Hb typing analysis in 235 risk couples for major β -thalassemia

Genotype	Mutation	Hb typing (Number)	Number	Percent
β ⁰ -thalassemia			91	38.72
	CDs 41/42 (-TTCT)	A ₂ A (37)	45	19.15
		EE/EF (1)		
		EF (7)	21	8.94
	CD 17 (A>T)	A ₂ A (17)		
		EF (2)		
		EFA (1)		
	IVS 2.654 (C>T)	EE/EFBart's (1)	12	5.11
		A ₂ A (6)		
		EE/EF (3)		
IVS 1.1 (G>A/T)	EF (3)	6	2.55	
	CDs 71/72 (+A)	A ₂ A (6)	4	1.7
		A ₂ A (3)		
IVS 2.1 (G>A)		EF (1)	2	0.85
	CDs 27/28 (+C)	A ₂ A (2)	1	0.43
		A ₂ A (1)		
β ⁺ -thalassemia			35	14.89
	-28 (A>G)	A ₂ A (25)	32	13.62
		EFA (6)		
		A ₂ FA (1)		
	CD 19 (A>G)	A ₂ A (1)	2	0.85
EFA (1)				
IVS 1.5 (G>C)	A ₂ A (1)	1	0.43	
(δβ) ⁰ -thalassemia			2	0.85
12.6 kb del	A ₂ FA (1)			
	EF (1)			
β ^E -thalassemia			42	17.87
	CD 26 (G>A)	EE/EF (35)		
		EF (2)		
		EE/EFBart's (2)		
		EA with High Hb F (2)		
EFA (1)				
Normal			58	24.68
		A ₂ A(53)		
		A ₂ FA (3)		
Rare Abnormal Hb (2)				
Unknown mutation			7	2.98
		EF(5)		
	EFA(2)			

Table 3 The prenatal diagnosis results in 14 subjects that are affected for severe thalassemia syndromes

Severe thalassemia syndrome	Mutation	Number	Percent
Homozygous β^0 -thalassemia β^0 -thalassemia/HbE	CDs 41/42 (-TTCT)	1	7.14
		13	92.86
	CDs 41/42 (-TCTT)/HbE	8	57.14
	CDs 71/72 (+A)/HbE	2	14.29
	IVS 1.1 (G>T)/HbE	1	7.14
	CD 27 (+C)/HbE	1	7.14
	CD 17 (A>T)/HbE	1	7.14

วิจารณ์

การตรวจคัดกรองพาหะของโรค และการให้คำปรึกษาด้านพันธุศาสตร์ รวมถึงการวินิจฉัยทารกในครรภ์เป็นหลักการสำคัญของการป้องกันโรคธาลัสซีเมีย⁽⁸⁾ จากการดำเนินงานของศูนย์ธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลขอนแก่น เพื่อควบคุมและป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรง ได้พัฒนาการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนเบตา-โกลบิน มุ่งเน้นให้มีกระบวนการตรวจคัดกรองและการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว (one stop service) ตั้งแต่กระบวนการตรวจคัดกรองจนถึงกระบวนการตรวจยืนยันระดับโมเลกุล แต่ละขั้นตอนใช้เวลา 1 สัปดาห์ รวมระยะการตรวจคัดกรองโรคเบตาธาลัสซีเมียในคู่ฝากครรภ์ ไม่เกิน 4 สัปดาห์ ใช้เวลาน้อยกว่าระบบเดิม 5-6 สัปดาห์ ซึ่งช่วยลดระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ได้ดี มีการนำเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ที่ทันสมัยมาประยุกต์ใช้ ร่วมกับการทำงานอย่างบูรณาการของเจ้าหน้าที่ทั้งภายในและภายนอกโรงพยาบาล ส่งผลให้การดำเนินการตรวจวิเคราะห์มีประสิทธิภาพ นอกจากการตรวจวิเคราะห์ที่มีความสะดวก และรวดเร็วแล้ว การพัฒนาเทคนิค และเลือกใช้เครื่องมือสำหรับตรวจวิเคราะห์ที่มีความหลากหลาย เป็นมาตรฐานสากล เช่น การตรวจ

วิเคราะห์ด้วยเทคนิค DNA sequencing, RFLP, HPFH เป็นต้น จะช่วยให้ผลการตรวจวิเคราะห์ ถูกต้องแม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นโอกาสในการพัฒนาต่อไปในรายที่มีการกลายพันธุ์ที่พบได้น้อย

อย่างไรก็ตาม การดำเนินโครงการเพื่อการป้องกันและควบคุมโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรง มักพบปัญหาและอุปสรรคที่สำคัญ ได้แก่ หญิงตั้งครรภ์ที่มีบุตรในครรภ์เสี่ยงต่อโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงไม่ได้รับการวินิจฉัยทารกในครรภ์ รวมถึงพบปัญหาในการติดตามสามีมาตรวจเลือด⁽⁹⁾ จากการให้บริการของศูนย์ธาลัสซีเมียในเขตพื้นที่ภาคอีสานพบว่า ยังมีคู่ฝากครรภ์บางส่วนเข้าไม่ถึงการบริการ จึงควรจัดให้มีศูนย์บริการตรวจโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงอย่างครบถ้วนทั่วถึง รวมทั้งควรมีรูปแบบการติดตามให้สามีมาตรวจเลือดเนื่องจากในบางกรณีที่ภรรยาไม่ผลการตรวจคัดกรองผิดปกติ ยังไม่สามารถติดตามสามีมาตรวจเลือดได้ครบทั้งหมด ทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีผู้ป่วยโรคเบตาธาลัสซีเมียรายใหม่เกิดขึ้น⁽¹⁰⁾ การกำหนดให้มีการเจาะเลือดสามีตั้งแต่ครั้งแรกที่พารภรรยาฝากครรภ์ อาจเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้ดี จากการศึกษาของจำรัส วงศ์คำ และคณะ⁽¹¹⁾ พบว่าการจัดบริการ

ตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียทั้งสามและกรรยาอย่างเป็นระบบ เบ็ดเสร็จครั้งเดียว ร่วมกับการพสานเข้ากับโครงการสายใยรักแห่งครอบครัว ซึ่งมีการให้คำแนะนำ สุขศึกษาในรูปแบบโรงเรียนพ่อแม่ ช่วยให้สามารถติดตามตรวจเลือดสามปีเพื่อตรวจหาความเสี่ยงได้เพิ่มขึ้น

สำหรับการให้คำปรึกษาด้านพันธุศาสตร์ในกรณีที่มีผลการตรวจพบว่ามีความเสี่ยงที่จะให้กำเนิดทารกที่มีโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงนั้น ดำเนินการโดยเจ้าหน้าที่ซึ่งผ่านการอบรมเกี่ยวกับการให้คำปรึกษาด้านพันธุศาสตร์ ในขั้นตอนการให้คำปรึกษานี้ มีความสำคัญมากที่จะให้ความรู้เกี่ยวกับโรค อัตราเสี่ยงของบุตร รวมถึงการสนับสนุนทางจิตใจ ซึ่งทั้งหมดจะมีส่วนช่วยในการตัดสินใจรักษาทารกในครรภ์ หรือพิจารณายุติการตั้งครรภ์ได้อย่างทันท่วงที ช่วยป้องกันและลดจำนวนผู้ป่วยโรคเบตาธาลัสซีเมียรายใหม่ได้

สรุป

รูปแบบการดำเนินงานเพื่อควบคุมและป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงรายใหม่ที่พัฒนาขึ้น มีการนำองค์ความรู้และเทคโนโลยีด้านธาลัสซีเมียที่มีความก้าวหน้ามาใช้ประโยชน์ (one tube service - one stop service) ช่วยลดระยะเวลาในการส่งตรวจ โดยมุ่งเน้นให้มีการทำงานร่วมกันอย่างบูรณาการของสหสาขาวิชาชีพ สามารถควบคุม และลดการเกิดใหม่ของโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงได้ดี สามารถใช้เป็นแนวทางสำหรับการวางแผนป้องกันโรคเบตาธาลัสซีเมียรุนแรงให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์ธาลัสซีเมีย กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ กลุ่มงานสูติ-นรีเวช แผนกฝากครรภ์ ห้องคลอด และกลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น รวมถึงเจ้าหน้าที่

โรงพยาบาลขอนแก่นผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ และอำนวยความสะดวกในการสืบค้นข้อมูล สำหรับใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. The committee on clinical practice guidelines for diagnosis of thalassemia syndromes. Clinical practice guidelines for diagnosis and management of thalassemia syndromes. Bangkok: Queen Sirikit National Institute of Health; 2014. (in Thai)
2. Saengkitphon S., Saengkitphon Si. Thalassemia: guidelines for prevention. 7th ed. Nonthaburi: Clinical research center, Department of medical sciences; 2015. (in Thai)
3. Thianthawon V., Phattarakulvaninch S., Phattanapongtorn J. The role of Department of Health on thalassemia prevention. Proceeding of the 13th Thailand thalassemia conference. Bangkok; 2007. (in Thai)
4. Pattanapongthorn J. Genetic counselling in thalassemia disease. Proceeding of the 19th Thailand thalassemia conference. Bangkok; 2013. (in Thai)
5. Chuntho M. Carrier screening for thalassemia in pregnant women by using the complete blood count and hemoglobin electrophoresis methods. KKMJ. 2008; Vol. 32 Supp 16: 165-72. (in Thai)

6. Yooyen K., Fucharoen G., Fucharoen S., Yamsri S., Sac-ung N. Appropriate MCV and MCH cut off values for screening of a-thalassemia 1 and beta-thalassemia: Data from 4 community hospitals in northeast Thailand. J Med Tech Phy Ther 2011; 23: 147-9
7. Suntharasaj T. Clinical practice guideline by The Royal Thai College of Obstetricians and Gynaecologists 2007-2012. 1st ed. Bangkok: The Royal Thai College of Obstetricians and Gynaecologists; 2012. (in Thai)
8. Ratanasiri T. Prevention and control of thalassemia in obstetric practice. Srinagarind Med J 2007; 22: 471-6. (in Thai)
9. Sirivatanapa P., Wanapirak C. The problems in prenatal control of severe thalassemia at Chiang Mai. Chiang Mai: Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University; 2005; 4-7. (in Thai)
10. Phaphong J. An assessment of couples at risk of having a child with severe thalassemia at Kumphawapi Hospital, Udon Thani province. J Med Tech Assoc Thailand 2015; 43: 5347-58. (in Thai)
11. Wongkham J., Ratanasiri T., Komwilaisak R., Saksiriwuttho P., Paibool M., Chatvised P. Thalassemia screening in pregnant women at Antenatal Care Clinic, Srinagarind Hospital. Srinagarind Med J 2013; 28: 170-7. (in Thai)