

นิพนธ์ต้นฉบับ

Diagnostic yield of neuromuscular gene panel in pediatric patients with congenital neuromuscular disorders in provincial hospitals

Patsaraporn Wongthawatchai¹, Tipaporn Thongmak², Kae Pongwatcharaporn³, Chulaluck Kuptanon⁴

¹Division of Neurology, Department of Pediatrics, Paholpolpayuhasena Hospital

²Division of Neurology, Department of Pediatrics, Hat Yai Hospital

³Division of Neurology, Department of Pediatrics, Surin Hospital

⁴Division of Genetics and Metabolism, Department of Pediatrics, Queen Sirikit National Institute of Child Health

Received May 17, 2025 Revised September 15, 2025 Accepted September 26, 2025

Abstract

Background: Congenital neuromuscular disorders are a major cause of impaired muscle function in children. In provincial hospitals, access to diagnostic investigations is limited, particularly in access to specialized investigations such as muscle biopsy. Recently, the implementation of gene panel testing can improve diagnostic accuracy and ensure appropriate treatment for affected patients.

Objectives: To study diagnostic yield of neuromuscular gene panel in pediatric patients with congenital neuromuscular disorders in provincial hospitals.

Methods: This prospective study involved pediatric patients with suspected congenital neuromuscular disorders, initially assessed by pediatric neurologists at provincial hospitals between April 1, 2022, and March 31, 2024. Genetic testing available domestically was performed based on clinical presentation included multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) for duchenne muscular dystrophy (DMD), SMN gene, and CMT1A and HNPP. After normal results from these initial tests, patients received genetic counseling and were referred for further blood testing using a targeted gene panel comprising 211 genes associated with neuromuscular disorders. Collected data were analyzed using descriptive statistics.

Results: Six patients participated in the research, 67% were male. The youngest patient was 10 months old and the oldest was 14 years and 4 months. The mean age of symptom onset was 2 years and 3 months (± 27 months). One patient had a family history of muscle weakness. Pathogenic variants in the DMD gene were

identified in two patients, both of whom were diagnosed with Duchenne muscular dystrophy. One patient was found to have a variant in the GAA gene; however, subsequent GAA enzyme assay revealed no abnormality, and a definitive diagnosis could not be established. Three patients were found to have variants of uncertain significance. Therefore, the diagnostic yield of targeted gene panel testing for congenital neuromuscular disorders in this study was 33%.

Conclusion: Targeted gene panel testing for neuromuscular disorders is beneficial in facilitating diagnosis of congenital neuromuscular conditions in pediatric patients from provincial hospitals. This approach reduces the need for invasive procedures and enhances diagnostic and treatment opportunities for children in rural area.

Keywords: Diagnostic yield, Congenital neuromuscular disorders, Gene panel

อัตราการวินิจฉัยโรคด้วยวิธีการตรวจหาลำดับพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทในผู้ป่วยเด็ก โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดในโรงพยาบาลต่างจังหวัด

ภัทราพร ว่องวัชชัย¹, ทิพาพร ทองมาก², เก๋ พงศ์วัชรารักษ์³, จุฬาลักษณ์ คุปตานนท์⁴

¹กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพลพลพยุหเสนา

²กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลหาดใหญ่

³กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลสุรินทร์

⁴งานโรคพันธุศาสตร์และเมตาบอลิซึม กลุ่มงานกุมารเวชศาสตร์ สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดเป็นสาเหตุสำคัญของความผิดปกติในการทำงานของกล้ามเนื้อในเด็ก การวินิจฉัยในโรงพยาบาลต่างจังหวัดมีข้อจำกัดด้านการตรวจพิเศษ เช่น การตัดชิ้นกล้ามเนื้อ ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีการตรวจหาลำดับพันธุกรรมแบบชุดยีนมาใช้ในการวินิจฉัยโรคกลุ่มนี้ ทำให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้องและได้รับการรักษาที่เหมาะสม

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาอัตราการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดในผู้ป่วยเด็กด้วยวิธีการตรวจหาลำดับพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทในโรงพยาบาลต่างจังหวัด

วิธีการศึกษา: ทำการศึกษาแบบ prospective study ในผู้ป่วยเด็กที่มีอาการและอาการแสดงสงสัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิด โดยได้รับการวินิจฉัยเบื้องต้นจากกุมารแพทย์ระบบประสาทในโรงพยาบาลต่างจังหวัด ระหว่างวันที่ 1 เมษายน พ.ศ. 2565 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ. 2567 ผู้ป่วยได้รับการตรวจวินิจฉัยทางพันธุกรรมภายในประเทศขึ้นกับอาการแสดงทางคลินิก ได้แก่ MLPA for DMD, SMN gene, CMT1A และ HNPP หลังจากผลการตรวจอยู่ในเกณฑ์ปกติ ผู้ป่วยจะได้รับการให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมและส่งตรวจเลือดด้วยวิธีการตรวจหาลำดับพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาท จำนวน 211 ยีน ข้อมูลที่ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา

ผลการศึกษา: มีผู้ป่วยเข้าร่วมงานวิจัยจำนวน 6 ราย เป็นเพศชายร้อยละ 67 อายุน้อยที่สุด 10 เดือน อายุมากที่สุด 14 ปี 4 เดือน อายุที่เริ่มมีอาการเฉลี่ย 2 ปี 3 เดือน $\pm$ 27 เดือน มีผู้ป่วย 1 รายที่มีประวัติกล้ามเนื้ออ่อนแรงในครอบครัว ผู้ป่วย 2 ใน 6 รายตรวจพบ pathogenic variants มีความผิดปกติของยีน DMD ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคกล้ามเนื้อเสื่อมดูเชนน์ ผู้ป่วย 1 รายพบความผิดปกติของยีน GAA แต่เมื่อตรวจ GAA enzyme assay ไม่พบความผิดปกติ จึงไม่สามารถวินิจฉัยได้ มีผู้ป่วย 3 รายพบผลการตรวจเป็น variant of uncertain significance identified ดังนั้นอัตราการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยเด็กโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดด้วยวิธีการตรวจหาลำดับพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทจึงเท่ากับร้อยละ 33

สรุป: การตรวจหัตถ์พันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้อเนื้อร่วมประสาทมีประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้อเนื้อร่วมประสาทแต่กำเนิดในผู้ป่วยเด็กในโรงพยาบาลต่างจังหวัดได้ ลดการทำการตัดการที่รุกราน และเพิ่มโอกาสให้กับผู้ป่วยเด็กในต่างจังหวัดให้ได้รับการวินิจฉัย และรักษาอย่างเหมาะสม

คำสำคัญ: อัตราการวินิจฉัยโรค โรคกล้ามเนื้อเนื้อร่วมประสาทแต่กำเนิด การตรวจหัตถ์พันธุกรรมแบบชุดยีน

บทนำ

โรคกล้ามเนื้อร่วมประสาท (neuromuscular disorders) เป็นโรคซึ่งเกี่ยวข้องกับหรือมีสาเหตุมาจากเซลล์ประสาทสั่งการ (anterior horn cell) เส้นประสาทส่วนปลาย (peripheral nerve) รอยต่อระหว่างเส้นประสาทและกล้ามเนื้อ (neuromuscular junction) หรือกล้ามเนื้อ (muscle) แล้วทำให้การทำงานของกล้ามเนื้อที่ผิดปกติ ส่งผลกระทบเป็นความพิการหรือการลดหย่อนสมรรถภาพของผู้ป่วย ในอดีตไม่ทราบสาเหตุของโรคกล้ามเนื้อร่วมประสาทแต่กำเนิด ว่าเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม การวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้อร่วมประสาทจะอาศัยการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ตรวจหาระดับเอนไซม์ creatinine kinase (CK) และต้องผ่านการตรวจพิเศษหลายอย่าง เช่น การตรวจการเหนี่ยวนำไฟฟ้าของเส้นประสาท (nerve conduction study) การกระตุ้นเส้นประสาทซ้ำๆ (repetitive nerve stimulation test) การบันทึกคลื่นไฟฟ้ากล้ามเนื้อ (electromyography) รวมถึงการตัดชิ้นกล้ามเนื้อ (muscle biopsy) แล้วนำชิ้นกล้ามเนื้อไปย้อมพิเศษเพื่อได้การวินิจฉัยเจาะจงเฉพาะโรคซึ่งโรงพยาบาลในต่างจังหวัดการตรวจพิเศษหลายอย่างไม่สามารถทำได้ ทำให้ผู้ป่วยต้องเดินทางข้ามจังหวัดเพื่อรับการตรวจหลายครั้ง อีกทั้งในผู้ป่วยบางรายมีฐานะยากจนการเดินทางข้ามจังหวัดจึงทำได้ยากทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้ไม่ได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้อง และอาจสูญเสียโอกาสในการรักษาปัจจุบันเทคโนโลยีการตรวจพันธุกรรมได้พัฒนามากขึ้น ทำให้สามารถวินิจฉัยโรคได้จากการส่งเลือดตรวจพันธุกรรมโดยไม่ต้องผ่านการตรวจพิเศษต่าง ๆ ลดค่าใช้จ่าย และความเสี่ยงของการทำหัตถการตรวจพิเศษโดยเฉพาะการตัดชิ้นกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นหัตถการที่รุกราน (invasive procedure) จากการศึกษาการตรวจพันธุกรรมด้วยวิธี exome sequencing ในผู้ป่วยเด็กที่มีกล้ามเนื้ออ่อนแรงแต่กำเนิดพบการวินิจฉัยเฉพาะเจาะจงร้อยละ 19 ถึง ร้อยละ 64^{1,2} และจากการศึกษาโดยใช้วิธีการตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีน (gene panel) ในผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อร่วมประสาทที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้รับการวินิจฉัยร้อยละ 12.9-48.8³⁻⁷ ถ้าการตรวจพันธุกรรมสามารถช่วยให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยได้จริงจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยและครอบครัวอย่างมาก ในโรคกล้ามเนื้อร่วมประสาทจากพันธุกรรมบางโรคหากได้รับการวินิจฉัยที่แน่นอนจะได้รับการรักษาที่เหมาะสม และทำให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น เช่น ในผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อเสื่อมดูเชนน์ หากได้รับการวินิจฉัยเร็วการให้ยาสเตียรอยด์จะช่วยชะลอการเสื่อมของกล้ามเนื้อ โรคกลุ่ม congenital myasthenic syndrome หากทราบยีนที่ผิดปกติจะช่วยในการเลือกยาที่จะใช้กับผู้ป่วยได้ดียิ่งขึ้น⁸ ถึงแม้ว่าส่วนใหญ่ไม่มีการรักษาที่เฉพาะเจาะจง แต่มีประโยชน์ในการให้คำปรึกษาทางพันธุศาสตร์ ความเสี่ยงการเกิดโรคในบุตรคนถัดไป วางแผนครอบครัว และการคัดกรองในทารกแรกเกิดทำให้สามารถให้การรักษาด้วยยาก่อนเกิดอาการได้⁹ นอกจากนี้ยังช่วยลดการเดินทาง ลดระยะเวลาในการวินิจฉัย และลดความจำเป็นในการตรวจหัตถการที่รุกราน เช่น การตัดชิ้นกล้ามเนื้อหรือเส้นประสาทอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอัตราการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดในผู้ป่วยเด็กด้วยวิธีการตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทในโรงพยาบาลต่างจังหวัด

วิธีการศึกษา

รูปแบบการศึกษาและตัวอย่าง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบ prospective study ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลพหลพลพยุหเสนา เอกสารรับรองเลขที่ 2022-01 ทำการศึกษาในผู้ป่วยเด็กอายุน้อยกว่า 15 ปีที่มีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง และการตรวจร่างกายคิดถึงโรคที่เซลล์ประสาทสั่งการล่าง (lower motor neuron lesion) ได้แก่ ความตึงตัวของกล้ามเนื้อต่ำ (hypotonia), deep tendon reflex (DTR) ลดลงหรือไม่พบ พัฒนาการของกล้ามเนื้อล่าช้า (delayed motor milestone), Gower's sign positive, myopathic facies, fatigue or decreasing endurance เป็นต้น⁴ ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดโดยกุมารแพทย์ระบบประสาทในโรงพยาบาลต่างจังหวัดระหว่างวันที่ 1 เมษายน พ.ศ. 2565 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ. 2567 โดยที่หากผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัย mitochondrial diseases หรือคิดถึงสาเหตุที่เกิดขึ้นภายหลัง (acquired causes) เช่น inflammatory myopathy, drug-induced myopathy, endocrine myopathy, metabolic myopathy, myasthenia gravis เป็นต้น หรือได้รับการวินิจฉัยโรคจากการส่งตรวจยีนเฉพาะที่สามารถตรวจได้ในประเทศ ได้แก่ MLPA for DMD, SMN gene, CMT1A and HNPP จะถูกคัดออก

การส่งตรวจยีนเฉพาะที่ตรวจได้ในประเทศให้พิจารณาส่งตรวจในผู้ป่วยดังต่อไปนี้

- ผู้ป่วยที่มาด้วยกล้ามเนื้ออ่อนแรง ความตึงตัวของกล้ามเนื้อต่ำ DTR ลดลงหรือไม่พบ อาจมีหรือไม่มี tongue fasciculation ให้พิจารณาตรวจ SMN gene เพื่อแยกโรค spinal muscular atrophy (SMA) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากการเสื่อมลงของเซลล์ประสาทไขสันหลังพบความชุกอยู่ที่ 1:6,000-10,000 ของทารกเกิดมีชีพ¹⁰
- ผู้ป่วยที่มาด้วยกล้ามเนื้ออ่อนแรงส่วนต้น Gower's sign positive ร่วมกับการตรวจพบระดับเอนไซม์ CK สูง ให้พิจารณาส่งตรวจ MLPA for DMD เพื่อแยกโรคกล้ามเนื้อเสื่อมดูเชนน์เป็นโรคที่พบได้ 1:1,500-3,500 ของทารกเกิดมีชีพเพศชาย ซึ่งในปัจจุบัน สปสช อนุมัติสิทธิการตรวจในคนไทยให้สามารถส่งตรวจได้¹¹
- ผู้ป่วยที่คิดถึงพยาธิสภาพที่เส้นประสาทส่วนปลายจะมาด้วยกล้ามเนื้ออ่อนแรงส่วนปลาย มีปัญหาการรับรู้ความรู้สึกที่มือและเท้าผิดปกติ อาจตรวจพบ high arched feet, foot drop ให้พิจารณาส่งตรวจ CMT1A และ HNPP เพื่อแยกโรค Charcot-Marie-Tooth disease พบได้ 1:2,500-9,200 ของทารกเกิดมีชีพ¹²

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เมื่อผู้ป่วยเข้าเกณฑ์การวิจัย แพทย์เจ้าของไข้ให้คำปรึกษา (pre-counseling) แก่ผู้ป่วยและผู้ปกครอง ดำเนินการส่งตรวจเลือดด้วยวิธีการตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทร่วมประสาท จำนวน 211 ยีน (supplementary) การตรวจเป็นการถอดรหัสพันธุกรรม full-gene sequencing และวิเคราะห์การขาดหรือเกินของพันธุกรรมโดยใช้ next-generation sequencing technology แต่มีข้อจำกัดในการตรวจ variants บางชนิด เช่น structural rearrangement (เช่น inversions, gene conversion events, translocations, ฯลฯ) หรือ variants embedded in sequence with complex architecture (เช่น short tandem repeats or segmental duplications) อาจตรวจไม่พบ แพทย์เจ้าของไข้ทำการบันทึกข้อมูลจากเวชระเบียน ได้แก่ เพศ อายุปัจจุบัน อายุที่เริ่มมีอาการ ประวัติ และการตรวจร่างกายโดยสังเขป ประวัติครอบครัว พงสาวลี (pedigree) ระดับเอนไซม์ CK การส่งตรวจเพิ่มเติม กุมารแพทย์ระบบประสาทจะได้รับผลการตรวจภายใน 3-5 สัปดาห์เพื่อให้คำปรึกษาแก่ผู้ป่วยและผู้ปกครอง โดยมีแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางด้านพันธุศาสตร์เป็นที่ปรึกษา ผู้วิจัยเก็บรวบรวมข้อมูลในคอมพิวเตอร์ และทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ยหรือค่ากลาง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุด

ผลการศึกษา

จากการศึกษามีผู้ป่วยที่สงสัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทร่วมประสาททางพันธุกรรมจำนวน 12 ราย ผู้ป่วย 8 รายมีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรงส่วนต้น ตรวจร่างกายพบ Gower's sign positive, bilateral calf hypertrophy ตรวจระดับเอนไซม์ CK สูงเมื่อส่งตรวจ MLPA for DMD พบผล positive 5 ราย ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคกล้ามเนื้อเสื่อมดูเชนน์คิดเป็นร้อยละ 62.5 โรคกล้ามเนื้อเสื่อมดูเชนน์สามารถยืนยันการวินิจฉัยโดยการตรวจทางอณูพันธุศาสตร์ เช่น PCR หรือ MLPA ซึ่งมีความไวร้อยละ 65 ตรวจได้เฉพาะการกลายพันธุ์แบบ deletion และมีโอกาสตรวจพบ duplication ได้ร้อยละ 6-8 อีกร้อยละ 20-30 เป็นการกลายพันธุ์ชนิดอื่น เช่น nonsense mutation, missense mutation และ small insertion ถ้าส่งตรวจแบบ MLPA หรือ PCR จะไม่พบอาจไม่สามารถแยกโรคได้ให้พิจารณา ส่งตรวจ next generation sequencing^{13,14} หรือตัดชิ้นกล้ามเนื้อส่งตรวจดังเช่นในการศึกษานี้ และผู้ป่วย 4 รายมาด้วยอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง ความตึงตัวกล้ามเนื้อต่ำ hyporeflexia เมื่อส่งตรวจ SMN gene ผลพบ homozygous SMN1 deletion จำนวน 1 ราย ภายหลังการตรวจเพิ่มเติมพบผู้ป่วยจำนวน 6 รายที่เข้าเกณฑ์การวิจัย

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

รายที่	เพศ	อายุปัจจุบัน	อายุที่ เริ่มมี อาการ	ประวัติ กล้ามเนื้อ อ่อนแรงใน ครอบครัว	อาการและอาการแสดง	CK (U/L)
1	ชาย	14 ปี 4 เดือน	4 ปี	ไม่มี	ขาอ่อนแรง 2 ข้าง เดินแล้วล้มบ่อย เดินเขย่ง Gower's sign positive, bilateral calf hypertrophy	19,900
2	หญิง	2 ปี 3 เดือน	6 เดือน	ไม่มี	พัฒนาการกล้ามเนื้อล่าช้า กล้ามเนื้ออ่อนแรง ความตึงตัวของกล้ามเนื้อต่ำ DTR ลดลง	77
3	ชาย	1 ปี 9 เดือน	แรกเกิด	ไม่มี	แรกเกิดตัวอ่อนปากเปื่อยก มีปัญหาการดูดกลืน กล้ามเนื้ออ่อนแรง ความตึงตัวของกล้ามเนื้อต่ำ facial diplegia	127
4	หญิง	10 เดือน	แรกเกิด	ไม่มี	แรกเกิดตัวอ่อนปากเปื่อยก มีปัญหาการดูดกลืน ความตึงตัวของกล้ามเนื้อต่ำ myopathic facies	54.2
5	ชาย	7 ปี 4 เดือน	5 ปี	ไม่มี	เดินแล้วล้มบ่อย เดินเขย่ง Gower's sign positive, bilateral calf hypertrophy	11,147
6	ชาย	8 ปี 7 เดือน	4 ปี	มี	เดินแล้วล้มบ่อย เดินเขย่ง Gower's sign positive, bilateral calf hypertrophy	24,108

ผู้ป่วยเป็นเพศชาย 4 ราย (ร้อยละ 67) อายุน้อยที่สุด 10 เดือน อายุมากที่สุด 14 ปี 4 เดือน อายุเฉลี่ย 4 ปี 9 เดือน (ค่ากลาง) อายุที่เริ่มมีอาการอายุน้อยที่สุดคือแรกเกิด อายุมากที่สุดคือ 5 ปี อายุที่เริ่มมีอาการเฉลี่ย 2 ปี 3 เดือน $\pm$ 27 เดือน (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ผู้ป่วยรายที่ 6 มีประวัติกล้ามเนื้ออ่อนแรงในครอบครัว คือ ลูกชายของน้องชายของคุณยายเสียชีวิตขณะอายุ 18 ปี ผู้ป่วย 3 รายมีประวัติเดินแล้วล้มบ่อย เดินเขย่ง ตรวจร่างกายพบ Gower's sign positive, bilateral calf hypertrophy และตรวจพบค่าเอนไซม์ CK สูงทำการตรวจ

MLPA for DMD ผล no deletion ผู้ป่วย 3 รายมาด้วยอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง ความตึงตัวกล้ามเนื้อต่ำ ได้รับการตรวจ SMN gene ผลปกติทุกราย และผู้ป่วยทุกรายไม่ได้ทำการตัดชิ้นกล้ามเนื้อ

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดอื่น

รายที่	Gene/ Transcript	Variant	Zygosity	Variant classification	Diagnosis
1	DMD NM_00400 6.2	c.6578del (p.Gln2193Argfs*14)	hemizygous	pathogenic	X-linked Duchenne and Becker muscular dystrophy
2	CCDC78 NM_00103 1737.2	c.1039C>T (p.His347Tyr)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified
	RYR1 NM_00054 0.2	Deletion (Exons 51-53)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified
	STIM1 NM_00315 6.3	c.1808C>T (p.Ala603Val)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified
3	RYR1 NM_00054 0.2	c.11135A>G (p.Glu3712Gly), c.12242C>T (p.Thr4081Met), c.13244_13264del (p.Ala4415_Asp4421del)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified
	SYNE1 NM_03307 1.3	c.6670G>A (p.Val2224Ile), c.8008C>T (p.Arg2670Trp)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified

รายชื่อ	Gene/ Transcript	Variant	Zygosity	Variant classification	Diagnosis
4	ACTA1 NM_00110 0.3	c.627G>T (p.Glu209Asp)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified
	CACNA1S NM_00006 9.2	c.1021C>G (p.Arg341Gly)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified
	PLEC NM_00044 5.4;NM_20 1378.3	c.1705G>A (p.Ala569Thr)	heterozygous	uncertain significance	variant of uncertain significance identified
5	GAA NM_00015 2.3	c.1123C>T (p.Arg375Cys)	heterozygous	pathogenic	carrier of autosomal recessive Pompe disease
6	DMD NM_00400 6.2	c.5769del (p.Glu1924Argfs*3)	hemizygous	pathogenic	X-linked Duchenne and Becker muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy

จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยเด็กที่ตรวจพบ pathogenic variant จำนวน 2 ราย มีความผิดปกติของยีน DMD ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคกล้ามเนื้อเสื่อมดูเชนน์ ผู้ป่วย 1 รายพบความผิดปกติของยีน GAA ผล zygosity เป็น heterozygous จึงคิดถึงว่าเป็นพาหะของ autosomal recessive Pompe disease และผู้ป่วยเด็ก 3 ราย พบผลการตรวจเป็น variant of uncertain significance identified รายละเอียดของยีนแสดงในตารางที่ 2 จากผลการตรวจข้างต้นพบว่าอัตราการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้อร่วมประสาทแต่กำเนิดในผู้ป่วยเด็กด้วยวิธีการตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้อร่วมประสาทในการศึกษานี้เท่ากับร้อยละ 33

อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษานี้พบผู้ป่วยเด็กที่ได้รับการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดโดยกุมารแพทย์ระบบประสาทในโรงพยาบาลต่างจังหวัดจำนวน 12 ราย หลังการส่งตรวจยีนเฉพาะที่ตรวจได้ในประเทศได้แก่ MLPA for DMD และ SMN gene พบผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทจำนวน 5 ราย และได้รับการวินิจฉัย SMA type 3 จำนวน 1 ราย มีผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การวิจัยจำนวน 6 ราย ผู้ป่วย 2 ใน 6 รายได้รับการวินิจฉัยโรค ดังนั้นอัตราการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดในผู้ป่วยเด็กด้วยวิธีการตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทเท่ากับร้อยละ 33 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในต่างประเทศ แต่การศึกษาในต่างประเทศส่วนใหญ่จะทำการศึกษาในโรคของกล้ามเนื้อ เช่น ในการศึกษาของ Punetha J ในปี พ.ศ.2559 ทำการศึกษาประสิทธิภาพของ next-generation sequencing technologies โดยใช้ชุดตรวจยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้อจำนวน 45 ยีน ในผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อที่ไม่สามารถวินิจฉัยได้พบ pathogenic mutations 33 รายจาก 94 ราย คิดเป็นร้อยละ 35¹⁵ Park HJ ทำการศึกษาในคนไข้เกาหลีที่คิดถึง inherited muscular disorders จำนวน 209 รายโดยใช้การตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีน 69 ยีนพบอัตราการวินิจฉัยร้อยละ 36¹⁶ ในปี พ.ศ.2564 Ivana Babic Bozovic ทำการศึกษาแบบย้อนหลังในผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อจำนวน 86 ราย มีผู้ป่วยเด็กจำนวน 22 ราย ส่วนใหญ่ร้อยละ 47 เป็นกลุ่มโรคกล้ามเนื้อที่ไม่เฉพาะเจาะจง (unspecified myopathy) ทำการส่งตรวจ exome sequencing พบว่าอัตราการวินิจฉัยเท่ากับร้อยละ 52 ซึ่งพบอัตราการวินิจฉัยในเด็กสูงถึงร้อยละ 64² ในปีเดียวกัน Grenho-Rodrigues S ทำการศึกษ้อัตราการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทในเด็กอายุน้อยกว่า 18 ปีจำนวน 106 รายด้วยการตรวจชิ้นกล้ามเนื้อพบอัตราการวินิจฉัยเท่ากับร้อยละ 22.6¹⁷ จะเห็นได้ว่าการตรวจชิ้นกล้ามเนื้อพบอัตราการวินิจฉัยโรคไม่ได้มากไปกว่าการตรวจทางพันธุกรรม และเป็นเหตุการณ์ที่รุกราน แต่อาจมีความจำเป็นในผู้ป่วยบางรายที่ส่งการตรวจทางพันธุกรรมแล้วไม่พบความผิดปกติ การตรวจนี้สามารถแยกได้ว่าอาการของผู้ป่วยเกิดจากความผิดปกติของกล้ามเนื้อหรือเส้นประสาท และมีพยาศภาพเป็นอย่างไร

ในการศึกษานี้เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามอาการทางคลินิกที่มาพบว่ามีผู้ป่วย 3 รายที่มีอาการเดินแล้วล้มบ่อย เดินเข่ง ตรวจร่างกายพบ Gower's sign positive, bilateral calf hypertrophy และตรวจพบค่าเอนไซม์ CK สูง ทำการตรวจ MLPA for DMD ผล no deletion แพทย์ส่งตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทพบว่ามีความผิดปกติของยีน DMD 2 ราย ผู้ป่วยทั้ง 2 รายเริ่มมีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรงตอนอายุ 4 ปี ร่วมกับอาการ และอาการแสดงที่ตรวจพบจึงวินิจฉัยว่าเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาท หลังการวินิจฉัยผู้ป่วยได้รับการรักษาเป็นยาสเตียรอยด์เพื่อชะลอความเสื่อมของกล้ามเนื้อ และให้คำปรึกษาแก่มารดาเพื่อตรวจหาว่ามีผู้ใดเป็นพาหะหรือไม่ หากมารดาเป็นพาหะและต้องการมีบุตรคนถัดไป ถ้าเป็นเพศชายมีโอกาสเป็นโรคได้ร้อยละ 50 ถ้าเป็นเพศหญิงมีโอกาสเป็นพาหะได้ร้อยละ 50 แต่ใน 2 ครอบครัวไม่ต้องการมีบุตรเพิ่ม ไม่มีพี่น้องจึง

ไม่ได้ทำการตรวจเพิ่มเติม ผู้ป่วยอีก 1 รายในกลุ่มนี้ (รายที่ 5) ตรวจพบความผิดปกติของยีน GAA มี zygosity เป็นแบบ heterozygous รายงานผลถึงถึงพาหะของ autosomal recessive Pompe disease เนื่องจากการตรวจพบ ยีนที่ผิดปกติอาจเป็นยีนที่ก่อโรคหรือไม่ก็ได้ จึงทำการส่งตรวจ GAA enzyme assay เพื่อยืนยันการวินิจฉัยพบว่า ผลการตรวจปกติ ดังนั้นผู้ป่วยรายที่ 5 จึงไม่สามารถวินิจฉัยโรคได้ เนื่องจากโรงพยาบาลมีข้อจำกัดในการตรวจ เพิ่มเติม และผู้ป่วยมีความยากลำบากในการเดินทางไปโรงพยาบาลตติยภูมิ แพทย์เจ้าของไข้จึงนัดติดตามอาการ และให้การรักษาตามอาการ

ผู้ป่วยรายที่ 2, 3 และ 4 มาด้วยอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง ความตึงตัวกล้ามเนื้อต่ำ ได้รับการตรวจ SMN gene ผลปกติ ผลการตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้อร่วมประสาทพบ variant of uncertain significance identified หมายถึงยีนที่พบไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าก่อให้เกิดโรคหรือไม่ ข้อมูลในปัจจุบันอาจยังไม่เพียงพอ หรือการที่ไม่พบ pathogenic variant อาจเกิดจากยีนที่ผิดปกติไม่มีอยู่ในการตรวจรหัสพันธุกรรม แบบชุดยีนของการศึกษานี้ เป็นยีนที่ยังไม่มีการค้นพบ หรือผู้ป่วยอาจเป็นโรคที่มีอาการคล้ายกับโรคกล้ามเนื้อ ร่วมประสาททำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้ แนวทางการวินิจฉัยควรส่งตรวจเพิ่มเติมเช่น การบันทึกคลื่นไฟฟ้า กล้ามเนื้อ การตัดชิ้นกล้ามเนื้อ whole exome sequencing (WES) แต่เนื่องจากโรงพยาบาลต่างจังหวัดมีข้อจำกัด ในการส่งตรวจ และผู้ป่วยมีปัญหาในการเดินทางไม่สามารถเดินทางไปยังโรงพยาบาลตติยภูมิได้ ทำให้ไม่ได้รับการ ตรวจเพิ่มเติม แพทย์เจ้าของไข้จึงนัดติดตามและกระตุ้นพัฒนาการเป็นระยะ

ในการศึกษานี้ไม่พบผู้ป่วยที่มาด้วยอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรงส่วนปลาย มีปัญหาการรับรู้ความรู้สึกที่มือ และเท้าผิดปกติ อาจตรวจพบ high arched feet, foot drop จึงไม่มีผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจ CMT1A และ HNPP เพื่อ แยกโรค Charcot-Marie-Tooth disease

การตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนจึงอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้อร่วม ประสาทแต่กำเนิด โดยที่ลดการทำหัตถการที่รุกราน เช่น การตัดชิ้นกล้ามเนื้อ และช่วยเพิ่มโอกาสให้กับผู้ป่วยเด็ก ที่อยู่ในต่างจังหวัดให้ได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้อง จะเห็นได้จากผู้ป่วยทั้ง 2 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น โรค กล้ามเนื้อเสื่อมดูเซนน์ ผู้ป่วยรายที่ 1 เริ่มมีอาการตั้งแต่อายุ 4 ปี ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น โรคกล้ามเนื้อเสื่อมดู เซนน์เมื่ออายุ 14 ปี 4 เดือน ใช้เวลา 10 ปี 4 เดือน ผู้ป่วยรายที่ 6 มีอาการเมื่ออายุ 4 ปีได้รับการวินิจฉัยอายุ 8 ปี 7 เดือน ใช้เวลา 4 ปี 7 เดือนจึงจะได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น โรคกล้ามเนื้อเสื่อมดูเซนน์หลังจากได้รับการวินิจฉัย ผู้ป่วยทั้ง 2 รายได้รับการรักษาด้วยยาสเตียรอยด์และติดตามกับกุมารแพทย์ระบบประสาทที่โรงพยาบาลใน ต่างจังหวัดต่อไป ซึ่งหากผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยตั้งแต่แรกเริ่มก็จะได้รับยาสเตียรอยด์เพื่อชะลอความเสื่อมของ กล้ามเนื้อและยืดระยะเวลาที่จะมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นได้¹⁸⁻²¹

ข้อจำกัดของการศึกษาวิจัย

การศึกษานี้มีผู้ป่วยที่เข้าร่วมในงานวิจัยจำนวนน้อย ขาดความหลากหลายของข้อมูล เนื่องจากระยะเวลาในการศึกษาวิจัยสั้น ประกอบกับเป็นกลุ่มโรคหายากทำให้ปริมาณผู้ป่วยที่พบในแต่ละโรงพยาบาลมีไม่มาก ขาดเงินทุนวิจัย มีความจำกัดในการส่งตรวจพิเศษเพิ่มเติมทำให้ไม่สามารถจัดกลุ่มผู้ป่วยได้จำเพาะอาจทำให้วินิจฉัยผิดพลาดได้ ชุดตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนในการศึกษานี้มีข้อจำกัดในการตรวจผู้ป่วยในกลุ่ม inherited nerve disease เนื่องจากชุดยีนขาดความครอบคลุมของโรคในกลุ่มนี้

บทสรุป

การตรวจรหัสพันธุกรรมแบบชุดยีนสำหรับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทมีประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงประสาทแต่กำเนิดของผู้ป่วยเด็กในโรงพยาบาลต่างจังหวัด โดยสามารถทราบผลตรวจได้อย่างรวดเร็ว ลดความจำเป็นในการทำหัตถการที่รุกราน และช่วยเพิ่มโอกาสให้ผู้ป่วยในพื้นที่ห่างไกลซึ่งไม่สามารถเข้าถึงการตรวจวินิจฉัยในโรงพยาบาลตติยภูมิได้รับการวินิจฉัยที่แน่นอน และการรักษาที่เหมาะสม เพื่อคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

ข้อเสนอแนะ

อาจพิจารณาขยายขอบเขตการวิจัย ประชาสัมพันธ์และหาแหล่งเงินทุนสนับสนุน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณราชวิทยาลัยกุมารแพทย์ และสมาคมกุมารแพทย์แห่งประเทศไทยที่ให้การสนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย หัวหน้าแผนกกุมารเวชกรรม และคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน โรงพยาบาลพหลพลพยุหเสนาที่อนุญาตให้ทำการศึกษาวิจัย และผู้ร่วมวิจัยทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและคำแนะนำในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Westra D, Schouten MI, Stunnenberg BC, Kusters B, Saris CGJ, Erasmus CE, et al. Panel-based exome sequencing for neuromuscular disorders as diagnostic service. J Neuromuscul Dis. 2019;6:241-58.
2. Bozovic IB, Maver A, Leonardis L, Meznaric M, Osredkar D, Peterlin B. Diagnostic yield of exome sequencing in myopathies: Experience of Slovenian tertiary centre. PLOS ONE. 2021;16:e0252953.

3. Haskell GT, Adams MC, Fan Z, Amin K, Guzman Badillo RJ, Zhou L, et al. Diagnostic utility of exome sequencing in the evaluation of neuromuscular disorders. *Neurol Genet.* 2018;4:e212.
4. Beecroft SJ, Yau KS, Allcock RJN, Mina K, Gooding R, Faiz F, et al. Targeted gene panel use in 2249 neuromuscular patients: The Australasian referral center experience. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7:353-62.
5. Ankala A, da Silva C, Gualandi F, Ferlini A, Bean LJ, Collins C, et al. A comprehensive genomic approach for neuromuscular diseases gives a high diagnostic yield. *Ann Neurol.* 2015;77:206-14.
6. Winder TL, Tan CA, Klemm S, White H, Westbrook JM, Wang JZ, et al. Clinical utility of multigene analysis in over 25,000 patients with neuromuscular disorders. *Neurol Genet.* 2020;6:e412.
7. Kay WP Ng, Chin H-L, Chin A XY, Li-Meng Goh D. Using gene panels in the diagnosis of neuromuscular disorders: A mini-review. *Front Neurol.* 2022;13:997551.
8. Engel AG, Shen X-M, Selcen D, Sine SM. Congenital myasthenic syndromes: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Lancet Neurol.* 2015;14:420-34.
9. North KN. Clinical approach to the diagnosis of congenital myopathies. *Semin Pediatr Neurol.* 2011;18:216-20 .
10. Das S, Dubey A. A comprehensive review on spinal muscular atrophy (SMA). *Perception in reproductive medicine.* 2021;4:333-7.
11. Thangarajh M. The Dystrophinopathies. *Continuum (Minneapolis Minn)* 2019; 25: 1619-39.
12. Skre H. Genetic and clinical aspects of Charcot-Marie-Tooth's disease. *Clin Genet.* 1974;6:98-118 .
13. Okubo M, Minami N, Goto K, Goto Y, Noguchi S, Mitsunashi S, et al. Genetic diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy using next-generation sequencing: Validation analysis of DMD mutations. *Journal of human Genetics.* 2016;61:483-9 .
14. Gatta V, Scarciolla O, Gaspari AR, Palka C, De Angelis MV, Di Muzio A, et al. Identification of deletions and duplications of the DMD gene in affected males and carrier females by multiple ligation probe amplification (MLPA). *Hum Genet.* 2005;117:92-8.
15. Punetha J, Kesari A, Uapinyoying P, Giri M, Clarke NF, Waddell LB, et al. Targeted re-sequencing emulsion PCR panel for myopathies: Results in 94 cases. *J Neuromuscul Dis.* 2016;3:209-25.
16. Park HJ, Jang H, Kim JH, Lee JH, Shin HY, Kim SM, et al. Discovery of pathogenic variants in a large Korean cohort of inherited muscular disorders. *Clin Genet.* 2017;91:403-10.

17. Grenho-Rodrigues S, Silva D, Machado M, Roque R, Pimentel J. Diagnostic yield of muscle biopsies in pediatric population: A tertiary center experience. *Neurol.* 2021;72:283-7.
18. Mah JK. Current and emerging treatment strategies for duchenne muscular dystrophy. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016;12:1795-807.
19. Eagle M, Baudouin SV, Chandler C, Giddings DR, Bullock R, Bushby K. Survival in duchenne muscular dystrophy: Improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. *Neuromuscul Disord.* 2002;12:926-9.
20. Center for Disease Control. Survival of males diagnosed with Duchenne/Becker muscular dystrophy (DBMD) by years of birth – muscular dystrophy surveillance tracking and research network. *MMWR.* 2009;58:1119-22.
21. Villanova M, Brancalion B, Mehta AD. Duchenne muscular dystrophy: Life prolongation by noninvasive ventilatory support. *Am J Phys Med Rehabil.* 2014;93:595-9.