

Thesis Title Prevalence of the Alpha –Thalassemia –1
(Thai Type of Deletion) in Pregnant Women

Author Miss Narutchala Suwannakhon

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisory Committee

Lecturer Dr. Wilaiwan	Suphabphant	Chairperson
Emeritus Prof. Dr. Torpong Sanguansermisri		Member

ABSTRACT

Recently it was found that, among the pregnant women in the north of Thailand, the causes of hemoglobin Bart's hydrops fetalis were from the homozygous α -thalassemia-1 Southeast Asia (SEA) deletion (genotype, $--^{SEA}/--^{SEA}$) and the compound heterozygous α -thalassemia-1 SEA and Thai deletions (genotype, $--^{SEA}/--^{THAI}$).

From October of the year 2002-2003, the 2,272 blood samples were obtained from the pregnant women at the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand. In order to examine the heterozygous of α -thalassemia-1 type of SEA and Thai deletions, the new technology in genetic was performed. The 915 cases of selected blood samples that were osmotic fragility test (OF test) positive, were studied by the multiplex polymerase chain reaction (multiplex PCR) and agarose gel electrophoresis. In detail of multiplex PCR, the five specific primers (designed by the computer program) were used. The first two primers were

P₁ (5'-GCGATCTGGGCTCTGTGTTCT-3') and P₃ (5'-GCCTTGAACCTCCTGGA CTTAA-3') used for deleted SEA type DNA amplification. Another three primers, Th₁ (5'-CCTCCTGGGATTACATCTGG-3'), Th₂ (5'-GCACCTCTGGGTAGGTTCTG-3') and Th₃ (5'-CCCCTGACAATCTCATCATCT-3'), were used for normal DNA and deleted Thai type DNA amplification. Also the breakpoint of Thai deletion and the base sequence of gap PCR products were confirmed and compared by using automated DNA sequencing and GenBank NG_000006 and Z69706. Finally, the agarose gel electrophoresis was used to confirm and present the sizes of nucleotide sequences. It was found that there were two sizes of nucleotide sequences 137 and 188 base pairs (bp) in the heterozygous α -thalassemia-1 SEA deletion type. There were the nucleotide sequences of 137 and 460 bp in the heterozygous of α -thalassemia-1 Thai deletion type.

All together the results showed that among the 2,272 normal pregnant women, the prevalence of the heterozygous α -thalassemia-1 SEA and Thai types of deletions were 179 and 2 respectively. Reasonably thinking that the gene frequency of SEA and Thai types of deletions were $179 / (2,272 \times 2) = 0.0394$ and $2 / (2,272 \times 2) = 0.00044$ respectively. And the result showed the predicted prevalence of the compound heterozygous α -thalassemia-1 SEA and Thai deletions was 0.000035, or approximately one hemoglobin Bart's hydrops fetalis in 25,000 cases.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

อุบัติการณ์ของอัลฟา-ธาลัสซีเมีย-1 (ดีลีชันชนิดไทย)

ในหญิงตั้งครรภ์

ผู้เขียน

นางสาวเนรัญชลา สุวรรณคนธ์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร. วิไลวรรณ สุภาพพันธุ์ ประธานกรรมการ
ศ. เกียรติคุณ นพ. ต่อพงศ์ สงวนเสริมศรี กรรมการ

บทคัดย่อ

ในภาคเหนือของประเทศไทยทารกที่เป็นโรค hemoglobin (Hb) Bart's hydrops fetalis เสียชีวิตทุกราย สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจาก homozygous α -thalassemia-1 ชนิด Southeast Asia (SEA) deletion (จีโนไทป์ $--^{SEA}/--^{SEA}$) และบางส่วนเกิดจาก compound heterozygous α -thalassemia-1 ชนิด SEA deletion กับชนิด Thai deletion (จีโนไทป์ $--^{SEA}/--^{THAI}$)

เก็บตัวอย่างเลือดของหญิงตั้งครรภ์ปกติจำนวน 2,272 ราย ที่ภาควิชาสูติศาสตร์และนรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2545 ถึง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2546 เลือกเลือดตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อวิธี osmotic fragility test (OF test) จำนวน 915 ราย มาทำการตรวจหา heterozygous α -thalassemia-1 ชนิด SEA และ Thai deletion ด้วยเทคนิค multiplex polymerase chain reaction (multiplex PCR) เทคนิคนี้ใช้ศึกษา α -thalassemia-1 ที่เป็น heterozygous ทั้งชนิด SEA deletion และ Thai deletion โดยใช้ primers จำนวน 5 แบบ (ซึ่งออกแบบโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์) คือ primer P₁ (5'-GCGATCTGGGCTCTGTGTTCT-3') และ P₃ (5'-GCCTTGAACCTCCTGGACTTAA-3') เพิ่มปริมาณ DNA ที่เกิดการขาดหายแบบ SEA deletion และ primer อีก 3 ชนิด คือ Th₁ (5'-CCTCCTGGGATTACATCTGG-3'), Th₂ (5'-GC

ACCTCTGGGTAGGTTCTG -3') และ Th₃ (5'-CCCCTGACAATCTCATCATCT-3') เพิ่มปริมาณ DNA ปกติ และ DNA ที่เกิดการขาดหายแบบ Thai deletion ใช้เทคนิค automated DNA sequencing เพื่อยืนยันจุดแตกหักของ α -thalassemia-1 ชนิด Thai deletion และลำดับเบสของ PCR products ซึ่งได้จากการทำงานของ primers (Th₁, Th₂ และ Th₃) และเปรียบเทียบลำดับเบสกับข้อมูลใน GenBank NG_000006 และ Z69706 ใช้เทคนิค agarose gel electrophoresis ยืนยันและแยกขนาดของ PCR products พบว่าเลือดของผู้ที่เป็น heterozygous α -thalassemia-1 ชนิด SEA deletion มีชิ้นส่วน DNA ขนาด 137 และ 188 base pairs (bp) ส่วนผู้ที่เป็น heterozygous α -thalassemia-1 ชนิด Thai deletion พบชิ้นส่วน DNA ขนาด 137 และ 460 bp

ในหญิงตั้งครรภ์จำนวน 2,272 ราย พบอุบัติการณ์ heterozygous α -thalassemia-1 ชนิด SEA และ Thai deletion เท่ากับ 179 และ 2 ราย ตามลำดับ ซึ่งความถี่ของยีน SEA deletion เท่ากับ $179 / (2,272 \times 2) = 0.0394$ และความถี่ของยีน Thai deletion เท่ากับ $(2 / (2,272 \times 2)) = 0.00044$ สามารถทำนายความถี่ของ compound heterozygous α -thalassemia-1 ชนิด SEA และ Thai deletions ได้เท่ากับ 0.000035 หมายความว่าทารกที่เกิด 25,000 ราย อาจมีจำนวน 1 ราย ที่เป็น hemoglobin Bart's hydrops fetalis