บทบรรณาธิการ

การตรวจคัดกรองและวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในระยะก่อนคลอดในประเทศไทย

พิมพ์ลักษณ์ เจริญขวัญ

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โรคธาลัสซีเมีย (Thalassemia) เป็นภาวะโลหิตจางที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนด้อย (autosomal recessive) ที่มีความสำคัญมากในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เนื่องจากเป็นภูมิภาคที่มีความถี่ของยีน (gene frequency) ในประชากรสูง ในประเทศไทย ความชุกของพาหะธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ จะแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาคของประเทศ ในภาคเหนือ โดยประมาณจาก ความชุกของพาหะเบต้า-ธาลัสซีเมีย พาหะอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1 และพาหะของฮีโมโกลบิน อี ร้อยละ 6, 9 และ 10 ตามลำดับ เมื่อคำนวณจากความถี่ของยีน จะได้ว่าในจำนวนทารกคลอดทุกๆ 1,000 ราย จะมีทารกที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 ชนิด คือ โรคเบต้า-ธาลัสซีเมีย เมเจอร์ 1 ราย ทารกบวมน้ำจากฮีโมโกลบิน บาร์ท (Hb Bart's Hydrops fetalis) 2 ราย และ โรคเบต้า-ธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบิน อี 3 ราย[1]

เนื่องจากทารกบวมน้ำจากฮีโมโกลบิน บาร์ท จะเสียชีวิตตั้งแต่ในครรภ์หรือตายคลอด และอาจทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนทางสูติศาสตร์ในมารดา เช่น ภาวะความดันโลหิตสูง (pre-ecclampsia, ecclampsia) และผู้ที่เป็นโรคเบต้า-ธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (thalassemia major) จะต้องได้รับการรักษาโดยการเติมเลือดและขับธาตุเหล็กอย่างต่อเนื่องตลอดชีวิต มีผลต่อทั้งทางร่างกาย จิตใจ และคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย การรักษาให้หายขาดมีเพียงการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดซึ่งยังมีข้อจำกัดหลายประการ การตรวจคัดกรองและวินิจฉัยในระยะก่อนคลอด (prenatal screening and diagnosis) ของโรคธาลัสซีเมียจึงมีความสำคัญ กระบวนการนี้ประกอบด้วย การให้ความรู้ การตรวจคัดกรองหาผู้ที่เป็นพาหะและคู่สมรสที่มีความเสี่ยงที่จะมีบุตรที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง และการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด[1,2]

ระบาดวิทยาของธาลัสซีเมีย

ข้อมูลทางระบาดวิทยาซึ่งรวมถึง ข้อมูลทางประชากรศาสตร์ (demographic data) และข้อมูลของโรคธาลัสซีเมีย ได้แก่ ความถี่ของยีนในประชากร ชนิดของมิวเตชั่น (mutation) และลักษณะทางโลหิตวิทยา เป็นพื้นฐานสำคัญในการวางแผนการตรวจคัดกรองพาหะของธาลัสซีเมียให้มีประสิทธิภาพ คุ้มค่าใช้จ่ายและครอบคลุม ในประเทศไทย ความชุกของพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ จะแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่[3] เช่น ความชุกของพาหะฮีโมโกลบิน อี พบสูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

การย้ายถิ่นฐานของประชากรภายในประเทศ ทำให้ความถี่ของยีนในแต่ละพื้นที่เปลี่ยนแปลงไป นพ. วิชัย เทียนถาวร และคณะ ได้ศึกษาความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในแต่ละพื้นที่ของศูนย์เขตอนามัย และได้รายงานในวารสารฉบับนี้ พบว่าความชุกของพาหะฮีโมโกลบิน อี ในภาคกลางและภาคตะวันออก สูงขึ้นเมื่อเทียบกับการศึกษาเดิม ความรู้นี้จะมีประโยชน์ในการประมาณจำนวน

คู่เสี่ยง วางแผนการให้บริการ และเพื่อประเมินประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองและตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

การตรวจคัดกรองและวินิจฉัยในระยะก่อนคลอดของโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย

มีจุดประสงค์เพื่อคัดกรองคู่สามีภรรยาที่มีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงสามชนิดดังกล่าวและให้การวินิจฉัยทารกตั้งแต่อยู่ในครรภ์

กระบวนการดังกล่าวประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ

1. การให้ความรู้และคำแนะนำทางพันธุศาสตร์แก่หญิงตั้งครรภ์และสามี
2. การกำหนดคู่เสี่ยง

2.1 การตรวจคัดกรองพาหะของธาลัสซีเมียโดยวิธี Osmotic fragility test (OFT) หรือตรวจ Mean corpuscular volume (MCV) และ Dichlorophenolindophenol precipitation (DCIP) test หรือ Hb E screening test[4]

2.2 การวินิจฉัยพาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมียและพาหะของฮีโมโกลบิน อี โดยการวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin analysis) และวินิจฉัยพาหะของอัลฟ่าธาลัสซีเมีย 1 ชนิดเซาท์อีสท์ เอเชี่ยน (Southeast Asian deletional α-thalassemia) โดยการตรวจในระดับยีน

3. การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด
4. การแจ้งผลและให้คำแนะนำแก่หญิงตั้งครรภ์และสามี

การให้คำแนะนำทางพันธุศาสตร์แก่หญิงตั้งครรภ์และสามี

หญิงตั้งครรภ์และสามีทุกคู่ควรได้รับความรู้และคำแนะนำทางพันธุศาสตร์เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียตั้งแต่ครั้งแรกที่มาฝากครรภ์ และเมื่อทั้งคู่พร้อมใจที่จะรับการตรวจจึงดำเนินการเจาะเลือด ซึ่งแนะนำให้เจาะเลือดทั้งหญิงตั้งครรภ์และสามีไว้พร้อมกัน เพื่อลดปัญหาในการติดตามสามีกลับมาเจาะเลือดในภายหลังในกรณีที่หญิงตั้งครรภ์นั้นเป็นพาหะและจำเป็นต้องตรวจเลือดสามีด้วย

การตรวจคัดกรองพาหะของธาลัสซีเมีย

พาหะของธาลัสซีเมียสามชนิดที่มีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงและจำเป็นต้องตรวจคัดกรอง คือ พาหะของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1 (α-thalassemia 1 carrier) พาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมีย (β-thalassemia carrier) และพาหะของฮีโมโกลบิน อี (hemoglobin E carrier)

การตรวจคัดกรองเบื้องต้นทำโดยวิธี Osmotic fragility test (OFT) ซึ่งอาศัยหลักการว่าเม็ดเลือดแดงของผู้ที่เป็นพาหะของธาลัสซีเมียจะแตกยากกว่าคนปกติในสารละลายที่เป็น hypotonic solution ดังนั้น เมื่อใส่เม็ดเลือดแดงของคนปกติลงใน hypotonic solution จะเห็นสารละลายมีลักษณะใส เนื่องจากเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่แตก (hemolysis) และเมื่อตรวจผู้ที่เป็นพาหะของธาลัสซีเมียหรือเป็นโรคธาลัสซีเมีย จะเห็นลักษณะสารละลายขุ่น เนื่องจากเม็ดเลือดแดงแตกน้อยกว่าปกติ โดยทั่วไปนิยมตรวจด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 36 (0.36% normal saline solution) ในการตรวจแบบ one-tube OFT อ่านผลความขุ่นหรือใสด้วยตาเปล่า ในห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือ spectrophotometry จะทำให้วัดค่าได้ละเอียดถูกต้องมากขึ้น ถือผลเป็นบวก เมื่อเม็ดเลือดแดงแตกน้อยกว่าร้อยละ 60 ผลบวกลวงของ OFT อาจพบได้ในผู้ที่มีภาวะโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก

การตรวจ OFT นี้มีความไวสูงร้อยละ 95 สามารถคัดกรองพาหะของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1 และพาหะของเบต้าธาลัสซีเมียได้เกือบทั้งหมด และมีความจำเพาะร้อยละ 86[5] ที่คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ 0.45% (0.45% glycerine saline solution) เพื่อเพิ่มความไวของการตรวจ ซึ่งการตรวจที่ความเข้มข้นนี้มีความไวร้อยละ 97.6 และความจำเพาะร้อยละ 72.9

ในกรณีที่ห้องปฏิบัติการมีเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดที่บอกค่าขนาดของเม็ดเลือดแดงเฉลี่ย (mean corpuscular volume; MCV) ได้ ก็สามารถใช้ค่า MCV แทนการตรวจ OFT ได้[6] โดยพาหะของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1

และพาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมียมีเม็ดเลือดแดงขนาดเล็ก หรือ MCV ต่ำกว่า 80 fL ค่า MCV ต้องได้จากเลือดใหม่ที่เจาะภายในวันเดียว มิฉะนั้นค่าจะเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น

แม้การตรวจ OFT หรือ MCV จะใช้คัดกรองพาหะของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1 และพาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมียได้ดี แต่พาหะของฮีโมโกลบิน อี เพียงประมาณร้อยละ 70 เท่านั้น ที่จะให้ผลบวกต่อ OFT[4] ดังนั้น จึงต้องมีการตรวจเพิ่มเติมเพื่อคัดกรองพาหะของฮีโมโกลบิน อี ควบคู่กันไปกับ OFT การตรวจคัดกรองพาหะของฮีโมโกลบิน อี ที่ใช้กันแพร่หลายคือ วิธี Dichlorophenolindophenol precipitation (DCIP) test ซึ่งมีหลักการว่าสี DCIP จะทำให้ฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียร (unstable hemoglobin) เช่น ฮีโมโกลบิน อี และฮีโมโกลบิน เอช ตกตะกอน การตรวจ OFT และ DCIP test ควบคู่กันจะสามารถคัดกรองพาหะของธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงทั้งหมดได้ โดยมีความไวร้อยละ 100 และความจำเพาะร้อยละ 79.7-87.1[7,8] การตรวจ DCIP test อาศัยอุณหภูมิในการตรวจและ incubation time ที่แม่นยำเพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดผลลบลวง ในปัจจุบันมี DCIP diagnostic test kit แพร่หลายซึ่งจะทำให้การตรวจทำได้สะดวกและแปลผลได้ชัดเจนขึ้น

นอกจากการตรวจ DCIP test แล้ว การตรวจคัดกรองพาหะของฮีโมโกลบิน อี สามารถทำได้โดยวิธี Hb E Screening test[4] ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากการตรวจ microcolumn chromatographyโดยอาศัยหลักการของ anion exchanger เมื่อลด pH ในคอลัมน์ลงมาที่ 8.2 ฮีโมโกลบิน อี และ A_2 จะถูก elute ออกมาทำให้เห็นสีแดงของฮีโมโกลบินทั้งคอลัมน์ การตรวจด้วยวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูง แต่การเตรียมน้ำยาตรวจอาศัยความชำนาญ และยังมีจำกัดเฉพาะบางห้องปฏิบัติการ

การวินิจฉัยพาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมีย พาหะของฮีโมโกลบิน อี และพาหะของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1

จากการตรวจคัดกรองเบื้องต้นด้วย OFT หรือ MCV และ DCIP test จะได้คู่สามีภรรยาที่จำเป็นต้องตรวจต่อเพื่อกำหนดชนิดของพาหะของ ธาลัสซีเมีย และแยกผู้ที่ไม่ใช่พาหะของธาลัสซีเมียแต่ให้ผลบวกลวงจากภาวะอื่นๆ เช่น การขาดธาตุเหล็ก

การวินิจฉัยพาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบิน อี ทำได้โดยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน (hemoglobin analysis) โดยวิธีอิเลกโตรโฟรีซิส (electrophoresis) ซึ่งโดยทั่วไปทำบน cellulose acetate gel ที่ alkaline pH ร่วมกับการวัดสัดส่วนของฮีโมโกลบิน A_2 ด้วยวิธี microcolumn test หรือการตรวจโดยเครื่องอัตโนมัติ high pressure liquid column chromatography (HPLC) หรือ low pressure liquid column chromatography (LPLC) การตรวจด้วย HPLC มีข้อดีคือ บอกสัดส่วนของฮีโมโกลบิน A_2 และ เอฟ ได้ สามาถแยกฮีโมโกลบินที่ผิดปกติให้เห็นได้ชัดเจน ค่าที่วัดได้แม่นยำ และใช้เวลาในการตรวจสั้น แต่มีข้อเสียคือ ราคาแพง พาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมียจะให้ลักษณะฮีโมโกลบินเป็น A_2A โดยมีปริมาณฮีโมโกลบิน A_2 ระหว่างร้อยละ 4.0-10 ส่วนพาหะของฮีโมโกลบิน อี จะให้ลักษณะฮีโมโกลบินเป็น EA และมีปริมาณฮีโมโกลบิน อี ระหว่างร้อยละ 25-35 ผู้ที่มีภาวะฮีโมโกลบิน อี/เบต้า-ธาลัสซีเมียจะให้ลักษณะฮีโมโกลบินเป็น EF และมีปริมาณฮีโมโกลบิน อี ระหว่างร้อยละ 40-60 ผู้ที่เป็นโฮโมซัยโกทของฮีโมโกลบินอี จะให้ลักษณะฮีโมโกลบินเป็น EF และมีปริมาณฮีโมโกลบิน อี ระหว่างร้อยละ 85-100

การวินิจฉัยพาหะของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1 จำเป็นต้องตรวจความผิดปกติในระดับยีน ในประเทศไทยโดยทั่วไปตรวจเฉพาะชนิด Southeast Asian (SEA) deletion เนื่องจากเป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุดและครอบคลุมผู้ที่เป็นพาหะของอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1 เกือบทั้งหมด การตรวจทำได้โดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ส่วนอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย 1 ชนิดอื่นที่มีรายงานในประเทศไทยคือ Thai deletion ซึ่งพบน้อย มักจะใช้วิธีตรวจแบบย้อนหลังในครอบครัวที่เคยมีประวัติ Hb Bart's hydrops fetalis ที่ไม่ได้เกิดจาก homozygous SEA deletion

ข้อสำคัญในขั้นตอนการวินิจฉัยพาหะคือ ในรายที่ให้ผลบวกต่อ OFT ต้องตรวจหาการเป็นพาหะของทั้งเบต้า-ธาลัสซีเมีย และอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย ควบคู่กันไปเสมอ เนื่องจากยีนเบต้า-โกลบินและยีนอัลฟ่า-โกลบินอยู่ต่างโครโมโซมกัน ดังนั้น บุคคลหนึ่งจะสามารถเป็นพาหะของทั้งเบต้า-ธาลัสซีเมีย และอัลฟ่า-ธาลัสซีเมียร่วมกันได้

ปัญหาที่พบได้ในขั้นตอนการตรวจคัดกรองและการวินิจฉัยพาหะ คือการมีภาวะขาดธาตุเหล็กร่วมด้วย ซึ่งจะมีผลให้ระดับฮีโมโกลบิน ค่า MCV และ MCH ต่ำลง การทดสอบกับ OFT ให้ผลบวก และค่าฮีโมโกลบิน A_2 ลดลง ในรายที่มีภาวะขาดธาตุเหล็กและตรวจได้ระดับฮีโมโกลบิน A_2 ปกติ จึงควรตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินซ้ำหลังจากได้รับการรักษาด้วยธาตุเหล็กแล้ว

การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

ประกอบด้วยหัตถการทางสูติศาสตร์และการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยทารกในครรภ์ของคู่เสี่ยง การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดในประเทศไทยมี 2 แนวทาง คือ

1. การตรวจในระดับยีนเพื่อหาชนิดของมิวเตชั่น (mutational analysis) จากดีเอ็นเอที่สกัดได้จากชิ้นเนื้อรก (chorionic villi) หรือน้ำคร่ำ (amniotic fluid) หรือเลือดของทารกในครรภ์
2. การตรวจวิเคราะห์ชนิดของฮีโมโกลบินจากเลือดของทารกในครรภ์ (fetal hemoglobin analysis)

หัตถการทางสูติศาสตร์

การเจาะตรวจชิ้นเนื้อรก (chorionic villi sampling, CVS) ทำผ่านทางหน้าท้องมารดาหรือทางปากมดลูก ขึ้นกับตำแหน่งของรก โดยใช้อัลตราซาวนด์ช่วยกำหนดตำแหน่ง มีข้อดีคือ ทำได้ตั้งแต่อายุครรภ์น้อยในไตรมาสแรก ซึ่งจะลดความกังวลของคู่เสี่ยง และลดความเสี่ยงทางสูติศาสตร์ในกรณีที่ต้องยุติการตั้งครรภ์ ผลข้างเคียงจากการเจาะตรวจชิ้นเนื้อรก ได้แก่ เลือดออกผิดปกติทางช่องคลอด การติดเชื้อ และการแท้ง (พบประมาณร้อยละ 0.5)[9] มีรายงานของการเกิดความผิดปกติของแขนขา (limb reduction defect) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อทำหัตถการที่อายุครรภ์น้อยกว่า 8 สัปดาห์[10,11] จึงแนะนำให้ตรวจด้วยวิธีนี้ที่อายุครรภ์ 10 สัปดาห์ขึ้นไป อายุครรภ์ที่เหมาะสมคือ 10-12 สัปดาห์ ชิ้นเนื้อรกที่ได้จะนำไปสกัดแยกดีเอ็นเอและตรวจในระดับโมเลกุลต่อไป การแปลผลการตรวจในระดับโมเลกุลจำเป็นต้องทราบชนิดของมิวเตชั่นในบิดามารดาด้วย

วิธีการเจาะตรวจน้ำคร่ำ (amniocentesis) ทำได้ที่อายุครรภ์ 15-19 สัปดาห์ มีประโยชน์ในรายที่เข้ารับการตรวจวินิจฉัยช้ากว่าที่จะเจาะชิ้นเนื้อรก การตรวจวิธีนี้มีโอกาสปนเปื้อนเซลล์จากเลือดของมารดา (maternal cell contamination) ในระหว่างการเจาะตรวจได้ และอาจจะได้ปริมาณดีเอ็นเอไม่เพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ ซึ่งต้องอาศัยการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อ 2-3 สัปดาห์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

การเจาะเลือดของทารกในครรภ์จากสายสะดือ (fetal blood sampling) ต้องทำโดยสูติแพทย์ที่มีความชำนาญสูง อายุครรภ์ที่เหมาะสมคือ 18-22 สัปดาห์ ข้อดีของวิธีนี้คือ วิธีตรวจการปนเปื้อนเซลล์ของมารดาทำได้ง่ายโดยการย้อม acid elution และตรวจหา ghost cell จากมารดา ตัวอย่างเลือดของทารกในครรภ์ที่ได้ สามารถนำไปตรวจแยกชนิดของฮีโมโกลบินโดยวิธี HPLC เพื่อให้การวินิจฉัยทารกในครรภ์ได้รวดเร็วและมีราคาถูก หรือสามารถนำไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อตรวจวิเคราะห์ได้ ข้อด้อยของวิธีนี้คือ ทำได้ในไตรมาสที่สอง ผลข้างเคียงของวิธีนี้ ได้แก่ ภาวะเลือดออกจากตำแหน่งที่เจาะเลือดชั่วคราว ภาวะหัวใจของทารกเต้นช้าลงชั่วคราว การแท้งที่เกี่ยวเนื่องกับหัตถการพบร้อยละ 1[12]

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

การวินิจฉัยอัลฟ่า-ธาลัสซีเมีย ชนิด Southeast

Asian deletion และมิวเตชั่นอื่น เช่น Thai deletion ซึ่งเป็น large deletion นิยมทำโดยวิธี gap polymerase chain reaction (PCR) จากดีเอ็นเอที่ได้จากชิ้นเนื้อรกหรือเลือดของทารกในครรภ์ หรือวินิจฉัยโดยการแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วย HPLC

การวินิจฉัยเบต้า-ธาลัสซีเมีย ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากมิวเตชั่นเฉพาะจุด (point mutation) ทำโดยเทคนิคที่มีพื้นฐานจาก PCR ซึ่งมีหลายวิธี เช่น allele-specific oligonucleotide (ASO) hybridization, reverse dot-blot hybridization[13], amplification refractory mutation system (ARMS) และ restriction enzyme analysis of amplified product สำหรับ known mutation หรือ DNA sequencing สำหรับมิวเตชั่นที่พบน้อย และสามารถใช้การแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วย HPLC เพื่อวินิจฉัยด้วย

การเลือกวิธีตรวจขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและความชำนาญของห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่ได้ดีเอ็นเอจากชิ้นเนื้อรก จำเป็นต้องตรวจในระดับยีน ส่วนกรณีที่ได้เลือดของทารกในครรภ์ สามารถตรวจทั้งในระดับยีนและการวิเคราะห์แยกชนิดของฮีโมโกลบินด้วย HPLC ซึ่งมีข้อดีคือ ทำได้รวดเร็ว ราคาถูก ที่คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ใช้การตรวจ HPLC จากเลือดของทารกในครรภ์และให้การวินิจฉัยได้มากกว่าร้อยละ 90 ของทั้งหมด และที่ผลไม่ชัดเจนจะตรวจในระดับยีนต่อไป[14-16]

ความก้าวหน้าในวิธีการวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในระยะก่อนคลอด

วิธีการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ที่ใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน ซึ่งรวมถึง การเจาะตรวจชิ้นเนื้อรก การเจาะเลือดจากสายสะดือ เป็นการตรวจที่รุกล้ำร่างกายและทำให้เกิดความเสี่ยงกับมารดาและทารกในครรภ์ จึงได้มีผู้พยายามศึกษาหาวิธีตรวจที่ไม่รุกล้ำร่างกายเพื่อลดความเสี่ยงเหล่านี้ ในระยะเริ่มแรกได้มีผู้แยกเซลล์ของทารกในครรภ์ (fetal cell) ที่ปะปนอยู่ในเลือดของมารดา แต่กระบวนการมีข้อจำกัดเนื่องจากจำนวนเซลล์ดังกล่าวมีน้อยมาก ในปี ค.ศ. 1997 Lo YM และคณะได้ค้นพบว่ามี ดีเอ็นเออิสระ (cell-free DNA) ของทารกในครรภ์อยู่ในพลาสมาของหญิงตั้งครรภ์[17] ซึ่งจะตรวจพบได้ตั้งแต่ไตรมาสแรกและมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามอายุครรภ์ และหลังคลอดปริมาณดีเอ็นเอจะลดลงอย่างรวดเร็ว ความรู้ดังกล่าวได้เป็นพื้นฐานที่สำคัญในการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอของทารกในครรภ์ที่แยกได้จากเลือดของมารดา (fetal DNA in maternal plasma)

ในระยะแรก ได้มีการนำวิธีตรวจมาใช้ในการตรวจโรคกลุ่มที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ X-linked และการวิเคราะห์หมู่เลือด Rh(D) โดยอาศัยหลักการว่า เมื่อตรวจ plasma DNA ในหญิงตั้งครรภ์ ถ้าพบ marker ของโครโมโซม Y ทารกในครรภ์น่าจะเป็นเพศชาย[17] หรือเมื่อตรวจพบยีนของหมู่เลือด Rh(D) ในมารดาที่มีหมู่เลือด Rh(D) negative ทารกในครรภ์น่าจะมีหมู่เลือด Rh(D) positive[18]

ในปี ค.ศ. 2002 Chiu RWK และคณะได้รายงานการนำวิธีตรวจมาใช้ในการแยกโรค (exclusion) ของเบต้า-ธาลัสซีเมีย เมเจอร์ โดยใช้ real-time PCR ในคู่เสี่ยงที่สามีเป็นพาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมียและมีมิวเตชั่นชนิด codon 41/42 -CTTT ซึ่งพบว่าผลการตรวจตรงกับผลที่ได้จากวิธีปกติ[19] อย่างไรก็ดี การตรวจยังมีข้อจำกัด คือ มิวเตชั่นของเบต้า-ธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์และสามีต้องแตกต่างกัน เพื่อจะได้สร้าง marker ที่มีความจำเพาะต่อมิวเตชั่นของสามี สำหรับตรวจว่ามีหรือไม่ในทารกในครรภ์ เช่น กรณีที่สามีมีมิวเตชั่นแบบ codon 41/42 -CTTT และหญิงตั้งครรภ์มีมิวเตชั่นแบบอื่น ถ้าตรวจพบ marker ของ codon 41/42 -CTTT จาก plasma DNA แปลผลได้ว่าทารกในครรภ์ได้รับมิวเตชั่นนี้จากบิดา และมีโอกาสเป็นได้คือ พาหะแบบเดียวกับบิดา หรือเป็นโรคในกรณีที่ทารกได้รับมิวเตชั่น

จากมารดาด้วย ซึ่งการวินิจฉัยที่แน่นอนจำเป็นต้องตรวจตามวิธีปกติต่อไป ส่วนถ้าตรวจไม่พบ marker ของ codon 41/42 -CTTT แปลผลได้ว่าทารกไม่ได้รับมิวเตชั่นจากบิดา และมีโอกาสเป็นได้คือ ปกติ หรือเป็นพาหะแบบเดียวกับมารดา ซึ่งจะลดความจำเป็นในการตรวจแบบรุกล้ำร่างกายในกลุ่มนี้ได้ ในปี ค.ศ. 2003 กุลนภา ฟู่เจริญและคณะ ได้รายงานการตรวจดังกล่าวสำหรับการวินิจฉัยฮีโมโกลบิน อี ในประเทศไทย[20]

ในปี ค.ศ. 2004 คณะของ Lo YM ได้พัฒนาการตรวจในธาลัสซีเมียให้มีความไวและจำเพาะมากขึ้น โดยพัฒนาในกระบวนการ PCR และใช้ mass spectrophotometry เพื่อวิเคราะห์ นอกจากนี้ ได้เพิ่มการวิเคราะห์ fetal haplotype โดยการตรวจ single-nucleotide polymorphism ที่ link กับยีนเบต้า-โกลบิน ซึ่งทำให้สามารถใช้ผลนี้ในการวินิจฉัยทารกในครรภ์ที่บิดาและมารดามีมิวเตชั่นแบบเดียวกัน[21]

การวิเคราะห์ดีเอ็นเอของทารกในครรภ์จากพลาสมาของมารดานี้เป็นเทคนิคที่มีค่าใช้จ่ายสูง ต้องการบุคลากรในห้องปฏิบัติการที่มีความชำนาญอย่างสูง และเครื่องมือที่มีความไวและความจำเพาะต่อดีเอ็นเอปริมาณน้อย ซึ่งในอนาคต หวังว่าจะมีการพัฒนาเพื่อนำมาใช้บริการในคู่เสี่ยงได้ต่อไป

ความก้าวหน้าในการวินิจฉัยภาวะธาลัสซีเมียในระยะก่อนคลอดอีกวิธีหนึ่งคือ การวินิจฉัยในระยะก่อนการฝังตัวของตัวอ่อน (Preimplantation genetic diagnosis; PGD) วิธีนี้เป็นการวินิจฉัยตัวอ่อน ก่อนที่จะฝังตัวในโพรงมดลูก จึงสามารถหลีกเลี่ยงความจำเป็นในการยุติการตั้งครรภ์ กระบวนการนี้ประกอบด้วย ขั้นตอน in-vitro fertilization (IVF) ซึ่งรวมถึง oocyte retrieval, fertilization และการเก็บเซลล์ตัวอย่างจากตัวอ่อนเพื่อวิเคราะห์และเลือกตัวอ่อนที่ไม่เป็นโรค จากนั้นจึงย้ายตัวอ่อนเข้าสู่โพรงมดลูก (embryo transfer) เทคนิคในการเก็บเซลล์จากตัวอ่อน ได้แก่ การตัดตรวจเซลล์ 1 เซลล์จากเอมบริโอที่ระยะ 8-10 เซลล์ การตรวจจากโทรโฟเอคโตเดิร์ม (trophoectoderm) และการตรวจ polar body ในปี ค.ศ. 1999 Kuliev A และคณะได้รายงานการพัฒนาเทคนิคโดยวินิจฉัยตัวอ่อนจาก polar body และประสบผลสำเร็จโดยมีการคลอดทารกที่ไม่เป็นโรค[22] ในปี ค.ศ. 2005 Kuliev A และคณะได้รายงานการคลอดทารกและการตั้งครรภ์ที่ไม่เป็นโรคธาลัสซีเมีย 45 และ 53 ราย ตามลำดับ และได้พัฒนาการตรวจ HLA typing ไปพร้อมกัน ซึ่งทำให้สามารถดำเนินการปลูกถ่ายเสต็มเซลล์ในพี่ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียได้สำเร็จ 1 ราย[23] วิธี PGD นี้มีข้อจำกัดที่ต้องใช้ความชำนาญอย่างสูงทั้งในด้านหัตถการทางสูติศาสตร์ เวชศาสตร์การเจริญพันธุ์ และการตรวจทางพันธุกรรมในระดับเซลล์เดียว และมีค่าใช้จ่ายสูงมาก เป็นที่น่ายินดีว่า นพ. วีรวิทย์ ปิยะมงคล ได้รายงานทารกที่ไม่เป็นโรคธาลัสซีเมียที่เกิดจากบิดาและมารดาที่เป็นพาหะของเบต้า-ธาลัสซีเมียและมีมิวเตชั่นชนิด codon 41/42 -CTTT รายแรกของประเทศไทยและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่ได้รับการตรวจ PGD และคลอดในปี ค.ศ. 2005[24]

สรุป

การตรวจคัดกรองและวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในระยะก่อนคลอดในประเทศไทยมีความก้าวหน้าและสามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพ การดำเนินการขั้นต่อไปคือการสร้างเครือข่ายและระบบให้เกิดความครอบคลุม และการพัฒนาเทคโนโลยีใหม่เพื่อปรับใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. *Tongsong T, Wanapirak C, Sirivatanapa P, et al. Prenatal control of severe thalassemia: Chiang Mai strategy. Prenat Diagn 2000;20:229-34.*
2. *Galanello R, Eleftheriou A, Traeger-Synodinos J, Old J, Petrou M, Angastiniotis M. Prevention of thalassaemias and other haemoglobin disorders. 1st ed. Nicosia: Team up Creations Ltd; 2003.*

3. คณะอนุกรรมการผู้เชี่ยวชาญโรคเลือด. โรคธาลัสซีเมีย. ใน: บุญเชียร ปานเสถียรกุล, บรรณาธิการ. สถานการณ์ในปัจจุบันและกลวิธีในการป้องกันและควบคุมโรคเลือดในประเทศไทย (พ.ศ. 2532-2533). กรุงเทพฯ:นำอักษรการพิมพ์; 2533: หน้า 1-43.
4. Sanguansermeri T, Sangkapreecha C, Steger HF. HbE screening test. Thai J Hematol Transf Med 1998;8: 215-21.
5. Chow J, Phelan L, Bain BJ. Evaluation of single-tube osmotic fragility as a screening test for thalassemia. Am J Hematol 2005;79:198-201.
6. Sirichotiyakul S, Maneerat J, Sanguansermeri T, Dhananjayanonda P, Tongsong T. Sensitivity and specificity of mean corpuscular volume testing for screening for α-thalassemia-1 and β-thalassemia traits. J Obstet Gynaecol Res 2005;31:198-201.
7. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. Am J Pathol 2005;123:113-8.
8. Sangkitporn S, Sangkitporn S, Sanghoi A, Supangwiput O, Tanphaichitr VS. Validation of osmotic fragility test and dichlorophenol indophenol precipitation test for screening of thalassemia and Hb E. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005;36: 1538-42.
9. Evans MI, Wapner RJ. Invasive prenatal diagnostic procedures 2005. Semin Perinatol 2005;29:215-8.
10. Firth HV, Boyd PA, Chamberlain P, MacKenzie IZ, Lindenbaum RH, Huson SM. Severe limb abnormalities after chorion villus sampling at 56-66 days' gestation. Lancet 1991;337:762-3.
11. Froster UG, Jackson L. Limb defects and chorionic villus sampling: results from an international registry, 1992-94. Lancet 1996;347:489-94.
12. Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikatikul C, Sirichotiyakul S, Piyamongkol W, Chanprapaph P. Cordocentesis at 16-24 weeks of gestation: experience of 1,320 cases. Prenat Diagn 2000;20:224-8.
13. Winichagoon P, Saechan V, Sripanich R, et al. Prenatal diagnosis of beta-thalassemia by reverse dot-blot hybridization. Prenat Diagn 1999;19:428-35.
14. Sanguansermsri T, Thanarattanakorn P, Steger HF, et al. Prenatal diagnosis of β-thalassemia major by high-performance liquid chromatography analysis of hemoglobins in fetal blood samples. Hemoglobin 2001;25:19-27.
15. Sanguansermsri T, Thanaratanakorn P, Steger HF, et al. Prenatal diagnosis of hemoglobin Bart's hydrops fetalis by HPLC analysis of hemoglobin in fetal blood samples. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2001;32:180-5.
16. Sanguansermeri T, Charoenkwan P, Thanarattanakorn P, et al. Prenatal diagnosis of Hb E β-thalassemia by high performance liquid chromatography analysis of hemoglobin in fetal blood samples. Thai J Hematol Transf Med 2003;13:305-14.
17. Lo YMD, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 1997;350:485-7.
18. Lo YMD, Hjelm NM, Fidler C, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. N Engl J Med 1998;339:1734-8.
19. Chiu RWK, Lau TK, Leung TN, Chow KC, Chui DHK, Lo YMD. Prenatal exclusion of β-thalassaemia major by examination of maternal plasma. Lancet 2002;360: 998-1000.
20. Fucharoen G, Tungwiwat W, Ratanasiri T, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Prenatal detection of fetal hemoglobin E gene from maternal plasma. Prenat Diagn 2003;23:393-6.
21. Ding C, Chiu RWK, Lau TK, et al. MS analysis of single-nucleotide differences in circulating nucleic acids: application to nonivasive prenatal diagnosis. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:10762-7.
22. Kuliev A, Rechitsky S, Verlinsky O, et al. Birth of healthy children after preinplantation diagnosis of thalassemias. J Assist Reprod Genet 1999;16:207-11.
23. Kuliev A, Rechitsky S, Verlinsky O, et al. Preimplantation diagnosis and HLA typing for haemoglobin disorders. Reprod Biomed Online 2005;11:362-70.
24. Piyamongkol W, Vutyavanich T, Piyamongkol S, et al. A successful strategy for preimplantation genetic diagnosis of beta-thalassemia and simultaneous detection of Down's syndrome using multiplex fluorescent PCR. J Med Assoc Thai 2006;89:918-27.