

บทคัดย่อ

โรคธาลัสซีเมียเป็นโรคที่ยังคงเป็นปัญหาสำหรับประเทศไทยทั้งนี้เพราะเป็นโรคทางพันธุกรรมที่รักษาไม่หาย การรักษาที่เป็นมาตรฐานคือการให้เลือดและยาขับเหล็กกรรมทั้งความพยายามในการรักษาโดยวิธีอื่นบ้าง ซึ่งวิธีเหล่านั้นล้วนต้องมีค่าใช้จ่ายสูงมาก ฉะนั้นจำเป็นอย่างมากที่จะทำให้ความรู้และคำแนะนำแก่คู่สมรสที่เป็นพาหะทั้งคู่ได้เข้าใจและป้องกัน แนวทางที่ใช้ควบคุมและป้องกันโรคคือการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดโดยการเจาะเลือดจากสายสะดือทารกในครรภ์ซึ่งเป็นเทคนิคที่เสี่ยงต่อการแท้งได้ ปัจจุบันจึงมีการวิจัยเทคนิคใหม่เพื่อตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดในโรคทางพันธุกรรมซึ่งมีผลกระทบต่อทารกในครรภ์น้อยลงโดยตรวจจากดีเอ็นเอของทารกในครรภ์ที่ไหลเวียนอยู่ในน้ำเลือดของมารดา และนำมาประยุกต์ใช้ในโรคที่เกี่ยวข้องกับ sex-linked และ fetal rhesus D status การวิจัยนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้และความน่าเชื่อถือในการนำเทคนิคนี้ไปตรวจวินิจฉัยแยกโรคเบต้าธาลัสซีเมียและโรคเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีในหญิงตั้งครรภ์ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการมีทารกเป็นโรคดังกล่าว พบว่า 90% ของโรคเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีที่พบในภาคเหนือของไทยเกิดจากมิวเตชันในยีนเบต้าโกลบิน 4 ชนิด จึงมุ่งพัฒนาการตรวจมิวเตชันที่ตำแหน่งโคดอน 41/42 (-CTTT) และโคดอน 17 (A->T) ซึ่งเป็นมิวเตชันของโรคเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีที่พบมากถึง 40% รวมทั้งมิวเตชันที่ตำแหน่งโคดอน 26 (G->A) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีที่พบมากในภาคเหนือ โดยนำเทคนิค Amplification Refractory Mutation System (ARMS) มาใช้ตรวจหามิวเตชันทั้ง 3 ชนิดโดยออกแบบ primer ที่เฉพาะเจาะจงต่อมิวเตชันแต่ละชนิดเพื่อทดสอบความจำเพาะและความไวของเทคนิคนี้ในผู้ป่วยโรคเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีที่มีมิวเตชันที่ตำแหน่งโคดอนที่ 41/42 (-CTTT) และโคดอนที่ 17 (A->T) และผู้ป่วยโรคเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี รวมทั้งศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเทคนิคนี้ไปตรวจวินิจฉัยแยกโรคเบต้าธาลัสซีเมียและเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี จากนั้นจึงตรวจวินิจฉัยแยกโรคดังกล่าวในหญิงตั้งครรภ์ที่เสี่ยงต่อการมีทารกในครรภ์เป็นโรคดังกล่าว จำนวน 13 รายพบว่าให้ผลตรงกันกับการตรวจจากเลือดสายสะดือของทารกในครรภ์ด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งช่วยลดการทำสุติศาสตร์หัตถการในรายที่ตรวจไม่พบยีนของฮีโมโกลบินอีในน้ำเลือดของหญิงตั้งครรภ์นั้น

ABSTRACT

In Thailand, thalassemia is still one of the most serious diseases which is created economic problems to majority patients; as it is required blood transfusion and chelation therapy. These treatments are costly and the disease can not be cured. Therefore, it is necessary to educate the high risk people to aware and alert them how to prevent the problem. The best way is to prenatal diagnosis whether they have the thalassemia, through the rapid detection method. Current established prenatal diagnosis techniques for this disease, such as cordocentesis, are invasive and have an inherent risk of fetal loss. The recent discovery of circulating fetal DNA in maternal plasma has provided an alternative and non-invasive approach for analyzing fetal genetic heredity. Thus far, this approach has been useful for the prenatal diagnosis of sex-linked disease and fetal rhesus D status. We investigated the feasibility and reliability of prenatal exclusion of β -thalassemia major and β -thalassemia/HbE through the analysis of fetal DNA in maternal plasma. In Northern of Thailand, about 90% of all β -thalassemia major are caused by four mutations in the β -globin gene. We focused our study on the most common of these, deletion at codon 41/42 (-CTTT) and mutation at codon 17 (A->T). These mutations account for 40% of all β -thalassemia major, including the mutation at codon 26 (G->A) caused of the β -thalassemia/HbE in Northern of Thailand. We designed allele-specific primers for specific detection of three mutations using Amplification Refractory Mutation System (ARMS). The specificity and sensitivity of the allele-specific assay was confirmed by subjecting buffy coat from compound heterozygous β -thalassemia with both mutations and β -thalassemia/HbE patients to comparing for these mutations. Subsequently, the assay was applied to the prenatal testing of thirteen fetuses at risk of β -thalassemia major or β^0 -thalassemia/HbE, the aim being to exclude fetal inheritance of paternally transmitted these mutations. The fetal genotype was completely concordant with conventional analysis, HPLC in cord blood, and β -thalassemia major or β -thalassemia/HbE was excluded in the high-risk pregnancies non-invasively.