

## นิพนธ์ฉบับ

### Initial screening of SMA in high-risk Thai pediatric patients: DBS PCR-based testing with Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification confirmation

Neera Sarapee<sup>1</sup>, Niramon Sereephaowong<sup>2</sup>, Natrapee Kiattiwuttinon<sup>3</sup>, Nuengjit Rojanawatsirivej<sup>4</sup>,  
Paka-on Tantakarn<sup>5</sup>, Meedee Meepolprapai<sup>6</sup>, Vitchayaporn Emarach Saengow<sup>7</sup>,  
Kingthong Anurat<sup>8</sup>, Titaporn Thamcharoenvipas<sup>9</sup>, Oranee Sanmaneechai<sup>1 2</sup>

<sup>1</sup>Pediatrics, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

<sup>2</sup>Center of Research Excellence for Neuromuscular Diseases, Mahidol University Faculty of Medicine Siriraj  
Hospital

<sup>3</sup>Pediatrics, Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital

<sup>4</sup>Pediatrics, Queen Sirikit National Institute of Child Health

<sup>5</sup>Pediatrics, Lerdsin Hospital

<sup>6</sup>Pediatrics, Ratchapiphat Hospital

<sup>7</sup>Pediatrics, Maharaj Nakhon Ratchasima Hospital

<sup>8</sup>Pediatrics, Chakri Naruebodindra Medical Institute, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol  
University

<sup>9</sup>Pediatrics, Prince of Songkla University

Received December 30, 2025 Revised April 21, 2025 Accepted June 20, 2025

## Abstract

**Background:** Spinal muscular atrophy (SMA) is a rare neuromuscular disorder commonly found in children, leading to progressive muscle weakness. Although gene therapy is now available, delays in diagnosis and treatment initiation still occur due to cost constraints, lengthy testing processes, and limited accessibility. These delays can result in treatment outcomes that are below expectations.

**Objectives:** To report the turnaround time of an initial screening test for SMA using a dried blood spot (DBS) PCR-based method and Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA) in high-risk pediatric patients.

**Methods:** This cross-sectional descriptive study included pediatric patients from newborns with at least 34 weeks of gestational age to adolescents 21 years old who were considered at high risk for SMA. Participants were recruited from Siriraj Hospital and various affiliated hospitals under Thailand's Ministry of Public Health. Blood samples were screened using the DBS PCR-based method, and MLPA was performed to confirm the diagnosis.

**Results:** Fifty patients (21 males, 29 females) were included. Of these, 8 were diagnosed with SMA using the DBS method. All patients were subsequently confirmed by MLPA, with complete concordance between the two methods. The median turnaround time from analysis to reporting using the DBS method was 2 days (range: 1–30 days), while it was 14 days (range: 1–20 days) for MLPA, (p value 0.001). By the DBS method, three patients were identified as SMA type 1, four as type 2, and one as type 3.

**Conclusions:** Initial SMA screening using the DBS PCR-based method provided a significantly shorter turnaround time than MLPA. This approach may be a suitable alternative for improving diagnostic efficiency and expediting access to timely treatment.

**Keywords:** Spinal muscular atrophy (SMA), initial diagnostic screening, dried blood spot (DBS), Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA)

## การตรวจคัดกรองเบื้องต้นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA ในผู้ป่วยเด็กกลุ่มเสี่ยงสูงในประเทศไทย

### โดยวิธีกระดาษกรองและวิธี Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)

นिरา สารภี<sup>1</sup>, นิรมล เสรีเผ่าวงษ์<sup>2</sup>, ณัฐระพี เกียรติวุฒินันท์<sup>3</sup>, หนึ่งจิต โรจนวัฒน์ศิริเวช<sup>4</sup>,

ภัคอร ตันทการ<sup>5</sup>, มีติ มีผลประไพ<sup>6</sup>, วิชญภรณ์ เอมราช แซ่โจ้ว<sup>7</sup>,

กิงทอง อนุรัตน์<sup>8</sup>, จิตพร ธรรมเจริญวิภาส<sup>9</sup>, อรณี แสนมณีชัย<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

<sup>2</sup>ศูนย์วิจัยเป็นเลิศโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

<sup>3</sup>กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช

<sup>4</sup>สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

<sup>5</sup>กลุ่มงานกุมารเวชศาสตร์ กรมการแพทย์ โรงพยาบาลเลิดสิน

<sup>6</sup>โรงพยาบาลราชพิพัฒน์

<sup>7</sup>กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา

<sup>8</sup>ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล สถาบันการแพทย์จักรีนฤพดินทร์

<sup>9</sup>สาขาวิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

### บทคัดย่อ

**ความเป็นมา:** โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง (Spinal Muscular Dystrophy: SMA) เป็นโรคหายากที่พบในเด็ก ส่งผลให้มีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง ปัจจุบันมีการรักษาด้วยยีนบำบัด (gene therapy) อย่างไรก็ดี ยังพบความล่าช้าในการวินิจฉัยและเริ่มการรักษา เนื่องจากข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่าย ระยะเวลาการตรวจที่ยาวนาน และการเข้าถึงที่ยาก ส่งผลให้ผลการรักษาไม่เป็นไปตามที่คาดหวัง

**วัตถุประสงค์:** เพื่อรายงานระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นโรค SMA โดยวิธี dried blood spot ซึ่งเป็นวิธี PCR-based method และวิธี Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) ในกลุ่มผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรค SMA

**วิธีการศึกษา:** เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง เก็บข้อมูลในผู้ป่วยเด็กแรกเกิด (อายุครรภ์ตั้งแต่ 34 สัปดาห์ขึ้นไป) ถึงอายุ 21 ปี ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรค SMA ในโรงพยาบาลศิริราช และโรงพยาบาลเครือข่ายในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั่วประเทศ ซึ่งได้ส่งตัวอย่างเลือดมาตรวจยังโรงพยาบาลศิริราช โดยใช้วิธี dried blood spot และยืนยันผลการตรวจด้วยวิธี MLPA

**ผลการศึกษา:** มีผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 50 ราย (เพศชาย 21 ราย และเพศหญิง 29 ราย) พบผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรค SMA ด้วยวิธี dried blood spot จำนวน 8 ราย ในจำนวนนี้ทั้ง 8 รายได้รับการยืนยันการวินิจฉัยด้วย MLPA และผลปรากฏว่าแสดงผลบวกเช่นเดียวกัน ค่ากลางของเวลานับจากวิเคราะห์ผลถึงรายงานผลการวินิจฉัยโรคโดยวิธี dried blood spot คือ 2 วัน (พิสัย 1–30 วัน) ขณะที่วิธี MLPA อยู่ที่ 14 วัน (พิสัย 1–20 วัน) (p value 0.001) การตรวจด้วย dried blood spot พบชนิดของ SMA ได้แก่ ชนิดที่ 1 จำนวน 3 ราย ชนิดที่ 2 จำนวน 4 ราย และชนิดที่ 3 จำนวน 1 ราย

**สรุป:** การตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นด้วยวิธี dried blood spot ใช้ระยะเวลาสั้นกว่าวิธี MLPA จึงอาจเป็นทางเลือกที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพการวินิจฉัยและเร่งรัดการเข้าถึงการรักษา

**คำสำคัญ:** โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA, การตรวจวินิจฉัยโรคขั้นต้น, dried blood spot, Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA)

## บทนำ

โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง (Spinal Muscular Dystrophy: SMA) เป็นหนึ่งในโรคหายากที่พบในเด็ก มีลักษณะการถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์แบบยีนด้อย (autosomal recessive) โดยมีอุบัติการณ์ประมาณ 1:10,000 ของประชากร สาเหตุของโรคเกิดจากการเสื่อมของเซลล์ประสาทสั่งการบริเวณ anterior horn cell ในไขสันหลัง ส่งผลให้ผู้ป่วยมีภาวะอ่อนแรงของกล้ามเนื้อมัดใหญ่และการเคลื่อนไหวผิดปกติ โรค SMA สามารถจำแนกตามความรุนแรงออกเป็น 4 ชนิด (SMA Type 0-4) ตามอายุที่เริ่มแสดงอาการและระดับความสามารถในการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ ได้แก่<sup>1</sup>

- SMA type 0: พบได้น้อยมาก ผู้ป่วยจะมีอาการรุนแรงตั้งแต่แรกเกิด เช่น ภาวะแขนขาอัมพาต (arthrogryposis multiplex congenital) และการหายใจล้มเหลวแต่แรก
- SMA type 1: เริ่มแสดงอาการเมื่ออายุ 2-6 เดือน ผู้ป่วยไม่สามารถนั่งได้โดยลำพัง และมักมีชีวิตรอดได้ไม่เกินอายุ 2 ปี เนื่องจากการหายใจล้มเหลวและจำเป็นต้องใช้เครื่องช่วยหายใจถาวรโดยเฉลี่ยที่อายุ 13.5 เดือน
- SMA type 2: เริ่มแสดงอาการเมื่ออายุ 6-18 เดือน ผู้ป่วยสามารถนั่งได้แต่ไม่สามารถเดินเองได้ มักมีปัญหาด้านการกลืน การหายใจ และภาวะกระดูกสันหลังคดร่วมด้วย
- SMA type 3: เริ่มแสดงอาการเมื่ออายุ 18 เดือน ถึง 2 ปี ผู้ป่วยจะมีความผิดปกติในการเดิน และเมื่อโรครุนแรงขึ้นจะไม่สามารถเดินได้ในที่สุด อย่างไรก็ตาม กลุ่มนี้มักมีอายุขัยใกล้เคียงปกติ
- SMA type 4: เริ่มมีอาการในวัยผู้ใหญ่ มักอ่อนแรงเพียงเล็กน้อย และมีอายุขัยปกติ

SMA ชนิดที่ 0 และ 4 พบน้อยมาก ประมาณร้อยละ 2 ในขณะที่ชนิดที่ 1, 2 และ 3 พบได้บ่อยกว่าและมีความรุนแรงแตกต่างกันไป

หากไม่ได้รับการรักษาหรือได้รับการรักษาล่าช้าจะทำให้เกิดภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรงรุนแรงมากขึ้นและสูญเสียการควบคุมกล้ามเนื้อส่วนต่าง ๆ นำมาซึ่งภาวะแทรกซ้อน ได้แก่ ปัญหาด้านการกลืน และการหายใจ และเป็นสาเหตุของการเสียชีวิต

ในปัจจุบัน นอกจากการรักษาตามอาการ (supportive care) แล้ว ยังมีการรักษาที่ตรงจุดด้วยยีนบำบัด (gene replacement therapy)<sup>2</sup> ได้แก่ onasemnogene abeparvovec-xioi และการใช้ยาที่ปรับการทำงานของยีน (gene modifying therapy) ได้แก่ nusinersen และ risdiplam ซึ่งผ่านการอนุมัติจากองค์การอาหารและยา สหรัฐอเมริกา (US FDA) และสหภาพยุโรป (EU) แล้ว ยา onasemnogene abeparvovec-xioi, nusinersen และ risdiplam ล้วนแสดงประสิทธิภาพที่ดี หากผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยและรักษาตั้งแต่ระยะแรก และดีขึ้นเมื่อให้การรักษาก่อนมีอาการ<sup>3</sup> การรักษาด้วย onasemnogene abeparvovec-xioi ใน SMA ชนิดที่ 1 ก่อนอายุ 6 เดือน สามารถเพิ่มอัตราการอยู่รอดโดยไม่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจถาวรได้ถึงร้อยละ 91-97 อายุ 14-18 เดือน ส่วน

ผู้ป่วยที่ได้รับ risdiplam มีร้อยละ 84 ที่ไม่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจถาวร และร้อยละ 91 ยังมีชีวิตรอดที่อายุ 36 เดือน<sup>4</sup> การศึกษาประสิทธิผลของ risdiplam ใน SMA ชนิดที่ 2 และ 3 ยังพบว่าการเพิ่มขึ้นของคะแนน Motor Function Measurement 32 Items (MFM32) ซึ่งบ่งบอกถึงความแข็งแรงและพัฒนาการที่ดีขึ้น อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับยาหลอก<sup>5</sup> ในประเทศไทย risdiplam ได้ขึ้นทะเบียนยาเมื่อวันที่ 2 มิถุนายน พ.ศ. 2564 และ onasemnogene abeparvovec-xioi ขึ้นทะเบียนเมื่อวันที่ 31 มีนาคม พ.ศ. 2566 ทั้งสองชนิดกำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อบรรจุในบัญชียาหลักแห่งชาติและ/หรือสามารถเบิกจ่ายได้จาก สปสช. ในอนาคต<sup>6</sup>

อย่างไรก็ดี การวินิจฉัย SMA ในประเทศไทยยังเป็นไปอย่างล่าช้า เนื่องจากไม่มีระบบคัดกรองโรคในทารกแรกเกิด (newborn screening)<sup>7-12</sup> ทำให้ต้องรอนกว่าผู้ป่วยจะแสดงอาการจึงเริ่มคิดถึงโรค การวินิจฉัยโรค SMA คือการส่งตรวจ SMN gene ด้วยวิธี Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) สามารถวิเคราะห์การขาดหายไปของยีน SMN1 ที่ตำแหน่ง exon 7 และ/หรือ exon 8 วิเคราะห์ gene dosage analysis ที่ตำแหน่ง exon 7 ของยีน SMN1 และ SMN2 ซึ่งสามารถตรวจการกลายพันธุ์ของยีน SMN1 และสามารถบอกจำนวน copy number ของยีน SMN2 ได้<sup>13</sup> จะช่วยในการพยากรณ์ความรุนแรงของโรคและใช้ประกอบการพิจารณาให้ยารักษา อย่างไรก็ตาม การตรวจ MLPA มีค่าใช้จ่ายสูง (3,000–5,000 บาท) ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน แม้ว่าจะครอบคลุมโดยระบบประกันสุขภาพอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีสถานที่ทำอยู่เพียงไม่กี่ที่ ข้อมูลของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2565 ระบุว่าอายุเฉลี่ยที่ได้รับการวินิจฉัยของ SMA ชนิดที่ 1 คือ 6 เดือน ชนิดที่ 2 คือ 2.5 ปี และชนิดที่ 3 คือ 9.3 ปี การวินิจฉัยที่ล่าช้าทำให้การรักษาเริ่มต้นไม่ทันการณ์ ส่งผลให้ผลลัพธ์ในการรักษาไม่ดีเท่าที่ควร<sup>14</sup>

เพื่อแก้ไขปัญหานี้ การศึกษาครั้งนี้มุ่งพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคขึ้นต้นในผู้ป่วยเด็กกลุ่มเสี่ยงสูงต่อการเป็น SMA ครอบคลุมช่วงอายุตั้งแต่ทารกแรกเกิด (อายุครรภ์ตั้งแต่ 34 สัปดาห์ขึ้นไป ถึง 6 เดือน) เด็กเล็ก (อายุ 6–18 เดือน) จนถึงเด็กโต (อายุ 18 เดือน ถึง 21 ปี) โดยเน้นผู้ป่วยที่มีอาการเข้าข่าย SMA ชนิดที่ 1, 2 หรือ 3 หรือมีพี่น้องที่ได้รับการวินิจฉัยเป็น SMA การตรวจแบบ dried blood spot ด้วยวิธี PCR-based method มีความไวร้อยละ 95 และความจำเพาะร้อยละ 100<sup>15</sup> ใช้เวลาน้อยกว่าและราคาถูกกว่าวิธี MLPA การตรวจที่รวดเร็วและเข้าถึงได้ง่ายนี้จะช่วยให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยและการรักษาในระยะเริ่มต้นได้อย่างทัน่วงที ซึ่งจะส่งผลให้ผลลัพธ์ในการรักษาดีขึ้นอย่างเป็นรูปธรรม ทั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความจำเป็นในการพัฒนาการวินิจฉัยเบื้องต้นและการเริ่มรักษาอย่างรวดเร็วในผู้ป่วย SMA ในประเทศไทย

## วัตถุประสงค์

### วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อรายงานระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยขึ้นต้นโรค SMA โดยวิธี dried blood spot และวิธี MLPA ในผู้ป่วยเด็กอายุครรภ์แรกเกิดตั้งแต่ 34 สัปดาห์ ถึงอายุ 21 ปี ที่มีความเสี่ยงสูงในการเป็นโรค SMA ใน

โรงพยาบาลศิริราช และโรงพยาบาลเครือข่ายในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั่วประเทศไทย ที่ส่งตัวอย่างเลือดมาตรวจยังโรงพยาบาลศิริราช

### วัตถุประสงค์รอง

เพื่อศึกษาความชุกและลักษณะอาการแสดงของโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA แต่ละชนิด ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโดยวิธี dried blood spot

### วิธีการศึกษา

เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) เก็บข้อมูลจากผู้ป่วยเด็กในแผนกผู้ป่วยนอก ผู้ป่วยใน หอผู้ป่วยเด็ก และหอผู้ป่วยเด็กแรกเกิด ของโรงพยาบาลศิริราช รวมถึงโรงพยาบาลในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั่วประเทศไทยที่ส่งตัวอย่างเลือดมาตรวจยังโรงพยาบาลศิริราช ตั้งแต่วันที่ 14 มิถุนายน พ.ศ. 2566 ถึง 27 พฤศจิกายน พ.ศ. 2567 โดยกำหนดเกณฑ์คัดเข้าคือ ผู้ป่วยเด็กที่อยู่ในเกณฑ์ความเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีอาการสอดคล้องกับ SMA ชนิดที่ 1, 2 หรือ 3 ตามช่วงอายุที่กำหนด ผู้ป่วยที่มีประวัติคนในครอบครัวได้รับการวินิจฉัยเป็นโรค SMA หรือผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยว่าอาจเป็นโรค SMA ที่ยินยอมเข้ารับการตรวจ dried blood spot และ ยืนยันการตรวจเมื่อผลเป็นโรค SMA ด้วยวิธี MLPA โดยมีเกณฑ์คัดออกได้แก่ ทารกที่มีความพิการแต่กำเนิด (congenital malformation/anomaly, genetic syndrome) ซึ่งแพทย์พิจารณาแล้วว่าจะส่งผลกระทบต่อระบบประสาทและอธิบายอาการ hypotonia, weakness ได้อย่างชัดเจน หรือผู้ป่วยที่ทราบสาเหตุชัดเจนของภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรงอยู่แล้ว จึงไม่เข้าเกณฑ์การคัดกรองเพื่อวินิจฉัย SMA

การคำนวณกลุ่มตัวอย่าง อ้างอิงจากงานวิจัยของ Prior et al. (2010)<sup>16</sup> ซึ่งรายงานอัตราการเกิดโรค SMA ในทารกแรกเกิดประมาณ 1 ใน 6,000 ราย และอัตราการตรวจพบด้วยวิธี PCR-based method เท่ากับ 0.017 (p value 0.017) ภายใต้ระดับความเชื่อมั่น 95% (ค่า alpha = 0.05 แบบสองทาง) เมื่อนำค่าดังกล่าวมาคำนวณเพื่อหาขนาดตัวอย่างในกรณีเป็นเหตุการณ์ที่พบได้น้อย (rare event) พบว่าต้องมีขนาดตัวอย่างอย่างน้อย 175 ราย เพื่อให้ได้ค่าประมาณที่เพียงพอสำหรับกลุ่มผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรค SMA ในสถานพยาบาลตามเกณฑ์ที่กำหนด

### วิธีเก็บข้อมูลและวัดผล

ผู้วิจัยลงทะเบียนงานวิจัยในฐานข้อมูลสาธารณะ <https://www.thaiclinicaltrials.org/> ได้รับการรับรองวันที่ 25 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2568 หมายเลขลงทะเบียน TCTR20250225003 คณะผู้วิจัยทำการคัดเลือกผู้ป่วยเด็กกลุ่มเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง (SMA) แบ่งตามอายุออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

- 1) ทารกแรกเกิด (อายุครรภ์ตั้งแต่ 34 สัปดาห์ขึ้นไป) ถึงอายุ 6 เดือน ที่มีอาการหรืออาการแสดงอย่างน้อยหนึ่งข้อจากต่อไปนี้
  - a. ภาวะตัวอ่อนปวกเปียก (hypotonia)
  - b. อ่อนแรง (weakness)
  - c. ภาวะ (floppy infant)
  - d. การตอบสนองของรีเฟล็กซ์ลดลง (areflexia)
  - e. พัฒนาการด้านกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า (gross motor delay)
- 2) ผู้ป่วยเด็กอายุ 6 เดือน ถึง 18 เดือน ที่มีอาการหรืออาการแสดงอย่างน้อยหนึ่งข้อจากต่อไปนี้
  - a. ไม่สามารถยืนหรือเดินได้เมื่ออายุ 12 เดือน
  - b. อ่อนแรง (weakness)
  - c. การตอบสนองของรีเฟล็กซ์ลดลง (areflexia)
  - d. พัฒนาการด้านกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า (gross motor delay)
- 3) ผู้ป่วยเด็กอายุ 18 เดือน ถึง 21 ปี ที่มีอาการหรืออาการแสดงอย่างน้อยหนึ่งข้อจากต่อไปนี้
  - a. เดินลำบากหรือท่าเดินผิดปกติ (difficulty walking / abnormal gait)
  - b. ล้มบ่อย (frequently falling)
  - c. อ่อนแรง (weakness)
  - d. การตอบสนองของรีเฟล็กซ์ลดลง (areflexia)
  - e. พัฒนาการด้านกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า (gross motor delay)

นอกจากนี้ ผู้ป่วยที่มีประวัติคนในครอบครัวได้รับการวินิจฉัยโรค SMA หรือแพทย์สงสัยว่าอาจเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA ก็เข้าข่ายตามเกณฑ์คัดเข้าเช่นกัน ผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวซึ่งเข้ารับการตรวจในแผนกผู้ป่วยนอก ผู้ป่วยใน หอผู้ป่วยเด็ก หรือหอผู้ป่วยเด็กแรกเกิด โรงพยาบาลศิริราช หรือโรงพยาบาลในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั่วประเทศที่ส่งเลือดมาตรวจยังโรงพยาบาลศิริราช จะได้รับการเชิญชวนเพื่อเข้าร่วมการวิจัย พร้อมอธิบายรายละเอียดแก่ผู้ป่วยหรือผู้ปกครอง และขอความยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย (informed consent) หากเป็นการคัดเลือกนอกโรงพยาบาลศิริราช จะมีผู้ร่วมวิจัยประจำสถาบันนั้น ๆ เป็นผู้ดำเนินการขอความยินยอม โดยใช้เกณฑ์การคัดเลือกเดียวกัน

หลังจากผู้ป่วยหรือผู้ปกครองให้ความยินยอมและลงนามเข้าร่วมวิจัย ผู้วิจัยจะทำการบันทึกข้อมูลพื้นฐาน ดังนี้ เพศ วันเดือนปีเกิด และอายุของผู้ป่วย อายุครรภ์เมื่อแรกเกิด ประวัติสมาชิกในครอบครัวที่เคยได้รับการวินิจฉัยเป็น SMA อายุที่ผู้ป่วยเริ่มแสดงอาการ อาการแสดงตามเกณฑ์ที่กำหนดในแต่ละช่วงอายุ การวินิจฉัยเบื้องต้น ผู้ป่วยจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 1–2 ซีซี แล้วหยดลงบนกระดาษกรองสำหรับทำ DBS โดย

DBS ที่เก็บได้จะถูกส่งไปยังศูนย์รักษาผู้มีบุตรยากเจตนิ และส่งเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหา SMA ด้วยชุดน้ำยา TaqMan™ SCID/SMA Plus Assay ของบริษัท ThermoFisher โดยใช้เทคนิค Real-Time PCR ด้วยเครื่อง QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System ตัวอย่างจะถูกเข้ารหัส (running number) โดยไม่ระบุชื่อ-นามสกุลของผู้ป่วยเพื่อรักษาความเป็นส่วนตัว ศูนย์รักษาผู้มีบุตรยากเจตนิจะวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม QuantStudio Software และรายงานผลผ่านโปรแกรม OneDrive ในวันจันทร์ของสัปดาห์ถัดไป หากผลการตรวจ DBS ผิดปกติ ผู้ช่วยวิจัยหรือผู้วิจัยจะติดต่อผู้ปกครองของผู้ป่วยเพื่อนัดหมายการเจาะเลือดเพื่อยืนยันการวินิจฉัยด้วยวิธี Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) อีกครั้ง สำหรับผู้ป่วยที่เก็บตัวอย่างนอกโรงพยาบาลศิริราช สถาบันที่เข้าร่วมโครงการ จะเป็นผู้ติดตามและดำเนินการเจาะเลือด รวมถึงส่งตรวจยืนยันการวินิจฉัย หากผู้ป่วยได้รับการยืนยันว่าเป็น SMA ผู้วิจัยจะแจ้งผลการวินิจฉัยแก่ผู้ปกครองในวันนัดตรวจ ติดตามตามรอบที่กำหนด พร้อมให้คำแนะนำทางพันธุศาสตร์ (genetic counseling) และแนวทางในการดูแลรักษาต่อไป

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล หมายเลข COA: Si 468/2023

### สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์

ข้อมูลเชิงปริมาณ ใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) นำเสนอเป็นค่ากลาง (median), ค่าสูงสุด (max) และค่าต่ำสุด (min) ข้อมูลเชิงกลุ่มนำเสนอเป็นจำนวน (number) และ ร้อยละ (percent), ความชุก (prevalence) และ 95% CI และใช้สถิติเชิงอนุมาน (inferential statistics) Mann-Whitney U test เพื่อแสดงระยะเวลาที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคโดยวิธี dried blood spot และ MLPA โดยกำหนดให้มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ p value น้อยกว่า 0.05 ทำการวิเคราะห์ผลการวิจัยโดยใช้โปรแกรม SPSS version 20.0 (Statistical Package for Social Science)

### ผลการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงชนิด SMA จำนวน 50 ราย อายุค่ากลางที่เริ่มแสดงอาการคือ 1 ปี 4 เดือน (0-15 ปี) อายุค่ากลางที่มาพบแพทย์คือ 6 เดือน (0-11 ปี) ส่วนใหญ่ได้รับการวินิจฉัยจากโรงพยาบาลในภาคกลาง และมีเพียง 1 รายที่มีประวัติครอบครัวเกี่ยวข้องกับโรคนี้ ลักษณะอาการแสดงของผู้ป่วยแตกต่างกันตามช่วงอายุ กลุ่มที่อายุน้อยที่สุด ทารกแรกเกิดอายุครรภ์ 34 สัปดาห์ถึงอายุ 6 เดือน จะปรากฏอาการที่สอดคล้องกับ SMA ชนิดที่ 1 มักมีภาวะกล้ามเนื้อตึงตัวลดลง ภาวะการตอบสนองของรีเฟลกซ์ลดลงหรือหายไป และ อาการอ่อนปวกเปียก ช่วงอายุ 6-18 เดือนจะปรากฏอาการที่สอดคล้องกับ SMA ชนิดที่ 2 ได้แก่ พัฒนาการกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า กล้ามเนื้อตึงตัวลดลง และภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรง ในขณะที่

เด็กโตและวัยรุ่น ช่วงอายุ 18 เดือน ถึง 21 ปี จะปรากฏอาการที่สอดคล้องกับ SMA ชนิดที่ 3 พบอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง เดินลำบาก และล้มบ่อย ตลอดจนปัญหาการพัฒนากายและการเคลื่อนไหวที่ซับซ้อนยิ่งขึ้น (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงสูงในการเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA

| ข้อมูล                                                     | จำนวน (ร้อยละ) |
|------------------------------------------------------------|----------------|
| เพศ                                                        |                |
| ชาย                                                        | 21 (42)        |
| หญิง                                                       | 29 (58)        |
| โรงพยาบาลที่ได้รับการวินิจฉัย                              |                |
| โรงพยาบาลในภาคกลาง                                         | 44 (88)        |
| โรงพยาบาลในภาคใต้                                          | 4 (8)          |
| โรงพยาบาลในภาคเหนือ                                        | 1 (2)          |
| โรงพยาบาลในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ                           | 1 (2)          |
| ช่วงอายุ                                                   |                |
| ทารกแรกเกิดอายุครรภ์ 34 สัปดาห์ขึ้นไป ถึงอายุ 6 เดือน      | 15 (30)        |
| อายุ 6 เดือน ถึง 18 เดือน                                  | 12 (24)        |
| อายุ 18 เดือน ถึง 21 ปี                                    | 23 (46)        |
| อาการแสดงแยกตามช่วงอายุ                                    |                |
| ทารกแรกเกิดอายุครรภ์ 34 สัปดาห์ขึ้นไป ถึงอายุ 6 เดือน      |                |
| ความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง (hypotonia)                    | 13 (87)        |
| ภาวะการตอบสนองของรีเฟล็กซ์ลดลงหรือหายไป (areflexia)        | 4 (26.7)       |
| ภาวะตัวอ่อนปวกเปียก (floppy infant)                        | 3 (20)         |
| กล้ามเนื้ออ่อนแรง (muscle weakness)                        | 2 (13)         |
| ภาวะพัฒนาการของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า (gross motor delay) | 1 (6.6)        |
| เด็กเล็กอายุ 6 เดือน ถึง 18 เดือน                          |                |
| ภาวะพัฒนาการของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า                     | 9 (75)         |
| ความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง                                | 9 (75)         |
| กล้ามเนื้ออ่อนแรง                                          | 4 (33.3)       |
| ภาวะการตอบสนองของรีเฟล็กซ์ลดลง                             | 3 (25)         |
| หรือหายไป                                                  |                |

| ข้อมูล                                      | จำนวน (ร้อยละ) |
|---------------------------------------------|----------------|
| เด็กอายุ 18 เดือน ถึง 21 ปี                 |                |
| กล้ามเนื้ออ่อนแรง                           | 16 (69.5)      |
| ภาวะพัฒนาการของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า      | 16 (69.5)      |
| เดินลำบาก                                   | 13 (56.5)      |
| ความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง                 | 12 (52.2)      |
| ลัมบ์                                       | 4 (17.4)       |
| ภาวะการตอบสนองของรีเฟล็กซ์ลดลง              | 4 (17.4)       |
| หรือหายไป                                   |                |
| ไม่สามารถกลืนอาหารประจำวันได้               | 1 (4.3)        |
| ความทนทานของกล้ามเนื้อต่อการออกกำลังกายลดลง | 1 (4.3)        |
| หนังตาตก                                    | 1 (4.3)        |

ระยะเวลาที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA โดยวิธี dried blood spot และวิธี MLPA

ตารางที่ 2 แสดงเวลาที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA โดยพบว่าในการวินิจฉัยโดยใช้ dried blood spot ผู้ป่วยมีค่ากลางของอายุที่แสดงอาการอยู่ที่ 6 เดือน และใช้เวลาตั้งแต่มีอาการถึงได้รับการเจาะเลือดอยู่ที่ 3 เดือน ขณะที่วิธี MLPA มีอายุที่แสดงอาการ 4.5 เดือน และ ใช้เวลา 10 เดือนถึงได้รับการเจาะเลือดจากการวิเคราะห์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value 0.974) ค่ากลางของเวลาระยะเวลาตั้งแต่ได้รับการเจาะเลือดถึงรายงานผลของวิธี dried blood spot และ MLPA เท่ากับ 7 และ 20 วันตามลำดับ และเวลานับจากวิเคราะห์ผลถึงรายงานผลการวินิจฉัยโรค 2 วัน โดยมีระยะเวลาดำสุด 1 วัน และเวลาสูงสุด 30 วัน ขณะที่วิธี MLPA ใช้เวลา 14 วัน โดยมีระยะเวลาดำสุด 1 วัน และเวลาสูงสุด 20 วัน จึงพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value 0.001)

**ตารางที่ 2** ระยะเวลาที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA โดยวิธี dried blood spot และวิธี MLPA

| ข้อมูล                                                  | Dried blood spot | MLPA          | p value |
|---------------------------------------------------------|------------------|---------------|---------|
| อายุที่แสดงอาการ (เดือน)                                | 6 (0-146)        | 4.5 (0.25-24) | 0.974   |
| ระยะเวลาตั้งแต่มีอาการถึง<br>ได้รับการเจาะเลือด (เดือน) | 3 (0-168)        | 10 (0.17-69)  | 0.330   |
| ระยะเวลาตั้งแต่ได้รับการ<br>เจาะเลือดถึงรายงานผล (วัน)  | 7 (1-40)         | 17 (4-88)     | 0.390   |
| ระยะเวลาตั้งแต่วิเคราะห์ผลถึง<br>รายงานผล (วัน)         | 2 (1-30)         | 14 (11-20)    | 0.001   |

Mann Whitney U Test

จากการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงสูงในการเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA พบว่าได้รับการวินิจฉัยเป็นโรค SMA 8 ราย (ร้อยละ 16) ทั้ง 8 รายได้รับการส่ง MLPA เพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรค และทั้งหมดมีผลการตรวจ MLPA พบว่าเป็นโรค (ร้อยละ 100) โดยที่เริ่มมีอาการแสดงอยู่ในช่วงทารกอายุครรภ์แรกเกิด ถึงอายุ 6 เดือนมากที่สุด

ผู้ป่วยที่ได้รับการยืนยันการวินิจฉัยโรค โดยวิธี MLPA พบว่า มีผู้ป่วยเป็นโรค SMA ชนิดที่ 1 3 ราย (ร้อยละ 37.5) โดยทั้ง 3 รายมีอาการความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง กล้ามเนื้ออ่อนแรง และภาวะการตอบสนองของรีเฟลกซ์ลดลงหรือหายไป และมีผู้ป่วย 2 ราย มีอาการภาวะตัวอ่อนปวกเปียก และ 1 รายมีภาวะพัฒนาการของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า โรค SMA ชนิดที่ 2 4 ราย (ร้อยละ 50) มีอาการแสดงดังนี้ กล้ามเนื้ออ่อนแรง 4 ราย ภาวะพัฒนาการของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ล่าช้า 3 ราย ความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลงและภาวะการตอบสนองของรีเฟลกซ์ลดลงหรือหายไป 2 ราย เดินลำบาก 1 ราย โรค SMA ชนิดที่ 3 1 ราย (ร้อยละ 12.5) มีอาการแสดงได้แก่ เดินลำบาก ล้มบ่อย และกล้ามเนื้ออ่อนแรง

**ตารางที่ 3** ความชุกของโรค SMA ที่ตรวจพบโดยวิธี dried blood spot

| ข้อมูล                                                          | จำนวน (ร้อยละ) |
|-----------------------------------------------------------------|----------------|
| ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรค SMA โดยวิธี dried blood spot | 8 (16)         |
| ผู้ป่วยที่ได้รับการส่ง MLPA เพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรค           | 8 (100)        |
| ช่วงอายุที่แสดงอาการ                                            |                |
| ทารกแรกเกิดถึงอายุ 6 เดือน                                      | 5 (62.5)       |
| อายุ 6 เดือน ถึง 18 เดือน                                       | 2 (25)         |
| อายุ 18 เดือน ถึง 21 ปี                                         | 1 (12.5)       |
| ช่วงอายุที่ได้รับวินิจฉัย                                       |                |
| ทารกแรกเกิดถึงอายุ 6 เดือน                                      | 3 (37.5)       |
| อายุ 6 เดือน ถึง 18 เดือน                                       | 2 (25)         |
| อายุ 18 เดือน ถึง 21 ปี                                         | 3 (37.5)       |
| ชนิดของโรค SMA ที่พบจากการวินิจฉัยโดยวิธี dried blood spot      |                |
| ชนิดที่ 1                                                       | 3 (37.5)       |
| ชนิดที่ 2                                                       | 4 (50)         |
| ชนิดที่ 3                                                       | 1 (12.5)       |

### อภิปรายผลการศึกษา

จากการศึกษาเพื่อตรวจวินิจฉัยขั้นต้นโรค SMA ในผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงสูง มีผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยโดยวิธี dried blood spot 50 ราย (ร้อยละ 28.6) ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค SMA โดยวิธี dried blood spot จำนวน 8 ราย (ร้อยละ 16) โดยทั้ง 8 ราย พบว่าทั้งหมดมีผลการตรวจ MLPA พบว่าเป็นโรค (ร้อยละ 100) ผลการศึกษาพบว่าในการตรวจวินิจฉัยโดยวิธี dried blood spot มี ค่ากลางของเวลาระยะเวลาดั้งแต่วิเคราะห์ผลถึงรายงานผล 2 วัน ขณะที่วิธี MLPA ใช้เวลา 14 วัน จึงพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value 0.001)

จากการศึกษาจึงสรุปได้ว่าการวินิจฉัยโรคโดยวิธี dried blood spot สามารถทำได้เร็วกว่าวิธี MLPA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการตรวจยืนยันการวินิจฉัยโดยวิธี MLPA พบว่าผู้ป่วยทุกคนที่ได้รับการตรวจยืนยันการวินิจฉัยพบว่าเป็นโรค SMA ร้อยละ 100 และการส่งตรวจโดยวิธี dried blood spot มีราคาถูก จึงสามารถใช้ในการวินิจฉัยขั้นต้นในผู้ป่วยที่สงสัยหรือมีความเสี่ยงในการเป็นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรง ความตึงตัวของกล้ามเนื้อลดลง ภาวะการตอบสนองของรีเฟลกซ์ลดลงหรือหายไป ภาวะ

พัฒนาการของกล้ามเนื้อใหญ่ เดินลำบาก และ ล้มบ่อย รวมถึงผู้ป่วยที่ต้องการคัดการวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA ออกเพื่อตรวจวินิจฉัยโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงชนิดอื่นๆ ต่อไป

ระยะเวลาอื่นๆ ได้แก่ ระยะเวลาตั้งแต่มีอาการถึงได้รับการเจาะเลือด และระยะเวลาตั้งแต่ได้รับการเจาะเลือดถึงรายงานผล พบว่าวิธี MLPA ใช้เวลานานกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุมาจากกลุ่มประชากรที่ศึกษามีจำนวนน้อยและมีระยะเวลาที่ใช้ต่างกันมากในผู้ป่วยแต่ละราย เนื่องด้วยข้อจำกัดของการเข้าถึงการวินิจฉัย และระยะเวลาที่ใช้ในการนำเลือดที่เจาะมาเข้ารับการตรวจวิเคราะห์ผลในโรงพยาบาลที่สามารถส่งตรวจ MLPA ได้ ซึ่งในอนาคตหาก MLPA ได้รับการอนุมัติการเบิกจ่ายด้วยระบบประกันสุขภาพและสามารถตรวจวิเคราะห์ผลได้อย่างแพร่หลาย หรือมีการใช้ dried blood spot ในการคัดกรองภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรงอาจทำให้ระยะเวลาในการวินิจฉัยโรคสั้นลงได้

ปัจจุบันนี้ยังไม่มีการใช้ dried blood spot เป็นมาตรฐานในการวินิจฉัยโรค SMA และไม่มีงานวิจัยที่นำเสนอการใช้ dried blood spot ในการวินิจฉัยโรค SMA เนื่องจากมีการคัดกรองโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA ในเด็กแรกเกิด (newborn screening) อย่างแพร่หลายในต่างประเทศ<sup>7-12</sup> และสามารถยืนยันการวินิจฉัยได้โดยการวิธี MLPA ซึ่งสามารถเบิกจ่ายได้โดยระบบประกันสุขภาพแห่งชาติและเข้าถึงได้ง่าย อย่างไรก็ตามในประเทศไทยไม่มีการคัดกรองโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA ในเด็กแรกเกิด และ MLPA มีราคาแพงและไม่ครอบคลุมในระบบประกันสุขภาพแห่งชาติ การใช้ dried blood spot จึงมีประโยชน์ในบริบทของประเทศไทยเพื่อช่วยลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการวินิจฉัยโรค SMA

อย่างไรก็ตามงานวิจัยฉบับนี้ยังพบว่ามีข้อจำกัดเรื่องจำนวนกลุ่มประชากรที่ศึกษามีจำนวนน้อย เนื่องจากพบว่าการส่งตรวจ dried blood spot เฉพาะในผู้ป่วยที่สงสัยโรค SMA ทำให้อาจไม่ครอบคลุมผู้ป่วยทุกรายที่มีความเสี่ยงสูง และขณะดำเนินงานวิจัย การตรวจวินิจฉัยโดยวิธี MLPA ได้รับการอนุมัติการเบิกจ่ายด้วยระบบประกันสุขภาพ จึงอาจทำให้การส่ง MLPA ทำได้ง่ายมากขึ้น นอกจากนี้ในการดำเนินงานวิจัยพบว่ายังมีความล่าช้าในการเจาะเลือดผู้ป่วยและการนำส่งตัวอย่างเลือดไปที่ห้องปฏิบัติการ และการวิเคราะห์ผล เนื่องจากต้องมีช่วงที่ตรงกับวันหยุดราชการ และในช่วงแรกอุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ผลยังไม่พร้อมใช้งานทำให้เกิดความล่าช้าในการรายงานผลการวินิจฉัยซึ่งอาจส่งผลเสียทำให้ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคได้รับการรักษาล่าช้ากว่าที่ควรจะเป็น

## บทสรุป

การวินิจฉัยโรคขั้นต้นโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA โดยใช้ dried blood spot เหมาะสำหรับในผู้ป่วยเด็กที่มีความเสี่ยงสูง หรือมีอาการที่เข้าได้กับโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง SMA หรือต้องการวินิจฉัยแยกจากโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงชนิดอื่น โดยสามารถใช้ได้ในโรงพยาบาลที่ไม่สามารถส่งตรวจ MLPA ได้ หรือในโรงพยาบาลที่ใช้เวลาในการตรวจวินิจฉัย MLPA นาน

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคุณคุณณภัทร มณีสวัสดิ์ คุณชนาภรณ์ เนตรสุวรรณ คุณชฎาภา พรหมขลิบนิล ผู้ช่วยเก็บข้อมูลงานวิจัย และกุมารแพทย์ประจำโรงพยาบาลในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั่วประเทศที่ช่วยคัดเลือกและเก็บข้อมูลผู้เข้าร่วมวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

1. Swoboda KJ, Prior TW, Scott CB, McNaught TP, Wride MC, Reyna SP, et al. Natural history of denervation in SMA: Relation to age, SMN2 copy number, and function. *Ann Neurol*. 2005;57:704-12.
2. Ramdas S, Servais L. New treatments in spinal muscular atrophy: An overview of currently available data. *Expert Opin Pharmacother*. 2020;21:307-15.
3. Govoni A, Gagliardi D, Comi GP, Corti S. Time is motor neuron: Therapeutic window and its correlation with pathogenetic mechanisms in spinal muscular atrophy. *Mol Neurobiol*. 2018;55:6307-18.
4. Baranello G, Darras BT, Day JW, Deconinck N, Klein A, Masson R, et al. Risdiplam in type 1 spinal muscular atrophy. *N Engl J Med*. 2021;384:915-23.
5. Mercuri E, Baranello G, Boespflug-Tanguy O, De Waele L, Goemans N, Kirschner J, et al. Risdiplam in types 2 and 3 spinal muscular atrophy: A randomised, placebo-controlled, dose-finding trial followed by 24 months of treatment. *Eur J Neurol*. 2023;30:1945-56.
6. National Statistical Office Thailand [Internet]. 2022 [cited 2022 Mar 3]. Available from: <http://nso.go.th>.
7. Chien YH, Chiang SC, Weng WC, Lee NC, Lin CJ, Hsieh WS, et al. Presymptomatic diagnosis of spinal muscular atrophy through newborn screening. *J Pediatr*. 2017;190:124-9.e1.
8. Boemer F, Caberg JH, Dideberg V, Dardenne D, Bours V, Hiligsmann M, et al. Newborn screening for SMA in Southern Belgium. *Neuromuscul Disord*. 2019;29:343-9.
9. Lin Y, Lin CH, Yin X, Zhu L, Yang J, Shen Y, et al. Newborn Screening for spinal muscular atrophy in China using DNA mass spectrometry. *Front Genet*. 2019;10:1255.

10. Shinohara M, Niba ETE, Wijaya YOS, Takayama I, Mitsuishi C, Kumasaka S, et al. A novel system for spinal muscular atrophy screening in newborns: Japanese pilot study. *Int J Neonatal Screen*. 2019;5:41.
11. Vill K, Kölbel H, Schwartz O, Blaschek A, Olgemöller B, Harms E, et al. One year of newborn screening for SMA - results of a german pilot project. *J Neuromuscul Dis*. 2019;6:503-15.
12. Czibere L, Burggraf S, Fleige T, Glück B, Keitel LM, Landt O, et al. High-throughput genetic newborn screening for spinal muscular atrophy by rapid nucleic acid extraction from dried blood spots and 384-well qPCR. *Eur J Hum Genet*. 2020;28:23-30.
13. Mailman MD, Heinz JW, Papp AC, Snyder PJ, Sedra MS, Wirth B, et al. Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med*. 2002;4:20-6.
14. Sakpichaisakul K, Katanyuwong K, Intusoma U, Paprad T, Suwanpakdee P, Khongkhatithum C, et al. Spinal muscular atrophy in an upper-middle-income nation before the advent of reimbursed disease-modifying therapies. *BMJ Paediatrics Open*. 2024;8:e002775.
15. de Souza Godinho FM, Bock H, Gheno TC, Saraiva-Pereira ML. Molecular analysis of spinal muscular atrophy: A genotyping protocol based on TaqMan(®) real-time PCR. *Genet Mol Biol*. 2012;35:955-9.
16. Prior TW, Snyder PJ, Rink BD, Pearl DK, Pyatt RE, Mihal DC, et al. Newborn and carrier screening for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet A*. 2010;152:1608-16.