



การวินิจฉัย..ทางพันธุศาสตร์ภายนอกร่างกายสำหรับ..ธาลัสซีเมีย (Preimplantation genetic diagnosis for thalassemia)

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ กิตติ ต่อจรัส

คู่สามีภรรยาที่เป็นพาหะของธาลัสซีเมีย มีโอกาสที่จะมีลูกเป็นโรคธาลัสซีเมียได้ร้อยละ 25 ของทุกครั้งที่มีการตั้งครรภ์ หนทางเลือกของคู่สามีภรรยาหรือคู่เสี่ยง (risk couple) ที่จะหลีกเลี่ยงการมีลูกเป็นโรคคือการวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอด (prenatal diagnosis, PND) การตรวจมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับอายุครรภ์ ได้แก่การตรวจจากรก (chorionic villus sampling, CVS) หากผลของการตรวจพบทารกในครรภ์เป็นโรค คู่เสี่ยงจะมี 2 ทางเลือกคือ ยุติการตั้งครรภ์หรือดำเนินการตั้งครรภ์ต่อไปจนคลอดบุตรที่เป็นโรค

อย่างไรก็ดีการวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอดยังไม่สนองความพึงพอใจของคู่เสี่ยง มีคู่เสี่ยงหลายคู่ที่ยุติการตั้งครรภ์หลายครั้ง นอกจากนี้การยุติการตั้งครรภ์ยังไม่เป็นที่ยอมรับเนื่องจากขัดต่อหลักศาสนามีผลกระทบต่อจิตใจ และต่อสังคม ทางออกของคู่เสี่ยงเหล่านี้คือการวินิจฉัยทางพันธุศาสตร์ภายนอกร่างกายก่อนนำทารกตัวอ่อน (embryo) ที่ไม่เป็นโรคกลับเข้าไปเจริญเติบโตต่อไป หรือที่เรียกว่า preimplantation genetic diagnosis (PGD)

PGD เป็นการตรวจทางพันธุศาสตร์โดยตรวจพันธุกรรมของเซลล์ที่ปฏิสนธิแล้วระดับ 8 เซลล์นอกอวัยวะ สามารถแสดงภาพรวมสรุปดังรูปที่ 1 ซึ่งมีขั้นตอนของกระบวนการดังนี้

1. การใช้ฮอร์โมนกระตุ้นรังไข่ (ovulation induction) ปกติโดยธรรมชาติจะมีการตกไข่ทุกเดือน เดือนละ 1 เซลล์ (ovulation) การกระตุ้นให้มีการตกไข่หลายเซลล์ สามารถทำได้โดยการให้ฮอร์โมนกระตุ้นรังไข่ให้ไข่แก่ (mature eggs) แล้วรวบรวมไข่เหล่านี้ออกจากรังไข่ ทำให้ได้เซลล์หลายเซลล์พร้อมที่จะผสมนอกร่างกาย

2. การรวบรวมไข่ (oocyte collection) ผู้ป่วยจะได้รับการวางยาสลบ (sedation) แล้วแพทย์ใช้กล้องส่องเพื่อดูเซลล์ไข่ออกมาภายนอก ดังรูปที่ 2

3. การนำไข่ออกมาผสมกับอสุจิและเลี้ยงตัวอ่อนนอกร่างกาย (fertilization and embryo culture) เป็นการฉีดเชื้ออสุจิ (single sperm) เข้าไปในไข่แต่ละฟอง (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) เมื่อไข่ที่ถูกผสมจะเริ่มแบ่งตัวเจริญเป็นตัวอ่อน (embryo) ต่อไปดังรูปที่ 3

4. การตรวจตัวอ่อนทางพันธุศาสตร์ (blastomeres biopsy) เมื่อตัวอ่อนเริ่มแบ่งตัวในวันที่ 3 หลังการปฏิสนธิ ตัวอ่อนจะประกอบด้วยเซลล์ประมาณ 6-8 เซลล์ ในขั้นต่อไปจะนำ 1-2 เซลล์ไปตรวจสอบทางพันธุศาสตร์สำหรับธาลัสซีเมีย ในระยะการแบ่งตัวของตัวอ่อนขณะนี้ทุกเซลล์จะมีลักษณะเหมือนกันหมด ดังนั้นการนำเซลล์ 1-2 เซลล์ออกไปจะไม่มีความเสี่ยงต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนในการเติบโตเป็นทารกที่ปกติต่อไป (normal development) ดังรูปที่ 4

5. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ (genetic diagnosis) ประกอบด้วยเทคนิคการวินิจฉัยดังนี้

1. Polymerase Chain Reaction (PCR) เป็นการเพิ่มปริมาณ (amplify) สารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ เนื่องจากเป็นการนำเซลล์ตัวอ่อนออกมาวินิจฉัยเพียง 1-2 ตัว ดังนั้นเทคนิคนี้จึงมีความสำคัญมาก

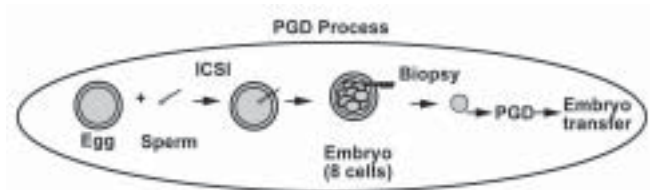
2. Genetic work up เนื่องจากมีความหลากหลายของยีนธาลัสซีเมีย ดังนั้นจำเป็นที่จะต้องวินิจฉัยขอคู่เสี่ยงได้แก่ภรรยาและสามีเสียก่อนที่จะทำการผสมในหลอดแก้ว (IVF)

6. การนำตัวอ่อนกลับเข้าไปฝังตัวในมดลูก (embryo transfer and implantation) เมื่อได้ทดสอบตัวอ่อนแล้วและพบว่าเป็นปกติขั้นตอนนี้ต่อไปจะนำตัวอ่อนกลับเข้าไปฝังตัวในมดลูกของมารดา การทำนี้จะทำในวันที่ 3-5 หลังจากการนำไข่ออกมารังไข่ การนำตัวอ่อนกลับเข้าไปในโพรงมดลูกใช้การสอด catheter เมื่อสอดตัวอ่อนเข้าไปแล้วจึงฝังตัวในผนังมดลูก ต่อมาจะเกิดภาวะการตั้งครรภ์ต่อไป การตั้งครรภ์จะไม่ประสบความสำเร็จทุกรายขึ้นอยู่กับกระบวนการ IVF เพียงประมาณร้อยละ 30 เท่านั้นที่จะมีการตั้งครรภ์เกิดขึ้น (รูปที่ 5)

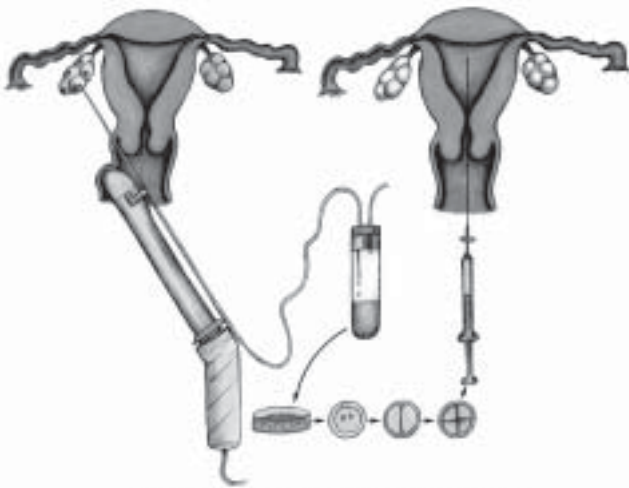
ข้อจำกัดของการทำ PGD คืองบประมาณที่ใช้ในการทำยังสูงอยู่มาก ปัจจุบันยังให้บริการอยู่ในวงจำกัดเนื่องจากต้องใช้สูติแพทย์ที่มีความชำนาญ ห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมและทันสมัย

ตารางแสดงประเทศต่างๆที่ ทำ PGD ในการวินิจฉัยธาลัสซีเมีย

| ประเทศ | คู่เสี่ยงธาลัสซีเมีย | ผล (คลอดปกติ) | เอกสารอ้างอิง |
|---------|----------------------|---------------|---------------|
| อิตาลี | 7 | 3 | 1 |
| จีน | 4 | 3 | 2 |
| กรีซ | 10 | 9 | 3 |
| ชвейท์ส | 7 | 5 | 4 |
| ฮ่องกง | 2 | 2 | 5 |



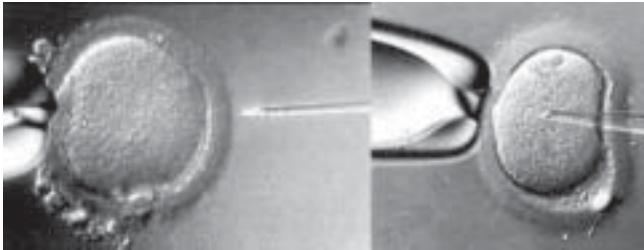
รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนโดยรวมทั้งหมดของกระบวนการ PGD ประกอบด้วยการนำไข่ออกมาปฏิสนธิกับอสุจิแล้ว นำไข่ในระยะที่มีการแบ่งตัวได้ 8 เซลล์มาตรวจทางห้องปฏิบัติการและในขั้นตอนนี้สุดท้ายนำเซลล์ที่ปกติเข้าไปฝังในโพรงมดลูก



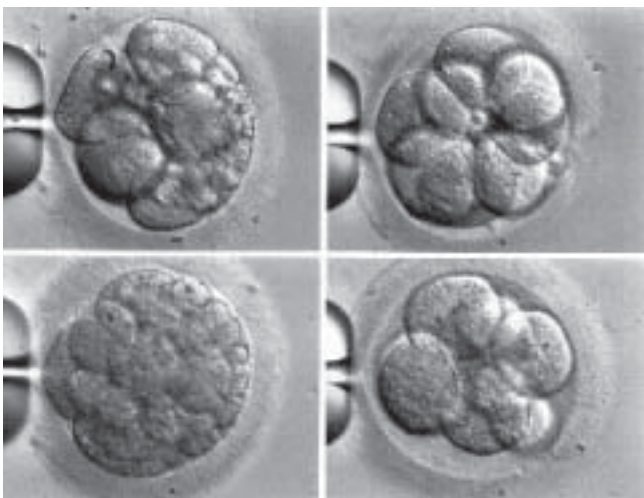
Aspiration, fertilization, transfer

รูปที่ 2

แสดงการนำไข่ออกมาผสมกับอสุจิภายนอกเพื่อทำขบวนการ PGD แล้วนำกลับเข้าไปฝังตัวใหม่ทดลูกใหม่



รูปที่ 3 แสดงการฉีดเชื้ออสุจิ (single sperm) เข้าไปในไข่แต่ละฟอง (intracytoplasmic sperm injection, ICSI)



รูปที่ 4 แสดงในวันที่ 3 หลังการปฏิสนธิ ตัวอ่อนจะประกอบด้วย เซลล์ประมาณ 6-8 เซลล์ ในขั้นต่อไปจะนำ 1-2 เซลล์ไปตรวจสอบทาง พันธุศาสตร์สำหรับธาลัสซีเมีย



รูปที่ 5 แสดงการตรวจสอบทางพันธุศาสตร์เซลล์ที่ปกติ (เครื่องหมาย ✖) จะถูกนำไปฝังไม่พร้อมมดลูกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Chamayou S, Alecci C, Ragolia C, Giambona A, Siciliano S, Maggio A, Fichera M, Guglielmino A. Successful application of preimplantation genetic diagnosis for beta-thalassaemia and sickle cell anaemia in Italy. *Hum Reprod* 2002; 17: 1158-65.

2. Deng J, Zhuang GL, Peng WL, Zhou CQ, Li J, Liang XY, Deng MF, Zeng YH, Sun HY. [Successful preimplantation genetic diagnosis for beta-thalassemia using multiplex nested polymerase chain reaction.]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005; 85: 811-5.

3. Kanavakis E, Vrettou C, Palmer G, Tzetzis M, Mastrominas M, Traeger-Synodinos J. Preimplantation genetic diagnosis in 10 couples at risk for transmitting beta-thalassaemia major: clinical experience including the initiation of six singleton pregnancies. *Prenat Diagn* 1999; 19: 1217-22.

4. Kuliev A, Rechitsky S, Verlinsky O, Ivakhnenko V, Cieslak J, Evsikov S, Wolf G, Angastiniotis M, Kalakoutis G, Strom C, Verlinsky Y. Birth of healthy children after preimplantation diagnosis of thalassemias. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 207-11.

5. PGD in Hongkong. Access at <http://web.hku.hk:8400/facmed/press/2005-03-03/pressppt-02-en.pdf>.

6. Preimplantation Genetic Diagnosis ,Last Updated: April 13, 2005 Access at. <http://www.emedicine.com/med/topic3520.htm>