



คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การป้องกันและควบคุมโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ในประเทศไทย

Prevention and control of severe Thalassemia in Thailand

อุ๋นใจ กอนันต์กุล พบ.

29-07-2015



ทำไมต้องควบคุมและป้องกัน

- อุบัติการณ์ของโรคสูง
- โรคมีความรุนแรง
- ค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาสูง
- วิธีการตรวจกรองเป็นวิธีมาตรฐานที่มีความไว ความจำเพาะและความแม่นยำสูง และสามารถตรวจวินิจฉัยต่อไปได้
- ประชากรยอมรับการตรวจคัดกรอง
- ค่าใช้จ่ายในการตรวจคัดกรองเหมาะสมและคุ้มค่า
- มีแผนการดูแลรักษาที่ชัดเจนหลังการตรวจกรองหรือการตรวจวินิจฉัย

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

- ความชุกในประเทศไทยพบผู้ป่วยประมาณร้อยละ 1
- ผู้ป่วยเกิดใหม่ประมาณ 12,000 คน/ปี
- ประชากรที่เป็นพาหะของโรค พบร้อยละ 30-40¹
- อุบัติการณ์ของการเป็นพาหะในคู่สมรสทั้งคู่ที่สามารถตั้งครรรภ์ทารกเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง พบได้ร้อยละ 2.8²

(¹- Wasi P. Clinical Hematol 1981;10:707-29

² - Kor-anantakul O, et al. Southeast Asian J
Trop Med 1998;29:795-800)

Health promotion
center

Chiang Rai
Mae Hong Son
Chiang Mai
Nan
Lampang

Beta-thal trait 6.05%
Hb E trait 11.22%
Homo Hb E 0.73%
Alpha-thal 1 trait 10.63%

Uttaradit
Sukhothai
Tak
Phitsanulok
Kamphaeng Phet
Petchaburi
Nakhon Sawan
Lopburi
Korat

Udon Thani
Phanom
Khon Kaen
Sri Et

Suphanburi
Kanchanaburi
Nakhon Pathom
Petchaburi
Cha Am
Hua Hin

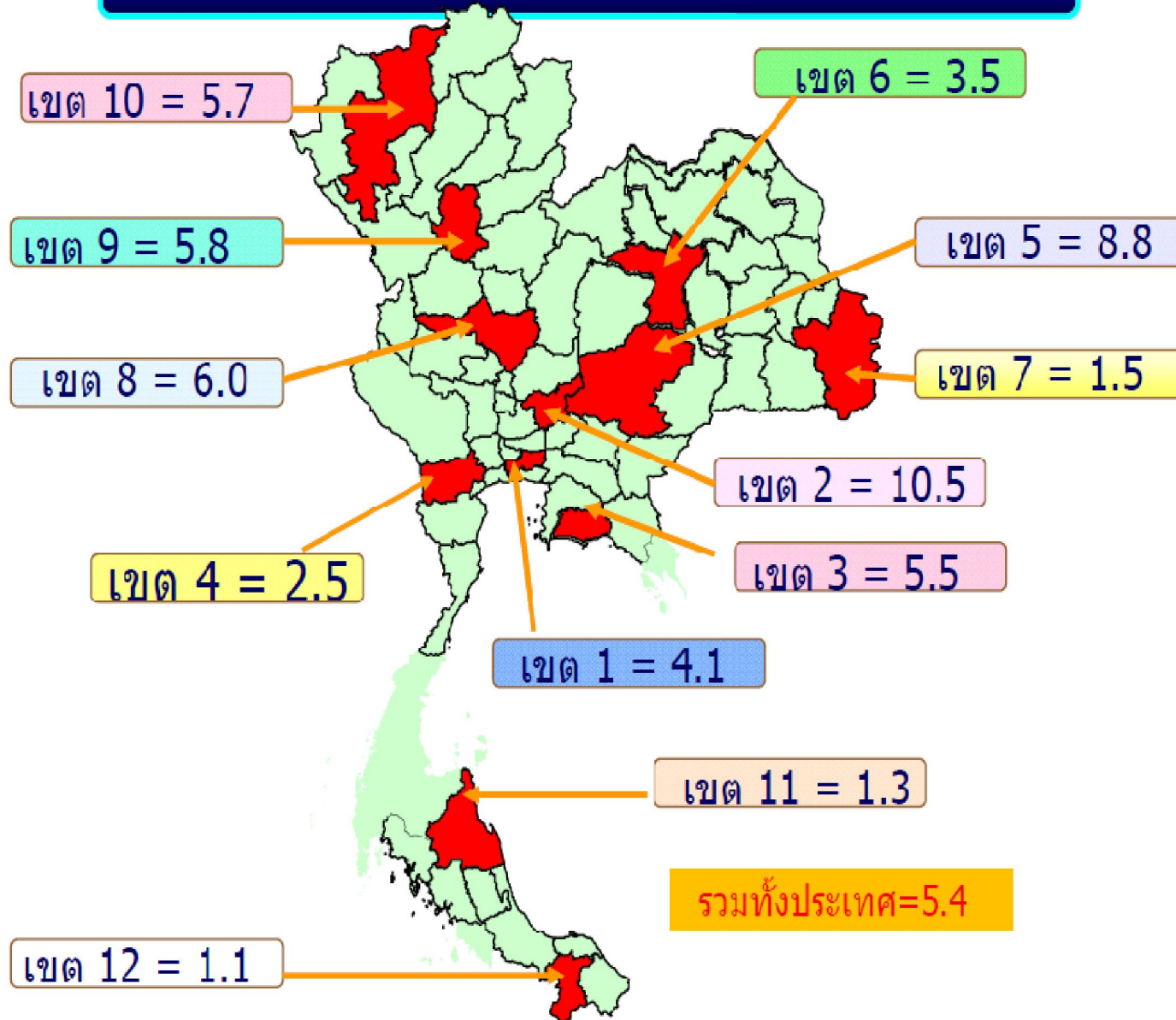
Beta-thal major 9:10,000
HbE/beta-thal 19:10,000
Hb Bart's hydrops 28:10,000

Every 1,000 pregnant will have affected fetus

- Hb Bart's hydrops 2 cases
- β -Thalassemia major 1 case
- β -Thal/ Hb E disease 3 cases

6 :1000 Affected
24:1000 CAR
2.4%

อัตราทารกป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง : 1,000 เกิดมีชีพ



ที่มา-ชนนทร์ วนาภิรักษ์ 2556

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

พบได้ 3 ชนิด

1. Hb Bart's hydrops fetalis
2. Homozygous β -thalassemia
3. β -thalassemia/hemoglobin E (ชนิดรุนแรง)

กระบวนการป้องกันและควบคุม

- มี 2 แนวทางหลัก
- การรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีที่สุด
- ป้องกันไม่ให้เด็กเกิดใหม่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

กระบวนการป้องกันและควบคุม

- การให้ความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียแก่ประชากรและบุคลากรทางการแพทย์
- การค้นหาผู้ป่วยและผู้ที่เป็นพาหะของโรคนี้
- การให้คำแนะนำปรึกษาทางพันธุศาสตร์
- การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดและการยุติการตั้งครรภ์
- การประเมินผลโครงการ

ความรู้พื้นฐาน

- โรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย เป็นโรคพันธุกรรมที่เกิดจากการถ่ายทอดยีนด้อยจากพ่อและแม่ไปสู่ลูก
- ยีนที่เกี่ยวข้องมีสองกลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่
- 1. α -globin gene อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 16 ประกอบด้วย alpha globin gene 2 ยีน อยู่บนโครโมโซมแต่ละข้าง รวมเป็น 4 ยีน
- 2. β -globin gene cluster อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 11 ประกอบด้วย ยีนหลายตัว ได้แก่ γ -globin gene, δ -globin gene และ β -globin gene

ความรู้พื้นฐาน

ยีนเหล่านี้จะทำหน้าที่สร้างโปรตีน ที่เรียกว่า globin chain เพื่อประกอบเป็น hemoglobin แต่ละชนิด คือ

- α -globin chain 2 สายรวมกับ γ -globin chain 2 สาย เป็น **hemoglobin F ($\alpha_2\gamma_2$)**
- α -globin chain 2 สายรวมกับ δ -globin chain 2 สาย เป็น **hemoglobin A₂ ($\alpha_2\delta_2$)**
- α -globin chain 2 สายรวมกับ β -globin chain 2 สาย เป็น **hemoglobin A ($\alpha_2\beta_2$)**

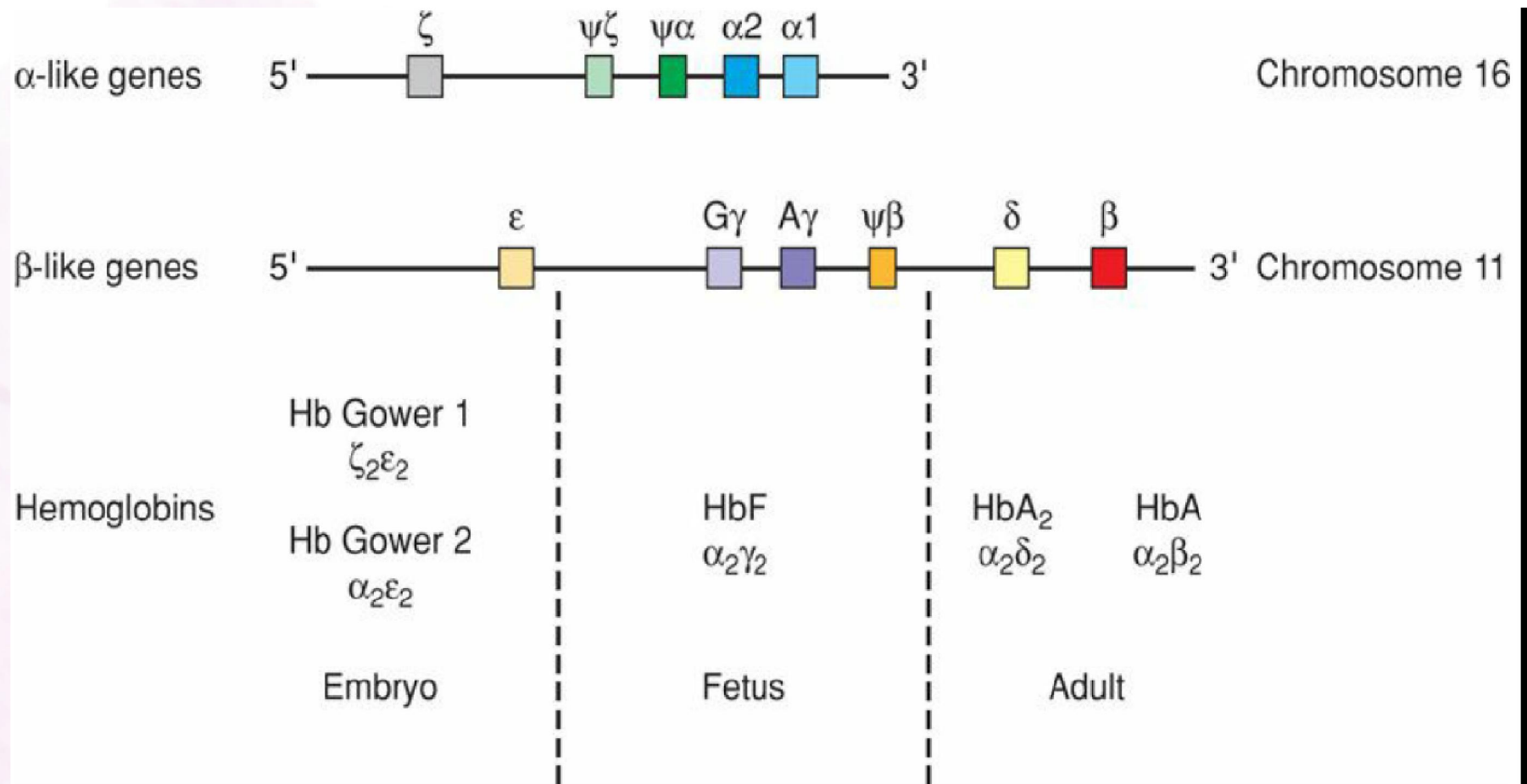
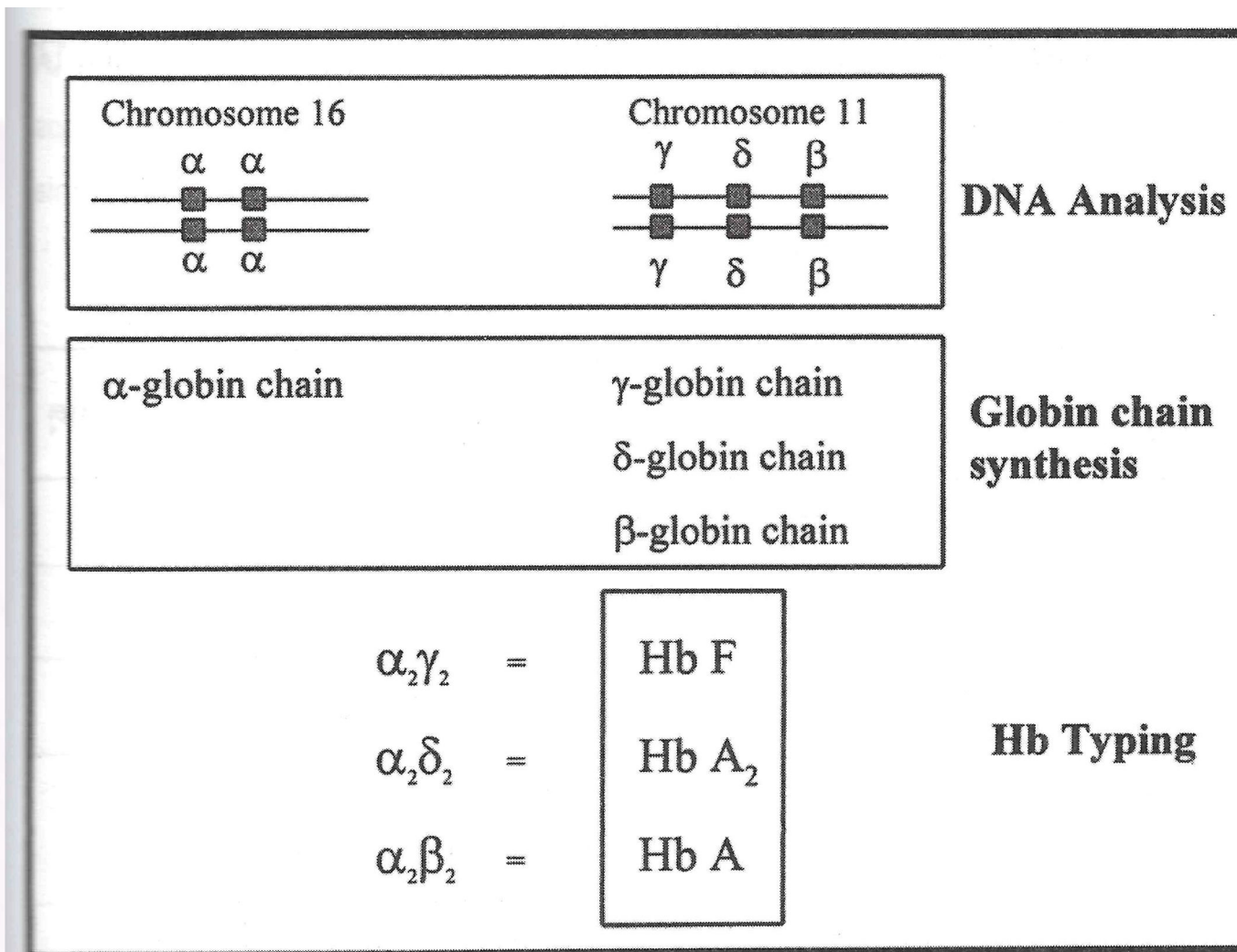
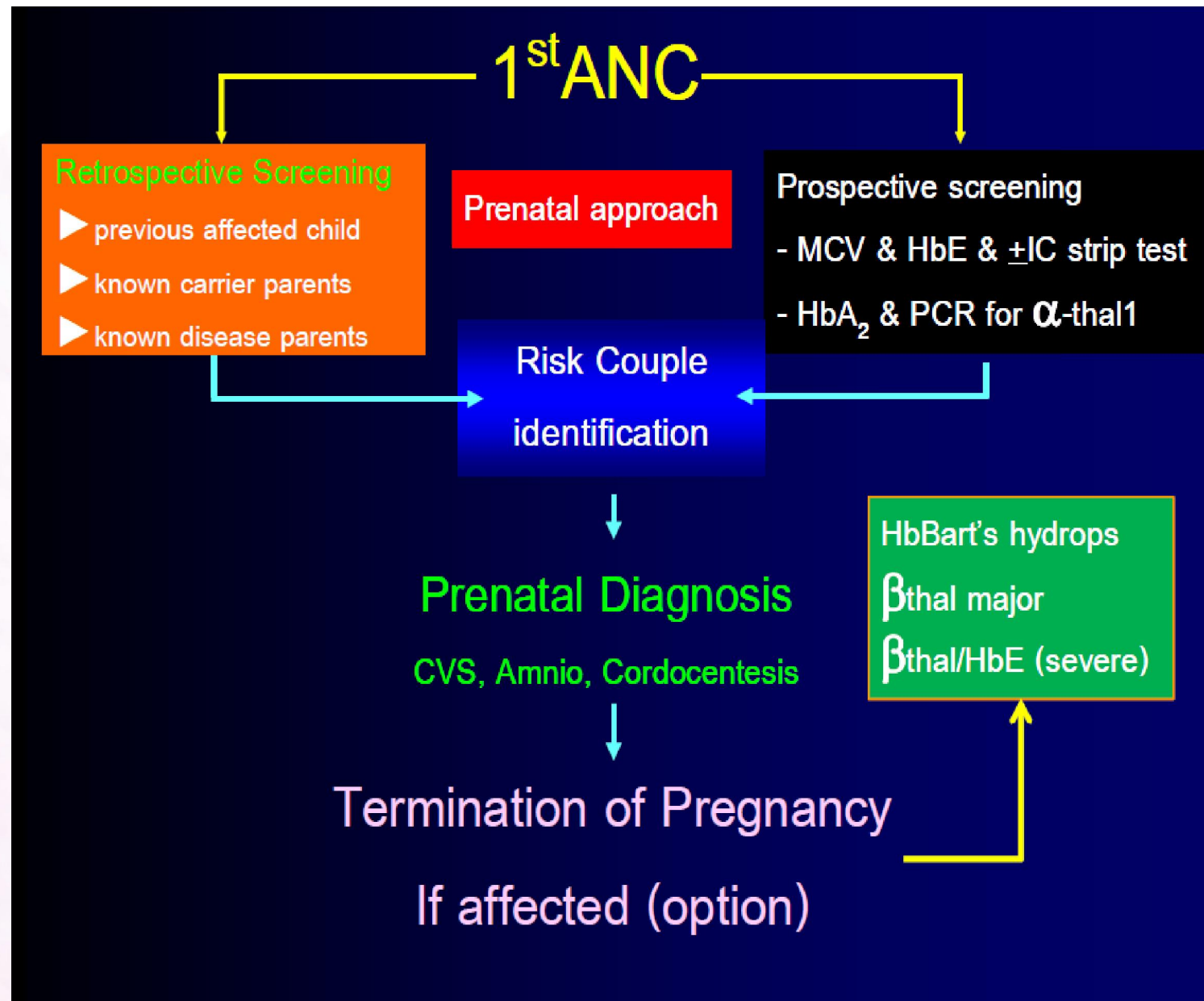


FIGURE 7-10 Schematic drawing of the arrangement of the α and β gene precursors on chromosomes 11 and 16 and the hemoglobin types made from them. (Modified after Thompson, 1991.)



ภาพที่ 1 Diagram แสดงการสร้าง hemoglobin และเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับต่าง ๆ

α -Globin Gene	Genotype	Phenotype	จำนวนของจีน α ที่ทำงาน
$\alpha 2$ $\begin{array}{ c c }\hline + & + \\\hline\end{array}$ $\alpha 1$ $\begin{array}{ c c }\hline + & + \\\hline\end{array}$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal	Normal	4
$\alpha 2$ $\begin{array}{ c c }\hline & + \\\hline\end{array}$ $\alpha 1$ $\begin{array}{ c c }\hline + & + \\\hline\end{array}$	$-\alpha/\alpha\alpha$ α^+ -thal heterozygote (mild)	Silent carrier α -thal trait	3
$\alpha 2$ $\begin{array}{ c c }\hline & + \\\hline\end{array}$ $\alpha 1$ $\begin{array}{ c c }\hline & + \\\hline\end{array}$	$- -/\alpha\alpha$ α^0 -thal heterozygote (moderate)	Microcytosis α -thal trait	2
$\alpha 2$ $\begin{array}{ c c }\hline & \\\hline\end{array}$ $\alpha 1$ $\begin{array}{ c c }\hline + & + \\\hline\end{array}$	$-\alpha/-\alpha$ α^+ -thal homozygote (moderate)	Microcytosis α -thal trait	2
$\alpha 2$ $\begin{array}{ c c }\hline & \\\hline\end{array}$ $\alpha 1$ $\begin{array}{ c c }\hline & + \\\hline\end{array}$	$- -/-\alpha$ α^0 -thal x α^+ -thal (severe)	Hb H disease	1
$\alpha 2$ $\begin{array}{ c c }\hline & \\\hline\end{array}$ $\alpha 1$ $\begin{array}{ c c }\hline & \\\hline\end{array}$	$- -/- -$ α^0 -thal homozygote (lethal)	Hydrops fetalis with Hb Bart's	0



พื้มา-ชเนนทร์ วนาภีรักษ์ 2556

การพัฒนาแนวทางการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมีย
การประชุมสัมมนาวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติครั้งที่ 17
(17-19 กันยายน 2554)

- ระดับที่ 1 ผลการตรวจกรองต้องมีความไวสูง อาจมีผลบวกปลอมบ้างแต่ไม่ควรมีผลลบปลอม ไม่ควรใช้ OF แล้ว
- ระดับที่ 2 การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน
ผู้ปฏิบัติงานต้องเป็นผู้แปลผลการวิเคราะห์
- ระดับที่ 3 กรณีที่ผลการตรวจ Hb typing ไม่สามารถแปลผลได้ให้ตรวจวิเคราะห์ระดับ DNA

“การตรวจทางห้องปฏิบัติการต้องทำตามคู่มืออย่างเคร่งครัด”

วิธีการตรวจคัดกรอง

- ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (Red cell indices)
MCV (80-100 fL), MCH (≥ 27 pg)
- Erythrocyte Osmotic Fragility Test (EOFT)
- การทดสอบ Dichlorophenol Indophenol
Precipitation (DCIP),
KKU- DCIP clear reagent kit



MCV / OFT

(≤ 80 fL)

Positive

α -thal1 trait

β -thal trait

HbE trait

Normal

PCR α thal1
(SEA or Thai)

Hb A2

HbE screen/
DCIP

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556



MCV / OFT

Negative

HbE trait

Normal

HbE screen

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

Screening Strategy - 1

MCV/OFT

+

HbE screen /DCIP

Negative

No risk

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

Screening Strategy - 2

MCV/OFT

+

HbE screen /DCIP



Negative

No α -thal1 trait

No β -thal trait

May be HbE trait



Positive

HbE trait

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

Screening Strategy - 3

MCV/OFT

+

HbE screen /DCIP



Positive



Negative

α -thal1 trait
 β -thal trait

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

Screening Strategy - 4

MCV/OFT

+

HbE screen /DCIP



Positive



Positive

α -thal1 trait
 β -thal trait
ร่วมกับ HbE trait

ทีมา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

การตรวจยืนยันชนิดของฮีโมโกลบิน

- Hemoglobin electrophoresis
ตรวจชนิดของฮีโมโกลบินโดยดูตำแหน่งการเคลื่อนที่บนสนามไฟฟ้า
- การวัดปริมาณของ HbA2 โดยใช้ microcolumn chromatography
- High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)
การแยกชนิดของฮีโมโกลบินออกเป็นสัดส่วนเชิงปริมาณ
- การวิเคราะห์ DNA ปกติใช้ polymerase chain reaction
ร่วมด้วย (PCR for alpha-thal1)

การแปลผล Hb typing จากเครื่อง HPLC (Variant™)

Hb typing	X $\pm$ SD	
	% Hb F	% Hb A2(E)
A ₂ A	0-1.5	2.0-3.4
A ₂ A(β -thal trait)	1-5	3.5-9.0
EFA(β^+ -thal/ Hb E)	10-30	20-50
EF(β^0 -thal/ Hb E)	15-40	40-60
EA(heterozygous Hb E)	1-5	25-30
EE(homozygous Hb E)	1-10	90-100

Confirm test

β -thal trait or HbE trait

- Hb typing
(report %A₂)
- %Hb A₂

α -thal 1 trait

- PCR for α -thal 1

Normal , α -thal 1 trait	<4%
β -thal trait	4-9%
Hb E trait	10-30%
β -thal / Hb E disease	30-60%
Homozygous Hb E	>60%

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

	♀	♂
MCV / OFT	Neg	Neg
DCIP / HbE	Pos	Pos
Hb A2	-	-
PCR	-	-
No risk		

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

	♀	♂
MCV / OFT	Neg	Pos
DCIP / HbE	Neg	(Pos / Neg)
Hb A2	-	-
PCR	-	-
No risk		

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

	♀	♂
MCV	72	84
DCIP / HbE	Pos	Pos
Hb A2	25.0%	23.5%
PCR	Neg	Neg
No Risk		

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

	♂	♀
MCV / OFT	Pos	Neg
DCIP / HbE	Neg	Pos
Hb A2	-	-
PCR	-	-

Risk for beta/E

ที่มา-สุพัตรา ศิริโชติยะกุล 2556

	♀	♂
MCV	64	84
DCIP / HbE	Pos	Pos
Hb A2	45.0%	23.5%
PCR	Neg	Neg

β /E E trait
 PND ??

พื้มา-สุพั้ตรา สิริโชติยะกุล 2556

เทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

1. การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน (DNA analysis) เช่น polymerase chain reaction (PCR), dot-blot hybridization, reverse dot-blot hybridization, DNA sequencing เป็นต้น
2. การตรวจปริมาณการสังเคราะห์ globin chain (globin chain synthesis) ปัจจุบันไม่นิยมแล้ว
3. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณการสร้าง hemoglobin ชนิดต่าง ๆ (hemoglobin typing) ได้แก่ electrophoresis, HPLC

ข้อดีและข้อจำกัดของวิธีการต่างๆในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

ข้อดีของ DNA analysis

- ทราบชนิด **mutation** ที่แน่นอน
- สามารถทำได้ตั้งแต่อายุครรภ์น้อย ๆ

ข้อจำกัดของ DNA analysis

- ค่าใช้จ่ายสูง ประมาณ 2000-4000 บาทต่อครอบครัว
- เทคนิคที่ซับซ้อน เครื่องมือราคาแพง
- ต้องทราบชนิด **mutation** ของพ่อแม่
- ใช้เวลา รายที่เป็น **rare mutation** ต้องใช้เวลาวิเคราะห์นานขึ้น
- กรณีที่มีเซลล์แม่ปนเปื้อน อาจทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้

ข้อดีและข้อจำกัดของวิธีการต่าง ๆ ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

ข้อดีของ **Hb typing**

- ไม่ต้องทราบชนิด **mutation** ของพ่อแม่มาก่อน
- ค่าใช้จ่ายไม่สูง ใช้เวลาตรวจไม่นานประมาณ **6** นาที
- เครื่อง **HPLC** มีอยู่ตามโรงพยาบาลศูนย์ทั่วไป
- สามารถบอกว่ามีเลือดแม่ปนหรือไม่โดยวิธี **acid elution test**

ข้อดีและข้อจำกัดของวิธีการต่าง ๆ ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

ข้อจำกัดของ **Hb typing**

- การทำ **cordocentesis** ต้องได้รับการฝึกฝนมากกว่า
- ทำในอายุครรภ์ที่มากกว่า คือประมาณ **18-22** สัปดาห์
- ไม่สามารถบอกชนิดของ **mutation** ได้
- กรณีที่มี **Peak** ของ **abnormal hemoglobin** ปรากฏขึ้น จำเป็นต้องได้รับการตรวจเพิ่มเติม

การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

ต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่าง

- อายุครรภ์
- เศรษฐฐานะของครอบครัว
- ความพร้อมของห้องปฏิบัติการที่จะส่งตัวอย่างไปตรวจ
- ความชำนาญของสูติแพทย์

เทคนิคทางสูติศาสตร์ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

1. Preimplantation genetic diagnosis (PGD)

การตรวจเซลล์จากตัวอ่อนก่อนการฝังตัวของทารก DNA analysis

2. Chorionic villus sampling (CVS)

การตัดชิ้นเนื้อรกเพื่อตรวจวินิจฉัย DNA analysis

3. Amniocentesis

การเจาะน้ำคร่ำ นำมาเพาะเลี้ยงเซลล์และตรวจวินิจฉัย DNA analysis

4. Cordocentesis

การเจาะเลือดจากสายสะดือทารก เลือดที่ได้สามารถตรวจได้ทั้ง Hb typing หรือตรวจ DNA analysis ได้

5. Ultrasonography

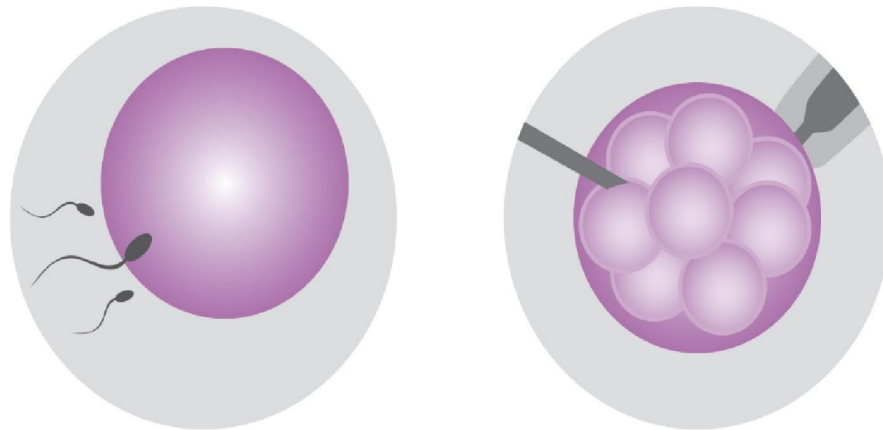
ใช้ค้นหาทารกที่เป็น hydrops fetalis ได้

Preimplantation genetic diagnosis (PGD)

การตรวจเซลล์จากตัวอ่อนก่อนการฝังตัวของทารก DNA analysis

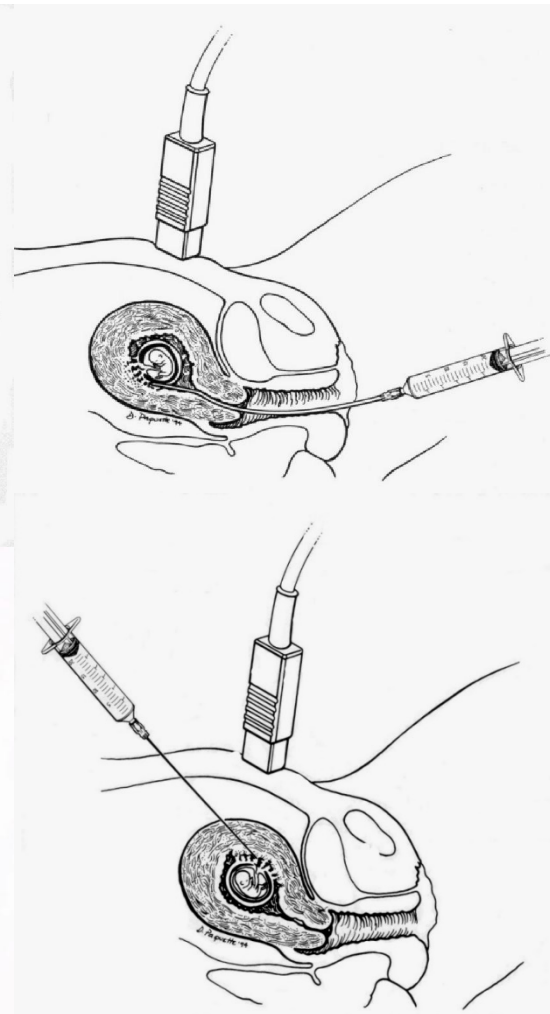
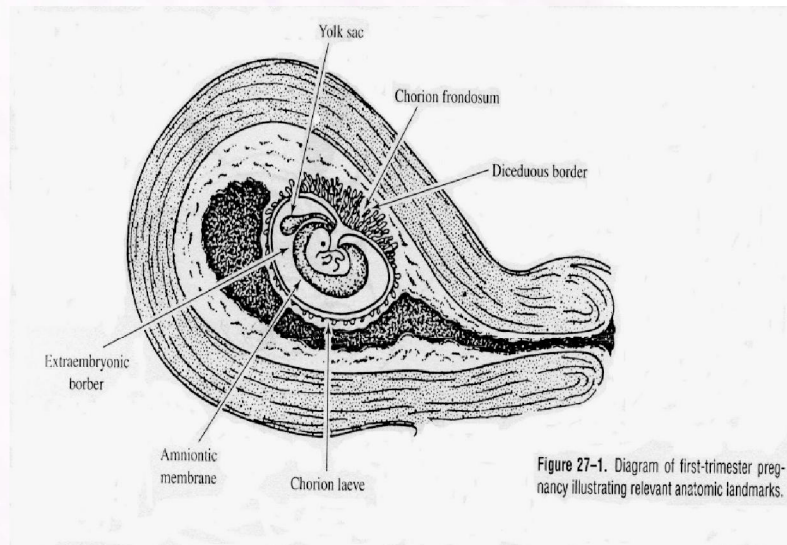
Taking an Embryo Biopsy

- 1 Embryos are created by IVF.
- 2 A single cell from a day 3 embryo or a few cells from a day 5 embryo can be removed for testing, such as karyomapping.
- 3 After the test, only unaffected embryos are transferred to initiate pregnancy.



Chorionic villus sampling (CVS)- 9-12 wks

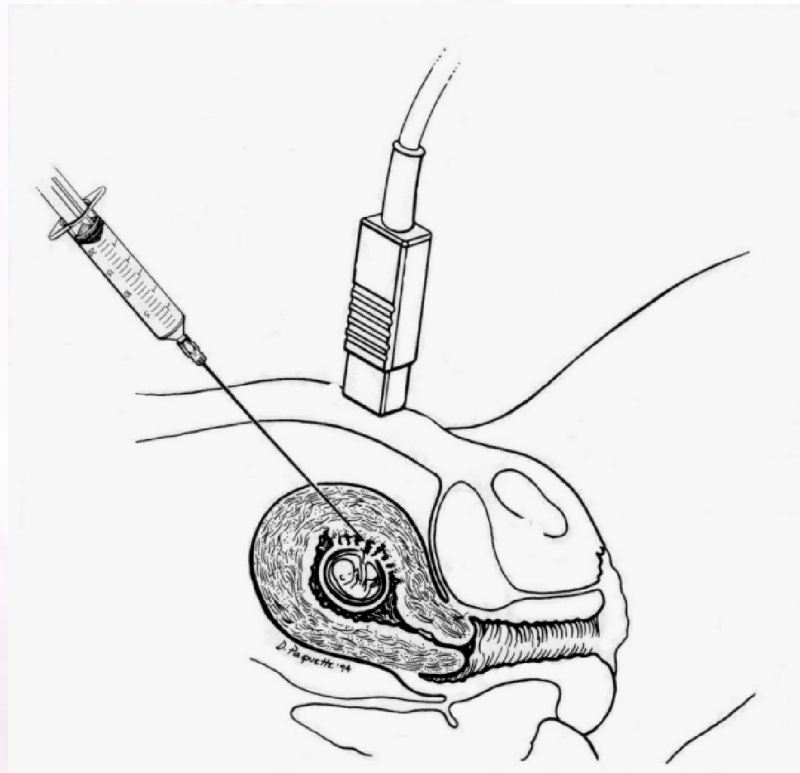
การตัดชิ้นเนื้อรกเพื่อตรวจวินิจฉัย DNA analysis



Amniocentesis

การเจาะน้ำคร่ำ (16-18 สัปดาห์)

นำมาเพาะเลี้ยงเซลล์และตรวจวินิจฉัย DNA analysis



การเจาะน้ำคร่ำ 8,073 รายที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์
พบการแท้ง 10 รายหลังการเจาะภายใน 14 วัน
คิดเป็นร้อยละ 0.12

*(Hanprasertpong T, Kor-anantakul O, Suntharasaj T, Suwanrath
C. Outcome of second trimester amniocentesis in singleton
pregnancy at Songklanagarind Hospital.
J Med Assoc Thai 2011 ; 94: 1288-92.)*

Cordocentesis

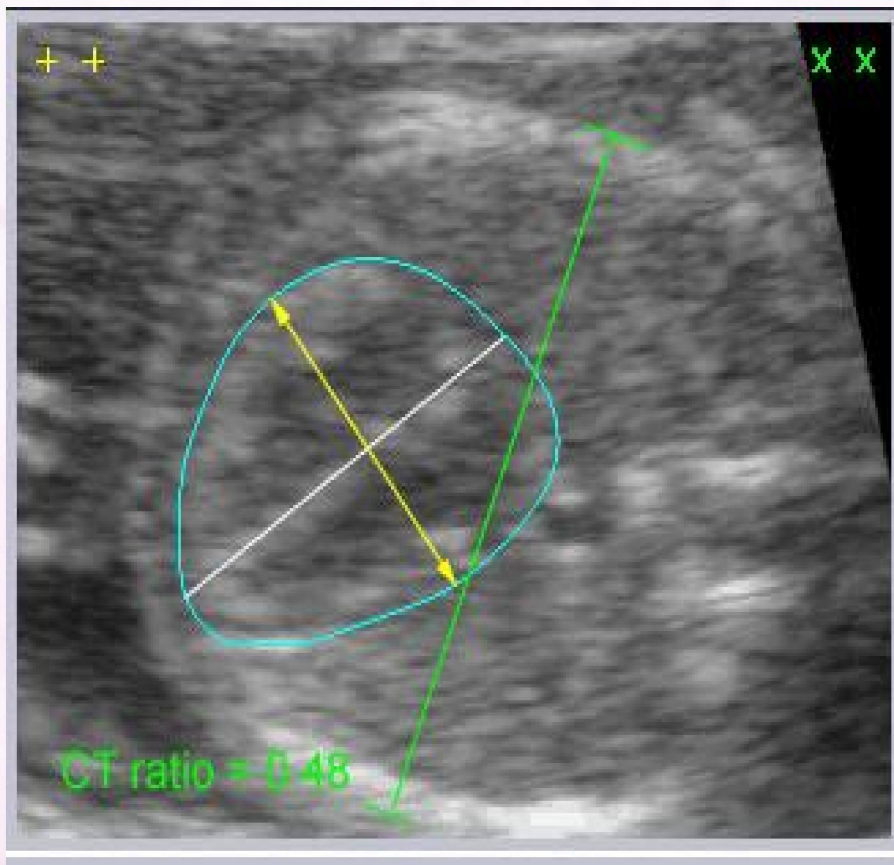
การเจาะเลือดจากสายสะดือทารก (18-22 สัปดาห์) เลือดที่ได้สามารถตรวจได้ทั้ง **Hb typing** หรือตรวจ **DNA analysis** ได้



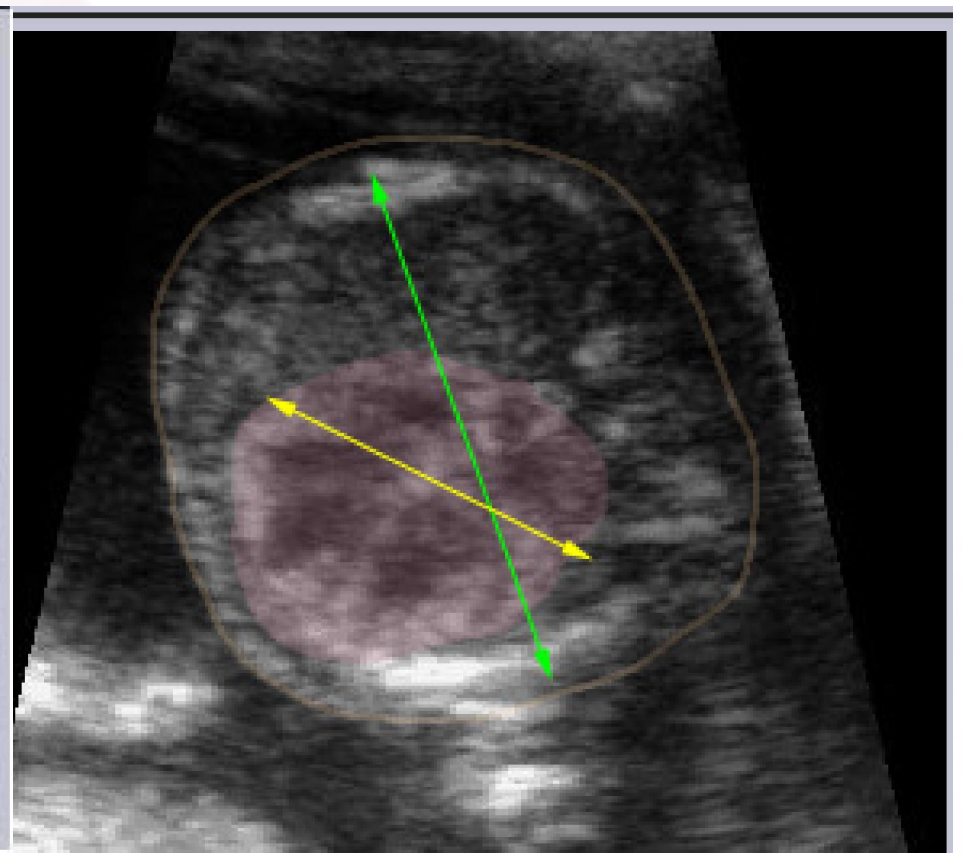
Ultrasonography

ใช้ค้นหาทารกที่เป็น Bart's hydrops fetalis ได้

หัวใจทารกปกติ

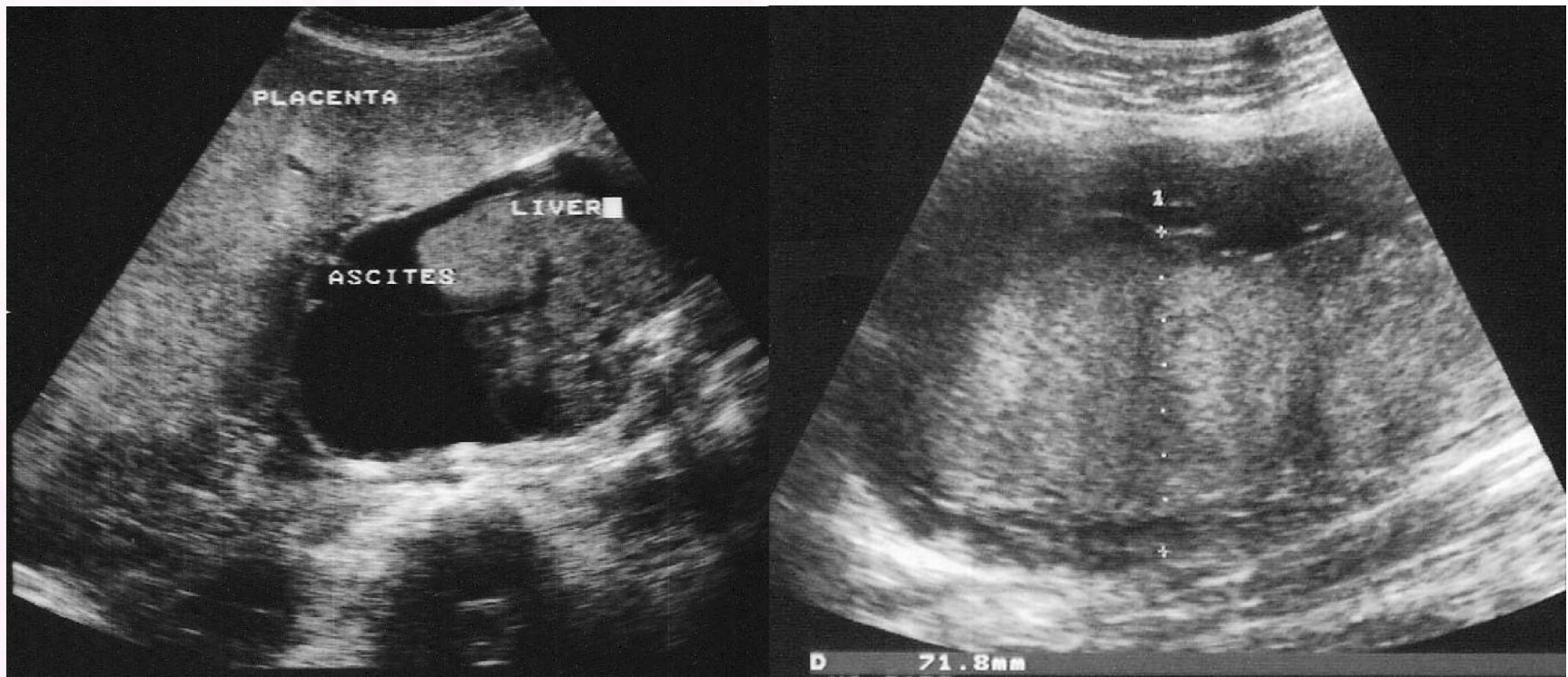


หัวใจทารก Bart's hydrops

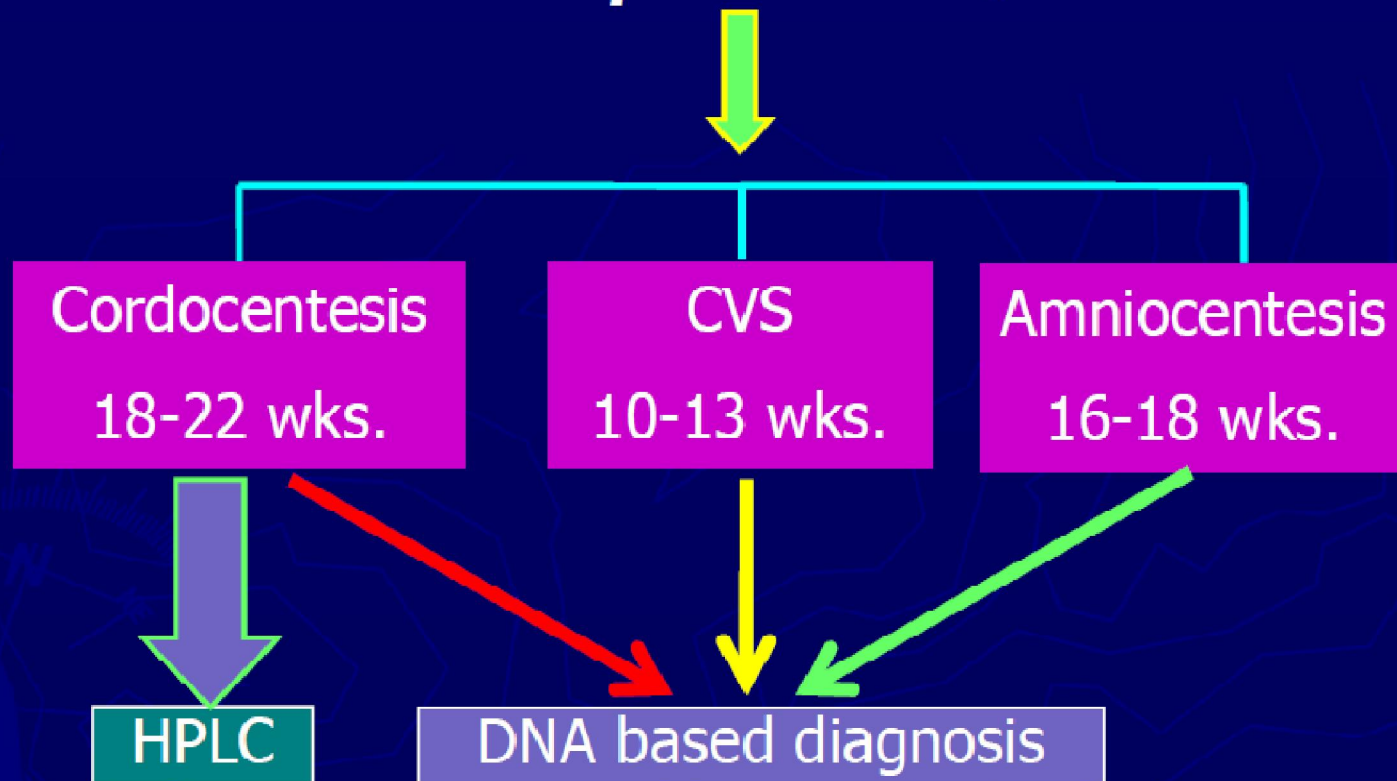


Ultrasonography

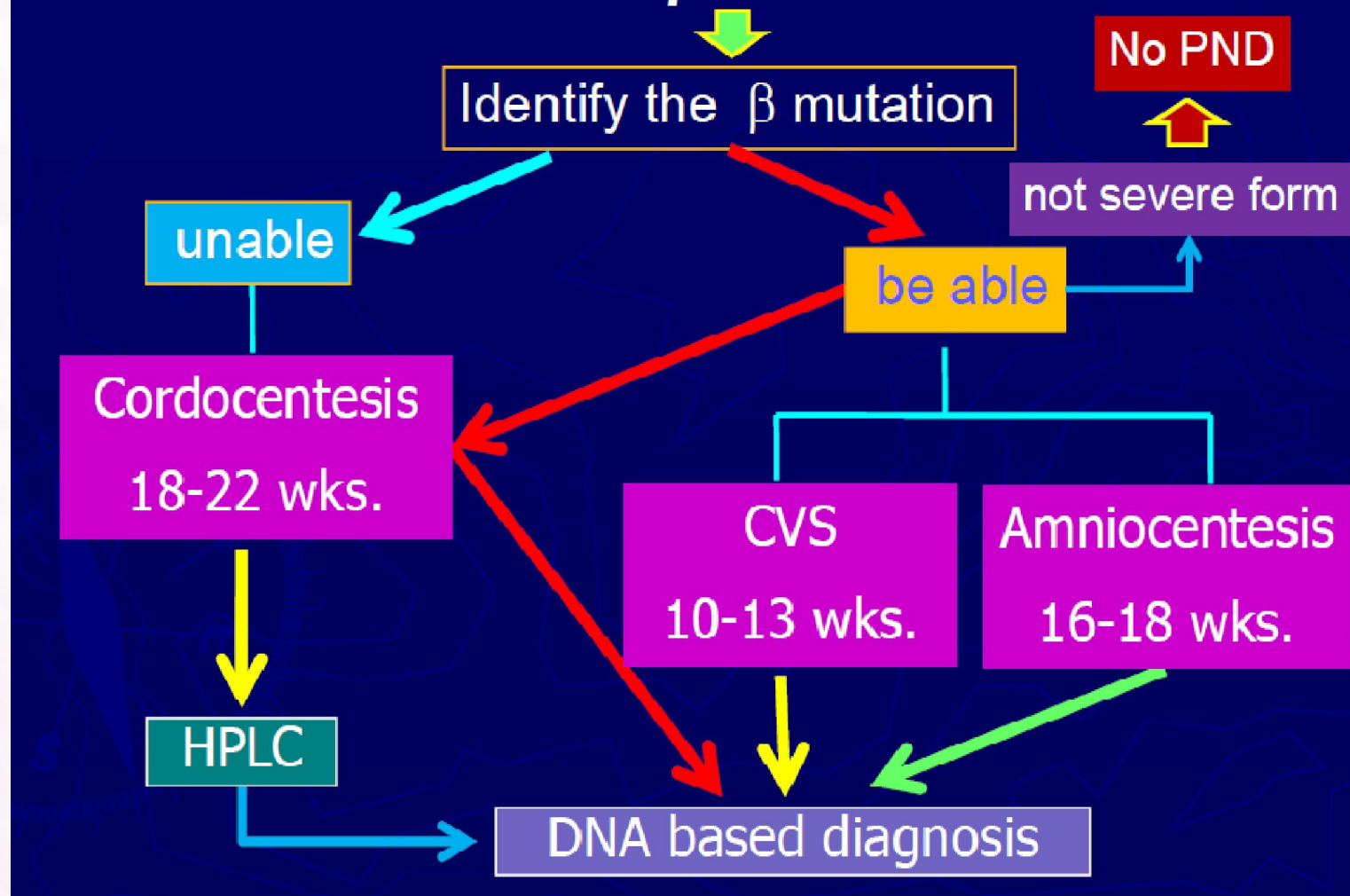
ใช้ค้นหาทารกที่เป็น Bart's hydrops fetalis ได้



Risk for β thal major



Risk for β thal / HbE



ทีมา-ชเนนทร์ วนาภีรักษ์ 2556

Risk for α thal hydrops

Definite: α thal 1 couple

Likely: MCV pos. HbA2 < 4%

Ultrasound evaluation

Positive US marker

Cordocentesis
18-22 wks.

CVS(10-13 wks.)
Amniocentesis(16-18 wks.)

HPLC

DNA based diagnosis

For Reduction
Abortion risk

ที่มา-ชเนนทร์ วนาภิรักษ์ 2556

Prenatal diagnosis of severe thalassemia diseases in Songklanagarind Hospital (1991-2005)

Total cases 511

Amniocentesis 511 cases

CVS 4 cases

Cordocentesis 2 cases

Diseases 129 cases **(25%)**

Bart's Hydrops 14 cases

β thal / Hb E 83 cases

β thal homozygous 32 cases

Cannot identified DNA 20 cases **(4%)**

Lab failure 3 cases **(0.6%)**



คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ขอบคุณค่ะ