

## ผลการตรวจทางอณูชีววิทยาของการขาดหายไปของยีนอัลฟาโกลบินในคนไทย จากประสบการณ์การให้บริการทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลศิริราช 12 ปี

### Molecular Data of Alpha Globin Gene Deletion in Thai: Twelve Years of Laboratory Service Experience at Siriraj Hospital

วราภรณ์ กลมกลา<sup>1</sup> อัจจิมา ตรีสุคนธ์<sup>2\*</sup> กชปิณชร์ จันทร์สิงห์<sup>1</sup> วัยการณั อินทรรุจิกุล<sup>4</sup>  
ปรียานันท์ ศิระประภาภัสส์<sup>5</sup> กลีบสไบ สรรพกิจ<sup>6</sup>  
Waraporn Glomglao<sup>1</sup>, Ajjima Treesucon<sup>2\*</sup>, Kochpinchon Chansing<sup>3</sup>,  
Wiyakan Inthararujikul<sup>4</sup>, Preeyanun Siraprapapat<sup>5</sup>, Kleebsabai Sanpakit<sup>6</sup>

#### บทคัดย่อ

แอลฟาธาลัสซีเมีย ( $\alpha$ ธาลัสซีเมีย) เป็นโรคโลหิตจางชนิดหนึ่งที่เกิดจากการสร้างสายแอลฟาโกลบิน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเม็ดเลือดแดง ลดลงหรือสร้างไม่ได้เลย ทำให้เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้นและแตกง่าย ผู้ป่วยอาจจะ มีอาการซีด เพียงเล็กน้อย หรือปานกลาง หรืออาจรุนแรงมากถึงกับเสียชีวิตได้ ทั้งนี้แล้วแต่รูปแบบของความผิดปกติ ของยีนแอลฟาโกลบินซึ่ง ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นการขาดหายไป ของยีน ทั้งนี้เราสามารถตรวจหาความผิดปกตินี้ได้โดยวิธี gap-PCR ซึ่งเป็นวิธีทางอณูชีววิทยา

ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาโลหิตวิทยาและของ โคลโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้เปิดให้บริการการตรวจวินิจฉัยการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน จำนวน 7 ชนิด ด้วยวิธี multiplex-gap PCR คือ ชนิด Southeast Asia (--<sup>SEA</sup>), Thai (--<sup>THAI</sup>), Filipino (--<sup>FIL</sup>), Mediteranean (--<sup>MED</sup>),  $-\alpha^{20.5}$ ,  $-\alpha^{4.2}$  และ  $-\alpha^{3.7}$  จากการให้บริการ 12 ปีที่ผ่านมา ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ.2545 – เดือนมีนาคม พ.ศ.2557 มีตัวอย่าง เลือดคนไทย ที่ส่งมาตรวจการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบิน เป็นจำนวน 4,663 ตัวอย่าง ผลจากการตรวจวิเคราะห์พบการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินเพียง 4 ชนิด คือ ชนิด Southeast Asia (--<sup>SEA</sup>),

**คำสำคัญ:** แอลฟาธาลัสซีเมีย การขาดหายไปของยีน คนไทย

<sup>1</sup> ตำแหน่งนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ สาขาวิชาโลหิตวิทยาและของโคลโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โรงพยาบาลศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล

<sup>2,3,4,5</sup> ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาโลหิตวิทยาและของโคลโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โรงพยาบาลศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล

<sup>6</sup> ตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาโลหิตวิทยาและของโคลโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

<sup>\*</sup> corresponding author

Thai (--<sup>THAI</sup>),  $-\alpha^{3.7}$  และ  $-\alpha^{4.2}$  ที่ความถี่ของอัลลีลร้อยละ 12.7, 0.3, 12.0 และ 1.0 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับอัลลีลปกติที่มีความถี่ร้อยละ 74 โดยมีจีโนไทป์ 12 แบบ คือ  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ,  $\alpha\alpha/--^{SEA}$ ,  $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ ,  $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha\alpha/--^{THAI}$ ,  $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ,  $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$ ,  $--^{THAI}/\alpha^{3.7}$ ,  $--^{SEA}/--^{SEA}$  และ  $-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$  ที่ความถี่ร้อยละ 55.03, 20.72, 15.40, 4.27, 1.99, 1.31, 0.49, 0.36, 0.24, 0.11, 0.06 และ 0.02 ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าในคนไทยพบความผิดปกติชนิด  $--^{SEA}$  ได้บ่อยที่สุดจึงมีความเสี่ยงที่จะทำให้มีลูกเป็นโรคฮีโมโกลบินบาร์ตส์ไฮดรอปส์ฟีทลิสที่อันตรายถึงชีวิตได้ นอกจากนี้ยังมีความหลากหลายของจีโนไทป์ของแอลฟาธาลัสซีเมีย ข้อมูลนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานของรูปแบบของแอลฟาธาลัสซีเมียที่พบได้ในประเทศไทย

### Abstract

Alpha thalassemia ( $\alpha$  thalassemia), a worldwide inherited disorder resulting in decreased or absent synthesis of alpha-globin chain of hemoglobin, mostly caused by gene deletions which can be detected by gap-PCR method. For twelve years of our laboratory service, during January 2002 to March 2014, we used a single tube multiplex gap-PCR technique to detect seven types of alpha globin gene deletion: Southeast Asia ( $--^{SEA}$ ), Thai ( $--^{THAI}$ ), Filipino ( $--^{FIL}$ ), Mediteranean ( $--^{MED}$ ),  $-(\alpha)^{20.5}$ ,  $-\alpha^{4.2}$ ,  $-\alpha^{3.7}$ . The data from our service has concordance with the previous studies, only four alleles,  $--^{SEA}$ ,  $--^{THAI}$ ,  $-\alpha^{3.7}$  and  $-\alpha^{4.2}$  were found with frequencies of 12.7, 0.3, 12.0 and 1.0 percents respectively while the remaining normal  $\alpha$  allele was found in 74 %. In this study, the overall twelve types of  $\alpha$ -globin genotypes detected were  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ,  $\alpha\alpha/--^{SEA}$ ,  $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ ,  $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ ,  $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha\alpha/--^{THAI}$ ,  $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ,  $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$ ,  $--^{THAI}/\alpha^{3.7}$ ,  $--^{SEA}/--^{SEA}$  and  $-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$  with frequencies of 55.03, 20.72, 15.40, 4.27, 1.99, 1.31, 0.49, 0.36, 0.24, 0.11, 0.06 and 0.02 percents respectively in 4,663 Thai samples. The study indicated that deletion of alpha thalassemia was heterogenous in Thai population.  $\alpha$ -thalassemia1 allele  $--^{SEA}$  that can cause Hb Bart's hydrops fetalis, was found with the highest prevalence in our study.

**Keywords:** Alpha thalassemia, Gene Deletion, Thai

## หลักการและเหตุผล

แอลฟาธาลัสซีเมียเป็นโรคโ ลิตจางชนิดหนึ่ง ที่พบมากในคนไทยเกิดจากยีนแอลฟาโกลบินกลายพันธ์ ทำให้การสร้างสายแอลฟาโกลบินซึ่งเป็นส่วนประกอบของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงลดลงหรือสร้างไม่ได้ มีผลให้เม็ดเลือดแดงผิดปกติ มีอายุสั้นและแตกง่าย ผู้ป่วยอาจจะมีอาการซีดเพียงเล็กน้อยหรือปานกลางหรืออาจรุนแรงถึง ชันเสียชีวิตได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับรูปแบบของความผิดปกติของยีนแอลฟาโกลบินซึ่งจนถึงปัจจุบัน มีรายงานความผิดปกติประมาณ 128 ชนิด<sup>1</sup>

โรคแอลฟาธาลัสซีเมียมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของโรคเป็นแบบ Autosomal Recessive โดย ยีนแอลฟาโกลบินอยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 16 ที่ตำแหน่ง 16p13.3 ซึ่งประกอบด้วยยีนแอลฟาโกลบิน 2 ยีนที่อยู่ใกล้กัน คือ ยีนแอลฟา 1 โกลบิน และยีนแอลฟา 2 โกลบิน ดังนั้นในคนปกติ 1 คน จะมียีนแอลฟา 1 โกลบิน 2 อัลลีล และยีนแอลฟา 2 โกลบิน 2 อัลลีล ซึ่งเมื่อเขียนจีโนไทป์แบบรวม 2 ยีนไว้ด้วยกัน จะได้เป็น  $\alpha\alpha / \alpha\alpha$  การเกิดการกลายพันธ์ในยีนแอลฟาโกลบินส่วนใหญ่ เกิดจากการขาดหายไปของยีน ถ้าแยกตามจำนวนอัลลีลที่ขาดหายไปจะได้ดังนี้<sup>2</sup>

1. ถ้ายีนขาดหายไป 1 อัลลีลจะเขียนจีโนไทป์ได้เป็น  $-\alpha/\alpha\alpha$  ผู้ที่มีจีโน ไทป์แบบนี้จัดเป็นพาหะของแอลฟาธาลัสซีเมีย 2 (Heterozygous  $\alpha$ -Thalassemia2) เมื่อตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดจะพบว่าค่าปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (Mean Corpuscular Volume, MCV) และปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (Mean Corpuscular Hemoglobin, MCH) ลดลงแต่จะคาบเกี่ยวกับค่าปกติ ภาวะ Heterozygous นี้ไม่มีอาการและไม่เป็นโรค

2. ถ้ายีนขาดหายไป 2 อัลลีล ในเงื่อนไข

2.1 ถ้ายีน 2 อัลลีลที่ขาดหายไปอยู่บนโครโมโซมข้างเดียวกัน เขียนจีโนไทป์ได้เป็น  $-\alpha/\alpha$  ผู้ที่มีจีโนไทป์แบบนี้จัดเป็นพาหะของโรคแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 (Heterozygous  $\alpha$ -Thalassemia1) เมื่อตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดจะพบว่าค่าปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย และ ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ลดลงชัดเจน กรณีนี้ไม่มีอาการของโรคเช่นเดียวกับผู้ที่มีจีโนไทป์แบบ  $-\alpha/\alpha\alpha$

2.2 ถ้ายีน 2 อัลลีลที่ขาดหายไปอยู่บนโครโมโซมคนละข้าง เขียนจีโนไทป์ได้เป็น  $-\alpha/-\alpha$  ผู้ที่มีจีโน ไทป์ แบบนี้เรียกว่า Homozygous  $\alpha$ -Thalassemia2 เมื่อตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดจะพบว่าค่าปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย และ ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ลดลงชัดเจนเช่นเดียวกัน กรณีนี้ไม่มีอาการเช่นเดียวกับ ผู้ที่มีจีโนไทป์แบบ  $-\alpha/\alpha\alpha$  และ  $-\alpha/\alpha$

3. ถ้ายีนขาดหายไป 3 อัลลีลจะเขียนจีโนไทป์ได้เป็น  $---\alpha$  ผู้ที่มีจีโน ไทป์แบบนี้จัด เป็นโรคฮีโมโกลบินเอช (Hb H) แม้จะมีจีโนไทป์ที่เป็นความผิดปกติชนิดเดียวกันก็อาจมีอาการต่างกันได้ โดยส่วนใหญ่มีอาการซีดเล็กน้อยถึงปานกลาง แต่อาจรุนแรงได้ถ้ามีการติดเชื้อมีพยาธิสภาพ

4. ถ้ายีนขาดหายไปหมดทั้ง 4 อัลลีลจะเขียนจีโนไทป์ได้เป็น  $----$  ผู้ที่มีจีโนไทป์แบบนี้เป็นโรคฮีโมโกลบินบาร์ตสไฮดรอปส์ ฟัทัลลิส (Hb Bart's Hydrops Fetalis) มีอาการรุนแรงที่สุด ทารกที่เป็นจะมีอาการบวม น้ำ ตับม้ามโต หัวใจล้มเหลว มักเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือ หลังคลอด ภายในไม่กี่ชั่วโมง แต่ก็มีทารกบางรายที่รอดชีวิตและยังมีชีวิตอยู่ได้เนื่องจากมีการเฝ้าติดตามการรักษาตั้ง ตั้งแต่อยู่ใน

กรรมและเมื่อคลอดก็ได้รับ การรักษา อย่างดีและ  
ทันที่

ตัวอย่าง การขาดหายไปของยีนแอลฟา  
ไกลบิน 2 อัลลีลที่อยู่ในโครโมโซมเดียวกัน ที่เป็น  
สาเหตุทำให้ไม่มีการสร้างสายแอลฟาไกลบิน ที่  
เรียกว่า  $\alpha$  0 อัลลีลซีเมีย 1 หรือ  $\alpha^0$  อัลลีลซีเมีย เช่น  
Southeast Asia (--<sup>SEA</sup>) Thai (--<sup>THAI</sup>) Philippine (--<sup>FIL</sup>)  
และ Mediteranean (--<sup>MED</sup>) เป็นต้น ส่วนตัวอย่างการ  
ขาดหายไปของยีนแอลฟาไกลบิน 1 อัลลีล ที่เป็น  
สาเหตุทำให้การสร้างสายแอลฟาไกลบินลดลง ที่  
เรียกว่า  $\alpha$  1 อัลลีลซีเมีย 2 หรือ  $\alpha^+$  อัลลีลซีเมีย เช่น  
ชนิดที่ยีนขาดหายไป 3.7 กิโลเบส ( $-\alpha^{3.7}$ ) และชนิด  
ที่ยีนขาดหายไป 4.2 กิโลเบส ( $-\alpha^{4.2}$ )

## วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความชุกของการขาดหายไปของ  
ยีนแอลฟา ไกลบินในตัวอย่างเลือดของคนไทย ที่ส่ง  
มาตรวจที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาโลหิตวิทยาและ  
ของโคโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ ค ณะ  
แพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ระหว่างเดือนมกราคม  
พ.ศ. 2545 – เดือนมีนาคม พ.ศ.2557 รวมเวลา 12 ปี

## วัสดุและวิธีการ

### ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ

ตัวอย่างเลือด ของคนไทย ในสารกันเลือด  
แข็งชนิด EDTA ( Ethylenediaminetetraacetic  
Acid) ระหว่างเดือนมกราคม พ .ศ.2545 – เดือน  
มีนาคม พ.ศ.2557 จำนวน 4,663 ตัวอย่าง  
การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างเลือด มาสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี  
Phenol-Chloroform<sup>3</sup> หรือวิธี Salting Out<sup>4</sup>

### วิธีการตรวจ

นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจหาการ  
ขาดหายของยีนแอลฟาไกลบิน 7 ชนิด คือ Southeast  
Asia (--<sup>SEA</sup>), Thai (--<sup>THAI</sup>), Filipino (--<sup>FIL</sup>),  
Mediteranean (--<sup>MED</sup>),  $-(\alpha)^{20.5}$ ,  $-\alpha^{4.2}$  และ  $-\alpha^{3.7}$   
ด้วยเทคนิค multiplex gap-PCR<sup>5</sup> โดยมีส่วนผสมของ  
การทำปฏิกิริยา PCR ในปริมาตร 25  $\mu$ l ดังนี้

1x Q-solution (Qiagen, Hilden, Germany)  
1x PCR buffer containing 1.5 mM  
MgCl<sub>2</sub> (Qiagen, Hilden, Germany)

1.25 unit HotStar Taq DNA Polymerase  
(Qiagen, Hilden, Germany)

200  $\mu$ M dNTPs

200 ng DNA

ส่วนผสมของไพรเมอร์ 16 สาย ที่มีความ  
เข้มข้นต่างๆ กัน ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์สำหรับการ  
ตรวจหายีนแอลฟาไกลบินปกติ ไพรเมอร์สำหรับการ  
ตรวจหาการขาดหายของยีนแอลฟาไกลบินทั้ง 7 ชนิด  
และไพรเมอร์ของ Internal Control<sup>6</sup>

นำส่วนผสมดังกล่าวเข้า เครื่องพีซีอาร์ เพื่อ  
เข้าสู่กระบวนการ Polymerase Chain Reaction  
ตามขั้นตอน ดังนี้

- 1 รอบของ ขั้นตอน Pre-denaturation ที่  
อุณหภูมิ 96°C 15 นาที

- 35 รอบของขั้นตอนการแยกสายดีเอ็นเอ  
(Denaturation) ที่อุณหภูมิ 98°C 45 วินาที ขั้นตอน  
การจับของไพรเมอร์กับสายดีเอ็นเอ (Annealing) ที่  
60°C 45 วินาที และขั้นตอนการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ  
ใหม่ต่อจากไพรเมอร์ (Extention) ที่ 72°C 135  
วินาที

- 1 รอบของขั้นตอน Final Extension ที่ 72°C  
10 นาที ซึ่งเป็นอันสิ้นสุดปฏิกิริยา

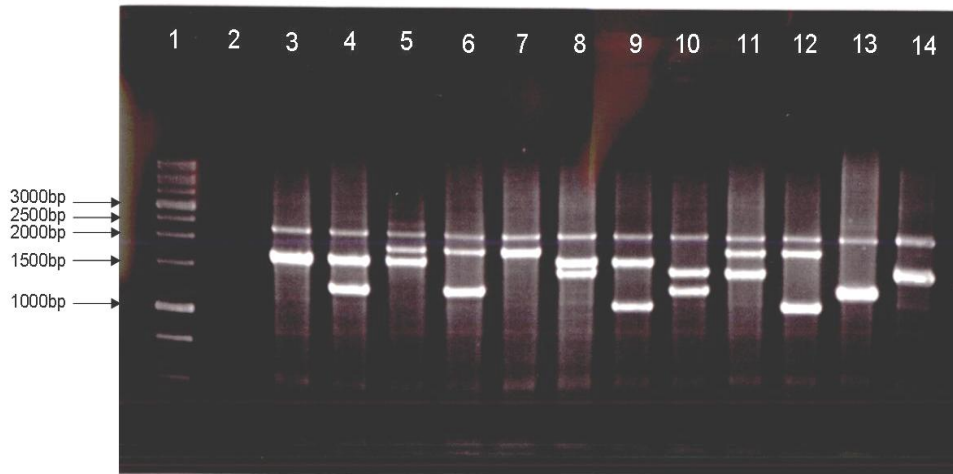
นำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากการทำปฏิกิริยา  
พีซีอาร์ปริมาตร 10  $\mu$ l มาแยกขนาดด้วยกระแสไฟฟ้า  
บนแผ่นวุ้นด้วยวิธี Agarose Gel Electrophoresis ที่

ความเข้มข้นของ Agarose 1% ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 35 นาที โดยใช้ดีเอ็นเอมาตรฐานคือ 1 kb DNA Ladder สำหรับเปรียบเทียบขนาด

นำแผ่นวุ้น agarose ที่มีผลผลิตดีเอ็นเอมา ย้อมด้วยสาร ethidium bromide แล้วบันทึกผลด้วยการถ่ายภาพด้วยเครื่อง Gel Documentation

### วิธีการแปลผล

นำผล ผลิตดีเอ็นเอ ที่ได้ ในแต่ละราย เปรียบเทียบกับขนาดของดีเอ็นเอมาตรฐาน แล้วแปลผล (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ตัวอย่างผลของการตรวจวิเคราะห์ความผิดปกติของยีนแอลฟาโกลบิน โดยมี Band ขนาด 2,350 bp เป็น Internal Control

1	DNA มาตรฐาน (1 kb DNA Ladder)	8	จีโนไทป์ $\alpha\alpha/\alpha^{4.2}$ ให้ band ขนาด 1,800 bp and 1,628 bp
2	No Template Control	9	จีโนไทป์ $\alpha\alpha/--^{THAI}$ ให้ band ขนาด 1,800 bp and 1,153 bp
3	จีโนไทป์ $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ให้ band ขนาด 1,800 bp เท่านั้น	10	จีโนไทป์ $-\alpha^{4.2}/--^{SEA}$ ให้ band ขนาด 1,628 bp and 1,349 bp
4	จีโนไทป์ $\alpha\alpha/--^{SEA}$ ให้ band ขนาด 1,800 bp and 1,349 bp	11	จีโนไทป์ $-\alpha^{3.7}/\alpha^{4.2}$ ให้ band ขนาด 2,022 bp and 1,628 bp
5	จีโนไทป์ $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ ให้ band ขนาด 1,800 bp and 2,022 bp	12	จีโนไทป์ $-\alpha^{3.7}/--^{THAI}$ ให้ band ขนาด 2,022 bp and 1,153 bp
6	จีโนไทป์ $-\alpha^{3.7}/--^{SEA}$ ให้ band ขนาด 2,022 bp and 1,349 bp	13	จีโนไทป์ $--^{SEA}/--^{SEA}$ ให้ band ขนาด 1,349 bp เท่านั้น
7	จีโนไทป์ $-\alpha^{3.7}/\alpha^{3.7}$ ให้ band ขนาด 2,022 bp เท่านั้น	14	จีโนไทป์ $-\alpha^{4.2}/\alpha^{4.2}$ ให้ band ขนาด 1,628 bp เท่านั้น

**การรวบรวมและการวิเคราะห์ผล**

รวบรวม ผลที่ได้จากการตรวจมาจัดกลุ่มตามจีโนไทป์แล้ว หาความถี่ คิดเป็นร้อยละ ของสิ่งส่งตรวจทั้งหมด จากนั้นนับจำนวนอัลลีลแต่ละชนิดโดยคำนวณ จากจำนวนจีโนไทป์แล้วหาความถี่ของแต่ละอัลลีล

**ผลการศึกษา**

จากการตรวจวิเคราะห์ การขาดหายของยีนแอลฟาไกลบิน 7 ชนิดในตัวอย่างเลือดคนไทยจำนวน 4,663 ตัวอย่าง พบการขาดหาย ไปเพียง 4 ชนิด คือ Southeast Asia (--<sup>SEA</sup>), Thai (--<sup>THAI</sup>),  $-\alpha^{3.7}$  และ  $-\alpha^{4.2}$  ที่ความถี่ของอัลลีล ร้อยละ 12.7, 0.3, 12.0 และ 1.0 ตามลำดับเมื่อเทียบกับอัลลีลปกติ ( $\alpha\alpha$ ) ที่มีความถี่ร้อยละ 74 (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1 แสดงความถี่ของอัลลีลชนิด  $\alpha\alpha$ , --<sup>SEA</sup>, --<sup>THAI</sup>,  $-\alpha^{3.7}$  and  $-\alpha^{4.2}$  ที่พบในการศึกษาครั้งนี้**

ชนิดอัลลีล	ความถี่ (ร้อยละ)
$\alpha\alpha$	74.0
-- <sup>SEA</sup>	12.7
-- <sup>THAI</sup>	0.3
$-\alpha^{3.7}$	12.0
$-\alpha^{4.2}$	1.0
overall	100

ทั้งนี้อัลลีลปกติของการศึกษาครั้งนี้หมายถึง ตัวอย่างที่ไม่พบการขาดหายของยีนแอลฟาไกลบินทั้ง 7 ชนิด โดยไม่นับรวมถึงความผิดปกติชนิดอื่น ๆ ดังนั้นจึงให้รูปแบบของจีโนไทป์ที่พบมี 12 แบบ ดังนี้  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ,  $\alpha\alpha/--^{SEA}$ ,  $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ ,  $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ ,  $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ ,

$\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ ,  $\alpha\alpha/--^{THAI}$ ,  $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ ,  $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$ ,  $--^{THAI}/-\alpha^{3.7}$ ,  $--^{SEA}/--^{SEA}$  และ  $-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$  ที่ความถี่ร้อยละ 55.03, 20.72, 15.40, 4.27, 1.99, 1.31, 0.49, 0.36, 0.24, 0.11, 0.06 และ 0.02 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2 แสดงความถี่ของจีโนไทป์ชนิดต่างๆที่ตรวจพบในตัวอย่างเลือดของคนไทยจำนวน 4,663 ตัวอย่าง**

ชนิดของจีโนไทป์	จำนวน (ร้อยละ)
1. $\alpha\alpha/\alpha\alpha$	2,566 (55.03)
2. $\alpha\alpha/--^{SEA}$	966 (20.72)
3. $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	718 (15.40)
4. $-\alpha^{3.7}/--^{SEA}$	199 (4.27)
5. $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	93 (1.99)
6. $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$	61 (1.31)
7. $\alpha\alpha/--^{THAI}$	23 (0.49)
8. $-\alpha^{4.2}/--^{SEA}$	17 (0.36)

ชนิดของจีโนไทป์	จำนวน (ร้อยละ)
9. $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$	11 (0.24)
10. $-\alpha^{3.7}/--^{THAI}$	5 (0.11)
11. $--^{SEA}/--^{SEA}$	3 (0.06)
12. $-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$	1 (0.02)
<b>Total</b>	<b>4,663 (100)</b>

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบการขาดหายของยีนแอลฟาไกลบินมี 2,097 ราย จาก 4,663 ราย คิดเป็นร้อยละ 44.97 โดยจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่ไม่มีอาการ และกลุ่มที่เป็นโรค กลุ่มที่ไม่มีอาการ มีจำนวน 1,873 ราย คิดเป็นร้อยละ 40.17 ประกอบด้วยชนิด Heterozygous  $\alpha$ -Thalassemia1 จำนวน 989 ราย คิดเป็นร้อยละ 21.21, ชนิด Heterozygous  $\alpha$ -Thalassemia2 จำนวน 779 ราย

คิดเป็น ร้อยละ 16.71, ชนิด Homozygous  $\alpha$ -Thalassemia2 จำนวน 105 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.25 ส่วนกลุ่มที่เป็นโรคมีจำนวน 224 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.80 ประกอบด้วยโรค Hb H จำนวน 221 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.74 โรค Hb Bart's Hydrops Fetalis จำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.06 (ตารางที่ 3)

### ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและร้อยละของตัวอย่างเลือดที่มีจีโนไทป์ในกลุ่มปกติ กลุ่มที่ไม่มีอาการและกลุ่มที่เป็นโรค

กลุ่ม	จีโนไทป์	จำนวนราย (ร้อยละ)
<b>กลุ่มปกติ</b>		
1. ปกติ	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	2,566 (50.03)
<b>กลุ่มไม่มีอาการ</b>		
1. Heterozygous $\alpha$ -Thalassemia1 ( $\alpha$ -Thalassemia1 Trait)	$--^{SEA}/\alpha\alpha$	989 (21.21)
	$--^{THAI}/\alpha\alpha$	
2. Heterozygous $\alpha$ -Thalassemia2 ( $\alpha$ -Thalassemia2 Trait)	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	779 (16.71)
	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	
3. Homozygous $\alpha$ -Thalassemia2	$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$ $-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$	105 (2.25)
<b>กลุ่มเป็นโรค</b>		
1. Hb H Disease	$--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$	221 (4.74)
	$-\alpha^{3.7}/--^{THAI}$	
2. Hb Bart's Hydrops Fetalis	$--^{SEA}/--^{SEA}$	3 (0.06)
<b>Total</b>		<b>2,097 (44.97)</b>

## สรุป

การศึกษาในคนไทยเท่าที่มีรายงาน<sup>7,8</sup> พบการขาดหายของยีนแอลฟาโกลบินเพียง 4 ชนิด คือ ชนิด Southeast Asia (--<sup>SEA</sup>), ชนิด Thai (--<sup>THAI</sup>), ชนิด - $\alpha$ <sup>4.2</sup> และ ชนิด - $\alpha$ <sup>3.7</sup> ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ นอกจากนี้การศึกษาค้นพบว่า อัลลีลชนิด --<sup>SEA</sup> มีความชุกมากที่สุดตามด้วยอัลลีลชนิด - $\alpha$ <sup>3.7</sup> ซึ่งต่างจากการศึกษาในประชากรหญิงไทยที่ตั้งครรภ์ที่มารับบริการในโรงพยาบาล 11 แห่ง ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่พบอัลลีลชนิด

- $\alpha$ <sup>3.7</sup> มีความชุกมากที่สุดตามด้วยอัลลีลชนิด --<sup>SEA</sup><sup>8</sup> และเมื่อเปรียบเทียบกับ การศึกษาใน คนมาเลย์ และ คนจีนของประเทศมาเลเซียรวมทั้งในคนจีนตอนใต้<sup>9,10</sup> ต่างพบความชุกอัลลีลชนิด --<sup>SEA</sup> มากที่สุดเช่นกัน ทั้งนี้รูปแบบของจีโนไทป์ที่พบ ในการศึกษาครั้งนี้ส่วนใหญ่สอดคล้องกันกับกลุ่มชาวมาเลย์<sup>9</sup> โดยลำดับความชุกจากมากไปหาน้อย คือ  $\alpha\alpha$ /--<sup>SEA</sup>,  $\alpha\alpha$ /- $\alpha$ <sup>3.7</sup>, --<sup>SEA</sup>/- $\alpha$ <sup>3.7</sup>, - $\alpha$ <sup>3.7</sup>/- $\alpha$ <sup>3.7</sup>,  $\alpha\alpha$ /- $\alpha$ <sup>4.2</sup>

จากการตรวจพบ --<sup>SEA</sup> ในความถี่สูงทั้งในไทยและเพื่อนบ้านแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทำให้เห็นได้ว่า ยังมีโอกาสเป็นไปได้สูงในการ ที่จะเกิดโรค Hb Bart's Hydrops Fetalis ถ้าไม่มีระบบการป้องกัน และควบคุม ของ การสาธารณสุขที่ดี พอ อีกทั้งในสังคมที่มีการแต่งงานในเครือญาติสูงก็มีโอกาสจะมีลูกเป็นโรคสูงเช่นกัน

ในอนาคตการแต่งงานระหว่างคนต่างเชื้อชาติจะมีมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากมีการอพยพหรือการย้ายหลักแหล่งที่มากขึ้นซึ่งจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่ของอัลลีลและจีโนไทป์ในประชากร ได้หรือบางครั้งอาจจะเป็นการนำอัลลีลใหม่ๆ เข้าสู่ประชากรได้ ด้วยเช่นกัน ดังนั้นแม้ขณะนี้จะมีรายงานการตรวจพบการขาดหายของยีนแอลฟาโกลบินในคนไทยเพียง 4 ชนิด คือ --<sup>SEA</sup>, --<sup>THAI</sup>, - $\alpha$ <sup>4.2</sup> และ - $\alpha$ <sup>3.7</sup> แต่ทางห้องปฏิบัติการสาขาวิชาโลหิต

วิทยาและของโคโลยีก็ยังคงครอบคลุมการตรวจชนิด --<sup>FIL</sup> ที่พบได้บ่อยในคนฟิลิปปินส์<sup>1,11</sup> ชนิด --<sup>MED</sup> และ ชนิด -( $\alpha$ )<sup>20.5</sup> ที่พบได้บ่อยในชาวตะวันออกกลางและแถบเมดิเตอร์เรเนียน<sup>1</sup> ไว้

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้มีข้อจำกัด เนื่องจากตัวอย่างที่ทำการศึกษาไม่ได้เป็น การสุ่มตรวจจากประชากรทั่วไป แต่เป็น ข้อมูลที่ได้จากการขอตรวจอย่างจำเพาะเจาะจงทั้งในส่วนของ ผู้ป่วยที่เป็นโรคแอลฟาธาลัสซีเมีย พ่อแม่พี่น้องผู้ป่วย รวมทั้งคนปกติที่ต้องการตรวจ ดังนั้นความถี่ของอัลลีลหรือจีโนไทป์ที่พบในการศึกษานี้จะแตกต่างจากการสุ่มตรวจในประชากรปกติ ตัวอย่างเช่น ในประชากรคนไทยทั่วไปจะ พบ แอลฟาธาลัสซีเมีย ทุกรูปแบบ ประมาณร้อยละ 10 - 30<sup>12</sup> แต่การศึกษาค้นครั้งนี้ แม้จะตรวจหาความผิดปกติเพียง 7 ชนิดเท่านั้น ยังพบแอลฟาธาลัสซีเมียทุกรูปแบบ ถึงร้อยละ 44.97 เป็นต้น และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษา ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจ วินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น<sup>13</sup> ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการรับตรวจต่อให้บริการส่วนใหญ่ ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในจำนวนสิ่งส่งตรวจ ของคนไทย 12,525 ราย พบอัลลีล --<sup>SEA</sup> และ --<sup>THAI</sup> ที่ความถี่ร้อยละ 14.8 และ 0.2 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาค้นครั้งนี้คือร้อยละ 12.7 และ 0.3 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของห้องปฏิบัติการรับตรวจต่อของ มาเลเซียที่รับตัวอย่างของผู้ป่วย ที่ส่วนใหญ่ มี Hypochromic Microcytic Anemia จำนวน 5,016 ราย พบอัลลีล --<sup>SEA</sup>, - $\alpha$ <sup>3.7</sup>, - $\alpha$ <sup>4.2</sup> และ --<sup>THAI</sup> ที่ความถี่ร้อยละ 11.6, 13.3, 1.1 และ 0.26 ตามลำดับ<sup>14</sup> ซึ่งก็ใกล้เคียงกับการศึกษาค้นครั้งนี้คือร้อยละ 12.7, 12.0, 1.0 และ 0.3 ตามลำดับ

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยมหิดลที่  
ให้ทุนสนับสนุนการทำผลงานเพื่อพัฒนางานของ  
สายสนับสนุนในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

วราภรณ์ กลมเกลา, วิยการณ์ อุทโท, วิไลวรรณ  
จันทร์สิงห์, ปาริฉัตร พึ่งอัมฤทธิ, วรุฒิ  
จีนช้าง, วิพร วิประภษิต. การตรวจวินิจฉัย  
การขาดหายของยีนอัลฟาโกลบินที่พบบ่อย  
7 ชนิดด้วยวิธี Multiplex GAP PCR ในงาน  
บริการประจำ. วารสารเทคนิคการแพทย์  
และกายภาพบำบัด 2549; 18(1): 43-50.

Ahmad R, Saleem M, Aloysious NS,  
Yelumalai P, Mohamed N, Hassan S.  
Distribution of alpha thalassaemia gene  
variants in diverse ethnic populations in  
Malaysia: data from the institute  
formedical research. Int J Mol Sci  
2013; 14, 18599-614.

Azma R Z, Ainoon O, Hafiza A, Azlin I, Noor  
Farisah AR, Nor Hidayati S, et al  
Molecular characteristic of alpha  
thalassaemia among patients  
diagnosed in UKM Medical Centr.  
Malaysian J Pathol 2014; 36(1) : 27 – 32

Chaibunruang A, Prommetta S, Yamsri S,  
Fucharoen G, Sae-ung N,  
Sanchaisuriya K, et al. Molecular and  
hematological studies in a large cohort  
of  $\alpha^0$ -thalassemia in northeast Thailand:  
Data from a single referral center.  
Blood Cells Mol Dis 2013; 51: 89-93.

Fucharoen S, Winichagoon P. Prevention  
and control of thalassaemia in Asia.  
Asian Biomed 2007; 1(1): 1-6.

Hartevelde CL, Higgs DR.  $\alpha$ -Thalassaemia.  
Orphanet J Rare Dis 2010; 5: 13.

Ko TM, Hwa HL, Liu CW, Li SF, Chu JY, Cheung  
YP. Prevalence study and molecular  
characterization of alpha-thalassaemia in  
Filipinos. Ann Hematol 1999; 78(8): 355-7.

Laosombat V, Viprakasit V, Chotsampancharoen T,  
Wongchanchailert M, Khodchawan S,  
Chinchang W, et al. Clinical features  
and molecular analysis in Thai patients  
with Hb H disease. Ann Hematol 2009;  
88: 1185-92.

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple  
salting out procedure for extracting  
DNA from human nucleated cells.  
Nucleic Acids Res 1988; 16(3): 1215.

Piel FB, Weatherall DJ. The  $\alpha$ -Thalassemsias. N  
Engl J Med 2014; 371: 1908-16.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular  
Cloning : A Laboratory Manual; 2<sup>nd</sup> ed.  
New York: Cold Spring Harbor Laboratory  
Press, 1989.

Tan AS, Quah TC, Low PS, Chong SS. A rapid  
and reliable 7-deletion multiplex polymerase  
chain reaction assay for  $\alpha$ -thalassaemia.  
Blood 2001; 98(1): 250-1.

Tritipsombut J, Sanchaisuriya K, Phollarp P,  
Bouakhasith D, Sanchaisuriya P,  
Fucharoen G, et al. Micromapping of  
thalassaemia and hemoglobinopathies in  
different regions of northeast Thailand

and Vientiane, Laos People's Democratic Republic. Hemoglobin 2012; 36(1): 47–56.

Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, Liao C, Zhou M, Chen PY, et al. The prevalence and spectrum of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassaemia in Guangdong province: Implications for the future health burden and population screening. J Clin Pathol 2004; 57: 517–22.