

Received: 19 Dec.2023, Revised: 1 Apr. 2024

Accepted: 15 Aug. 2024

บทความวิชาการ

ประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยทารกก่อนคลอดโรคธาลัสซีเมียด้วยวิธี capillary electrophoresis โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย

จุฑารัตน์ น้อยเจริญ¹

บทคัดย่อ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคเลือดจางทางพันธุกรรมที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศ โดยการตรวจวินิจฉัยทารก ในครรภ์เป็นขั้นตอนสำคัญขั้นตอนหนึ่งของการดำเนินงานเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงของไทย จากการวินิจฉัยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอในตัวอย่างเนื้อรก หรือน้ำคร่ำ เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด แต่เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอมีความยุ่งยาก ซับซ้อน และใช้เวลาในการตรวจนาน ซึ่งมีข้อจำกัดคู่สมรสที่มาฝากครรภ์ล่าช้า ซึ่งจะไม่ทราบชนิดของธาลัสซีเมียก่อน ดังนั้นการใช้เทคนิค capillary electrophoresis เป็นเทคนิคที่ได้รับการพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการตรวจฮีโมโกลบินแบบอัตโนมัติ อาศัยการแยกฮีโมโกลบินในสารละลายที่เป็นด่างที่ pH 9.4 ร่วมกับการใช้สารอิเล็กโตรไลต์ และแยกฮีโมโกลบินแต่ละชนิดออกจากกันภายในหลอด capillary สามารถใช้วินิจฉัยได้ทั้ง α – thalassemia และ β – thalassemia บทความฉบับนี้จะนำเสนอประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์โรคธาลัสซีเมียด้วยวิธี capillary electrophoresis ซึ่งการตรวจสามารถทำได้โดยง่าย ได้ผลเร็ว มีราคาถูกกว่าการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอซึ่งค่อนข้างยุ่งยากที่มีราคาแพงและให้บริการไม่แพร่หลาย

คำสำคัญ: ธาลัสซีเมีย, ทารกในครรภ์, capillary electrophoresis

¹โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย

*Corresponding author: e-mail: jutarat.mt9@gmail.com

Review Article

Experience in prenatal diagnosis of thalassemia using capillary electrophoresis At Queen Savang Vadhana Memorial Hospital, The Thai Red Cross Society

Jutarat Noicharoen¹

Abstract

Thalassemia is a genetic anemia that is a major public health problem in the country. By examining the baby In utero it is an important step in operations for the control and prevention of severe thalassemia disease in Thailand. From diagnosis, DNA analysis in placenta samples or amniotic fluid is the most popular method. However, because DNA analysis is complicated and takes a long time to test. which has restrictions on couples who come late for prenatal care The type of thalassemia will not be known first. Therefore, using the capillary electrophoresis technique It is a technique that has been developed for automatic hemoglobin testing. Relying on the separation of hemoglobin in an alkaline solution at pH 9.4 together with the use of electrolytes. and separating each type of hemoglobin within a capillary tube. It can be used to diagnose both α – thalassemia and β – thalassemia. This article will present the experience of diagnosing fetuses with thalassemia using capillary electrophoresis. The test can be done easily, gives quick results, and is cheaper than DNA analysis, which is complicated, expensive, and not widely available.

Keywords: Prenatal diagnosis, Thalassemia, Capillary electrophoresis

¹ QUEEN SAVANG VADHANA MEMORIAL HOSPITAL

* Corresponding author, e-mail address: jutarat.mt9@gmail.com

บทนำ

โรคธาลัสซีเมีย เป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบบ่อยมากที่สุดในโรคและประเทศไทย เป็นปัญหาที่สำคัญทั้งทางสุขภาพ เศรษฐกิจและสังคม เป็นปัญหาที่ยากต่อการบริหารจัดการเนื่องจากมีลักษณะของโรคที่ซับซ้อนยากต่อการเข้าใจทั้งในบุคลากรทางการแพทย์และในประชาชนทั่วไป เป็นโรคเรื้อรังที่มีมิติความเชื่อมโยงที่หลากหลาย เช่น การตรวจเลือดในคู่สมรส เพื่อลดโอกาสเสี่ยงการเกิดโรคธาลัสซีเมียในทารกเกิดใหม่ เมื่อเด็กเกิดมาและมีอาการผิดปกติ จำเป็นต้องได้รับการดูแลรักษาที่มีคุณภาพมาตรฐานจากผู้เชี่ยวชาญในสถานบริการ อาการผิดปกติที่เกิดขึ้นให้เด็กที่ป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมีย สูญเสียโอกาสพัฒนาตนเองในด้านต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการศึกษาซึ่งนับว่าเป็นพื้นฐานสำคัญของชีวิตในการสร้างอนาคตส่งผลกระทบต่อในด้านสังคมที่ต้องเข้ารับการรักษายาวต่อเนื่อง⁽¹⁾ โดยประเทศไทยพบพาหะธาลัสซีเมียประมาณร้อยละ 30-40 ของประชากรหรือประมาณ 18-24 ล้านคน มีผู้ป่วยโดยรวมประมาณ 6 แสนคนในแต่ละปี มีมารดาที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียประมาณ 5 หมื่นราย และมีเด็กเกิดใหม่ป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมีย 12,125 ราย ซึ่งการรักษาสามารถรักษาให้หายขาดได้โดยการปลูกถ่ายไขกระดูก แต่ไม่สามารถทำได้ทุกคนเนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูงมาก และต้องมีผู้บริจาคไขกระดูกที่เข้ากับผู้ป่วยได้ การรักษาโดยทั่วไปจึงเป็นการรักษาแบบประคับประคองตามอาการ ผู้ป่วยธาลัสซีเมียจึงได้รับทุกขเวทนาเป็นอย่างมากทั้งด้านร่างกายและจิตใจ และรัฐบาลต้องสูญเสียงบประมาณในการรักษาผู้ป่วยปีละไม่น้อยกว่า 5,000 – 6,000 ล้านบาท อย่างไรก็ตามโรคธาลัสซีเมียสามารถควบคุมและป้องกันได้โดยการตรวจเลือดก่อนการตั้งครรภ์ด้วยการให้คู่สมรสหรือสามีภรรยาตรวจเลือดก่อนมีบุตร⁽²⁾ การดำเนินการควบคุมป้องกันโรคธาลัสซีเมียของประเทศไทย ได้แก่ การเผยแพร่ถอดบทเรียนรูปแบบการดำเนินงานในพื้นที่ที่ดำเนินการได้ดีประสบความสำเร็จ เพื่อให้พื้นที่อื่นๆ สามารถนำไปปรับประยุกต์ใช้ได้ตามความเหมาะสม การผลักดันให้ผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้รับสิทธิการรักษาตามที่สมควรได้รับ พัฒนาแนวทางการวินิจฉัยพาหะ และโรคธาลัสซีเมีย ตลอดจนหาข้อมูลเสี่ยงต่อการเกิดโรคธาลัสซีเมียรุนแรงที่ได้ประสิทธิภาพและคุ้มค่า การติดตามผลการรักษา รวมทั้งพัฒนาการวินิจฉัย และป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากโรคธาลัสซีเมียจากการรักษา รวมทั้งการเชื่อมโยงจัดระบบบริการ การคัดกรอง การวินิจฉัย การรักษา การติดตามระบบสารสนเทศ เพื่อเป็นข้อมูลสู่การบริหารจัดการในภาพประเทศ และสามารถนำไปเป็นนโยบายระดับชาติเพื่อป้องกันการเกิดโรคที่รุนแรงรายใหม่ ตลอดจนถึงลดพาหะของโรคด้วย^(1,2-4) โดยธาลัสซีเมียที่กำหนดไว้ในเป้าหมายการลดความรุนแรง 3 ชนิด ได้แก่ Homozygous α – thalassemia 1 (Hb Bart's hydrops fetalis), β -thalassemia major และ β -thalassemia / Hb E⁽⁵⁾

โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย มีการดำเนินงานด้วยเป็นภารกิจหลักของโรงพยาบาลที่มีการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ที่มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคธาลัสซีเมีย โดยการเก็บตัวอย่างเนื้อรก (CVS) การเจาะดูคร่ำน้ำคร่ำ (Amniocentesis) และการเก็บตัวอย่างเลือดทารกในครรภ์ (Fetal blood sampling) เพื่อนำเซลล์ไปตรวจโครโมโซม พบคู่สมรสที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงมาขอรับบริการตรวจ 729 คู่ มีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรค β -thalassemia / Hb E มากที่สุด คือร้อยละ 72.13 ชนิด homozygous α – thalassemia 1 ร้อยละ 42.74 และชนิด β -thalassemia major เพียงร้อยละ 1.5 นอกจากนี้เป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อโรคธาลัสซีเมียหลายชนิดร่วมกัน โดยจะขอกล่าวประสบการณ์ในการดำเนินงาน ดังนี้

1. ตัวอย่างส่งตรวจ

การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์โรคธาลัสซีเมียที่ดำเนินการที่โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย จะทำการตรวจเลือดทารกที่ได้จากการเจาะเก็บด้วยวิธี cordocentesis หลังอายุครรภ์ 18 สัปดาห์ไปแล้ว ตัวอย่างส่งตรวจที่ใช้จึงขึ้นอยู่กับอายุครรภ์และความชำนาญของสูติแพทย์ตลอดจนความพร้อมของ

ห้องปฏิบัติการในการจัดตั้งวิธีการตรวจที่เหมาะสมสำหรับตัวอย่างส่งตรวจแต่ละชนิด⁽⁶⁾ อย่างไรก็ตามผลการดำเนินงานที่ผ่านมา พบว่าการเจาะเลือดเป็นตัวอย่างส่งตรวจที่ได้รับมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 54.3⁽⁷⁾ ตัวอย่างส่งตรวจทุกชนิดจึงมีความสำคัญไม่ยิ่งหย่อนกว่ากัน และสามารถจำแนกชนิดของพาหะที่โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย ดังนี้

1. Hb Bart's hydrops fetalis หรือ Homozygous α -thalassemia (α -thal 1 / α -thal 1 หรือ - / - -) เป็นชนิดที่รุนแรงที่สุดผู้ป่วยจะเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือหลังคลอด ปัญหาที่พบในแม่ระหว่างตั้งครรภ์คือ ครรภ์เป็นพิษ ความดันเลือดสูง บวม การคลอดผิดปกติและมีการตกเลือดหลังคลอด

2. Homozygous β -thalassemia (β -thal / β -thal) จะเริ่มมีอาการซีดตั้งแต่ขวบปีแรก อาการอื่นๆ ที่พบได้คือ ตับ ม้ามโต ใบหน้าเปลี่ยนเป็นแบบ thalassemic face ร่างกายแคระแกร็น การเจริญเติบโต ไม่สมอายุ จำเป็นต้องให้เลือดและมีภาวะแทรกซ้อนจากธาตุเหล็กเกินได้แก่ ตับแข็ง เบาหวาน และหัวใจล้มเหลวสำหรับ β -thalassemia/Hb E (β -thal / Hb E) อาการทางคลินิกมีตั้งแต่น้อยปานกลางจนถึงรุนแรงมากเหมือน homozygous β -thalassemia (β -thal / β -thal)

3. Hb H disease (α -thal 1 / α -thal 2 หรือ - - / - α , or α -thal 1 / Hb CS หรือ - - / α CS α) ส่วนใหญ่มีอาการน้อยได้แก่ซีด เหลือง ตับม้ามโตไม่มากแต่ถ้ามีไข้สูงจะมีภาวะซีดลงอย่างรวดเร็ว

2. เทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

2.1 การตรวจวินิจฉัย Hb Bart's hydrops fetalis

การวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอด เพื่อทราบว่าทารกในครรภ์ก่อนคลอดมีพันธุกรรม หรือ ยีนธาลัสซีเมียเป็นชนิดใดเพื่อนำข้อมูลมาให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์แก่คู่สมรสที่เสี่ยงจะมีโอกาสได้บุตรเป็นโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย โดยมีข้อบ่งชี้ในหญิงตั้งครรภ์ที่เสี่ยงมีบุตรเป็นโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดที่รุนแรงได้แก่ โรคฮีโมโกลบินบาร์ตไฮดรอสฟีทัลลิส (Hb Bart's hydrops fetalis) ฮีโมซัยกส์เบต้า-ธาลัสซีเมีย(homozygous β -thalassemia) และเบต้า-ธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี (β -thalassemia/Hb E disease)⁽¹⁻²⁾

กลุ่มอาการ Hb Bart's hydrops fetalis เมื่อคู่เสี่ยงตั้งครรภ์สูตินารีแพทย์จะทำการตรวจด้วยอัลตราซาวด์และทำหัตถการเพื่อเก็บชิ้นส่วนของทารกในครรภ์ด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งดังต่อไปนี้เพื่อให้ห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยยีนธาลัสซีเมียของทารกในครรภ์ ได้แก่ การตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (Ultrasound) เมื่ออายุครรภ์ 16 สัปดาห์และตรวจซ้ำทุก 4 สัปดาห์ ในกรณีที่เสี่ยงต่อโรค Hb Bart's hydrops fetalis การเก็บชิ้นเนื้อรกเพื่อตรวจ (Chorionic villous sampling, CVS) เมื่ออายุครรภ์ 9-12 สัปดาห์ และการเจาะดูดน้ำคร่ำ (Amniocentesis) เมื่ออายุครรภ์ 16-18 สัปดาห์ โดยตรวจพบ Hb Bart's (g4) สูงมากกว่าร้อยละ 80 และมักตรวจพบ Hb Portland (z2g2) ร่วมด้วย การเจาะเลือดจากสายสะดือผ่านทางหน้าท้อง (Cordocentesis) เมื่ออายุครรภ์ 18-20 สัปดาห์ ซึ่งประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยทารกก่อนคลอดโรคธาลัสซีเมียด้วยวิธี capillary electrophoresis สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีวิธีการเดียวกัน⁽⁸⁾

2.2 การตรวจวินิจฉัย β -thalassemia major และการตรวจวินิจฉัย β -thalassemia / Hb E

เนื่องจากโรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภากาชาดไทย พบผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ประเภท β -thalassemia major และ β -thalassemia / Hb E น้อย จึงไม่กล่าวถึงรายละเอียดในบทความนี้ แต่ส่วนใหญ่จะพบโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย (thalassemia) เป็นโรคพันธุกรรมทางโลหิตวิทยา ซึ่งมีอุบัติการณ์สูงมากในประเทศไทย ประมาณร้อยละ 20.0 – 30.0 ของประชากรมียืน alpha (α)-thalassemia ร้อยละ 3.0-9.0 มียืน beta (β)-

thalassemia และพบยีนของฮีโมโกลบิน ผิดปกติ 2 ชนิด คือ hemoglobin E (Hb E) โดยเฉลี่ยประมาณร้อยละ 13.0 และพบสูงขึ้น ในคนอีสานถึงร้อยละ 30.0 - 40.0 ที่จังหวัดสุรินทร์พบ Hb E สูงถึงร้อยละ 52.0 ฮีโมโกลบินผิดปกติอีกชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อย คือ Hb Constant Spring (Hb CS) พบประมาณร้อยละ 1.0 - 8.0 ⁽⁸⁻¹⁰⁾

3. การตรวจเลือดทารกด้วยวิธี capillary electrophoresis

การทดสอบ Polymerase chain reaction สามารถตรวจหาชิ้นส่วนเหล่านี้โดยใช้ Capillary electrophoresis เทคนิคที่มีการใช้อย่างมากในการทำ QF-PCR คือ การเพิ่มจำนวน Short tandem repeats (STRs) หรือส่วนของ DNA ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สั้นและที่มีความจำเพาะต่อโครโมโซมซึ่งลำดับนี้จะเป็นชุดซ้ำๆกัน และโดยปกติจะประกอบไปด้วย 2-5 คู่เบสต่อชุด จะทำโดยการสกัด DNA ออกมาจากน้ำคร่ำ วิเคราะห์โดย Capillary electrophoresis ซึ่งจะทำการคัดแยกชิ้นส่วนเหล่านี้ตามขนาด โดยชิ้นส่วนขนาดเล็กจะผ่านไปได้ก่อน และขนาดเท่ากันจะผ่านไปด้วยพร้อมๆกัน และสามารถบอกได้ว่าเป็นชิ้นส่วนมาจากโครโมโซมคู่ใดจากผลการเรียงแสงที่ติดไว้ ดังนั้นจะสามารถบอกขนาดและปริมาณของชิ้นส่วนนั้นๆ จะให้ผลค่อนข้างเร็วภายใน 1-2 วัน เนื่องจากเซลล์ของทารกไม่จำเป็นต้องนำมาเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามการแปลผลนั้นจำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ และจำเป็นต้องมีการลงทุนทั้งทางด้านอุปกรณ์ และบุคลากรที่ผ่านการฝึกฝนมาแล้ว จากการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าการตรวจนี้มีความน่าเชื่อถือร้อยละ 100 และไม่มีผลลบลง (False negative) ซึ่งได้ผลดีไม่ต่างจากวิธีHPLC ⁽¹¹⁻¹²⁾ อย่างไรก็ตามสามารถใช้ในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในทารกแรกคลอดโดยตรวจวินิจฉัยได้ทั้ง a-thalassemia และ b-thalassemia ⁽¹³⁻¹⁵⁾

ความรุนแรงของโรคแบ่งตามอาการ

1. กลุ่มอาการรุนแรงมากที่สุด ได้แก่ ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮดรอฟัสฟีทลิส (Hemoglobin bart's hydrops fetalis) ส่วนใหญ่จะเสียชีวิตในครรภ์มารดา หรือ ภายในไม่กี่ชั่วโมงหลังคลอด พบว่าทารกมีลักษณะบวม น้ำทั้งตัว คลอดลำบาก ซีด ตับและม้ามโต มีรกขนาดใหญ่

2. กลุ่มอาการรุนแรงมากถึงปานกลาง ได้แก่ โฮโมซัยกัส เบต้า-ธาลัสซีเมีย (Homozygous beta-thalassemia) และ เบต้า-ธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี (Beta-thalassemia/heamoglobim E) แรกเกิดจะเป็นปกติ จะเริ่มมีอาการตั้งแต่ภายในขวบปีแรก หรือหลังจากนั้นอาการสำคัญ คือ ซีด อ่อนเพลีย ตาเหลือง ท้องป่องเนื่องจากตับ และม้ามโต กระดูกใบหน้าเปลี่ยน โหนกแก้มสูง ดังจุมพแบน ฟันยื่น ตัวเตี้ยแคระแกรน ผิวคล้ำ เจริญเติบโตไม่สมอายุ

3. กลุ่มอาการรุนแรงน้อย ได้แก่ ฮีโมโกลบินเอช (Hemoglobin H disease) ผู้ป่วยจะมีอาการซีด และเหลืองเล็กน้อย หากมีไข้หรือติดเชื้อผู้ป่วยจะซีดลงโอกาสที่จะเป็นพาหะของธาลัสซีเมียชนิดใดชนิดหนึ่งมีถึงร้อยละ 30-40 ในคู่สามี ภรรยา ที่มีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมีย แสดงว่าทั้งคู่ เป็นพาหะ ส่วนพี่น้อง หรือญาติของผู้เป็นโรค หรือพาหะธาลัสซีเมีย มีโอกาสที่จะมีธาลัสซีเมียมากกว่าคนทั่วไป เมื่อผู้เป็นโรคธาลัสซีเมีย มีบุตร อย่างน้อยบุตรทุกคนจะเป็นพาหะ ⁽⁹⁻¹⁰⁾

ผลการปนเปื้อนของเลือดแม่ และข้อควรระวัง

การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ด้วยวิธี capillary electrophoresis การปนเปื้อนของเลือดแม่ จะส่งผลต่อการวินิจฉัย ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้สำคัญ ดังการศึกษาของ ⁽⁸⁾ ที่กล่าวว่า การปนเปื้อนของเลือดแม่สามารถพิจารณาผลการตรวจได้จาก Hb F และ Hb Bart's ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้สำคัญด้วย แต่สำหรับการวินิจฉัย b-thalassemia จะมีปัญหามาก เมื่อทำการผสมเลือดแม่ลงไปในการตรวจที่เป็นโรค (ตรวจพบเฉพาะ HbF และ Hb E) ในอัตราร้อยละ 3 จะสามารถตรวจพบ Hb A ได้อย่างชัดเจน ทำให้วินิจฉัยผิดพลาดเป็นพาหะ Hb E ได้ ซึ่งประสบการณ์การตรวจวินิจฉัยทารกก่อนคลอดโรคธาลัสซีเมียด้วยวิธี capillary electrophoresis โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา สภาากาชาดไทย

พบว่า มีโอกาสเกิดภาวะการปนเปื้อนของเซลล์จากมารดา ร้อยละ 1.5 – 2.0 โดยข้อควรระวังในการตรวจด้วยวิธี capillary electrophoresis คือ ใช้ fresh blood specimen เท่านั้น เพื่อลดความผิดพลาดของผลการวินิจฉัยได้

วิธีการตรวจสอบการปนเปื้อนของเลือดแม่ในตัวอย่าง Fetal blood ก่อนนำไปตรวจด้วยเครื่อง capillary electrophoresis ใช้เลือดทารกประมาณ 0.5-1 mL ไม่ควรเกิน 5 mL หรือไม่ควรเกินร้อยละ 6 ของปริมาณเลือดในรกและทารก (fetoplacental blood volume) 125 mL/kg หรือการเจาะเลือดสายสะดือทารกในครรภ์ (cordocentesis) หมายถึง การดูดเก็บตัวอย่างเลือดทารกในครรภ์จากสายสะดือโดยใช้เข็มเจาะผ่านทางหน้าท้องมารดา มีชื่ออื่นเรียกว่า funiculocentesis หรือ percutaneous umbilical blood sampling เพื่อให้ได้ข้อมูลที่แน่ชัดว่าไม่มีการปนเปื้อนจากเซลล์ของแม่ อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนของเลือดแม่เป็นข้อจำกัดที่พบในการตรวจด้วยเครื่อง capillary electrophoresis ดังการศึกษาอื่นๆที่ผ่านมา^(8,11-12)

ข้อจำกัดเมื่อเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมา

ปัจจุบันการตรวจคัดกรองโรคธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐานโดยการตรวจชนิดฮีโมโกลบิน (Hemoglobin typing) วิธีที่เหมาะสมในการตรวจได้แก่ capillary electrophoresis (CE) และ isoelectric focusing (IEF)¹⁶ ซึ่งทั้งสองวิธีมีการศึกษารองรับในการนำมาใช้ตรวจคัดกรองโรคในกลุ่มทารกก่อนคลอด ข้อจำกัดในการตรวจ คือ การตรวจนี้จะตรวจพบความผิดปกติเมื่อมีชนิดฮีโมโกลบินที่ต่างไปจากรูปแบบปกติเท่านั้น ดังนั้นปัจจัยอื่นๆอาจมีผลทำให้ไม่สามารถให้การวินิจฉัยโรคได้ครบถ้วนทั้งหมด เช่น กรณีฮีโมโกลบินที่มีความเสถียรน้อยทำให้พบในตัวอย่างตรวจได้เพียงเล็กน้อยหรืออาจตรวจไม่พบได้ ได้แก่ ฮีโมโกลบินคอนสแตนท์ สปริง (Hb Constant Spring, Hb CS) หรือกรณีอัลฟาธาลัสซีเมียที่ในคนปกติจะมีพันธุกรรม (ยีน, gene) ของสายอัลฟาจำนวนทั้งสิ้น 4 ยีน หากมีความผิดปกติเพียงหนึ่งยีนจะไม่ทำให้เกิดโรค (เป็นพาหะ)⁽⁸⁾ และอาจไม่มีรูปแบบความผิดปกติให้ตรวจพบโดยวิธีคัดกรองได้ แต่ข้อดีที่สำคัญในการตรวจในทารกแรกเกิดคือ หากมีความผิดปกติของสายอัลฟาจำนวน 2 ยีน (เป็นพาหะ) จะสามารถให้การวินิจฉัยในเบื้องต้นจากการคัดกรองได้ซึ่งแตกต่างจากการนำไปตรวจคัดกรองโรคในผู้ใหญ่ที่ไม่สามารถแยกภาวะพาหะที่สำคัญนี้ได้ ดังนั้นในบางครั้งการแปลผลจึงไม่สามารถตัดความเป็นไปได้ของการมีความผิดปกติเหล่านี้ (พาหะ) ได้อย่างไรก็ตามความผิดปกติเหล่านี้ไม่จัดเป็นความผิดปกติที่ทำให้เกิดโรครุนแรงซึ่งเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการตรวจคัดกรองเพื่อให้ได้การวินิจฉัย

สำหรับการตรวจคัดกรองในทารกก่อนคลอดนั้นยังมีข้อจำกัดที่สำคัญ เนื่องจากในคนปกติชนิดฮีโมโกลบินที่พบในทารกแรกคลอดจะแตกต่างจากชนิดที่พบเมื่อเด็กโตขึ้น โดยพบฮีโมโกลบินเอฟ (Hb F หรือ fetal Hb) เป็นองค์ประกอบหลักในทารกแรกคลอด และเมื่อทารกโตขึ้นจะมีฮีโมโกลบินเอ (Hb A) เป็นองค์ประกอบหลักแทน กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นสมบูรณ์ในช่วงหลังอายุ 6 เดือนเป็นต้นไป ความแตกต่างของฮีโมโกลบินทั้งสองชนิดอยู่ที่การแสดงออกของพันธุกรรมสายเบต้า ดังนั้นการตรวจคัดกรองนี้ในทารกแรกคลอดจะไม่สามารถบอกความผิดปกติถึงโรคเบต้าธาลัสซีเมียได้ทั้งหมด ในการแปลผลทุกครั้งจึงไม่สามารถตัดความเป็นไปได้ของโรคเบต้าธาลัสซีเมียได้จากการตรวจคัดกรองแรกเกิดนี้

ความสัมพันธ์ของพันธุกรรมและความรุนแรงของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย

Bart's hydrops fetalis หรือ homozygous α -thalassemia1 มี genotype เป็น α -thal 1/ α -thal 1 หรือ - - / - - เป็นชนิดที่รุนแรงที่สุดเด็กทารกจะเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือตายทันทีหลังคลอด (ตายคลอด) อาจมีพยาธิสภาพที่พบในมารดาระหว่างตั้งครรภ์คือ ครรภ์เป็นพิษ ความดันโลหิตสูง บวม การคลอดผิดปกติ และตกเลือดหลังคลอด พบสาเหตุของ hydrops fetalis เกิดจาก Hb Bart's hydrops fetalis ร้อยละ 36.58⁽⁸⁾

Homozygous β -thalassemia(β -thal/ β -thal) มีโลหิตจางมาก ระดับฮีโมโกลบินระหว่าง3-6 กรัมต่อเดซิลิตร มักเริ่มมีอาการซีดตั้งแต่ขวบปีแรก หากไม่ได้รับการรักษามีตับ ม้ามโต กระดูกขยายกว้างทำให้รูปใบหน้าเปลี่ยน แบบ thalassemic facies ร่างกายเจริญเติบโตช้าจำเป็นต้องให้เลือด และเมื่อถึงวัยรุ่นและวัยผู้ใหญ่ มักมีภาวะแทรกซ้อนจากธาตุเหล็กเกินได้แก่ ตับแข็ง เบาหวาน และหัวใจล้มเหลว

β -thalassemia/Hb E (β -thal/ E) อาการทางคลินิกมีตั้งแต่เล็กน้อย ปานกลางจนถึงรุนแรงมากHb H disease (α -thal 1/ α -thal 2, or α -thal 1/Hb CS) ส่วนใหญ่มีกาการน้อยถึงปานกลาง ได้แก่ ซีด เหลือง ตับม้ามโต แต่ถ้ามีไข้สูงจะมีภาวะซีดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้มีอาการทางสมองและหัวใจวายได้

ดังนั้นการตรวจหาพาหะของธาลัสซีเมีย และฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ เมื่อได้คู่เสี่ยงแล้วก็จะเข้าสู่กระบวนการให้คำปรึกษา และแนะนำการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอด โดยการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ประกอบด้วย

1) การตรวจครรภ์ด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง วินิจฉัยได้เฉพาะ Hb Bart's hydrops fetalis เป็นวิธีการที่สะดวกและปลอดภัยแต่มีข้อเสียคือ บางครั้งวินิจฉัยได้เมื่ออายุครรภ์ที่มาก จึงเพิ่มความเสี่ยงมารดาที่จะเกิดภาวะครรภ์เป็นพิษ

2) การตรวจชิ้นเนื้อรก (chorionicvillous sampling, CVS) มีข้อดีคือสามารถตรวจ วินิจฉัยได้ตั้งแต่อายุครรภ์น้อยๆ คือ 10-13 สัปดาห์ แต่มีความเสี่ยงที่จะแท้งสูงประมาณร้อยละ 1 และผลที่ได้เป็นข้อมูลระดับยีน ซึ่งต้องการความละเอียดรอบคอบในการเก็บตัวอย่างและแปลผล

3) การตรวจน้ำคร่ำ (amniocentesis) มักทำตั้งแต่อายุครรภ์ 15-20 สัปดาห์ ข้อมูลที่ได้เป็นการตรวจทางระดับยีน เช่นเดียวกับการตรวจชิ้นเนื้อรก ภาวะแทรกซ้อน เช่นการแท้งพบได้ประมาณ ร้อยละ 0.2-0.33

4) การเจาะเลือดจากสายสะดือทารกในครรภ์ (cordocentesis) เป็นการตรวจเลือดจากทารกโดยตรงตรวจได้ทั้งระดับยีนและทางโลหิตวิทยาของทารก พบภาวะแทรกซ้อนได้ร้อยละ1-2.5³⁰ ขึ้นกับความชำนาญของผู้ทำ

บทสรุป

การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์โรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงด้วยการตรวจเลือดทารกด้วยวิธี capillary electrophoresis สามารถใช้วินิจฉัยได้ทั้ง a – thalassemia และ b – thalassemia ทั้งนี้การตรวจด้วยวิธีนี้จะให้ผลค่อนข้างเร็ว ในเวลา 1-2 วัน และค่าใช้จ่ายในการตรวจที่ไม่แพงมาก เนื่องจากเซลล์ของทารกไม่จำเป็นต้องนำมาเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามการแปลผลนั้นจำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ และจำเป็นต้องมีการลงทุนทั้งทางด้านอุปกรณ์ และบุคลากรที่ผ่านการฝึกฝนมาแล้ว แต่ก็พบข้อเสียคือ มีจุดอ่อนในการตรวจความผิดปกติของ Sex chromosome นอกจากนี้หากตรวจ Fetal blood ด้วยวิธี capillary electrophoresis แล้วพบว่าทารกในครรภ์เสี่ยงต่อโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง จะพิจารณายืนยันผลด้วยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอทุกราย เพื่อความแน่ใจของการแปลผลตรวจ

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. แนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียในเวชปฏิบัติทั่วไป. กิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์ กันยายน 2560.
2. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. เด็กไทยเกิดใหม่ป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมียกว่า 1.2 หมื่นคน. สืบค้นเมื่อวันที่ 1 กุมภาพันธ์ 2567; จาก, <https://www.hfocus.org/content/2016/03/11861>

3. Yamsri S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Ratanasiri T. Prevention of severe thalassemia in northeast Thailand: 16 years of experience at a single university center. *Prenat Diagn* 2010; 30:540-6.
4. Ratanasiri T, Charoenthong C, Komwilaisak R, Changtrakul Y, Fucharoen S, Wongkham J, et al. Prenatal prevention for severe thalassemia disease at Srinagarind hospital. *J Med Ass Thai* 2006; 89(suppl.4): S87-93.
5. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. α -thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2007; 117: 78-82.
6. Sanguamsermsri T, Thanaratanakorn P, Steger HF, Tongsong T, Sirivatanapa P, Wanapirak C, 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.
7. Rouyer-Fessard P, Plassa F, Blouquit Y, Vidaud H, Varnavides L, Mibashan RS, et al. Prenatal diagnosis of haemoglobinopathies by ion exchange HPLC of haemoglobins. *Prenat Diagn* 1989; 9: 19-26.
8. สุพรรณ พุเจริญ, กุลนภา พุเจริญ. การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์โรคธาลัสซีเมียด้วยวิธี capillary electrophoresis: ประสบการณ์จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2011; 23 (3).
9. อรุณี เจตศรีสุภาพ. ธาลัสซีเมียแบบองค์รวม 2550. มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2560.
10. มูลนิธิโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย. แนวทางการวินิจฉัยและการรักษาโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย (Clinical practice guideline for diagnosis and management of thalassemia Syndromes). 2557. สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี พิมพ์ที่ พี เอ สี่ฟวิ้ง จำกัด
11. Srivorakun H, Fucharoen G, Sae-ung N, Sanchaisuriya K, Ratanasiri T, Fucharoen S. Analysis of fetal blood using capillary electrophoresis system: a simple method for prenatal diagnosis of severe thalassemia diseases. *Eur J Haematol* 2009; 83: 57-65.
12. Alter BP. Prenatal diagnosis: general introduction, methodology and review. *Hemoglobin* 1988; 12:763-72.
13. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of α -thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612-6.
14. Fucharoen G, Trithipsombat J, Sirithawee S, Yamsri S, Changtrakul Y, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Molecular and hematological profiles of hemoglobin EE disease with different forms of α -thalassemia. *Ann Hematol* 2006; 85: 450-4.

15. Boonsa S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Wiangnon S, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. The diverse molecular basis and hematologic features of Hb H and AEBart's diseases in northeast Thailand. *Acta Haematol* 2004; 111: 149-54.
16. Charoenkwan P, Taweephon R, Sirichotiyakul S, et al. Cord blood screening for alpha-thalassemia and hemoglobin variants by isoelectric focusing in northern Thai neonates: correlation with genotypes and hematologic parameters. *Blood Cells Mol Dis*. 2010;45(1):53-7.