

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

อัตราการเกิดปฏิสัมพันธ์ของยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ร่วมกับพาหะของ ฮีโมโกลบินอี

พัทธนันท์ ธนพัทธ์สิริกุล ทพ.บ.

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี

บทคัดย่อ อุบัติการณ์ของการมียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมียในพาหะของฮีโมโกลบินอีที่พบในประเทศไทยได้ประมาณร้อยละ 10.0-25.0 ซึ่งการมียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมียจะมีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงฮีโมโกลบิน-บาร์ทไฮดรอปฟีทัลลิส การศึกษาครั้งนี้เพื่อหาอัตราการเกิดการปฏิสัมพันธ์ของยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ร่วมกับพาหะฮีโมโกลบินอี จากตัวอย่างที่ส่งตรวจ ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี ในระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม 2554 ที่ตรวจพบพาหะฮีโมโกลบินอี จำนวน 430 ราย ผลการศึกษาตรวจพบยีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จำนวน 23 ราย คิดเป็นร้อยละ 5.4 โดยทุกรายมีปริมาณฮีโมโกลบินอีน้อยกว่า ร้อยละ 25.0 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (mean corpuscular volume - MCV) พบว่า ผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีที่ไม่มียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กับผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีที่มียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ดังนั้น การตรวจวินิจฉัยอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ในระดับยีน ควรตรวจในผู้ที่เป็นพาหะของฮีโมโกลบินอีที่มีปริมาณฮีโมโกลบินอี น้อยกว่าร้อยละ 25.0 ทุกรายด้วยเช่นกัน

คำสำคัญ: พาหะฮีโมโกลบินอี, อัลฟาธาลัสซีเมีย

บทนำ

โรคธาลัสซีเมีย เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนที่ควบคุมการสร้างสายโกลบินทำให้มีการสร้างสายโกลบินในปริมาณที่ลดลงหรือไม่สามารถสร้างได้เลย ขึ้นอยู่กับชนิดของการกลายพันธุ์ ซึ่งจัดเป็นความผิดปกติในด้านปริมาณ (quantitative abnormality) ธาลัสซีเมียแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ อัลฟาธาลัสซีเมีย (α -thalassemia) และ เบต้าธาลัสซีเมีย (β -thalassemia)

ประเทศไทยได้ดำเนินการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 ชนิดคือ ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮ-

ดรอปส์ฟีทัลลิส โรคโฮโมไซกัสบีตาธาลัสซีเมีย และโรคบีตาธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบิน-อี โดยมีแนวทางการดำเนินงานที่สำคัญ 2 แนวทางคือ การดูแลรักษาผู้ป่วยให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีและป้องกันการเกิดผู้ป่วยรายใหม่⁽¹⁾

ฮีโมโกลบินอีเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อยเป็นอันดับหนึ่งในประเทศไทย ซึ่งจะมีค่าเฉลี่ยของปริมาณฮีโมโกลบินอี ประมาณร้อยละ 25.0-35.0 ในภาคใต้พบประมาณร้อยละ 10.0 สำหรับอัลฟาธาลัสซีเมีย พบประมาณร้อยละ 3.0-9.0^(1,2) ในโรงพยาบาลยะลา มีรายงานความชุกของฮีโมโกลบินอี และอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ร้อยละ

13.7 และ 2.0⁽³⁾ อุบัติการณ์เกิดโรคอัลฟาธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินอีพบได้จากความผิดปกติทั้งสองเกิดบนโครโมโซมต่างกันทำให้สามารถเกิดโรคทั้งสองร่วมกันได้ มีรายงานฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยธรรมราช ร้อยละ 1.5⁽⁴⁾ การเฝ้าระวังไม่ให้เกิดผู้ป่วยรายใหม่จึงต้องการตรวจหาพันธุกรรมอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ในพาหะฮีโมโกลบินอีด้วยเช่นกัน

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาอัตราการเกิดการปฏิสัมพันธ์ของยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในตัวอย่างเลือดของผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี

วิธีการศึกษา

รูปแบบการวิจัยเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนาแบบตัดขวาง เก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม 2554 โดยมีวิธีการดำเนินวิจัยดังนี้

กลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือด (EDTA Blood) จากผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี จำนวน 430 ราย จากโรงพยาบาลที่ส่งตัวอย่างมาตรวจ ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี

วิธีการตรวจวิเคราะห์

ใช้วิธีการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน โดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ (variant™ Hemoglobin Testing System, Bio-Rad Inc)⁽⁵⁾ และตรวจหาฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยวิธี real time PCR⁽⁶⁾

การควบคุมคุณภาพ

1. การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ: การตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน ควบคุมคุณภาพโดยใช้วัสดุควบคุมคุณภาพ LyphoCheck Hb A2 (Bio-Rad Laboratories, USA)⁽⁷⁾ ทำซ้ำทุก ๆ 30 ตัวอย่าง โดยทำเป็นประจำทุกรอบที่มีการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด

ของผู้ป่วยและการตรวจหาฮีโมโกลบินอีร่วมกับพาหะของฮีโมโกลบินอี 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ควบคุมคุณภาพโดยใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพชนิดให้ผลบวกอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่ผ่านการตรวจยืนยันโดยเทคนิค DNA sequencing จากฝ่ายโลหิตวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

2. การควบคุมคุณภาพโดยหน่วยงานภายนอก: การตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน ควบคุมคุณภาพโดยเข้าร่วมเป็นสมาชิก EQAS ของบริษัท Bio-Rad และการตรวจหาฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ควบคุมคุณภาพโดยเข้าร่วมโครงการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการด้านการตรวจวินิจฉัยอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งดำเนินการโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีการส่งตัวอย่างเลือดครั้งละ 4 ตัวอย่างเป็นประจำทุก 3 เดือน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่อง Variant™ Hemoglobin Testing System, Bio-Rad Inc ในการตรวจหาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน โดยใช้ชุดน้ำยา Variant™ b-thalassemia short program และเครื่องตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมในสภาพจริงรุ่น ABI 7500 (real time PCR) ในตรวจหาฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยใช้ชุดน้ำยา 2X TaqMan Universal PCR Master Mix (applied Biosystems, USA) นำข้อมูลทางโลหิตวิทยามีค่า mean corpuscular volume (MCV) จากโรงพยาบาลที่ส่งตัวอย่างเลือดมาตรวจวิเคราะห์ และใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS

การวิเคราะห์ข้อมูล

แสดงอัตราการตรวจพบพาหะฮีโมโกลบินอี ที่มีฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ร่วมเป็นร้อยละ และวิเคราะห์ข้อมูลค่า MCV โดยการตรวจสอบการแจกแจงแบบปกติ ด้วยสถิติ Kolmogorov-Smirnov test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ MCV ในกลุ่มที่ทำการศึกษา คือ กลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอีที่มีฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชีย-

ตะวันออกเฉียงใต้ และกลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอีที่ไม่มียีน แผลงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ด้วย สถิติ Independent t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นไม่น้อยกว่า ร้อยละ 95

ผลการศึกษา

อัตราการตรวจพบยีนแฝงยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในพาหะฮีโมโกลบินอีที่มีปริมาณ ฮีโมโกลบินอี น้อยกว่าร้อยละ 25 จำนวน 23 ราย คิดเป็น ร้อยละ 5.4 จากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่ 1)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณของเม็ดเลือดแดง โดยเฉลี่ย (MCV) ในตัวอย่างที่มีปริมาณฮีโมโกลบินอี น้อยกว่าร้อยละ 25 ที่มียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด เอเชียตะวันออกเฉียงใต้และที่ไม่มียีนแฝง อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่ามีค่าเฉลี่ย 61.91±6.93 และ 72.91±6.65 ตามลำดับ ผลการ ทดสอบทางสถิติ Independent t-test พบว่าทั้งสองกลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001) (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

จากการศึกษาตัวอย่างผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี ที่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี พบ จำนวน 430 ราย และนำมาตรวจหา ยีนแฝง อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่าเมื่อ เปรียบเทียบกับผลการศึกษาในกลุ่มประชากรจังหวัด นครศรีธรรมราช ซึ่งได้รายงานพบยีนแฝงยีนอัลฟา-ธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในพาหะ ฮีโมโกลบินอี ร้อยละ 1.5 จะเห็นว่าผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีในกลุ่มที่ทำการศึกษามียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มากกว่ากลุ่มประชากร จังหวัดนครศรีธรรมราชที่ทำการศึกษา ณ โรงพยาบาล มหาราช⁽⁴⁾ และมากกว่ากลุ่มประชากรทั่วไปที่โรงพยาบาล สงขลานครินทร์ ซึ่งได้รายงานพบยีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในพาหะฮีโมโกลบินอี ร้อยละ 4.3⁽⁷⁾ ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษา ในกลุ่มภาคตะวันออกเฉียงใต้พบผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีใน กลุ่มที่ทำการศึกษามียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด เอเชียตะวันออกเฉียงใต้มากกว่าตัวอย่างที่ส่งตรวจ ณ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจยีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในพาหะฮีโมโกลบินอี

ผลการตรวจ	พาหะฮีโมโกลบินอีที่มี ปริมาณฮีโมโกลบินอี <25%		พาหะฮีโมโกลบินอีที่มี ปริมาณฮีโมโกลบินอี >25%		รวม (ราย)
	ราย	ร้อยละ	ราย	ร้อยละ	
	พบอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้	23	5.4	-	
ไม่พบอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้	86	20.0	321	74.6	407
รวม	109		321		430

ตารางที่ 2 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV) ในกลุ่มที่มีปริมาณฮีโมโกลบินน้อยกว่า ร้อยละ 25 ที่มีและไม่มียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ด้วยสถิติ Independent t-test

	ค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดแดง (MCV)				
	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	df	T	p
พบยีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้	61.91	6.93	107	6.980	0.001
ไม่พบยีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้	72.91	6.65			

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 ชลบุรี ซึ่งได้รายงานพบ ยีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในพาหะฮีโมโกลบินอี ร้อยละ 4.6⁽⁶⁾ จึงควรให้ความสำคัญ ในการเฝ้าระวังการเกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮดรอปส์ฟีทลิสจากผู้ที่มียีนแฝง อัลฟาธาลัสซีเมีย 1

เมื่อศึกษาค่าเฉลี่ยของปริมาณของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV) พบว่า ผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีที่ไม่มี ยีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กับผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีที่มียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ถึงแม้ว่าทั้ง 2 กลุ่มจะมีค่า MCV น้อยกว่าค่าคัดกรองสำหรับโรคธาลัสซีเมีย คือ MCV ≤ 80 fl⁽⁹⁾ แต่เมื่อมีการปฏิสัมพันธ์ของพาหะ ฮีโมโกลบินอีร่วมกับยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเอเชีย- ตะวันออกเฉียงใต้ ทำให้มีค่า MCV มีความแตกต่างกันกับ กลุ่มที่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันของทั้ง 2 ยีนอย่างชัดเจน ดังนั้น การตรวจวิเคราะห์หาพาหะธาลัสซีเมียเพื่อค้นหาคู่ สมรสที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการมีลูกเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิด รุนแรง นอกจากการตรวจคัดกรองเบื้องต้นและการตรวจ หาชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (Hb typing) แล้วนั้น การตรวจหาพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ยังเป็นสิ่งสำคัญที่ ขาดไม่ได้ในการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย เพราะ ยังตรวจพบภาวะที่มียีนแฝงแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ในพาหะ ฮีโมโกลบินอี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ควรตรวจในผู้ที่เป็น พาหะของฮีโมโกลบินอีที่มีปริมาณฮีโมโกลบินอีน้อยกว่า ร้อยละ 25.0 ทุกชาย นอกจากนี้ควรศึกษายีนแฝงแอล- ฟาธาลัสซีเมีย 1 ในฮีโมโกลบินชนิดอื่นๆ เพิ่มเติม เพื่อให้ ทราบถึงอุบัติการณ์ทั้งหมดที่จะเกิดขึ้นในพื้นที่เดียวกัน

เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravatmuang P, Winichagoon P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. *Ann NY Acad Sci.*1980;344:352-63.
2. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. *Hemoglobin* 1987;11:65-88.
3. รัชณี ทองอ่อน, รัชชะห์ ยูง, กนกวรรณ แสนไชยสุนิยา, ลักขณา เพ็ชรีย์, นาฏนัตตา แจ่มสว่าง, กุลนภา พุเจริญ, และ คณะ. ธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในหญิงตั้งครรภ์ ที่มารับบริการฝากครรภ์ ณ โรงพยาบาลยะลา. *วารสาร เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2557;26:32-9.
4. สัจจะ สุรพจน์, กุลนภา พุเจริญ, วีระชัย สายจันทา, สมนยา ส่องแข่ง, กนกวรรณ แสนไชยสุนิยา, สุพรรณ พุเจริญ. ฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลมหาราช นครศรีธรรมราช. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพ- บำบัด* 2552;21:31-9.
5. VARIANT™ Hemoglobin Testing System [package in- sert]. Hercules, CA: Bio-Rad Laboratory; 2003.
6. กลุ่มวิจัยทางคลินิกชั้นสูง ศูนย์วิจัยทางคลินิก กรมวิทยา- ศาสตร์การแพทย์. ชุดน้ำยาตรวจวินิจฉัย alpha thalassemia 1. นนทบุรี: ศูนย์วิจัยทางคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์: 2554.
7. Sriroongrueng W, Pornpatkul M, Panich V, Fucharoen S. a-thalassemia incidence in Southern Thailand by re- striction endonuclease analysis of globin in DNA from placental blood at Songklanakarind hospital. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997;28(suppl.3):93-6.
8. ยงยุทธ พรหมพันธุ์ใจ, วันวิสาข์ เนตรเรืองแสง, สลักจิต ชุดิพงษ์วิเวท. ความชุกของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบิน ผิดปกติชนิดรุนแรงของคู่สมรสกลุ่มเสี่ยงในภาคตะวันออกเฉียง- ใต้. *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2556;3:4648-53.
9. คณะทำงานทบทวนแนวทางปฏิบัติในการตรวจทางห้อง- ปฏิบัติการเพื่อสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัส- ซีเมีย. แนวทางปฏิบัติในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อ สนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย. กรุงเทพฯ- มหานคร: หมัดเด็ด; 2559.

Abstract: Incidence of Gene Interaction between Alpha Thalassemia 1, SEA Type Deletion in Hemoglobin E Carriers

Phathanun Thanaphatsiriyakun, B.MT.

Regional Medical Science Center 11 Surat Thani Province, Thailand

Journal of Health Science 2018;27:840-4.

Hemoglobin E carriers with alpha thalassemia 1, SEA type of Thailand, was found about 10.0–25.0%. The interaction between hemoglobin E and alpha thalassemia can post a risk of having a descendant with Hemoglobin Bart's hydrops fetalis. This study aimed to analyze the incidence of gene interaction in hemoglobin E carriers with alpha thalassemia 1 SEA type. It was conducted among blood samples sent to Regional Medical Sciences Center 11, Surat Thani during January–December 2011, of which 430 cases were hemoglobin E carriers. It was found the the hemoglobin E carriers with alpha thalassemia 1, SEA type was observed in 23 cases (5.4%). All of them had hemoglobin E level less than 25.0%. There was a significant difference of the mean corpuscular volume (MCV) between the groups of hemoglobin E carriers with and without alpha thalassemia 1 SEA type ($p < 0.001$). Therefore, the gene analysis of alpha thalassemia 1 should be performed in all carriers with hemoglobin E levels less than 25.0%.

Key words: hemoglobin E carriers, alpha thalassemia