

**QUANTIFICATION OF HUMAN GLOBIN GENE EXPRESSION  
IN  $\beta$ -THALASSEMIA**



**SUWIMOL SIRIWORADECHKUL**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(CLINICAL PATHOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2013**

Copyright by Mahidol University

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

QUANTIFICATION OF HUMAN GLOBIN GENE EXPRESSION IN  $\beta$ -THALASSEMIA

SUWIMOL SIRIWORADECHKUL 5336197 RACP/M

M.Sc. (CLINICAL PATHOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: SUMALEE JINDADAMRONGWECH, Ph.D.,  
SUPORN CHUNCHARUNEE., M.D., SARUNYA AUPPARAKKITANON, Ph.D.

## ABSTRACT

$\beta$ -thalassemia is a significant inherited disease with the occurrence of 3-9% in Thailand. Excess  $\alpha$ - and reduced  $\beta$ -globin chains are the major causes of the disease pathogenesis and the compensation by HbF reproduction. We had quantitated the  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  globin genes expressions in  $\beta$ -thalassemia by using real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) and studied the relationships between mRNA expressions simultaneously with corresponding hemoglobin produced and disease severities in each  $\beta$ -thalassemia group and genotype. The results showed an increase of  $\alpha/\beta$  globin mRNA ratios reflected more imbalance globin chains synthesis in  $\beta$ -thalassemia than normal controls. The differences of this ratio might indicate the severities between  $\beta^0$ ,  $\beta^+$  (severe) and  $\beta^+$  genotypes of the  $\beta$ -thalassemia with HbE disease. For HbF compensation, the  $\gamma$  globin mRNA and HbF were expressed in order of homozygous  $\beta$ -thalassemia disease,  $\beta$ -thalassemia with HbE disease, and heterozygous  $\beta$ -thalassemia. In  $\beta$ -thalassemia with HbE disease, absolute HbE, but not HbF, amounts were higher in mild than moderate-severe phenotypes suggesting that increased HbE synthesis might better improved the clinical severity. The globin genes expressions in each genotype of  $\beta$ -thalassemia with HbE were determined and discussed.

The globin gene expressions can be used for prediction and explanation of severities in  $\beta$ -thalassemia. Interestingly, HbE appeared to be an additional significant factor affecting disease severity in  $\beta$ -thalassemia with HbE disease.

KEY WORDS: GLOBIN mRNA/ HEMOGLOBIN F/ HEMOGLOBIN E/  $\beta$ -THALASSEMIA/ qRT-PCR

79 pages

Copyright by Mahidol University

การวัดปริมาณการแสดงออกของยีน โกลบินในเบต้าธาลัสซีเมีย

## QUANTIFICATION OF HUMAN GLOBIN GENE EXPRESSION IN $\beta$ -THALASSEMIA

สุวิมล ศิริวรรณกุล 5336197 RACP/M

วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : สุมาลี จินดาดำรงเวช, Ph.D., สุกร จันทร์จารุณี, M.D., ศรัญญา อุป  
รักจิตานนท์, Ph.D.

### บทคัดย่อ

เบต้าธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่สำคัญของประเทศไทยซึ่งพบความชุกประมาณ 3-9% พยาธิสภาพของโรคเกิดจากการสร้างสายเบต้าโกลบินลดลงทำให้มีสายแอลฟาโกลบินส่วนเกิน ดังนั้นร่างกายจะมีการชดเชยโดยการสร้างฮีโมโกลบินเอฟสูงขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ทำการวัดปริมาณการแสดงออกของยีนแอลฟา เบต้าและแกมมาโกลบินโดยใช้เทคนิค real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีนและการสร้างฮีโมโกลบินกับความรุนแรงของโรคในแต่ละกลุ่มและแต่ละจีโนไทป์ของเบต้าธาลัสซีเมีย อัตราส่วนการแสดงออกของยีนแอลฟาต่อเบต้าโกลบินพบสูงขึ้นในกลุ่มเบต้าธาลัสซีเมียเมื่อเทียบกับกลุ่มปกติซึ่งชี้ให้เห็นถึงความไม่สมดุลของการสร้างสายโกลบิน ความแตกต่างของอัตราส่วนนี้ในกลุ่มที่มีจีโนไทป์เป็นเบต้าศูนย์ เบต้าบวก (ชนิดรุนแรง) และเบต้าบวกในโรคเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีอาจบ่งชี้ถึงความรุนแรงของโรคได้ การชดเชยโดยการสร้างฮีโมโกลบินเอฟและการแสดงออกของแกมมาโกลบินเอ็มอาร์เอ็นเอพบจากมากไปน้อยในฮีโมไซกัสเบต้าธาลัสซีเมีย เบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีและพาหะเบต้าธาลัสซีเมียตามลำดับ สำหรับความรุนแรงของโรคในกลุ่มเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีพบว่าในกลุ่มที่อาการไม่รุนแรงจะมีปริมาณฮีโมโกลบินอีสูงกว่ากลุ่มอาการรุนแรง ขณะที่ปริมาณฮีโมโกลบินเอฟของทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการสร้างฮีโมโกลบินอีที่มากขึ้นน่าจะลดความรุนแรงของโรคได้ดีกว่า ส่วนการแสดงออกของยีนโกลบินในแต่ละจีโนไทป์ของโรคเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีจะมีการอภิปรายในรายละเอียด

การแสดงออกของยีนโกลบินสามารถนำมาใช้คาดการณ์และอธิบายความรุนแรงของโรคเบต้าธาลัสซีเมียได้ และที่น่าสนใจว่าฮีโมโกลบินอีอาจจะเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความรุนแรงของโรคเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี