

ย่อวารสาร

Red cell genotyping by multiplex PCR identifies antigen-matched blood units for transfusion-dependent Thai patients

Kamphon Intharanut^a, Sasitorn Bejrachandra^b, Siriporn Nathalang^b, Nipapan Leetrakool^c and Oytip Nathalang^a

^aGraduate Program in Biomedical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathumtani, Thailand; ^bNational Blood Centre, Thai Red Cross Society, Bangkok, Thailand; ^cBlood Bank Section, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. *Transfus Med Hemother.* 2017;44:358-64.

บทนำ

การให้เลือดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรค และเป็นสาเหตุในการกระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้าง alloantibodies ซึ่งสามารถทำให้เกิด hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) ในหญิงตั้งครรภ์ และเกิด hemolytic transfusion reactions (HTRs) ในผู้ป่วยที่ต้องได้รับเลือดเป็นประจำ เช่น ผู้ป่วยธาลัสซีเมีย โดยเฉพาะประเทศไทยที่มีความชุกของผู้ป่วยธาลัสซีเมียสูง แนวทางการให้เลือดแก่ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่เหมาะสมในประเทศไทยคือ ในการให้เลือดครั้งแรก ผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจหาแอนติเจนของระบบ Rh (C, E, c, e) และ MNS hybrids (Mi^a) เพื่อป้องกันการสร้าง alloantibodies นอกจากนี้การตรวจแอนติเจนระบบอื่นๆ ได้แก่ Kidd, Duffy, Kell, MNS, Lewis และ P1PK มีประโยชน์เพื่อทำนายชนิดของแอนติบอดีในผู้ป่วยที่มีการสร้างแอนติบอดีหลายตัว แต่ด้วยข้อจำกัดทางซีโรโลยีในเรื่องของราคาน้ำยา antisera ที่สูง จึงได้นำเทคโนโลยีทางดีเอ็นเอมาประยุกต์ใช้ในการตรวจ genotype เพื่อหาเลือดที่มีแอนติเจนลบให้กับผู้ป่วยไทยที่ต้องรับเลือดเป็นประจำ

วิธีการศึกษา

ศึกษา DNA จำนวน 600 ตัวอย่างของผู้บริจาคโลหิตทางภาคกลางและภาคเหนือ ภาคละ 300 ตัวอย่าง โดย 300 ตัวอย่างกลุ่มแรกเป็นผู้บริจาคทางภาคกลางของประเทศไทย ได้ตรวจหาแอนติเจน Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, E, e, Di^a และ Mi^a ด้วยวิธีทางซีโรโลยีและตรวจ Genotype เพิ่มเติมด้วยเทคนิค PCR-SSP ส่วน 300 ตัวอย่างกลุ่มที่ 2 เป็นผู้บริจาคโลหิตทางภาคเหนือของประเทศไทยที่ยังไม่เคยตรวจหาแอนติเจนด้วยวิธีใดๆ รวมทั้งหมด 600 ตัวอย่างนำไปตรวจหาอัลลีลด้วยเทคนิค multiplex PCR ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ได้แก่ อัลลีล *FY*A, FY*B, JK*A, JK*B, RHCE*e, RHCE*E, DI*A* และ *GYP*Hut, GYP*Mur, GYP*Hop, GYP*Bun* และ *GYP*HF* ที่ออกแบบต่อ alloantibodies ที่พบในผู้ป่วยชาวไทย ครอบคลุมการตรวจหาอัลลีล 8 ชนิดของแอนติเจน Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, E, e, Di^a และ Mi^a เพื่อหาความถี่ของแอนติเจนบวกและลบในทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง นอกจากนี้ยังได้สุ่ม 30 ตัวอย่างนำมาทำการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) เพื่อยืนยันผลการตรวจ genotype แบบ multiplex PCR

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาพบว่า การใช้ multiplex PCR แยก 7 อัลลีล และ 1 MNS hybrid GPs ให้ผลสอดคล้องกับผลการตรวจทางซีโรโลยีและการตรวจ genotype ด้วยเทคนิค PCR-SSP วิธี multiplex PCR มีความไว แม่นยำ ให้ผลบวกและลบถูกต้อง 100% ซึ่งผลการสุ่มทำ DNA sequencing ซ้ำใน 30 ตัวอย่าง ให้ผลตรงกัน แม้ตัวอย่างจะมีความเข้มข้นเพียง 10-30 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร นอกจากนี้ multiplex PCR ยังสามารถนำความถี่ที่ได้จากการตรวจทั้งหมดไปคำนวณความเป็นไปได้ในการจัดหาเลือดที่เข้ากันได้สำหรับผู้ป่วยไทยที่มี alloantibodies ที่พบได้บ่อย และใช้จัดหาเลือดได้ถูกกลุ่มประชากรตามภูมิภาค เช่น พบผู้บริจาคที่มี antigen e-Jk(a-) ในกลุ่มประชากรไทยภาคกลาง (พบ 1 ใน 109 คน) มากกว่าประชากรไทยภาคเหนือ (พบ 1 ใน 198 คน) เป็นต้น

สรุป

เทคโนโลยีทางชีวภาพระดับโมเลกุลมีหลายวิธีในการประยุกต์นำมาใช้งาน ขณะเดียวกันชุดน้ำยาตรวจก็มีความหลากหลายให้เลือกใช้ เช่น BioArray Human Erythrocyte Antigen (HEA) BeadChip, BLOODchip Reference และ ID CORE XT เป็นต้น แม้จะมีข้อดีในเรื่องของความไวและความจำเพาะ แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง ผู้ใช้งานต้องมีประสบการณ์ และมีความชำนาญที่เฉพาะด้าน การตรวจ genotype ด้วยการประยุกต์ multiplex PCR นั้น ช่วยลดต้นทุนและใช้น้ำยาน้อยลงเหมาะสมกับการนำไปใช้ในประเทศที่มีทรัพยากรที่จำกัด นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์สำหรับผู้ป่วยก่อนการให้เลือด ลดความเสี่ยงในการสร้าง alloantibody เนื่องจากสามารถระบุแอนติเจนลบของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีความสำคัญทางคลินิกได้ ยิ่งไปกว่านั้นยังนำมาใช้ตรวจแอนติเจนในผู้ป่วยที่มี DAT ที่เป็นบวก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่รับเลือดเป็นประจำและมีการสร้างแอนติบอดีหลายตัว

อำนาจ ศิริวงษ์

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ย่อวารสาร

Comparison between non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and low-molecular-weight heparin in asian individuals with cancer-associated venous thromboembolism

JAMA Netw Open. 2021;4(2):e2036304. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.36304

ผู้ป่วย มะเร็ง จะมีความเสี่ยงในการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดดำสูงกว่าประชากรทั่วไป 4 ถึง 7 เท่า แต่เดิมการรักษาที่เป็นมาตรฐานคือการใช้ยาละลายลิ่มเลือดชนิดฉีด คือ low molecular weight heparin เนื่องจากพบว่าสามารถลดอัตราการกลับเป็นซ้ำได้ดีกว่า warfarin ในขณะที่ภาวะเลือดออกรุนแรงไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการใช้ยาฉีดในระยะยาวมักก่อให้เกิดความไม่สะดวก ในปัจจุบันจึงมีการนำยาในกลุ่ม Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants (NOACs) หรือ Direct-acting oral anticoagulants (DOACs) มาใช้ในผู้ป่วยกลุ่มนี้มากขึ้น เนื่องจากพบว่าประสิทธิภาพของยาไม่แตกต่างจาก low molecular weight heparin แต่ผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่ใช่ประชากรในทวีปเอเชีย จึงอาจทำให้ผลการรักษาและอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อนแตกต่างออกไป

รูปแบบการศึกษาและกลุ่มประชากร (Study design and population)

เป็นการเก็บรวบรวมข้อมูลจากฐานข้อมูลในประเทศไต้หวัน ซึ่งรวบรวมผู้ป่วยจากโรงพยาบาลระดับตติยภูมิและโรงเรียนแพทย์ จำนวนผู้ป่วยประมาณร้อยละ 10 ของประเทศ โดยประชากรที่ศึกษา ได้แก่ ผู้ป่วยมะเร็งที่มีอายุตั้งแต่ 18 ปี ที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะลิ่มเลือดอุดตันในเส้นเลือดดำที่ขา (deep vein thrombosis) หรือลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดแดงปอด (pulmonary embolism) เป็นครั้งแรก โดยที่ได้รับการยืนยันด้วยภาพถ่ายรังสี ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการรักษาด้วยยาในกลุ่ม NOACs (apixaban, rivaroxaban, edoxaban หรือ dabigatran) หรือ enoxaparin ทำการเก็บข้อมูลในด้านประสิทธิภาพ (การกลับเป็นซ้ำ) และความปลอดภัย (การเกิดเลือดออกรุนแรง) โดยผลลัพธ์ปฐมภูมิ (primary outcome) จะเป็นผลรวมระหว่างประสิทธิภาพและความปลอดภัย (composite outcome) ระยะเวลาในการติดตามนับตั้งแต่วันที่แรกที่ผู้ป่วยได้รับยาจนถึง เวลาที่กลับเป็นซ้ำ มีเลือดออกรุนแรง เสียชีวิต หรือสิ้นสุดการศึกษา โดยติดตามเป็นเวลาก่อนอย่างน้อย 1 ปี

ผลการวิจัย (Results)

ประชากรที่ทำการศึกษารวมทั้งสิ้น 1,109 คน อายุเฉลี่ย 66 ปี เป็นเพศหญิงและชายใกล้เคียงกัน ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีค่าการทำงานของไตปกติ ระดับเกล็ดเลือดมากกว่า $100 \times 10^9 /L$ และระดับของฮีโมโกลบินมากกว่า 8 g/dL โรคมะเร็งที่พบเรียงตามลำดับได้แก่ มะเร็งปอดร้อยละ 18.9 มะเร็งลำไส้ใหญ่ร้อยละ 13.6 มะเร็งของระบบทางเดินปัสสาวะร้อยละ 6.8 มะเร็งของอวัยวะสตรีร้อยละ 6.5 มะเร็งตับอ่อนร้อยละ 4.1 และมะเร็งกระเพาะอาหารร้อยละ 4.1 โดยผู้ป่วยร้อยละ 48.3 เป็นมะเร็งระยะแพร่กระจายสำหรับภาวะลิ่มเลือดอุดตันนั้น พบการอุดตันของหลอดเลือดดำที่ขาร้อยละ 55 และหลอดเลือดแดงปอดร้อยละ 41.6 ยาในกลุ่ม NOACs ที่ใช้มากที่สุดคือ rivaroxaban ร้อยละ 70.7 รองลงมาคือ apixaban ร้อยละ 9.6

จากการศึกษา เปรียบเทียบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยาในกลุ่ม NOACs และ enoxaparin พบว่ายาในกลุ่ม NOACs มีแนวโน้มที่จะลดการกลับเป็นซ้ำของลิ่มเลือดและอุบัติการณ์ของการเกิดเลือดออกรุนแรงได้ดีกว่า enoxaparin แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ายาในกลุ่ม NOACs มีเลือดออกรุนแรงจากทางเดินอาหาร และมีอัตราการเสียชีวิตที่ต่ำกว่ายา enoxaparin แสดงดังตาราง

จากการวิเคราะห์กลุ่มประชากรย่อย (subgroup analysis) พบว่าให้ผลไปในแนวทางเดียวกับผลการวิเคราะห์โดยรวม ยกเว้นในผู้ป่วยที่มีระดับเกล็ดเลือดที่น้อยกว่า $50 \times 10^9 /L$ หรือมีฮีโมโกลบินน้อยกว่า 8 g/dL การใช้ยา NOACs จะมีความเสี่ยงในการกลับเป็นซ้ำและมีภาวะเลือดออกสูงกว่า enoxaparin

จากผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่ายาในกลุ่ม NOACs มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดลิ่มเลือดอุดตันในผู้ป่วยมะเร็งชาวเอเชียได้เท่ากับการใช้ยา enoxaparin และมีภาวะเลือดออกรุนแรงไม่ต่างกัน แต่มีภาวะเลือดออกรุนแรงในระบบทางเดินอาหารที่น้อยกว่า

Outcome	No. (%)		Weighted		Competing risk	
	NOAC (n = 529)	LMWH (n = 580)	HR (95%CI)	p-value	SHR (95%CI)	p-value
Recurrent VTE or major bleeding	75 (14.1)	101 (17.4)	0.77 (0.56-1.07)	.11	0.79 (0.59-1.07)	.12
Recurrent VTE	38 (7.2)	60 (10.3)	0.68 (0.45-1.01)	.05	0.68 (0.45-1.01)	.05
Recurrent DVT	22 (4.2)	27 (4.7)	0.88 (0.50-1.55)	.40	0.88 (0.50-1.55)	.66
Recurrent PE	16 (3.0)	33 (5.7)	0.52 (0.29-0.95)	.05	0.52 (0.29-0.95)	.03
Major bleeding (overall)	39 (7.4)	55 (9.5)	0.69 (0.46-1.04)	.32	0.77 (0.51-1.16)	.21
Major GI bleeding	10 (1.9)	41 (7.1)	0.23 (0.12-0.47)	<.001	0.26 (0.13-0.52)	<.001
Non-GI bleeding	29 (5.5)	18 (3.1)	1.61 (0.90-2.90)	.05	1.79 (1.00-3.23)	.05
All-cause mortality	82 (15.5)	186 (32.1)	0.43 (0.33-0.55)	<.001	NA	NA

หมายเหตุ: SHR, subdistribution hazard ratio

วิจารณ์

ยาในกลุ่ม NOACs เป็นยาทางเลือกที่เหมาะสมในการใช้รักษาภาวะลิ่มเลือดอุดตันในผู้ป่วยมะเร็ง เนื่องจากการบริหารยาโดยการรับประทานและไม่จำเป็นต้องติดตามระดับยาในเลือดในผู้ป่วยทุกราย จึงทำให้มีความสะดวก อันจะส่งผลทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยดีขึ้น การศึกษานี้ทำในผู้ป่วยในทวีปเอเชีย ซึ่งมีความใกล้เคียงกับผู้ป่วยในประเทศไทย โดยใช้จำนวนตัวอย่างจำนวน 1,109 ราย ซึ่งมีลักษณะที่เหมือนกับผู้ป่วยมะเร็งในเวชปฏิบัติจริง เช่น มีภาวะซีด เกล็ดเลือดต่ำ (ในขณะที่การศึกษาก่อนหน้านี้ไม่นับรวมผู้ป่วยที่มีระดับฮีโมโกลบินน้อยกว่า 8 หรือ 10 g/dL) และมีการใช้สถิติที่เหมาะสมในการตัดปัจจัยรบกวน อีกทั้งยังมีระยะเวลาในการติดตามผู้ป่วยที่ยาวนานเพียงพอในการประเมินการกลับเป็นซ้ำของภาวะลิ่มเลือดอุดตัน นอกจากนี้ยาในกลุ่มควบคุมได้แก่ยา enoxaparin เป็น low molecular weight heparin ชนิดเดียวกับที่มีใช้ในประเทศไทย จึงทำให้สามารถนำผลการศึกษามาประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยในประเทศไทยได้

การศึกษานี้มีรูปแบบการวิจัยเชิงพรรณนา จึงอาจทำให้ความน่าเชื่อถือของผลที่ได้ลดลง เนื่องจากคุณลักษณะและการรักษาประคับประคองอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับอาจไม่เหมือนกัน สำหรับผลการศึกษาที่พบว่ายาในกลุ่ม NOACs มีภาวะเลือดออกจากทาง

เดินอาหารที่ต่ำกว่า อาจเป็นผลจากการที่ผู้ป่วยในกลุ่มนี้มีสัดส่วนของโรคมะเร็งในระบบทางเดินอาหารที่ต่ำกว่า ส่วนอัตราการเสียชีวิตที่ต่ำกว่า อาจเกิดจากการพบผู้ป่วยโรคมะเร็งในผู้ป่วยระยะแพร่กระจายที่น้อยกว่าด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ก่อนหน้านี้พบว่าให้ผลการรักษาที่นี้ขัดแย้งกับการศึกษาชนิดควบคุมแบบสุ่ม (randomized controlled trial) ซึ่งพบว่าการใช้ยาในกลุ่ม NOACs มีอุบัติการณ์ของการเกิดเลือดออกจากทางเดินอาหารที่สูงกว่ายา dalteparin ความแตกต่างดังกล่าวอาจมาจากกลุ่มประชากรที่แตกต่างกันในเรื่องเชื้อชาติและลักษณะอื่นๆ ของประชากร การศึกษาในอนาคตในรูปแบบการควบคุมแบบสุ่มจะทำให้มีผลการศึกษาที่น่าเชื่อถือมากกว่า สำหรับการประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยนั้น หากต้องการใช้ยา NOACs ควรจะต้องเลือกใช้กับผู้ป่วยที่มีค่าการทำงานของไตที่เป็นปกติ มีระดับฮีโมโกลบินเกิน 8 g/dL มีระดับเกล็ดเลือดที่สูงกว่า $50 \times 10^9 /L$ และควรหลีกเลี่ยงในผู้ป่วยมะเร็งของระบบทางเดินอาหารเนื่องจากผลการศึกษายังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน

นพ. รัฐพันธ์ ละมูล