ความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในนิสิตสายวิทยาศาสตร์สุขภาพมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Prevalence of Thalassemia Carriers among Health Science Students at Mahasarakham University

จงกลณี ธนาไสย์[1], เบญจมาศ อรุณพาส[2]

Jongkonnee Thanasai[1], Benjamat Aroonpas[2]

Received: 6 August 2018 ; Revised : 4 January 2019 ; Accepted: 14 January 2019

บทคัดย่อ

โรคธาลัสซีเมียเป็นปัญหาสำคัญของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยเพราะมีความชุกของพาหะสูง การควบคุมป้องกันที่ดีที่สุด คือ การตรวจกรองหาพาหะในวัยเจริญพันธุ์ก่อนแต่งงาน การศึกษานี้จึงทำการตรวจหาพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญในนิสิตสายวิทยาศาสตร์สุขภาพสาขาหนึ่งในมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ซึ่งร้อยละ 96.4 มีภูมิลำเนาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เลือดตัวอย่าง 110 รายถูกนำมาวิเคราะห์ความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด ตรวจกรองฮีโมโกลบินอี ตรวจแยกชนิดของฮีโมโกลบินและหาปริมาณของฮีโมโกลบิน A_2/E และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส ผลการศึกษาพบว่ามีผู้เป็นพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญร้อยละ 32.7 (36/110 ราย) โดยพบพาหะของ α^0-thalassemia ชนิด SEA (- -^{SEA}) ร้อยละ 3.6 (4/110) พาหะของ $\delta\beta$-thalassemia ร้อยละ 0.9 (1/110) และ พาหะของ Hb E ร้อยละ 30.9 (34/110) โดยใน 34 รายนี้เป็นพาหะ Hb E ร่วมกับ α^0-thalassemia จำนวน 3 ราย คิดเป็นความถี่ของยีน α^0-thalassemia , $\delta\beta$-thalassemia, และฮีโมโกลบินอี เท่ากับ 0.0182, 0.0045, และ 0.1636 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าความชุกของพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญสูงถึง 1 ใน 3 โดยนิสิตเหล่านี้ต้องปฏิบัติงานในโรงพยาบาลรัฐของภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีโอกาสเจอผู้ป่วยได้บ่อย และการศึกษานี้ยังทำให้นิสิตมีความรู้ความเข้าใจและตระหนักถึงความสำคัญของโรคธาลัสซีเมีย ซึ่งอาจนำไปสู่การปรับใช้เพื่อควบคุมป้องกันโรคอย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต

คำสำคัญ: ความชุก พาหะธาลัสซีเมีย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Abstract

Thalassemia is an autosomal recessive inherited blood disease and a significant health problem in Northeast Thailand due to the high prevalence of carriers and high incidence of disease. However, the disease can be prevented by blood testing for thalassemia disease or carriage. This study sought to detect significant thalassemia carriers among health science students at Mahasarakham University. Venous blood was drawn from 110 health sciences students. Hematologic parameters were measured. All blood samples were tested for hemoglobin E, hemoglobin type and quantification of Hb A_2/E using cellulose acetate electrophoresis and anion exchange chromatography, respectively. Blood samples generating inconclusive results in these tests were further subject to DNA analysis by PCR. The prevalence of significant thalassemia carriers was 32.7 % (36/110) with α^0-thalassemia carrier SEA (- -^{SEA}) deletion type 3.6 % (4/110), $\delta\beta$-thalassemia carrier 0.9 % (1/110) and Hb E carrier 30.9 % (34/110) which is co-inherited with α^0-thalassemia for 3 cases. The gene frequencies of α^0-thalassemia, $\delta\beta$-thalassemia, hemoglobin E were 0.0181,

[1] อาจารย์ กลุ่มวิชาปรีคลินิก, [2]นักเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสุทธาเวช, คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

[1] Lecturer, Preclinic Division, [2]Medical technologist, Suddhavej hospital, Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Muang District, Maha Sarakham 44000, Thailand.

** Corresponding author; Jongkonnee Thanasai, Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Muang District, Maha Sarakham 44000, Thailand. jongkonnee@msu.ac.th*

0.0045, and 0.1636, respectively. This study revealed that significant thalassemia carriage is common (1 in 3) among MSU health sciences students residing in the Northeast rural area. These students increased their knowledge of thalassemia significantly after the attendance. By improving knowledge and awareness of this disorder among MSU medical staff, it should soon be possible to implement a prevention and control program for thalassemia in the Northeast region.

Keywords: Prevalence, Thalassemia carrier, Mahasarakham University

บทนำ

ธาลัสซีเมีย (thalassemia) เป็นโรคโลหิตจางที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมผ่านยีนด้อยบนโครโมโซมร่างกาย (autosomal recessive inheritance) ที่เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทยเนื่องจากมีอุบัติการณ์สูง ในประเทศไทยพบว่าประมาณร้อยละ 1 ของประชากรไทย หรือประมาณ 600,000 คนป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมีย และอีกร้อยละ 40 ของประชากรเป็นพาหะของโรคคือประมาณไม่ต่ำกว่า 20 ล้านคน ซึ่งคนที่เป็นพาหะอาจจะไม่มีอาการหรือมีอาการซีดเล็กน้อย แต่หากแต่งงานกับคนที่เป็นพาหะด้วยกัน จึงจะมีอาการแสดงของโรคในลูกที่ได้รับยีนผิดปกติจากทั้งพ่อและแม่ที่เป็นพาหะตามรูปแบบการถ่ายทอดแบบ autosomal recessive ในปีหนึ่ง ๆจะมีคู่สมรสที่เป็นพาหะทั้งคู่และมีความเสี่ยงต่อการมีลูกเป็นโรคไม่ต่ำกว่าห้าหมื่นคู่ และมีทารกคลอดออกมาเป็นโรคประมาณ 12,000 คน[1] ในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบความชุกของพาหะได้ถึงร้อยละ 30-50 ความรุนแรงของโรคนี้มีได้ตั้งแต่มีความรุนแรงมากจนอาจเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือหลังคลอดหรือรุนแรงปานกลางจนต้องให้เลือดทุกเดือนและรุนแรงน้อยจนไม่มีอาการแสดงแต่ก็ทำให้คุณภาพชีวิตลดลง[1] แนวทางการป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมีย มีหลายรูปแบบและยุทธวิธี ซึ่งเหมาะสมแตกต่างกันไปตามยุคสมัย หรือภูมิภาคที่มีความชุกของพาหะและเศรษฐานะของคนในภูมิภาค การดำเนินงานที่จะให้ผลสัมฤทธิ์ต้องทำสองอย่างควบคู่กันไป คือ (1) การป้องกันไม่ให้มีผู้ป่วยธาลัสซีเมียเกิดขึ้นใหม่ และ (2) การปรับปรุงการบริการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคธาลัสซีเมีย ให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น[1-3] ซึ่งแนวทางเหล่านี้จะช่วยลดจำนวนผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียและลดค่าใช้จ่ายของประเทศในการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคนี้ได้อีกทางหนึ่ง สำหรับช่วงอายุที่เหมาะสมในการตรวจกรองหาพาหะของโรค คือ วัยเจริญพันธุ์ก่อนแต่งงาน (premarital screening)[4] แต่ในประเทศไทยยังมีปัญหาเรื่องงบประมาณในการตรวจกรองคนจำนวนมากอยู่ ในปัจจุบันจึงนิยมทำการตรวจกรองในขณะตั้งครรภ์ (prenatal screening) เพราะสตรีตั้งครรภ์ที่มาฝากครรภ์ที่โรงพยาบาลจะถูกเจาะเลือดตรวจอย่างอื่นด้วยอยู่แล้ว แต่วิธีนี้ถือว่าเป็นการแก้ปัญหาที่ปลายเหตุเพราะมีการปฏิสนธิเกิดขึ้นแล้วและถ้าต้องมีการสิ้นสุดการตั้งครรภ์ในรายที่ลูกในครรภ์เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงก็จะสร้างความเสียใจแก่คู่สมรสนั้นได้

กระทรวงสาธารณสุขมีคำประกาศนโยบาย ส่งเสริมป้องกัน และควบคุมโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของประเทศไทย เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2548 โดยให้ถือว่าเป็นนโยบายแห่งชาติ ในการลดจำนวนผู้ป่วย โรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 โรค ได้แก่ Hb Bart's hydrop fetalis (homozygous α^0-thalassemia), homozygous β-thalassemia และ β-thalassemia / hemoglobin E [5] โดยให้หญิงมีครรภ์ทุกคนได้รับการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์สำหรับโรคธาลัสซีเมียและได้รับการตรวจกรอง (screening test) หาพาหะโดยสมัครใจ หากอายุครรภ์ไม่เกิน 16 สัปดาห์ และหากพบผลเลือดผิดปกติให้ติดตามสามีมารับการตรวจเลือดเพื่อตรวจกรองพาหะ ถ้าผลการตรวจกรองผิดปกติทั้งคู่ให้ทำการตรวจยืนยัน (confirmatory test) ว่าเป็นคู่สมรสคู่เสี่ยงที่มีโอกาสมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง และได้รับการให้คำปรึกษาในการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอดและให้คำปรึกษาการสิ้นสุดการตั้งครรภ์ในรายที่ตรวจพบว่าบุตรในครรภ์เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 1 ใน 3 โรคดังกล่าว

โรคธาลัสซีเมียเกิดจากการขาดหายไป (deletion) หรือการกลายพันธุ์ (mutation) ของยีนโกลบิน (globin) ที่ใช้ในการสังเคราะห์สายโปรตีนโกลบิน (globin chain) เพื่อรวมตัวกับ heme ได้เป็นสารประกอบฮีโมโกลบิน (hemoglobin; Hb) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในเซลล์เม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่ในการขนส่งออกซิเจน ยีนโกลบินที่พบการขาดหายไปและการกลายพันธุ์ได้บ่อย คือ α-globin และ β-globin ทำให้เกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดอัลฟาและบีตา (α-thalassemia และ β- thalassemia) ตามลำดับ ในคนปกติมียีน α-globin จำนวน 4 ยีน เขียนแทนด้วย $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ และมียีน β-globin จำนวน 2 ยีน เขียนแทนด้วย β/β ในผู้ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 โรคดังกล่าวเกิดจากอันตรกิริยาระหว่างยีนโกลบินที่ผิดปกติในพ่อและแม่ที่เป็นพาหะ ดังนี้ (1) โรค Hb Bart's hydrop fetalis หรือโรค homozygous α^0-thalassemia เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างยีน α^0-thalassemia (- -/$\alpha\alpha$) จากพ่อและแม่

ทำให้ลูกมีโอกาส 1 ใน 4 ที่จะเป็นโรค homozygous α^0-thalassemia (- -/- -) ซึ่งมีอาการรุนแรงมากที่สุดคือทารกตายในครรภ์หรือหลังคลอด (2) โรค homozygous β-thalassemia เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างยีน β^0-thalassemia (β/β^0) จากพ่อและแม่ ทำให้ลูกมีโอกาส 1 ใน 4 ที่จะเป็นโรคนี้ ซึ่งเด็กที่เกิดมาจะต้องได้รับเลือดตลอดชีวิตและมีอายุสั้น และ (3) โรค β-thalassemia / hemoglobin E เกิดจากอันตรกิริยาระหว่างยีน β^0-thalassemia (β/β^0) จากพ่อหรือแม่ และยีน hemoglobin E (β^E) ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติจากพ่อหรือแม่ ทำให้ลูกมีโอกาส 1 ใน 4 ที่จะเป็นโรคนี้ซึ่งเด็กจะมีอาการซีดและจำเป็นต้องได้รับเลือดเช่นกัน ดังนั้นพาหะของธาลัสซีเมียที่สำคัญที่จะต้องตรวจหา ได้แก่พาหะของ α^0-thalassemia (- -) พาหะของ β-thalassemia (β^0) และพาหะของ hemoglobin E (β^E)

นิสิตสาขาหนึ่งในสายวิทยาศาสตร์สุขภาพของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ส่วนมากมีภูมิลำเนาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยตามเกณฑ์การคัดเลือกเข้าศึกษา เมื่อสำเร็จการศึกษาจะต้องปฏิบัติงานในโรงพยาบาลรัฐของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่พบอุบัติการณ์ของโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติสูง ทีมผู้วิจัยจึงมีสมมติฐานว่าในนิสิตสายวิทยาศาสตร์สุขภาพสาขานี้ที่มีภูมิลำเนาในเขตที่มีความชุกของโรคสูง น่าจะมีผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติอยู่ด้วยและการได้รับความรู้จากการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อตัวนิสิตและผู้ป่วยในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความชุก (prevalence) ของพาหะธาลัสซีเมียที่มีโอกาสมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในนิสิตสายวิทยาศาสตร์สุขภาพสาขาหนึ่งของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ได้แก่ พาหะของ α^0-thalassemia พาหะของ β-thalassemia และพาหะของ hemoglobin E และทดสอบความรู้ความเข้าใจในโรคธาลัสซีเมียก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

วิธีการวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ทำการศึกษาวิจัยในครั้งนี้คือ นิสิตสายวิทยาศาสตร์สุขภาพสาขาหนึ่งในมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ทุกชั้นปี มีจำนวนทั้งสิ้น 300 คน นำมาคำนวณขนาดของตัวอย่างขั้นต่ำที่ต้องใช้ในการศึกษานี้ โดยกำหนดให้ขนาดประชากร (N) = 300 คน ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ (e) = 8 % (0.08) ดังนั้นขนาดตัวอย่างประชากร (Yamane T. 1973) (n) = $N/(1+Ne^2)$ แทนค่า (n) = $300/(1+300\ (0.08)^2)$ = 102.74 คน หรือ 103 คน โดยการศึกษาวิจัยนี้มีการสุ่มตัวอย่างแบบง่ายตามความสมัครใจของผู้เข้าร่วมโครงการจำนวน 110 คน โครงการวิจัยได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เลขที่การรับรอง 211/2557 ผู้เข้าร่วมโครงการทุกคนจะได้รับฟังข้อมูลโครงการวิจัยและลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการ (informed consent) และตอบแบบสอบถามประวัติส่วนตัว และทำแบบทดสอบความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ (pre-test / post-test) จำนวน 20 ข้อแต่ละข้อมี 5 ตัวเลือก โดยเลือกข้อที่ถูกต้องที่สุด

การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาและการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

อาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการเข้ารับการเจาะเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง นำมาตรวจกรองหาพาหะฮีโมโกลบินอีด้วยชุดน้ำยาตรวจกรอง KKU-DCIP-Clear reagent kit ตามวิธีในใบแทรกผลิตภัณฑ์ ตรวจความสมบูรณ์ของเลือดครบส่วน (Complete Blood Count; CBC) ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ COULTER® HmX Hematology Analyzer เพื่อหาค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดงประกอบการวินิจฉัยเบื้องต้นสำหรับพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ ได้แก่ค่า Hb, Hct, RBC count, MCV, MCH, MCHC, RDW และตรวจสเมียร์เลือด เลือดที่เหลือจะถูกนำไปตรวจหาชนิดฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis และหาปริมาณฮีโมโกลบินเอสอง (A_2) ด้วยวิธี anion exchange chromatography โดยห้องปฏิบัติการมาตรฐานของศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อได้ผลการตรวจทั้งสามขั้นตอน (DCIP screening, CBC, Hb typing) ของอาสาสมัครทุกราย จะสามารถสรุปผลเบื้องต้นในรายที่เป็นพาหะของ Hb E หรือ Hb Constant Spring สำหรับรายที่สงสัยว่าจะเป็นพาหะ β-thalassemia ร่วม คือ มีผล Hb typing ปกติคือ A_2A แต่มีปริมาณร้อยละของ HbA_2 เกินค่า cut off ≥ 3.5% ที่แสดงถึงการเป็นพาหะของยีน β-thalassemia และรายที่สงสัยว่าจะเป็นพาหะ α^0-thalassemia ร่วม คือมีผลตรวจ CBC ที่ผิดปกติ จะนำเลือดมาสกัดดีเอ็นเอเพื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR เพื่อตรวจหาพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญต่อไป โดยพาหะ α^0-thalassemia จะตรวจหาเฉพาะชนิด Southeast Asian (- -^{SEA}) deletion และชนิด THAI (- -^{THAI}) deletion

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลจะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ข้อมูลทางชีวสังคม อัตราการตรวจพบพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญและผู้ที่เป็นโรค ความถี่ของยีน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ (pre-test / post-test) ด้วย Paired Samples T test กำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)

ผลการวิจัย

ข้อมูลชีวสังคม

นิสิตสายวิทยาศาสตร์สุขภาพสาขาหนึ่งในมหาวิทยาลัยมหาสารคาม จำนวน 300 คน มีอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการจำนวน 110 ราย จากแบบสอบถามประวัติส่วนตัว สามารถสรุปข้อมูลชีวสังคมได้ดังนี้ จำนวนอาสาสมัครเพศชาย 41 ราย คิดเป็นร้อยละ 37.3 จำนวนอาสาสมัครเพศหญิง 69 ราย คิดเป็นร้อยละ 62.7 อายุเฉลี่ยของอาสาสมัคร คือ 20 ปี (17-22 ปี) มีภูมิลำเนาอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 106 ราย โดยส่วนมากอาศัยอยู่ในเขตสุขภาพที่ 7 (ร้อยแก่นสารสินธุ์) คือ 96 ราย ภาคอื่นๆ 4 ราย ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Biological data of 110 health science students

Biological factors	Number (percent)
Sex	
Male	41 (37.3)
Female	69 (62.7)
Age	
≤ 20 years	78 (70.9)
> 20 years	32 (29.1)
Domicile	
North East Region	106 (96.4)
• *Mahasarakham*	• 21 (19.1)
• *Roi-Et*	• 29 (26.4)
• *Kalasin*	• 17 (15.5)
• *Khon Kaen*	• 29 (26.4)
• *Other*	• 10 (9.1)
Central Region	1 (0.9)
Southern Region	1 (0.9)
East Region	2 (1.8)

อัตราการตรวจพบพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญและความถี่ของยีน

จากผลการตรวจทางโลหิตวิทยาและการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ประกอบด้วย การตรวจกรองพาหะฮีโมโกลบินอีด้วยชุดตรวจ KKU-DCIP, การตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC), การตรวจยืนยันการเป็นโรคด้วยการตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (hemoglobin typing) ด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis และปริมาณฮีโมโกลบินเอสอง (A_2) ด้วยวิธี anion exchange chromatography และตรวจเพิ่มเติมระดับดีเอ็นเอด้วยเทคนิคทางโมเลกุล (Polymerase Chain Reaction; PCR) ในรายที่ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ด้วยชนิดของฮีโมโกลบิน พบว่า อาสาสมัครทั้งหมด 110 ราย มีผล Hb typing ปกติคือ A_2A จำนวน 67 รายและมีปริมาณร้อยละของ HbA_2 ระหว่าง 1.8-3.1 ซึ่งไม่เกินค่า cut off ≥ 3.5% ที่แสดงถึงการเป็นพาหะของยีน β-thalassemia จึงไม่ได้ทำการตรวจหายีน β-thalassemia เพิ่มเติม มีอาสาสมัคร 11 รายที่ได้รับการตรวจหายีน α^0-thalassemia ด้วยเทคนิค Allele specific-PCR เพิ่มเติมเนื่องจากผล CBC ผิดปกติ แต่ไม่พบยีน α^0-thalassemia อาสาสมัครจำนวน 32 รายพบว่า มี Hb E ร่วมแบ่งเป็น CSEA 7 ราย และ EA 25 ราย ได้ทำการคัดเลือกรายที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25 จำนวน 7 รายเพื่อตรวจหายีน α^0-thalassemia เพิ่มเติม พบว่ามียีน α^0-thalassemia ร่วมจำนวน 3 ราย ในขณะที่ผู้ที่มีผลเลือดเป็น EE 2 รายให้ผลลบต่อการตรวจหายีน α^0-thalassemia อาสาสมัคร 1 รายมีผล Hb เป็น A_2ABart'sH เมื่อตรวจระดับดีเอ็นเอพบว่า ให้ผลบวกต่อ α^0-thalassemia gene (SEA deletion) และ α^+-thalassemia gene (3.7 kb deletion) แต่ให้ผลลบต่อ α^+-thalassemia gene (4.2 kb deletion) และ Hb Constant Spring & Pakse' gene อาสาสมัคร 1 รายมีผล Hb เป็น A_2FA เมื่อตรวจระดับดีเอ็นเอพบว่า ให้ผลบวกต่อ δβ-thalassemia gene (12.6 kb deletion) แต่ให้ผลลบต่อ α^0-thalassemia gene (SEA&THAI deletion) กล่าวโดยสรุป ผลการศึกษาพบว่ามีพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญร้อยละ 32.7 (36 ใน 110 ราย) โดยแบ่งเป็นพาหะ α^0-thalassemia ชนิด SEA ร้อยละ 3.6 (4/110) พาหะ db-thalassemia (12.6 kb deletion, Hb typing A_2FA) ร้อยละ 0.9 (1/110) และ พาหะ Hb E ร้อยละ 30.9 (34/110) โดยใน 34 รายนี้เป็นพาหะ Hb E ร่วมกับ α^0-thalassemia จำนวน 3 ราย นอกจากนี้ยังพบพาหะของฮีโมโกลบินผิดปกติ คือ Hb Constant Spring ร้อยละ 12.7

(14/110) โดยใน 14 รายนี้เป็นพาหะ Hb E ร่วมด้วย 7 ราย และพบผู้เป็นโรค hemoglobin H disease (Hb typing A_2ABart'sH) จำนวน 1 ราย (ร้อยละ 0.91) ดังแสดงใน Table 2 ผลการตรวจทางโลหิตวิทยาของอาสาสมัครที่มีผลเลือดเป็น A_2A และไม่ได้ทำการตรวจระดับดีเอ็นเอต่อ จำนวน 56 ราย อาสาสมัครที่มีผลเลือดเป็น A_2A และได้ทำการตรวจระดับดีเอ็นเอเนื่องจากมีค่า RBC indices ที่ผิดปกติจำนวน 11 ราย และผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ จำนวน 43 ราย แสดงใน Table 3 ความถี่ของยีนพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญในนิสิตสายวิทยาศาสตร์สุขภาพแสดงใน Table 4

ความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียในอาสาสมัครก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ

อาสาสมัครเข้าร่วมโครงการทั้งหมด 110 รายจะต้องทำแบบทดสอบความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมีย จำนวน 20 ข้อ เมื่อเซ็นยินยอมเข้าร่วมโครงการ และทำการทดสอบอีกครั้งด้วยข้อสอบชุดเดิมหลังจากรับฟังคำอธิบายผลการตรวจเลือดพร้อมคำแนะนำเป็นรายบุคคลจากผู้วิจัย ตัวอย่างคำถามในแบบทดสอบความรู้ ดังแสดงใน Figure 1 เมื่อนำผลการทดสอบความรู้มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ ด้วย Paired Sample T-Test พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยคะแนนเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 6.25 คะแนน

Table 2 Type and number of thalassemia and abnormal hemoglobin carriers of health science students

Group	Diagnosis results	Genotype	Number (percent)
1	Normal	$\alpha\alpha/\alpha\alpha,\ \beta/\beta$	67 (60.9)
2	Hb H disease	$--/-\alpha,\ \beta/\beta$	1 (0.9)
3	δβ-thalassemia trait	$\alpha\alpha/\alpha\alpha, \delta\beta/\beta$	1 (0.9)
4	Hb Constant Spring trait	$\alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha, \beta/\beta$	7 (6.4)
5	Hb E trait	$\alpha\alpha/\alpha\alpha, \beta/\beta^{E}$	22 (20.0)
6	Hb E trait with Hb CS trait	$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{CS}, \beta/\beta^{E}$	7 (6.4)
7	Hb E trait with α^0-thalassemia trait	$--/\alpha\alpha, \beta/\beta^{E}$	3 (2.7)
8	Homozygous Hb E	$\alpha\alpha/\alpha\alpha, \beta^{E}/\beta^{E}$	2 (1.8)
	Total		110 (100.0)

Table 3 Hematologic parameters of thalassemia and abnormal hemoglobin carriers and normal health science students

Hb typing	Number (percent)	RBC (10^{12}/L)	Hb (g/dL)	MCV (fL)	MCH (pg)	RDW (%)	$\%A_2/E$	%HbF
A_2A	56	4.8±0.4	13.9±1.2	87.8±4.2	29.2±1.7	12.7±3.4	2.7±0.2	0.1±0.2
A_2A (PCR)*	11	5.0±0.5	12.1±1.5	75.5±5.9	24.1±2.5	14.4±4.7	2.4±0.3	0.0±0.1
A_2ABart'sH	1	5.0	9.4	59.9	18.9	25.1	1.0	0.0
A_2FA	1	5.1	11.8	72.9	23.2	21.3	2.4	17.1
CSA_2A	7	4.3±0.4	12.1±1.5	84.1±5.8	27.8±2.2	12.6±4.8	2.3±0.3	0.2±0.5
CSEA	7	5.1±0.6	13.0±1.9	77.9±4.7	25.3±1.8	13.1±5	27.1±3.2	0.1±0.3
EA	25	5.4±0.6	13.6±1.4	77.4±4.0	25.2±1.6	13.7±5.6	27.1±3.5	0.6±1.1
EE	2	4.7, 6.6	10.0, 13.5	65.5, 66.0	21.1, 20.5	15.4, 14.8	96.6, 96.7	3.4, 3.3

Hematological data are presented either as meaen ± SD or raw data where appropriate (n = 1 or 2)

RBC: red blood cell count; L: liter; Hb: hemoglobin; g/dL: gram per deciliter; MCV: mean corpuscular volume; fL: femtoliter; MCH: mean corpuscular hemoglobin; pg: pictogram; RDW: red cell distribution width

*อาสาสมัครที่มีผลเลือดเป็น A_2A และได้ทำการตรวจระดับดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR เนื่องจากมีค่า RBC indices ที่ผิดปกติ

Table 4 Gene frequencies of thalassemia and abnormal hemoglobin carrier of health science students

Gene	Number of corriers	Gene Ferquency
α^0-thalassemia (SEA)	4	0.0182*
$\delta\beta$-thalassemia	1	0.0045**
Hemoglobin E	34	0.1636***

* คำนวณความถี่ของยีน α^0-thalassemia จากสัดส่วนของผู้ที่เป็นพาหะของ α^0-thalassemia ต่อจำนวนอัลลีลของยีน α-thalassemia ทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา

** คำนวณความถี่ของยีน $\delta\beta$-thalassemia จากสัดส่วนของผู้ที่เป็นพาหะของ $\delta\beta$-thalassemia ต่อจำนวนอัลลีลของยีน β-thalassemia ทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา

*** คำนวณความถี่ของยีน hemoglobin E จากสัดส่วนของผู้ที่เป็นพาหะของ hemoglobin E รวมกับสองอัลลีลในผู้ที่เป็น homozygous hemoglobin E ต่อจำนวนอัลลีลของยีน β–thalassemia ทั้งหมดในประชากรที่ศึกษา

Pre-test

โครงการวิจัย "ความชุกของพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ ในนิสิต..... มหาวิทยาลัยมหาสารคาม"

1. ภาวะที่มีความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการสร้างสาย globin ทั้งแบบปริมาณและคุณภาพ เป็นการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบใด
   - ก. autosomal recessive
   - ข. autosomal dominant
   - ค. X-linked recessive
   - ง. X-linked dominant
   - จ. ไม่มีข้อใดถูก
2. โรค Thalassemia ชนิดใดที่มีอาการรุนแรงที่สุด ทารกตายในครรภ์หรือเสียชีวิตตั้งแต่แรกคลอด
   - ก. β-thalassemia /Hemoglobin E
   - ข. Homozygous β-thalassemia
   - ค. Homozygous α-thalassemia 2
   - ง. Homozygous α-thalassemia 1
   - จ. Hemoglobin Constant Spring
3. โรคธาลัสซีเมียที่กระทรวงสาธารณสุขของไทยประกาศให้มีนโยบายป้องกันและควบคุมโรค ยกเว้นข้อใด
   - ก. Hb Bart's hydrop fetalis
   - ข. Homozygous Beta-thalassemia
   - ค. Beta-thalassemia/ Hb E disease
   - ง. Homozygous alpha-thalassemia 1
   - จ. Hb H disease
4. พาหะของฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดใดที่พบมากที่สุดในประชากรภาคอีสาน
   - ก. Hemoglobin E
   - ข. β-thalassemia
   - ค. α-thalassemia 2
   - ง. α-thalassemia 1
   - จ. Hemoglobin Constant Spring
5. โรคเลือดจาง α-thalassemia ในคนเอเชีย เกิดจากการ mutation แบบใดมากที่สุด
   - ก. Mediterranean; MED
   - ข. Southeast Asian; SEA
   - ค. Thai; THAI
   - ง. Filiphenes; FIL
   - จ. -3.7 kb

ตัวอย่างแบบทดสอบความรู้

Figure 1 Example of questions in pre-test and post-test for thalassemia

วิจารณ์และสรุปผล

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญ 3 ชนิด คือ พาหะของ α^0-thalassemia (- -) พาหะของ β-thalassemia (β^0) และพาหะของ hemoglobin E (β^E) ในนิสิตสาขาหนึ่งในสายวิทยาศาสตร์สุขภาพมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ซึ่งร้อยละ 96 (106 ใน 110 ราย) ของอาสาสมัครมีภูมิลำเนาอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีความชุกของพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติสูง ในอนาคตเมื่อนิสิตเหล่านี้สำเร็จการศึกษา ส่วนมากจะปฏิบัติงานในโรงพยาบาลรัฐของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีโอกาสเจอผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียได้บ่อย การศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติด้วยชุดตรวจ KKU-DCIP, การตรวจ CBC, การตรวจยืนยันการเป็นโรคด้วยการตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (hemoglobin typing) ด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis และปริมาณฮีโมโกลบินเอสอง (A_2) ด้วยวิธี anion exchange chromatography และจะได้รับการตรวจเพิ่มเติมระดับดีเอ็นเอด้วยเทคนิคทางโมเลกุล (Polymerase Chain Reaction; PCR) ในรายที่ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ด้วยชนิดของฮีโมโกลบิน ผลการตรวจ พบว่ามีพาหะ α^0-thalassemia ชนิด SEA (- -^{SEA}) ร้อยละ 3.6 (4/110) โดยจำแนกได้เป็นพาหะร่วมของ α^0-thalassemia กับ Hb E จำนวน 3 รายและอีก 1 รายเป็นโรคฮีโมโกลบินเอช (Hb H disease; α-/- -^{SEA}) คิดเป็นความถี่ของยีน α^0-thalassemia เท่ากับ 0.0181 ตรวจพบพาหะ $\delta\beta$-thalassemia ร้อยละ 0.9 (1/110) โดยพบชนิดของฮีโมโกลบินเป็น A_2FA มีปริมาณ Hb F สูงถึงร้อยละ 17.1 เมื่อตรวจระดับดีเอ็นเอพบว่ามีการขาดหายไปของเนื้อยีนบีต้าโกลบินขนาด 12.6 กิโลเบส คิดเป็นความถี่ของยีน $\delta\beta$-thalassemia เท่ากับ 0.0045 และตรวจพบพาหะ Hb E ร้อยละ 30.9 (34/110) โดยใน 34 รายที่เป็นพาหะ Hb E นี้เป็นพาหะ Hb E ร่วมกับ α^0-thalassemia จำนวน 3 ราย คิดเป็นความถี่ของยีนฮีโมโกลบินอีเท่ากับ 0.1636 รวมพบพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญร้อยละ 32.7 (36 ใน 110 ราย) สอดคล้องกับงานวิจัยของวิชัย เทียนถาวร และคณะ [6] ซึ่งรายงานความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในพื้นที่ของศูนย์เขตอนามัยในประเทศไทย โดยพบความชุกของพาหะของฮีโมโกลบินอี สูงกว่าพาหะ α^0-thalassemia และสูงกว่าพาหะ β^0-thalassemia ตามลำดับ ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่ ศูนย์อนามัยที่ 5 ครอบคลุมจังหวัดชัยภูมิ มหาสารคาม นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ และในศูนย์อนามัยที่ 6 ครอบคลุมจังหวัดอุดรธานี หนองคาย ขอนแก่น เลย กาฬสินธุ์ สกลนคร หนองบัวลำภู ในขณะที่สัดส่วนของผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียที่สำคัญในพื้นที่ภาคใต้ จะพบความชุกของพาหะของฮีโมโกลบินอีสูงกว่าพาหะ β^0-thalassemia และสูงกว่าพาหะ α^0-thalassemia จากผลการตรวจหาพาหะธาลัสซีเมียในบุคลากรมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ [7] ซึ่งมีภูมิลำเนาในจังหวัดของภาคใต้ร้อยละ 89.4 แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของแต่ละภูมิภาคในการกระจายตัวของยีน β^0-thalassemia ซึ่งจะพบได้ในภาคใต้สูงกว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในขณะที่การกระจายตัวของยีน α^0-thalassemia พบสูงในประชากรภาคเหนือจากการศึกษาในนิสิตและบุคลากรมหาวิทยาลัยพะเยาที่มีภูมิลำเนาในจังหวัดพะเยาพบว่าสูงถึงร้อยละ 16.2 (20/123 ราย)[8] และในประชากร 7 อำเภอของจังหวัดพะเยาพบได้ร้อยละ 9.6 (86/892 ราย)[9] การวิจัยครั้งนี้ยังพบว่า ความชุกของพาหะฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง (Hb Constant Spring) ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนอัลฟาโกลบิน ทำให้ได้ฮีโมโกลบินที่ไม่เสถียรทำให้แสดงอาการคล้ายธาลัสซีเมีย พบได้สูงในประชากรที่ศึกษาเช่นกัน คือ ร้อยละ 12.7 (14/110 ราย) ซึ่งใกล้เคียงกับความชุกในประชากรจังหวัดพะเยา คือ ร้อยละ 10.5 [10]

การทดสอบความรู้ก่อนและหลังเข้าร่วมโครงการ (pre-test/ post-test) ด้วยข้อสอบปรนัย 5 ตัวเลือกจำนวน 20 ข้อ เกี่ยวกับความรู้ความเข้าใจในโรคธาลัสซีเมีย พบว่านิสิตมีความรู้ความเข้าใจในโรคธาลัสซีเมียเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ซึ่งผู้เข้าร่วมโครงการร้อยละ 96.4 (106/110 ราย) เป็นผู้ที่มีภูมิลำเนาในภาคอีสาน ส่วนมากอยู่ในเขตสุขภาพที่ 7 (ร้อยแก่นสารสินธุ์) และต้องปฏิบัติงานในพื้นที่ที่มีความชุกของโรคสูง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ขอขอบคุณอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัย นักเทคนิคการแพทย์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่อำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. วิจารณ์ พานิช. แนวทางแก้ปัญหาโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย. แพทยสภาสาร 2532; 18: 67-74.
2. สุทัศน์ ฟู่เจริญ, ปราณี ฟู่เจริญ. Thalassemia in Thailand : problem and prenatal diagnosis. ใน : เสาวคนธ์ อัจจิมากร, เฉลิมศรี ธนันดเศรษฐ, บรรณาธิการ. การวินิจฉัยและรักษาทารกในครรภ์.กรุงเทพมหานคร : บริษัทพิมพ์ดี จำกัด, 2535 : 90-9.

3. ถวัลย์วงค์ รัตนสิริ. การป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียในเวชปฏิบัติสูติศาสตร์. ศรีนครินทร์เวชสาร 2550; 22(4): 471-6.
4. จินตนา ศิรินาวิน. การป้องกันและควบคุมธาลัสซีเมีย : แนวคิดและวิธีประยุกต์ทางพันธุศาสตร์. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์การบริการโลหิต 2534;1 :69-76.
5. นิพรรณพร วรมงคล, จินตนา พัฒนพงศ์ธร, บรรณาธิการ. คู่มือการบริหารจัดการความรู้ “ธาลัสซีเมีย” ของประเทศไทย. กลุ่มอนามัยแม่และเด็ก สำนักส่งเสริมสุขภาพ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด 2548 : 3-4.
6. วิชัย เทียนถาวร, จินตนา พัฒนพงศ์ธร, สมยศ เจริญศักดิ์, รัตน์ติกา แซ่ตั้ง, พิมพ์ลักษณ์ เจริญขวัญ และ ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี. ความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในประเทศไทย. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2549; 16:307-12.
7. มานิตย์ นุ้ยนุ่น, นุชจรี จีนด้วง และดารารัตน์ ห่อเพชร. ความรู้และทัศนคติของบุคลากรมหาวิทยาลัย วลัยลักษณ์ต่อธาลัสซีเมีย. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2558; 27(3):240-54.
8. Narutchala Suwannakhon, Teerapat Seeratanachot, Khwanruedee Mahingsa, Pratompong Namwong3 and Torpong Sanguansermsri. Prevalence of Alpha-thalassemia Trait in the Volunteered Personals of University of Phayao. J Hematol Transfus Med 2014; 24:129-36.
9. Ekkachan Parameeyong, Payon Pengyo and Sitthi-chai Panyasai. Incidence of a-thalassemia 1 Carriers in Phayao Province. J Hematol Transfus Med 2014; 24:371-7.
10. สิทธิชัย ปัญญาใส, สุริยา ไชยนาคร, สุรีพรรณ กำลังมาก, จุรีพร อาษาศึก, ปิยชาติ ชัยบังคม, และ สุพรรณ ฟู่เจริญ.ความถี่ยีนฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงและฮีโมโกลบินปากเซในจังหวัดพะเยา. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2557; 26 (1): 40-7.