นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาชนิดและสัดส่วนของ Beta Thalassemia Mutation ในจังหวัดพิษณุโลก

ปริศนา เจริญพร[1] พีระพล วอง[1] สายศิริ มีระเสน[2] พันธุ์ชนะ สงวนเสริมศรี[2] สวิชญาพร เจิมนิ่ม[1] สุขุมาล นิยมธรรม[1] หนึ่งฤทัย นิลศรี[3] กุลนิษฐ์ แพงวังทอง[1] และ ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี[4]

[1]หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร คณะแพทยศาสตร์ [2]ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์

[3]ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร [4]ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ *Homozygous beta thalassemia และ compound heterozygous hemoglobin E / beta thalassemia เป็นโรค beta thalassemia ที่เป็นปัญหาของประเทศไทย ข้อมูลสัดส่วนของ beta globin mutation แต่ละชนิดในเขตภาคเหนือตอนบนไม่อาจนำมาใช้ในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างเนื่องจากความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากรกลุ่มย่อยแต่ละพื้นที่ ดังนั้นหากจังหวัดพิษณุโลกมีข้อมูลสัดส่วนของ beta globin mutation แต่ละชนิดในพื้นที่จะทำให้ห้องปฏิบัติการสามารถออกแบบวิธีการตรวจวินิจฉัย beta globin mutation ในระดับ DNA เบื้องต้นได้อย่างเหมาะสมและครอบคลุมชนิดของ beta globin mutation แต่ละชนิดในพื้นที่* ***วัตถุประสงค์*** *เพื่อค้นหาชนิดของ beta globin mutation ที่พบบ่อยในจังหวัดพิษณุโลก* ***วัสดุและวิธีการ*** *รวบรวมหญิงตั้งครรภ์และ/หรือสามีที่อาศัยในจังหวัดพิษณุโลก จำนวน 100 คนที่ได้รับการวินิจฉัยเป็น heterozygous beta thalassemia จากการวัดระดับ hemoglobin A_2 โดยการตรวจด้วยวิธี Diethylaminoethyl Sephadex microcolumn chromatography ณ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ทำการตรวจหาชนิดของ beta globin mutation ด้วยวิธี DNA sequencing* ***ผลการศึกษา*** *พบ beta globin mutation ชนิด codon 41/42 (-TCTT) มากที่สุดจำนวน 44 คน (ร้อยละ 44) รองลงมาเป็น codon 17 (A⟶T) จำนวน 36 คน (ร้อยละ 36) -28 (A⟶G) จำนวน 10 คน (ร้อยละ 10) IVS-I-1 (G⟶T) จำนวน 4 คน (ร้อยละ 4) -87 (C⟶A) จำนวน 2 คน (ร้อยละ 2) และพบ codon 35 (C⟶A) codon 71/72 (+A) IVS-II-654 (C⟶T) และ codon 41 (-C) อย่างละ 1 คน (ร้อยละ 1) ไม่พบ beta globin mutation ชนิดใหม่ในการศึกษานี้* ***สรุป*** *จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า codon 41/42 (-TCTT) และ codon 17 (A⟶T) เป็น beta globin mutation ที่พบเป็นสัดส่วนมากที่สุดรวมกันถึงร้อยละ 80 ของ beta globin mutation ที่พบทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบ -28 mutation เป็นอันดับสาม ถึงร้อยละ 10 ซึ่งเป็นข้อแตกต่างจากพื้นที่อื่น ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ในการกำหนดรูปแบบวิธีการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดของ beta thalassemia ในเขตภาคเหนือตอนล่างต่อไป*

Key Words : ● *Beta globin mutation* ● *Thalassemia* ● *Phitsanulok*

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2556;23:277-82.

บทนำ

Beta thalassemia เป็นโรคโลหิตจางทางพันธุกรรมที่เป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขของประเทศ จากการศึกษาความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในจังหวัดพิษณุโลก พบ heterozygous beta thalassemia ร้อยละ 1.6, heterozygous hemoglobin (Hb) E ร้อยละ 21.3 และ homozygous Hb E ร้อยละ 2.2 จากข้อมูลดังกล่าวสามารถประมาณการได้ว่า จังหวัดพิษณุโลกจะมีอัตราการเกิดของเด็กที่เป็น homozygous beta thalassemia 0 - 1 คนต่อปี และ compound heterozygous Hb E/beta thalassemia 18 คนต่อปี[1] วิธีการที่ดีที่สุดในการควบคุม beta thalassemia ชนิดรุนแรงคือการควบคุมไม่ให้มีผู้ป่วยรายใหม่ โดยการตรวจคัดกรองหาผู้ที่เป็นพาหะและกำหนดคู่เสี่ยงต่อการที่จะได้บุตรเป็นโรคชนิดรุนแรงในหญิงตั้งครรภ์และคู่สมรส ทำการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดหาเด็กในครรภ์ที่เป็นโรค และให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมเพื่อพิจารณายุติการตั้งครรภ์ การตรวจวิเคราะห์ beta-thalassemia ในระดับ DNA มีความยุ่งยากเนื่องจาก beta thalassemia mutation ที่พบในประเทศไทยมีอยู่มากถึง 22 ชนิด[2] ซึ่งเทคนิคที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือวิธีการที่ตรวจ beta globin mutation ที่เคยมีรายงานมาก่อน ได้แก่ dot-blot hybridization, reverse

ได้รับต้นฉบับ 15 ตุลาคม 2556 รับลงตีพิมพ์ 19 ธันวาคม 2556

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ พีระพล วอง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก E-mail: peeraponw@nu.ac.th

dot-blot hybridization, amplification refractory mutation system (ARMS) และ restriction enzyme digestion ซึ่งวิธีเหล่านี้จำเป็นต้องใช้ primer หรือ probe ที่จำเพาะต่อชนิดของ mutation ทำให้การตรวจวินิจฉัยชนิดของ beta globin mutation ทำได้จำกัด อีกกลุ่มหนึ่งเป็นวิธีการที่สามารถตรวจสอบ beta globin mutation ได้เกือบทุกชนิดรวมทั้งชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน ได้แก่ วิธีการหาลำดับเบสโดยตรงหรือ DNA sequencing และ single-strand confirmation polymorphism อย่างไรก็ตามการตรวจดังกล่าวเป็นการตรวจที่ใช้เวลาและมีค่าใช้จ่ายสูง การเลือกวิธีการที่ใช้ในการวินิจฉัยชนิดของ beta globin mutation ในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับรูปแบบและสัดส่วนของ beta globin mutation ที่พบทั่วไปและที่พบได้น้อยในกลุ่มประชากรเป้าหมาย หากประชากรเป้าหมายมีความหลากหลายของ beta globin mutation น้อย โดยทั่วไปควรเลือกตรวจ beta globin mutation ในกลุ่มชนิดที่พบมากก่อนเป็นอันดับแรก เช่นวิธี multiplex ARMS หรือ dot blot hybridization ซึ่งสามารถตรวจ beta globin mutation ได้หลายชนิดพร้อมกัน วิธีการดังกล่าวส่วนใหญ่สามารถจำแนก beta globin mutation ได้ถึงร้อยละ 90 ของการทดสอบ ส่วน beta globin mutation ชนิดที่เหลืออาจนำมาตรวจสอบซ้ำด้วยวิธี DNA sequencing ต่อไป[3] หากประชากรเป้าหมายมีความหลากหลายของ beta globin mutation ในระดับสูง การวินิจฉัย beta globin mutation ด้วยการหาลำดับเบสโดยตรงตั้งแต่ต้นน่าจะเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากกว่า ข้อมูลการวิเคราะห์สัดส่วนของ beta thalassemia mutation ในจังหวัดพิษณุโลกก่อนหน้านี้อาศัยการศึกษาที่ทำในประชากรขนาดเล็ก[4] การวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยต้องการทราบรูปแบบและสัดส่วนของ beta thalassemia mutation ที่พบในเขตจังหวัดพิษณุโลกซึ่งน่าจะใช้เป็นตัวแทนของภาคเหนือตอนล่างโดยใช้จำนวนประชากรที่ศึกษามากขึ้น เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประกอบการตัดสินใจในการกำหนดรูปแบบวิธีการในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดของ beta thalassemia ณ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

รวบรวมตัวอย่างเลือดจากหญิงตั้งครรภ์และ/หรือสามีที่มาฝากครรภ์ในโรงพยาบาลในเขตจังหวัดพิษณุโลกซึ่งผ่านการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ Hb A_2 ด้วยวิธี Diethylaminoethyl (DEAE) Sephadex microcolumn chromatography ณ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และให้การวินิจฉัยเป็น heterozygous beta thalassemia โดยมีระดับ Hb A_2 มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 4 และน้อยกว่าร้อยละ 10 ทำการรวบรวมตัวอย่างเลือดที่เข้าเกณฑ์ทุกรายต่อเนื่องกันไป ดำเนินการวิจัยเป็น 2 ช่วง เนื่องจากข้อจำกัดด้านงบประมาณ ช่วงแรกระหว่าง พฤษภาคม 2547- กันยายน 2547 จำนวน 50 คน และช่วงที่สองระหว่าง มกราคม 2549 – กรกฎาคม 2549 จำนวน 50 คน รวมกันทั้งสิ้น 100 คน การดำเนินงานตามโครงการวิจัยทั้งสองช่วงได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

วิธีดำเนินงาน

1. นำตัวอย่างเลือดที่มีผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Hb A_2 มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 4 และน้อยกว่าร้อยละ 10 โดยวิธี DEAE Sephadex microcolumn chromatography จำนวน 100 ตัวอย่าง มาสกัด DNA ด้วยวิธี Chelex-100[5]
2. ทำการเพิ่มปริมาณ beta globin gene ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ primer ที่ปรับปรุงจากการศึกษาก่อนหน้านี้[6] (Table 1) โดยแบ่ง beta globin gene ออกเป็น 2 ส่วนซึ่งครอบคลุม beta globin mutation ทั้งหมดที่เคยมีรายงาน ส่วนที่ 1 ประกอบด้วย exon I และ II ได้ PCR product ขนาด 761 base pair ส่วนที่สองประกอบด้วย exon III ได้ PCR product ขนาด 660 base pair (Figure 1)
3. ทำ PCR product ที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดน้ำยา QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Germany)
4. นำไปเข้ากระบวนการ asymmetrical PCR ด้วย ABI PRISM^{TM} BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit protocol (Applied Biosystems, USA)

Table 1 Sequences of the primers used and size of the polymerase chain reaction product obtained from the DNA sequencing

Primer	Nucleotide sequence (5' 3')	Product size (bp)
S-Exon1-2	*AGA AGA GCC AAG GAC AGG TAC G*	*761 bp*
A-Exon1-2	*GGG AAA CAGACG AA*	
S-Exon3	*TCC CTA ATC TCT TTC TTT CAG G*	*660 bp*
A-Exon3	*GCT AGT TCA AAC CTT GGG AAA A*	

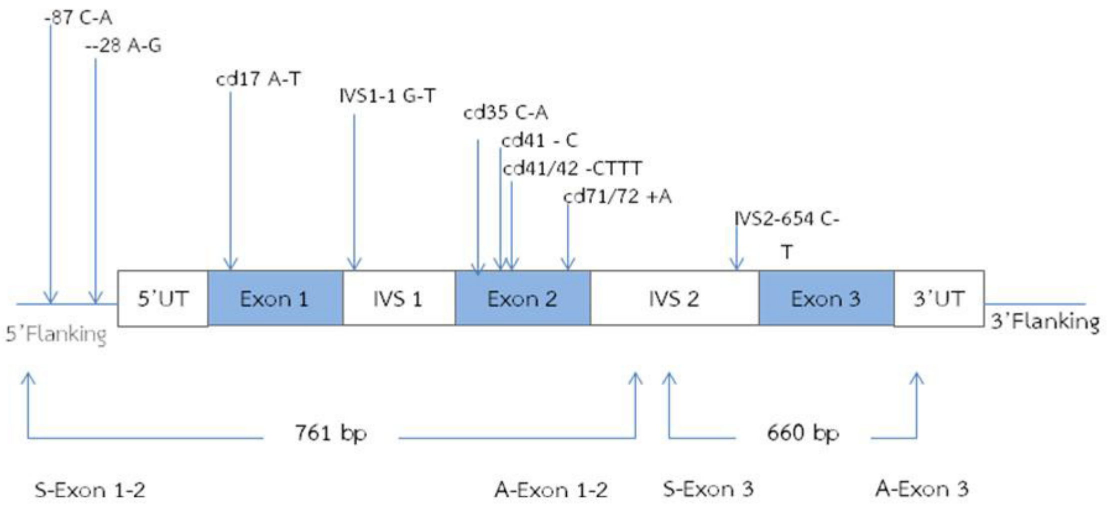

Figure 1 Shematic diagram showing the beta globin gene (3 exons and 2 introns). Nine different mutations found in this study are indicated at the top of the figure. Annealing sites of the polymerase chain reaction (PCR) primers and PCR product size are demonstrated at the bottom of the figure.

5. ทำการตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเครื่อง automated DNA sequencer, ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)

6. รวบรวมข้อมูลและรายงานผลชนิดและสัดส่วนของ beta globin mutation ที่พบเป็นค่าร้อยละของ beta globin mutation ที่พบทั้งหมด

ผลการศึกษา

พบ beta thalassemia mutation ชนิด codon 41/42 (-TCTT) มากที่สุดจำนวน 44 คน (ร้อยละ 44) รองลงมาเป็น codon 17 (A⟶T) จำนวน 36 คน (ร้อยละ 36), −28 (A⟶G) จำนวน 10 คน (ร้อยละ 10), IVS-I-1 (G⟶T) จำนวน 4 คน (ร้อยละ 4), -87 (C⟶A) จำนวน 2 คน (ร้อยละ 2) และพบ codon 35 (C⟶A), codon 71/72 (+A), IVS-II-654 (C⟶T) และ codon 41 (-C) อย่างละ 1 คน (ร้อยละ 1) ไม่พบ beta globin mutation ชนิดใหม่ในการศึกษานี้ ข้อมูลแสดงดัง Table 2

Table 2 The proportion of beta globin mutations identified in Phitsanulok

Mutation	N (Allele)	%
codon 41/42 (-TCTT)	44	44
codon 17(A⟶T)	36	36
-28 (A⟶G)	10	10
IVS-I-1 (G⟶T)	4	4
-87 (C⟶A)	2	2
Codon 35 (C⟶A)	1	1
codon 71/72 (+A)	1	1
IVS-II-654 (C⟶T)	1	1
Codon41 (-C)	1	1
Total	**100**	**100**

วิจารณ์

ชนิดของ beta globin mutation ที่พบมากที่สุดคือ codon 41/42 (-TCTT) ซึ่งคล้ายคลึงกับข้อมูลสัดส่วน beta globin mutation ที่พบในภาคต่างๆ ของประเทศไทย[2,7] ส่วน beta globin mutation ที่พบรองลงมาคือชนิด codon 17 (A⟶T) คิดเป็นร้อยละ 36 ใกล้เคียงกับที่มีรายงานในเขตภาคเหนือตอนบน (ร้อยละ 34.4)[6] และมากกว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ร้อยละ 21.7)[2] ซึ่ง beta globin mutation ทั้งสองชนิดรวมกันเป็นสัดส่วนมากถึงร้อยละ 80 ของ beta globin mutation ที่พบทั้งหมด beta globin mutation ที่พบมากเป็นอันดับสามในการศึกษานี้ได้แก่ชนิด -28 (A⟶G) พบถึงร้อยละ 10 ใกล้เคียงกับที่พบในภาคกลาง (ร้อยละ 9.3)[2] แต่พบมากกว่าภาคเหนือตอนบน (ร้อยละ 1.4)[6] ส่วนชนิด IVS-I-1 (G⟶T) พบร้อยละ 4 น้อยกว่าที่พบในเขตภาคเหนือตอนบนไม่มากนัก (ร้อยละ 6.9)[6] ลักษณะสัดส่วนของ codon 17 (A⟶T), -28 (A⟶G) และ IVS-I-1 (G⟶T) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของลักษณะทางภูมิศาสตร์ของจังหวัดพิษณุโลกที่ตั้งอยู่ตรงกลางระหว่างภาคเหนือตอนบน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางได้เป็นอย่างดี หากรวม beta globin mutation ทั้งสี่ชนิด ได้แก่ codon 41/42 (-TCTT), codon 17 (A⟶T), -28 (A⟶G) และ IVS-I-1 (G⟶T)

เข้าด้วยกัน จะเป็นสัดส่วนรวมกันถึงร้อยละ 94 ของ beta globin mutation ที่พบทั้งหมด ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะทำให้ห้องปฏิบัติการสามารถออกแบบวิธีการตรวจวินิจฉัย beta globin mutation ในระดับ DNA เบื้องต้นได้อย่างเหมาะสม ตัวอย่างเช่น การออกแบบ multiplex ARMS หรือ dot blot hybridization สำหรับ codon 41/42 (-TCTT), codon 17 (A⟶T), -28 (A⟶G) และ IVS-I-1 (G⟶T) เพื่อค้นหา beta thalassemia mutation ดังกล่าวในรอบแรกก่อน หลังจากนั้นอาจใช้วิธีการตรวจเดิมสำหรับ beta globin mutation ที่พบรองลงมา หากไม่พบ mutation จึงพิจารณาการตรวจด้วย DNA sequencing หรือ gap PCR ใน deletional beta globin mutation ที่เหลือต่อไป และเนื่องจากการที่พิษณุโลกมีประชากรที่เป็น heterozygous Hb E ถึงร้อยละ 21.3[1] ทำให้การตรวจพบ -28 (A⟶G) ซึ่งพบมากเป็นอันดับสามของ beta globin mutation ร่วมกับการตรวจพบ codon 26 (G⟶A) (Hb E) ในคู่สามีภรรยาอาจไม่มีความจำเป็นต้องพิจารณาการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด เนื่องจาก compound heterozygote ระหว่าง -28 (A⟶G) กับ Hb E มีความรุนแรงทางคลินิกไม่มากนัก นอกจากนี้ในการศึกษาชิ้นนี้พบว่า codon 71/72 (+A) ซึ่งพบมากเป็นอันดับสี่ในเขตภาคเหนือตอนบน (ร้อยละ 6.0)[6] กลับพบเพียงร้อยละ 1 ในจังหวัดพิษณุโลกเท่านั้น

หากเปรียบเทียบข้อมูลสัดส่วนของ beta globin mutation ที่พบในจังหวัดพิษณุโลก กับข้อมูลที่มีรายงานในภูมิภาคใกล้เคียงได้แก่ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงจีนตอนใต้ (Table 3) พบว่าลักษณะการกระจายของ beta globin mutation ที่พบ codon 41/42 (-TCTT) ในสัดส่วนที่มากที่สุด คล้ายคลึงกับเวียดนาม[8] และจีนตอนใต้[9] (พบมากเป็นอันดับหนึ่ง) รวมถึงพม่า[10] (พบมากเป็นอันดับสอง) แต่ต่างจากมาเลเซีย และอินโดนีเซีย ซึ่งพบ codon 41/42 (-TCTT) เพียงร้อยละ 12.2[11] และ 1.7[12] ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของลักษณะทางภูมิศาสตร์ได้เป็นอย่างดี

Table 3 Distribution of beta globin mutations in Southeast Asia and South China

Mutation	Frequency (%)					
	Phitsanulok[a] n = 100	Myanmar[b] n = 209	South Vietnam[c] n = 68	Malaysia[d] n = 41	Indonesia[e] n = 59	South China[f] n = 93
cd 41/42 (-CTTT)	44 (44.0)	48 (23.0)	24 (35.3)	5 (12.2)	1 (1.7)	45 (48.4)
cd17 (A-T)	36 (36.0)	19 (9.1)	17 (25.0)	1 (2.4)	1 (1.7)	9 (9.7)
-28 (A-G)	10 (10.0)	3 (1.4)	5 (7.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (7.5)
IVS-1-1 (G-T)	4 (4.0)	59 (28.2)	4 (6.0)	3 (7.3)	6 (10.2)	0 (0.0)
-87 (C-A)	2 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd35 (C-A)	1 (1.0)	7 (3.3)	0 (0.0)	2 (4.9)	1 (1.7)	0 (0.0)
cd 71/72 (+A)	1 (1.0)	3 (1.4)	5 (7.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
IVS-2-654 (C-T)	1 (1.0)	5 (2.4)	5 (7.3)	3 (7.3)	7 (11.9)	20 (21.5)
cd41 (-C)	1 (1.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
IVS-1-5 (G-C)	0 (0.0)	32 (15.3)	0 (0.0)	20 (48.8)	32 (54.2)	0 (0.0)
619bp deletion	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd44 (-C)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd15 (G-A)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (6.8)	0 (0.0)
cd16 (-)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
-31 (A-G)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd5 (-CT)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd15 (-T)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd8/9 (+G)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd30 (G-C)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.7)	0 (0.0)
IVS-1-1 (G-A)	0 (0.0)	3 (1.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.7)	0 (0.0)
cd95 (+A)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (10.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Chinese $^{G}\gamma(^{A}\gamma\delta\beta)$ thal	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
cd19 (A-G)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (14.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
-29 (A-G)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.1)
Unknown	0 (0.0)	19 (9.1)	0 (0.0)	1 (2.4)	5 (8.5)	11 (11.8)

Source of data: [a] present study; [b] Ne-Win et al. (2002); [c] Svasti et al. (2002); [d] Yang et al. (1989); [e] Lie-Injo et al. (1989); [f] Chan et al. (1987)

สรุป

จากการศึกษานี้ทำให้ทราบลักษณะสัดส่วนของ beta globin mutation ที่พบในเขตจังหวัดพิษณุโลกซึ่งเป็นตัวแทนประชากรในเขตภาคเหนือตอนล่าง และสามารถเปรียบเทียบรูปแบบสัดส่วนของ beta globin mutation ที่มีรายงานในภูมิภาคอื่นๆ ของประเทศไทย รวมถึงภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และจีนตอนใต้ ข้อมูลที่ได้สามารถนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจในการกำหนดรูปแบบวิธีการที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดของ beta thalassemia ณ หน่วยวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. *Wong P, Thanormrut P, Srithipayawan S, et al. Prevalence of thalassemia trait from screening program in pregnant woman of Phitsanulok. Thai J Hematol Transf Med 2004;14:181-6.*
2. *Winichagoon P, Fucharoen S, Wilairat P, Fukumaki Y. Molecular mechanisms of thalassemia in Southeast Asia. The Southeast Asian J Trop Med Public Health 1995;26(Suppl1):235-40.*
3. *Old JM, Olivieri NF, Thein SL. The Laboratory Diagnosis of the Thalassemias. In: The Thalassaemia Syndromes, 4th edition. Weatherall DL, Clegg JB. Blackwell Science: 686-723.*
4. *Mirasena S, Shimbhu D, Sanguansermsri M, Sanguansermsri T. The spectrum of beta thalassemia mutations in Phitsanulok province: development of multiplex ARMS for mutation detection. Naresuan University Journal 2007;15:43-53.*
5. *Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. Biotechniques 1991;10:506-13.*
6. *Sirichotiyakul S, Saetung R, Sanguansermsri T. Analysis of β-thalassemia mutations in northern Thailand using an automated fluorescence DNA sequencing technique. Hemoglobin 2003;27:89-95.*
7. *Fukumaki Y, Fucharoen S, Fucharoen G, et al. Molecular heterogeneity of β-thalassemia in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1992;23(Suppl 2):14-21.*
8. *Svasti S, Hieu TM, Munkongdee T, et al. Molecular analysis of beta-thalassemia in South Vietnam. Am J Hematol 2002;71:85-8.*
9. *Chan V, Chan TK, Chebab FF, Todd D. Distribution of beta-thalassemia mutations in south China and their association with haplotypes. Am J Hum Genet 1987;41:678-85.*
10. *Win N, Harano T, Harano K, et al. A wider molecular spectrum of beta-thalassaemia in Myanmar. Br J Haematol 2002;117:988-92.*
11. *Yang KG, Kutlar F, George E, et al. Molecular characterization of beta-globin gene mutations in Malay patients with Hb E-beta-thalassaemia and thalassaemia major. Br J Haematol 1989;72:73-80.*
12. *Lie-Injo LE, Cai SP, Wahidijat I, et al. Beta-thalassemia mutations in Indonesia and their linkage to beta haplotypes. Am J Hum Genet 1989;45:971-5.*

The Spectrum of Beta Thalassemia Mutations in Phitsanulok

Prisana Charoenporn[1], Peerapon Wong[1], Saisiri Mirasena[2], Phanchana Sanguansermsri[2], Sawischayaporn Jermnim[1], Sukumarn Niyomtham[1], Nungruthai Nilsri[3], Kullanit Pangwangthong[1], Torpong Sanguansermsri[4]

[1]Thalassemia Research Unit, Naresuan University Hospital, Faculty of Medicine; [2]Department of Biochemistry, Faculty of Medical Science; [3]Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Science, Naresuan University, Phitsanulok: [4]Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai

---

Background: *Homozygous beta thalassemia and compound heterozygous hemoglobin E / beta thalassemia are the leading genetic problems in Thailand. The spectrum of beta thalassmia mutations reported in the upper northern Thailand may not suitable to be applied in the lower northern region because of genetic diversity due to geographic difference. To design the suitable diagnostic schema for the detection of beta globin gene mutations in prenatal diagnosis of beta thalassemia in Phitsanulok, we need local data to be applied.* ***Objective:*** *The study's aim was to identify the common beta globin gene mutations in Phitsanulok, lacated in the lower north of Thailand.* ***Materials and Methods:*** *One hundred blood specimens from pregnant women and their spouses in Phitsanulok, diagnosed with beta thalassemia heterozygote determined by hemoglobin A_2 level from Diethylaminoethyl Sephadex microcolumn chromatography, were consecutively collected at Thalassemia Research Unit, Faculty of Medicine, Naresuan University. Beta globin gene mutations were identified by using direct DNA sequencing technique.* ***Results:*** *Among 100 beta thalassemia alleles investigated, codon 41/42 (-TCTT) mutation was the most frequent, identified in 44 samples (44%). Other beta globin gene mutations detected were codon 17 (A⟶T): 36%; -28 (A⟶G): 10%; IVS-I-1 (G⟶T): 4%; -87 (C⟶A): 2%; codon 35 (C⟶A): 1%; codon 71/72 (+A): 1%; IVS-II-654 (C⟶T): 1%, and codon 41(-C): 1%. No new mutations were found.* ***Conclusion:*** *Codon 41/42 (-TCTT) and codon 17 (A⟶T) were the two most common beta globin mutations identified, comprised of 80% of all detected mutations. -28 (A⟶G) was the third most common mutation which showed a unique genetic difference from the upper north. The spectrum of beta globin gene mutations from this study can be applied in the prenatal diagnostic schema for beta thalassemia in the lower north of Thailand.*

Key Words : ● *Beta globin mutation* ● *Thalassemia* ● *Phitsanulok*

J Hematol Transfus Med 2013;23:277-82.