



การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน เพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย

กุลนภา ฟูเจริญ

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินที่นิยมตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ ใช้หลักการของ high pressure liquid chromatography (HPLC), low pressure liquid chromatography (LPLC) หรือ capillary zone electrophoresis (CZE) โดยเครื่องจะทำการแยกฮีโมโกลบินชนิดต่างๆออกจากกันพร้อมกับวัดปริมาณฮีโมโกลบินแต่ละชนิดที่แยกได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ติดตั้งอยู่ภายในตัวเครื่อง แล้วรายงานผลออกมาเป็นภาพการแยกฮีโมโกลบินพร้อมปริมาณของฮีโมโกลบินที่ตรวจวัดได้เรียกว่า chromatogram หรือ electrophoregram จากนั้นผู้ปฏิบัติงานจะต้องทำหน้าที่แปลผลการตรวจเพื่อให้การวินิจฉัยธาลัสซีเมียเอง ซึ่งการแปลผลการตรวจนี้ ต้องอาศัยความรู้ความเข้าใจของผู้ปฏิบัติงานทั้งในส่วนของการการทำงานของเครื่องอัตโนมัติที่ใช้และองค์ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการเกิดโรคธาลัสซีเมียซึ่งเป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมของฮีโมโกลบินที่มีความหลากหลายและอุบัติการณ์สูงมากในประเทศไทย จึงจะสามารถให้การวินิจฉัยได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้การใช้ข้อมูลพื้นฐานของตัวอย่างเลือดที่ตรวจซึ่งประกอบด้วย อายุ อาการทางคลินิก ประวัติการรับเลือด และผลการตรวจคัดกรอง มาร่วมในการแปลผล จะช่วยให้การแปลผลมีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: ธาลัสซีเมีย, การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบิน, การแปลผล

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
e-mail: goonnapa@kku.ac.th

Interpretation of hemoglobin analysis for diagnosis of common thalassemia in Thailand

Goonnapa Fucharoen

Abstract

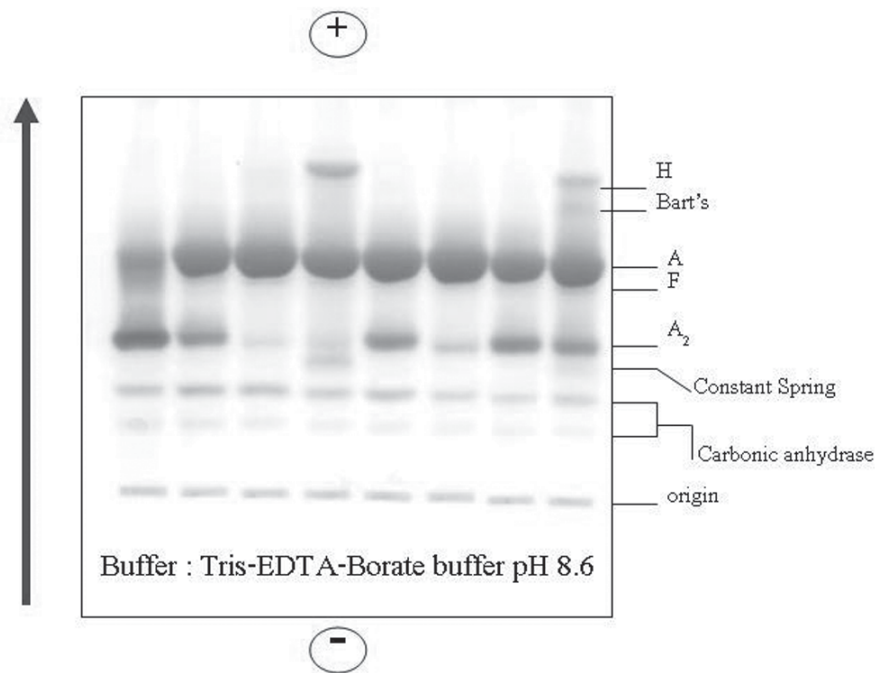
At present hemoglobin (Hb) analysis is mainly performed using automated hemoglobin analyzer based on either high pressure liquid chromatography (HPLC), low pressure liquid chromatography (LPLC) or capillary zone electrophoresis (CZE). These automated Hb analyzers separate each Hb and quantify its amount by built in spectrophotometric determination. Hb chromatogram or electrophoregram as well as the amount of each Hb are shown and could be printed. Interpretation of the result of Hb analysis is usually made by investigator who performs the test. Accurate interpretation and diagnosis require basic knowledge on both the principle of the machine used and the heterogeneity of thalassemia which is the most common inherited genetic disorder in Thailand. Using subject information including age, clinically signs and symptoms, history of blood transfusion and the result of initial screening test in this interpretation and diagnosis should help in providing more accurate interpretation and diagnosis of common forms of thalassemia.

Keywords: Thalassemia, Hemoglobin analysis, Interpretation

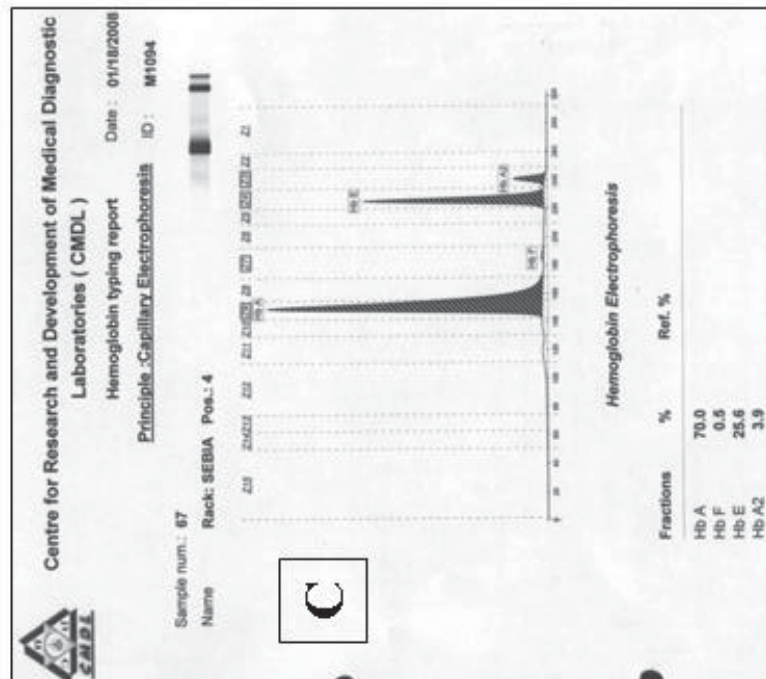
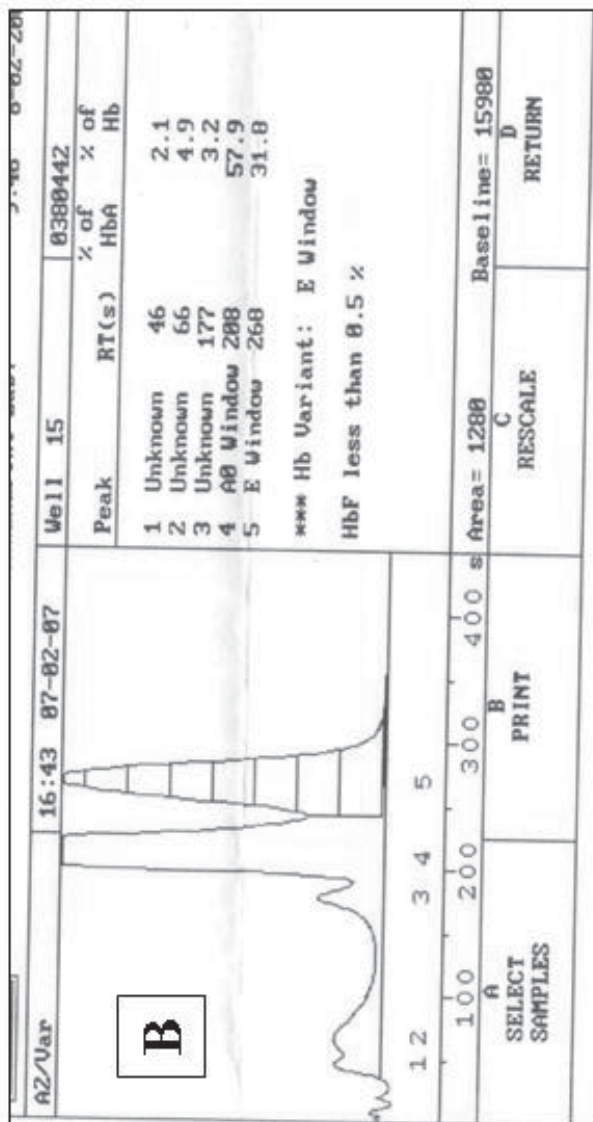
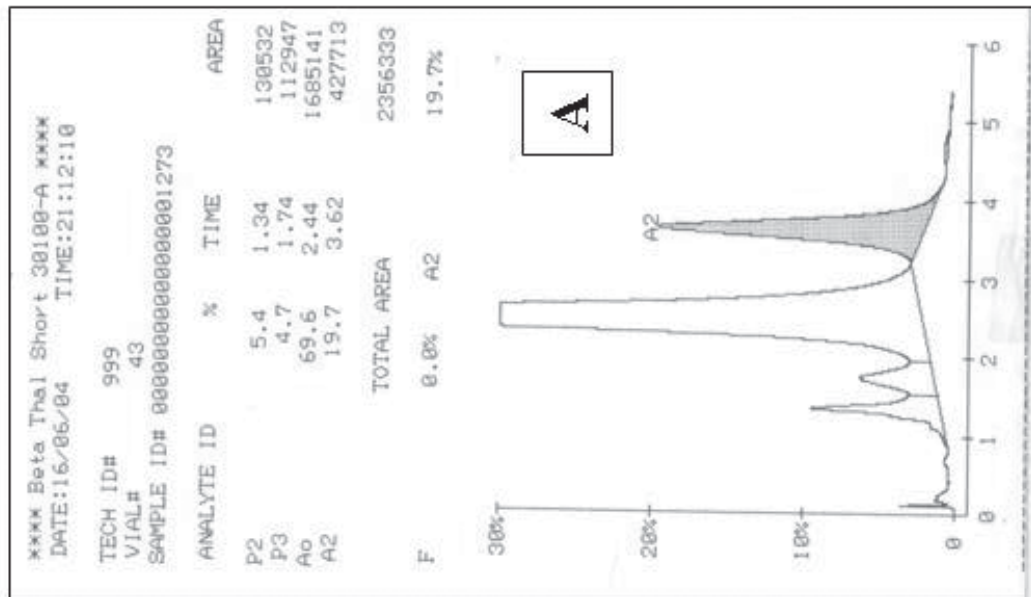
Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences,
Khon Kaen University
e-mail: goonnapa@kku.ac.th

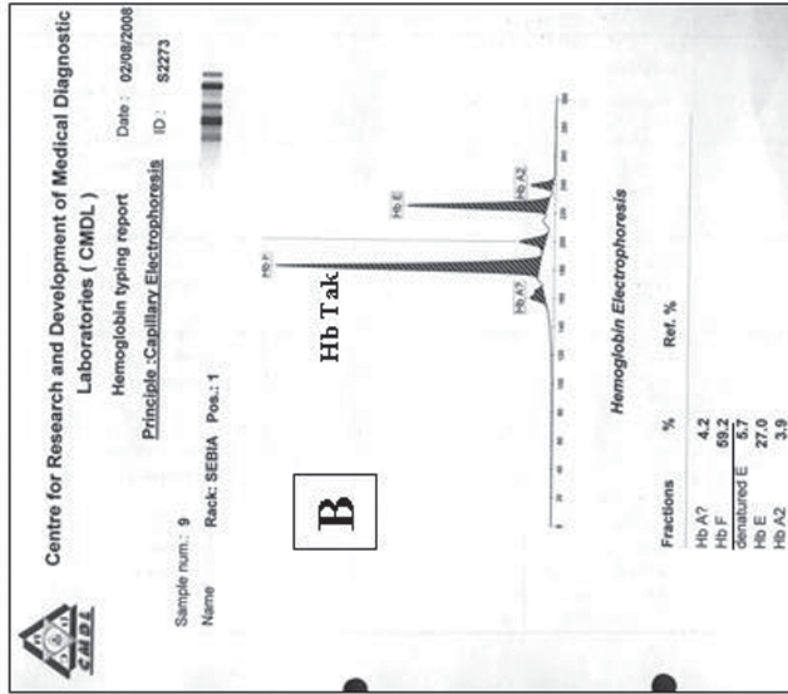
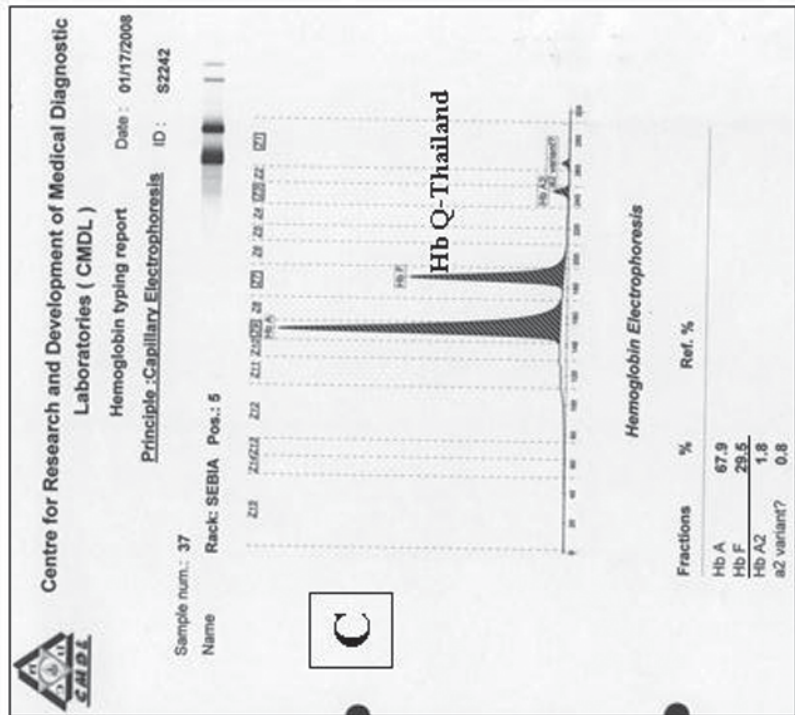
การตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินหรือที่นิยมเรียกว่าการตรวจหาชนิดฮีโมโกลบิน (Hb typing) เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมีย ประกอบด้วย การตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบิน การตรวจวัดปริมาณ Hb A₂ และการตรวจวัดปริมาณ Hb F เทคนิคดั้งเดิมที่ได้มาตรฐานประกอบด้วย การแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้าผ่านตัวกลางที่เป็นแป้ง (starch gel electrophoresis)⁽¹⁻³⁾ การตรวจวัดปริมาณ Hb A₂ ด้วยวิธีไมโครคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่ทำด้วยมือ (manual micro-column chromatography)⁽⁴⁻⁶⁾ และการตรวจวัดปริมาณ Hb F ด้วยวิธีทำลายฮีโมโกลบินด้วยด่าง (alkali denaturation test)⁽⁷⁾ การตรวจด้วยวิธี starch gel electrophoresis ที่ให้ผลการตรวจดีแต่มีข้อเสียที่ต้องทำการเตรียมแป้งให้เป็นเจลใหม่ทุกครั้งที่ทำ มีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ใช้เวลาในการเตรียมเจลและแยกด้วยกระแสไฟฟ้านาน จึงไม่ค่อยมีผู้นิยมใช้ และเปลี่ยนไปใช้แผ่นเซลลูโลสอะซีเตทมาเป็นตัวกลางแยกฮีโมโกลบินแทน (cellulose acetate electrophoresis)⁽⁸⁾ ทั้ง starch gel และ cellulose acetate electrophoresis เป็นการแยกฮีโมโกลบินในบัฟเฟอร์ที่เป็นด่าง (alkali buffer) ฮีโมโกลบินจึงเคลื่อนที่จากขั้วลบเข้าหาขั้วบวก ดังนั้น Hb A ซึ่งมีประจุลบมากกว่า Hb F และ Hb A₂

จึงเคลื่อนที่เข้าใกล้ขั้วบวกมากกว่า Hb F และ Hb A₂ โดยมีลำดับการเรียงตัวของฮีโมโกลบินที่พบบ่อยในประเทศไทย ดังแสดงใน **รูปที่ 1** การรายงานชนิดฮีโมโกลบินที่แยกได้ จึงเป็นการรายงานโดยเขียนเรียงลำดับจากขั้วลบไปยังขั้วบวก เช่น A₂A, EA, EFA, EABart's, Constant Spring A₂A Bart's H เป็นต้น โดยในผู้ที่มีอายุมากกว่า 1-2 ปี เมื่อสายปิตาโกลบิน (β-globin) มีการแสดงออกได้อย่างสมบูรณ์แล้ว จะมีฮีโมโกลบิน 3 ชนิดในกระแสเลือดของคนปกติ คือ Hb A (α₂β₂) ประมาณร้อยละ 96 Hb A₂ (α₂δ₂) ประมาณร้อยละ 3.5 และ Hb F (α₂γ₂) น้อยกว่าร้อยละ 1^(9,10) เมื่อนำไปทำการแยกชนิดด้วยกระแสไฟฟ้า Hb F ซึ่งมีปริมาณน้อยมากประกอบกับมีประจุลบน้อยกว่า Hb A เพียงเล็กน้อย แถบของ Hb F จึงอาจซ้อนอยู่กับ Hb A ได้ ในเลือดคนปกติเมื่อแยกด้วยกระแสไฟฟ้า จึงเห็นแถบของฮีโมโกลบินแยกกันอยู่ชัดเจน 2 แถบ คือ แถบของ Hb A₂ เป็นแถบบางอยู่ใกล้ขั้วลบ และ แถบของ Hb A ซึ่งเป็นแถบหนาอยู่ใกล้ขั้วบวก จึงรายงานผลว่า A₂A การตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้าดังกล่าวนี้ ไม่สามารถระบุปริมาณฮีโมโกลบินแต่ละชนิดได้อย่างถูกต้อง จึงจำเป็นต้องทำการตรวจวัดปริมาณ Hb A₂ และ Hb F ต่อไปด้วยวิธีอื่น เพื่อประเมินว่ามีปริมาณเป็นปกติด้วยหรือไม่ ทำให้มีขั้นตอนการตรวจที่ยุ่งยากเพิ่มขึ้น



รูปที่ 1 ภาพแสดงการแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่น cellulose acetate





รูปที่ 3 ภาพแสดงการรายงานผลที่พิมพ์ออกมาจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติระบุว่าเห็น Hb F แต่ผลการตรวจดีเอ็นเอ ไม่ใช่ Hb F
A : LPLC (Hb Hope) B: Capillary electrophoresis (Hb Tak)
C: Capillary electrophoresis (Hb Q-Thailand)

นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540 เป็นต้นมา ประเทศไทยได้มีการนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติที่สามารถแยกชนิดและตรวจวัดปริมาณของฮีโมโกลบินแต่ละชนิดได้พร้อมกัน โดยอาศัยหลักการ liquid chromatography ซึ่งมีทั้งแบบ high pressure liquid chromatography (HPLC)^(11,12) และ low pressure liquid chromatography (LPLC)⁽¹³⁾ และล่าสุดในปี พ.ศ. 2550 เป็นต้นมา มีการนำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติโดยใช้หลักการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าความต่างศักย์สูงในหลอดแก้วนำไฟฟ้าขนาดเล็ก (capillary electrophoresis)⁽¹⁴⁾ เข้ามาอีก ข้อดีของเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติเหล่านั้น คือ ความสะดวก รวดเร็ว ในการปฏิบัติงาน รวมทั้งค่าการตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ ที่แยกได้ มีความถูกต้องแม่นยำกว่าวิธีการทำด้วยมือ ขณะเดียวกันก็มีปัญหาที่ตามมาจากความหลากหลายของเทคโนโลยีที่ใช้ในการตรวจวัด แม้เครื่องมือจะเป็นเครื่องอัตโนมัติแต่ลักษณะการรายงานผลที่พิมพ์ออกมาจากเครื่องตามที่คุณเชี่ยวชาญของบริษัทต่างชาติจัดตั้งโปรแกรมไว้ นั่นซึ่งไม่ว่าจะเป็นลักษณะโครมาโตแกรม (chromatogram) จากเครื่อง liquid chromatography หรือ อิเล็กโตรโฟโรรแกรม (electrophoregram) จากเครื่อง capillary electrophoresis ดังแสดงตัวอย่างใน **รูปที่ 2** นั้น ในการรายงานผลและแปลผลยังต้องการผู้ชำนาญการในการอ่านและวิเคราะห์ผลที่ออกมาจากเครื่อง ซึ่งนอกจากจะต้องเป็นผู้ที่มีความรู้ความเข้าใจในหลักการของเครื่องเป็นอย่างดีแล้ว ยังต้องมีความรู้ความเข้าใจในเรื่องของธาลัสซีเมียซึ่งเป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมของฮีโมโกลบินที่มีความหลากหลายมากในประชากรไทยด้วย ในส่วนของค่าอ้างอิงของปริมาณฮีโมโกลบินหลักๆ ที่ต้องรายงานคือ Hb A₂, Hb E และ Hb F นั้น สำหรับเครื่อง HPLC กับ LPLC ซึ่งใช้หลักการของ liquid chromatography เหมือนกัน ลักษณะโครมาโตแกรมที่ปรากฏ มีความคล้ายคลึงกัน สามารถเทียบเคียงค่าอ้างอิงด้วยกันได้ แต่สำหรับเครื่อง capillary electrophoresis ซึ่งใช้หลักการต่างออกไป ลำดับชนิดฮีโมโกลบินที่แยกออกมาบนอิเล็กโตรโฟโรรแกรม จะแตกต่างจากโครมาโตแกรมของเครื่อง HPLC/LPLC แต่จะไปคล้ายกับลำดับของฮีโมโกลบินที่แยกได้จากการทำ starch gel และ cellulose acetate electrophoresis โดยมีศักยภาพที่เหนือกว่า คือ สามารถแยก Hb A₂ และ Hb E ออกจากกันได้ ดังนั้นค่าอ้างอิงของปริมาณ Hb E จึงไม่สามารถเทียบเคียง

กับค่าที่ตรวจวัดได้จากเครื่อง HPLC และ LPLC ได้ เนื่องจากค่าที่ตรวจวัดได้ในกรณีของเครื่อง HPLC และ LPLC จะรวมเอาปริมาณ Hb A₂ ซึ่งไม่แยกออกจาก Hb E ไว้ด้วย หากการแปลผลที่ได้จากเครื่อง capillary electrophoresis จะใช้เกณฑ์เดียวกับเครื่อง HPLC/LPLC ในกรณีของ Hb E ผู้แปลผลจะต้องรวมเอาปริมาณ Hb A₂ ไว้กับ Hb E ด้วย ในบทความนี้จะอธิบายการแปลผลการตรวจจากชนิดของฮีโมโกลบินที่ตรวจพบเพื่อใช้ในการวินิจฉัยธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทยเป็นหลัก การมีความรู้ความเข้าใจในการแปลผลการตรวจจะช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถรายงานผลและใช้ผลการตรวจเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียได้อย่างถูกต้องมากขึ้น ดังนี้

1. **A₂A** เป็นชนิดฮีโมโกลบินที่พบในคนปกติที่มีอายุมากกว่า 1 ปีขึ้นไป รวมทั้งผู้ที่ เป็นพาหะอัลฟาและบีตาธาลัสซีเมีย โดยผู้ที่ เป็นพาหะบีตาธาลัสซีเมีย จะพบปริมาณ Hb A₂ สูงอยู่ในช่วงร้อยละ 4.0 - 7.5^(15,16) (เลือดเก่าไม่เกิน 1 สัปดาห์) แต่ถ้าเป็นพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย ปริมาณ Hb A₂ จะอยู่ในเกณฑ์ปกติ คือ น้อยกว่าร้อยละ 4.0 โดยผู้ที่ เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดที่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคชนิดรุนแรง คือ บีตาศูนย์ธาลัสซีเมีย หรือ อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 มักจะมีค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง ได้แก่ mean cell volume (MCV) น้อยกว่า 80 fl และ/หรือ mean cell hemoglobin (MCH) น้อยกว่า 27 pg มีผลการตรวจกรอง osmotic fragility (OF) test positive และ dichlorophenolindophenol (DCIP) precipitation test negative ไม่ซีดมาก Hb โดยทั่วไปจะมากกว่า 10 g/dl และ Hct มากกว่าร้อยละ 30 (ถ้าไม่มีภาวะอื่นแทรกซ้อน) ร่วมกับการสร้างจำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น จึงมักมีจำนวนเม็ดเลือดแดงมากกว่า 5×10^{12} cells/L^(17,18) การแปลผลในกรณี A₂A จึงต้องให้ความใส่ใจกับปริมาณ Hb A₂ และผลการตรวจคัดกรองด้วย โดยถ้ามีปริมาณ Hb A₂ อยู่ในช่วงปกติร่วมกับมีผลคัดกรองด้วย OF และ DCIP เป็นลบ หรือ MCV > 80 fl, MCH > 27 pg จะแปลผลว่า normal or non-clinically important thalassemia เนื่องจากผู้ที่มียีนแฝง α -thalassemia 2 ซึ่งเป็น α -thalassemia ชนิดที่ไม่รุนแรงบางรายให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นลบ^(17,18) แต่ถ้ามีผลคัดกรองเป็นบวก หรือ MCV < 80 fl และ MCH < 27 pg จะแปลผลว่า suspected α -thalassemia โดยมีโอกาสเป็นได้ทั้ง α -thalassemia 1 และ α -thalassemia 2

หรือภาวะเลือดจางจากสาเหตุอื่น เช่นภาวะขาดเหล็ก เป็นต้น⁽¹⁷⁻²⁰⁾ การแปลผลกรณีนี้จึงใช้คำว่า suspected ส่วนกรณีที่ได้ปริมาณ Hb A₂ > ร้อยละ 4 ร่วมกับการมีผลคัดกรองเป็นบวกหรือ MCV < 80 fl, MCH < 27 pg จะแปลผลว่า heterozygous β - thalassemia with or without α - thalassemia และมีโอกาสเป็นได้ทั้ง α - thalassemia 1 และ α - thalassemia 2 ทั้งนี้เนื่องจากผู้ที่มียีนแฝง α - thalassemia ร่วมกับ β - thalassemia มีข้อมูลทางโลหิตวิทยาไม่แตกต่างจากผู้ที่เป็นพาหะ β - thalassemia อย่างเดียว จึงแยกกันไม่ออก⁽²¹⁾

2. EA เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี ซึ่งจะตรวจพบปริมาณ Hb E อยู่ในช่วงร้อยละ 25 - 35⁽¹⁷⁾ หากพบปริมาณต่ำกว่านี้ (Hb E < ร้อยละ 25) อาจเป็นเป็นพาหะ Hb E ที่มียีนแฝง อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ร่วมด้วย (suspected heterozygous Hb E with α - thalassemia 1)⁽²²⁾ ซึ่งแพทย์และพยาบาลที่ทำหน้าที่ให้คำปรึกษาทางพันธุกรรมกับคู่เสี่ยงจะต้องให้ความสนใจเป็นพิเศษ เพราะมีโอกาสที่จะให้กำเนิดบุตรเป็นได้ทั้งโรคอัลฟาและบีตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ส่วน EA ที่มีปริมาณ Hb E อยู่ระหว่างร้อยละ 25 - 35 ซึ่งโอกาสจะมี α - thalassemia 1 ร่วมด้วย⁽²³⁾ แต่ก็มีจำนวนไม่น้อยที่มี ยีนแฝง α - thalassemia 2 ร่วมด้วย⁽²²⁾ กรณีผลการตรวจเป็น EA ที่มี Hb E อยู่ระหว่างร้อยละ 25 - 35 จึงแปลผลว่า heterozygous Hb E with or without α - thalassemia 2 ซึ่งแม้ว่าจะไม่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคอัลฟาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (homozygous α - thalassemia 1 or Hb Bart's hydrops fetalis) แต่ก็มีโอกาสให้กำเนิดบุตรที่เป็นโรคอัลฟาธาลัสซีเมียชนิดอื่นที่มีอาการรุนแรงปานกลางได้ เช่น Hb H disease หรือ EABart's disease เป็นต้น

3. EE เป็นโฮโมซัยกัส Hb E กรณีนี้มักตรวจพบปริมาณ Hb F สูงขึ้นเล็กน้อย ถ้าเป็นการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าจะพบแถบของ Hb F งามๆ เมื่อตรวจวัดปริมาณจะพบปริมาณ Hb F ประมาณร้อยละ 3 - 5 ร่วมกับพบปริมาณ Hb E มากกว่าร้อยละ 80⁽²⁴⁾ แต่ก็พบว่าโฮโมซัยกัส Hb E บางรายที่มีปริมาณ Hb F สูงขึ้น ถึงประมาณร้อยละ 10 ทำให้ผู้อ่านผลมีความลำบากที่จะรายงานว่าเป็น EE หรือ EF จึงออกผลเป็น EE/EF เพราะ 2 ชนิดนี้มีจีโนไทป์ที่ต่างกัน และมีความรุนแรงต่างกันด้วย โดยถ้าเป็น EE คือ โฮโมซัยกัส Hb E จะไม่เป็นโรคธาลัสซีเมียที่รุนแรง ซึ่งถ้าพิจารณาค่าทางโลหิตวิทยาอื่นๆ ประกอบด้วยจะพบว่าจะไม่ชัดเจน โดยทั่วไปมีค่า Hb มากกว่า 10 g/dl

แต่จะมีค่า MCV และ MCH ต่ำ⁽²⁴⁾ ส่วนกรณีของ EF จะเป็นโรคบีตา-ธาลัสซีเมียซึ่งจะได้กล่าวถึงในรายละเอียดต่อไป นอกจากนี้ผู้เขียนและคณะยังพบว่า ผู้ที่มีผลการวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น EE ซึ่งสามารถให้การแปลผลได้แล้วว่าเป็นโฮโมซัยกัส Hb E แต่ก็อาจมียีนแฝงอัลฟาธาลัสซีเมียร่วมได้หลากหลายจีโนไทป์⁽²⁴⁾ ไม่สามารถวินิจฉัยแยกออกจากกันได้ จากผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินหรือผลการตรวจทางโลหิตวิทยาอื่น ๆ ต้องทำการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเท่านั้น จึงจะให้การวินิจฉัยได้ การแปลผลกรณีของ EE จึงต้องแปลว่า homozygous Hb E with or without α -thalassemia

4. Con Sp A₂A อาจเป็นพาหะ Hb Constant Spring หรือ Hb Pakse' เนื่องจากฮีโมโกลบินผิดปกติ 2 ชนิดนี้มีจำนวนกรดอะมิโนของสายอัลฟาโกลบินมากกว่าปกติ 31 ตัว เท่ากัน และถึงแม้จะมีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 142 ต่างกัน โดยที่ Hb Constant Spring เป็นกลูตามีน (glutamine; Glu) ส่วน Hb Pakse' เป็นไทโรซีน (tyrosine; Tyr) แต่ทั้งสองชนิดมีประจุสุทธิไม่ต่างกัน จึงตรวจพบในตำแหน่งเดียวกันทั้งการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าและการตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ HPLC หรือ LPLC⁽²⁵⁾ แต่จะรายงานผลจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเป็น Hb Con Sp เนื่องจาก Hb Con Sp มีอัตราการตรวจพบมากกว่า Hb Pakse'⁽²⁶⁾ กรณีนี้จึงแปลผลเป็น suspected heterozygous Hb Con Sp

5. Con Sp A₂A Bart's เป็นโฮโมซัยกัส Hb Constant Spring หรือ Hb Pakse' (suspected homozygous Hb Con Sp) ซึ่งผู้ป่วยมักมีภาวะซีดคล้ายผู้ที่เป็นโรค Hb H ซึ่งจะได้กล่าวถึงต่อไป อย่างไรก็ตามอาจตรวจไม่พบ Hb Bart's ได้ เนื่องจากสายแอมมาโกลบินมีปริมาณน้อย

6. A₂A (Bart's) H เป็นโรคอัลฟาธาลัสซีเมียชนิดหนึ่ง เนื่องจากการตรวจพบ Hb H (β_4) หรือ Hb Bart's (γ_4) ในเลือดได้ แสดงว่าสายอัลฟาโกลบินมีปริมาณน้อยลงมาก จึงทำให้สายบีตาโกลบินและสายแอมมาโกลบินเหลืออยู่มาก จึงจับกันเอง 4 สาย กลายเป็น Hb H และ Hb Bart's ซึ่งการลดลงของสายอัลฟาโกลบินในโรคนี้ จะลดลงมากกว่าในภาวะที่เป็นพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย เพราะในพาหะเรายังตรวจพบชนิดของฮีโมโกลบินเป็น A₂A เหมือนคนปกติ เนื่องจากสายบีตาโกลบินและแอมมาโกลบินอิสระถูกทำลายไปได้หมดหรือเกือบหมด ทำให้ตรวจไม่พบ Hb H และ Hb Bart's ในเลือด ดังนั้นในกรณีที่พบ Hb H และ Hb Bart's

จึงแสดงว่ามีความรุนแรงของโรคมากกว่าพาหะและแปลผลเป็น α - thalassemia 1 / α - thalassemia 2 (α^0 - thalassemia / α^+ - thalassemia) ในกรณีนี้จะตรวจพบว่าปริมาณ Hb A₂ มักจะค่อนข้างต่ำกว่าปกติเสมอ ผู้ป่วยมีภาวะซีดปานกลาง ตับม้ามโตเล็กน้อย และจากการที่ตรวจพบ Hb H ในเลือด จึงถูกเรียกว่าโรค Hb H แต่อาจพบหรือไม่พบ Hb Bart's ก็ได้ เนื่องจากสายแอมมาโกลบินมีปริมาณน้อยกว่า ผู้เขียนจึงวงเล็บการพบ Hb Bart's ไว้ในการรายงานผล ความหมายคือ อาจพบหรือไม่พบก็ได้

7. Con Sp A₂ A (Bart's) H เป็นโรค Hb H อีกชนิดหนึ่งที่แปลผลได้ว่าเป็น α - thalassemia 1 / Hb Con Sp (α^0 - thalassemia / Hb Con Sp) หรือ α - thalassemia 1 / Hb Pakse' (α^0 - thalassemia / Hb Pakse') อาการต่างๆ จะคล้ายผู้ที่ป่วยโรค Hb H ในข้อที่ 6 แต่มีหลักฐานยืนยันว่าอาการมักจะรุนแรงกว่าเนื่องจากมีความไม่เสถียรของ Hb H ร่วมกับ Hb Con Sp หรือ Hb Pakse' ⁽²⁵⁾ และที่ควรระวังคือ ความไม่เสถียรร่วมกับการมีปริมาณน้อยของ Hb Con Sp หรือ Hb Pakse' ถ้าผู้ป่วยมีไข้ หรือเก็บเลือดไว้นานเกินไปก็อาจตรวจไม่พบและทำให้แปลผลผิดพลาดได้

ในกรณีของโรค Hb H ทั้งข้อ 6 และ ข้อ 7 นี้ หากผู้ที่อ่านผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติไม่ชำนาญอาจรายงานผลผิดพลาดได้ทั้งแบบไม่รายงาน Hb H หรือ รายงาน Hb H ออกไปทั้งๆที่ไม่ใช่ Hb H แต่เป็นปัญหาของเลือดเก่า ผู้เขียนก็เคยพบมาแล้วทั้ง 2 กรณี เนื่องจากห้องปฏิบัติการของผู้เขียนเป็นหน่วยบริการตรวจวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียทารกในครรภ์มารดาซึ่งอาศัยเทคนิคการตรวจดีเอ็นเอยืนยันการวินิจฉัยจากการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินที่ส่งไปจากหน่วยงานต่างๆอีกทางหนึ่งด้วยเสมอ ดังนั้นในกรณีที่ไม่แน่ใจว่าจะเป็น Hb H หรือไม่ นอกจากการพิจารณาข้อมูลพารามิเตอร์ต่างๆ ของเม็ดเลือดแดงร่วมกับอาการทางคลินิกแล้ว การย้อม Hb H inclusion bodies ⁽²⁷⁾ ก็อาจเป็นทางเลือกอีกหนึ่งวิธีที่จะช่วยควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการก่อนรายงานผล Hb typing ได้เป็นอย่างดี

8. A₂F กรณีนี้ต้องตรวจสอบอายุของตัวอย่างเลือดให้ดี ถ้าเป็นเด็กทารกที่อายุยังไม่ถึง 1 ปี จะยังให้การแปลผลและวินิจฉัยที่แน่นอนไม่ได้ ต้องรอให้อายุมากกว่า 1 ปี หรือตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอร่วมกับการตรวจเลือดพ่อแม่ จึงจะแปลผลได้ แต่ถ้าพบในเด็กที่มีอายุมากกว่า 1 - 2 ปี ขึ้นไปแล้ว หากพบ

ร่วมกับการที่เด็กมีอาการของโรคธาลัสซีเมียชัดเจน ซีด ตับม้ามโต จะแปลผลว่าน่าจะเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง homozygous β^0 - thalassemia เนื่องจากตรวจไม่พบ Hb A แสดงว่าผู้ป่วยสังเคราะห์สายบีตาโกลบินไม่ได้เลย จึงมีการสังเคราะห์สายแอมมาโกลบินขึ้นมาทดแทน ทำให้ตรวจพบ Hb F มีปริมาณสูงขึ้น ส่วนปริมาณ Hb A₂ อาจสูงขึ้นเล็กน้อยหรืออยู่ในเกณฑ์ปกติได้

9. EF เป็นโรคธาลัสซีเมียอีกชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยมากในประเทศไทยโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและพบได้บ่อยมากกว่าชนิด A₂F เนื่องจากมีอุบัติการณ์ของ Hb E สูง โดยจะแปลผลเป็น β^0 - thalassemia / Hb E เมื่อมีอาการของโรคธาลัสซีเมียชัดเจน คือ ซีด ตับม้ามโต คล้ายโฮโมซัยกัส β^0 - thalassemia หรืออาจมีอาการน้อยกว่า และตามที่ได้กล่าวไปแล้วว่า ชนิดของ Hb ที่เป็น EF นี้อาจทำให้สับสนกับผู้ที่เป็น EE ได้ การแปลผลจึงต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ การตรวจตัวอย่างเลือดของครอบครัวผู้ป่วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งพ่อแม่ของผู้ป่วย จะช่วยให้การแปลผลมีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไปมักตรวจพบปริมาณ Hb F อยู่ในช่วงร้อยละ 20-60 ⁽²⁸⁾ แต่ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาโดยการให้เลือดมาแล้ว ปริมาณ Hb E และ Hb F อาจเปลี่ยนแปลงไปจนทำให้การแปลผลผิดพลาดได้ถ้าไม่ทราบประวัติการรับเลือดมาก่อน

10. A₂FA, EFA การตรวจพบ Hb F ในตัวอย่างเลือดผู้ป่วยก่อนที่จะทำการวินิจฉัยใดๆ ต้องตรวจสอบอายุของผู้ป่วยก่อนเสมอ เพราะถ้าอายุยังไม่ครบ 1 ปี จะยังไม่สามารถให้การแปลผลเพื่อการวินิจฉัยที่ถูกต้องได้ เนื่องจากในช่วงแรกคลอดถึง 1 ปี ปริมาณ Hb F ยังสูงอยู่ เพราะการสลับกันของสายบีตาโกลบินกับสายแอมมาโกลบิน (Hb Switching) ยังไม่สมบูรณ์ แต่เมื่ออายุมากกว่า 1-2 ปีไปแล้ว ยังตรวจพบ Hb F ก็ต้องพิจารณาให้ดี เพราะไม่แน่เสมอไปว่าการตรวจพบ Hb F ที่สูงขึ้นจะเป็นโรคธาลัสซีเมีย ต้องดูอาการทางคลินิกประกอบด้วย ถ้าไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมียเลย และมีค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดงเป็นปกติทั้งหมดก็อาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างเลือดรายนั้นเป็นภาวะ Hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH) ⁽²⁹⁻³²⁾ ซึ่งเป็นภาวะที่ยีนแอมมาโกลบินสร้างสายแอมมาโกลบินได้ในปริมาณสูงตลอดโดยไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มขึ้นของ Hb F อาจพบได้ในภาวะที่มี stress

erythropoiesis จากสาเหตุอื่นๆ ที่ทำให้มีภาวะเลือดจาง เช่น การตั้งครรภ์ โรคโลหิตจางเรื้อรัง มะเร็งเม็ดเลือดขาว⁽³³⁾ เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Hb F ในภาวะที่มี stress erythropoiesis นี้มักจะเพิ่มขึ้นไม่เกินร้อยละ 10 แต่ก็มีผลทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้ดังนั้นการตรวจพบปริมาณ Hb F สูงขึ้นแล้วจะสรุปว่าเป็นโรคบีตาธาลัสซีเมีย จึงต้องพิจารณาให้รอบคอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องทราบประวัติและอาการของผู้ป่วยและถ้ามีผลการตรวจเลือดของครอบครัวประกอบด้วยก็จะทำให้วินิจฉัยได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้นโดยถ้าผลเป็น A₂FA มีภาวะซีดและไม่มีประวัติการรับเลือดภายใน 4 เดือน ก่อนทำการตรวจเลือด ก็จะแปลผลได้ว่า suspected β^0 -thalassemia / β^+ -thalassemia or β^+ -thalassemia / β^+ -thalassemia และถ้าผลเป็น EFA ก็จะแปลผลเป็น β^+ -thalassemia / Hb E แต่เนื่องจากอุบัติการณ์ของยีน β^+ -thalassemia (ที่ไม่ใช่ Hb E) ในประเทศไทยมีน้อย เมื่อเทียบกับอุบัติการณ์ของยีน β^0 -thalassemia ดังนั้นการตรวจพบ A₂FA และ EFA จากประสบการณ์ของผู้เขียนที่ตรวจเลือดผู้ป่วยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบว่าจริงๆ แล้วมักเป็น β^0 -thalassemia / β^0 -thalassemia และ β^0 -thalassemia / Hb E ที่มีประวัติการรับเลือดเป็นประจำแทบทั้งสิ้น

ในกรณีของกลุ่มโรค β - thalassemia ที่มี Hb F สูงขึ้นนี้ ในการแปลผล จะต้องไม่ลืมว่าถึงแม้ว่าจะแปลผลได้ว่าเป็นโรค β - thalassemia แต่ก็อาจจะมียีนแฝง α - thalassemia ได้ ทั้งชนิด α - thalassemia 1 และ α - thalassemia 2⁽²⁸⁾ นอกจากนี้ในการรายงานผลว่าเป็น Hb F ก็ควรจะได้มีการทำการทดสอบยืนยันด้วยวิธีการอื่น เช่น การย้อม Hb F cell ด้วยวิธี acid elution ถือเป็นการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการก่อนการรายงานผลอีกชั้นหนึ่งด้วย นอกจากนี้เนื่องจากในการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ ตรงตำแหน่งที่รายงานเป็น Hb F นี้ มี Hb ผิดปกติ (abnormal Hb or Hb variants) หลายชนิดที่พบในประเทศไทย อาจถูกแยกออกมาให้ปรากฏอยู่ในตำแหน่งเดียวกันได้ เช่น Hb Hope⁽³⁴⁾ ซึ่งจะปรากฏอยู่ตำแหน่งเดียวกับ Hb F เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC หรือ LPLC ส่วนเครื่อง capillary electrophoresis ตรงตำแหน่งที่รายงานเป็น Hb F ก็อาจหมายถึง Hb Tak⁽³⁵⁾ หรือ Hb Q-Thailand⁽³⁶⁾ ก็ได้ ดังแสดงใน **รูปที่ 3**

11. EABart's, EEBart's, EFABart's, EFBart's, ConSpEABart's, ConSpEEBart's, ConSpEFABart's และ ConSpEFBart's ทั้งหมดนี้จัดเป็นกลุ่มโรคธาลัสซีเมียที่มีฟีโนไทป์และจีโนไทป์ซับซ้อน ซึ่งมีความผิดปกติร่วมระหว่างอัลฟาและบีตาธาลัสซีเมียชนิด Hb E ภาวะเหล่านี้เนื่องจากสายอัลฟาโกลบินมีปริมาณน้อยลงและสายอัลฟาโกลบินจะจับกับสายบีตาโกลบินปกติได้มากกว่าสายบีตาอีโกลบิน จึงทำให้มีสายบีตาโกลบินปกติเหลืออยู่น้อย ทำให้ตรวจไม่พบ Hb H ในเลือด แต่จะตรวจพบเฉพาะ Hb Bart's ซึ่งบ่งบอกถึงการมีโรคอัลฟาธาลัสซีเมียร่วมด้วย และนอกจากนี้ยังพบว่าในตัวอย่างที่มีทั้ง Hb E และ Hb A จะตรวจพบปริมาณของ Hb E ลดลงด้วยเสมอ โดยจะพบปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 20 การจะแปลผลการตรวจของผู้ป่วยกลุ่มนี้ให้ถูกต้องตามจีโนไทป์ มักจำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอและศึกษาครอบครัวเพิ่มเติม โดยตรวจทั้งยีนอัลฟาและบีตาธาลัสซีเมีย^(37,38) จึงจะสามารถสรุปการแปลผลเพื่อให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ของครอบครัวผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง

สรุป การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินเพื่อการวินิจฉัยธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย **ไม่ควร** แปลผลโดยตรงจากผลที่ปรากฏออกมาจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ควรพิจารณาข้อมูลอื่นประกอบการแปลผล ดังนี้

1. อายุของผู้ที่เป็นเจ้าของตัวอย่างเลือด
2. ประวัติการรับเลือดหรือประวัติการรักษา
3. อาการทางคลินิกหรือพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง
4. ผลการตรวจคัดกรอง⁽³⁹⁾ (ถ้ามีและควรมีในกรณี

ที่เป็นการตรวจคัดกรองในประชากรทั่วไปที่ไม่มีภาวะซีดหรือการคัดกรองหญิงตั้งครรภ์และคู่สมรส)

ตัวอย่างการแปลผลในกลุ่มที่ไม่มีภาวะซีดแสดงไว้ใน **ตารางที่ 1** ส่วนกลุ่มที่มีภาวะซีดร่วมกับมีอาการทางคลินิกของโรคธาลัสซีเมียและมีพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดงที่ผิดปกติแสดงไว้ใน **ตารางที่ 2**

ตารางที่ 1 การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในตัวอย่างที่ไม่ซีด ไม่มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย และมีอายุมากกว่า 1 ปี

Screening test	Hb analysis	Interpretation
OF negative, DCIP negative or MCV $\geq$ 80 fl, MCH $\geq$ 27 pg	A ₂ A normal A ₂ level	non-thalassemia or non-clinically important thalassemia *
OF positive, DCIP negative or MCV < 80 fl, MCH < 27 pg	A ₂ A normal A ₂ level	Suspected α - thalassemia **
OF positive, DCIP negative or MCV < 80 fl, MCH < 27 pg	A ₂ A high A ₂ level (4 - 8 %)	Heterozygous β - thalassemia *** with or without α - thalassemia **
OF positive, DCIP positive or MCV < 80 fl, MCH < 27 pg	EA Hb E $\leq$ 25 %	Suspected heterozygous Hb E with α - thalassemia 1
OF negative or positive DCIP positive or MCV $\sim$ 80 fl, MCH $\sim$ 27 pg	EA Hb E > 25 %	heterozygous Hb E with or without non-clinically important thalassemia *
OF positive, DCIP positive or MCV < 80 fl, MCH < 27 pg	EE Hb E > 80 % Hb F < 5 %	homozygous Hb E with or without α -thalassemia **
OF negative, DCIP negative or positive or MCV normal, MCH normal	A ₂ F, A ₂ FA EF, EFA Hb F > 10 %	Suspected hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH) with Hb E (EF, EFA)

* α - thalassemia 2: $\alpha^{3.7}$, $\alpha^{4.2}$, α^{ConSp} , α^{Pakse}

** heterozygous α -thalassemia 1, heterozygous α -thalassemia 2,
homozygous α -thalassemia 2

*** β^0 -thalassemia or β^+ -thalassemia

ตารางที่ 2 การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินในตัวอย่างที่มีภาวะซีด มีอาการของโรคธาลัสซีเมีย ไม่มีประวัติการรับเลือด และมีอายุมากกว่า 1 ปี

Hb analysis	Lab interpretation
A ₂ A normal Hb A ₂ level	Anemia, non-thalassemia diseases
Con Sp A ₂ A Bart's	Suspected homozygous Hb Constant Spring
A ₂ A Bart's H	α - thal 1 / α - thal 2 (Hb H disease)
Con Sp A ₂ A Bart's H	α - thal 1 / $\alpha^{\text{Con Sp}}$ (Hb H disease)
EA Bart's (E < 20 %)	Hb E trait with α - thal 1 / α - thal 2
Con Sp EA Bart's (E < 20 %)	Hb E trait with α - thal 1 / $\alpha^{\text{Con Sp}}$
EF Bart's	Homozygous Hb E or β - thal / Hb E
Con Sp EF Bart's	with α - thal 1 / α - thal 2
A ₂ F	β^0 / β^E or β^E / β^E with α - thal 1 / $\alpha^{\text{Con Sp}}$
A ₂ FA	β^0 / β^0 with or without α - thal *
EF	β^0 / β^+ or β^+ / β^+ with or without α - thal *
EFA	β^0 / β^E with or without α - thal *
	β^+ / β^E with or without α - thal *

* heterozygous α -thalassemia 1, heterozygous α -thalassemia 2,
homozygous α -thalassemia 2

เอกสารอ้างอิง

1. Wood WG. Hemoglobin analysis. In: Weatherall DJ. (ed.) The Thalassemia. New York: Churchill Livingstone, 1983; 31-53.
2. Wasi P. Laboratory methods for thalassemia and abnormal hemoglobin. Bangkok: The Division of Hematology, Department of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, 1985: 14-23.
3. กุลนภา พู่เจริญ. การตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินโดยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า. ใน กุลนภา พู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา (บรรณาธิการ) การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง. พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2546; 51-63.
4. International Committee for Standardization in Hematology. Recommendations for selected methods for quantitation of haemoglobin A₂. Br J Haematol 1978; 38: 573-8.
5. Efremov DC, Huisman THJ, Bowman K, Wrightson NR. Microchromatography of hemoglobin: a rapid method for determination of hemoglobin A₂. J Lab Clin Med 1974; 83: 657-64.
6. Abraham EC, Reese A, Stallings M, Huisman THJ. Separation of human hemoglobin by DEAE cellulose chromatography using glycine KCN-NaCl developers. Hemoglobin 1977; 1: 27-44.
7. International Committee for Standardization in Hematology. Recommendation for fetal hemoglobin reference preparation and fetal hemoglobin determination by alkali denaturation method. Br J Haematol 1979; 42: 133-6.
8. Bain BJ. Hemoglobinopathy diagnosis 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2005.
9. Maniatis T, Molecular genetics and biosynthesis of hemoglobin. In: Bunn HF and Forget BG. Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1986; 169-222.
10. Stamatoyannopoulos G, Grosfeld F. Hemoglobin switching. In Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter RM, Varmus H (eds.) The molecular basis of blood diseases. 3rd ed. London: W.B. Saunders Company, 2001; 135-82.
11. Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad Laboratories., USA). Instruction manual.
12. Primus Variant System (Primus Corporation., USA.). Instruction manual.
13. Hb Gold Analyser (Drew Scientific Ltd., UK.). User's manual.
14. Capillarys Hemoglobin(E) Ref.2007 (SEBIA, France). Sebia instructions.
15. ยศสมบัติ จังตระกุล, ชีรวัฒน์ คำแก้ว, กุลนภา พู่เจริญ, อรุณี เจตศรีสุภาพ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, สุทธิพรรณ กิจเจริญ, และคณะ. ระดับฮีโมโกลบินเอสสองโดยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ: ผลการศึกษาที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2548; 33: 1244-51.
16. กุลนภา พู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่ฮึ้ง, เกรียงไกร กิจเจริญ, สุรพล เวียงนันท, อรุณี เจตศรีสุภาพ, และคณะ. ข้อมูลทางโลหิตวิทยาของพาหะบีตาธาลัสซีเมียจำแนกตามชนิดของมิวเตชันที่ตรวจพบในจังหวัดขอนแก่น. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2538; 7: 158-66.
17. Fucharoen G, Sanchaisuriya S, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities of Southeast Asia. Bull World Health Organ 2004; 82: 364-72.
18. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. Am J Clin Pathol 2005; 123: 113-8.
19. กุลนภา พู่เจริญ, กันยารัตน์ แคนตะ, รุ่งฤดี ประทุมชาติ, รุ่งฤดี ประทุมชาติ, อุไรวรรณ ยิ้มประเสริฐ, แชนไซ

- ไพกะเพศ, และคณะ. ธาลัสซีเมียและภาวะขาดเหล็กในกลุ่มประชากรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจกรอง OF test และ KCU-DCIP-Clear. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2542; 9: 111-8.
20. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Dietz E, et al. Thalassemia and hemoglobinopathies rather than iron deficiency are major causes of pregnancy-related anemia in northeast Thailand. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 37: 8-11.
 21. Sea-ung N, Fucharoen G-, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha0-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2007; 117: 78-82.
 22. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612-6.
 23. Sanchaisuriya K, Chirakul S, Srivorakun H, Fucharoen G, Fucharoen S, Changtrakul Y, et al. Effective screening for double heterozygosity of Hb E/ α^0 -thalassemia. *Ann Hematol* 2008; 87: 911-4.
 24. Fucharoen G, Trithipsombat J, Sirithawee S, Yamsri S, Changtrakul Y, Sanchaisuriya K, et al. Molecular and hematological profiles of hemoglobin EE disease with different forms of alpha-thalassemia. *Ann Hematol* 2006; 85: 450-4.
 25. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Fucharoen S. Hb Pakse' [(α^2)codon 142(TAA-TAT or Ter-Tyr)] in Thai patients with EABart's disease and Hb H disease. *Hemoglobin* 2002; 26: 227-35.
 26. Singsanan S, Fucharoen G, Savongsy O, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Molecular characterization and origins of Hb Constant Spring and Hb Pakse' in Southeast Asian populations. *Ann Hematol* 2007; 86: 665-9.
 27. Sabath DE, Cross ST, Mamiya LY. An improved method for detecting red cell with Hb H inclusions that does not require glass capillary tubes. *Clin Lab Hematol* 2003; 25: 87-91.
 28. Nuntakarn L, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Jetsrisuparb A, Wiangnon S. Molecular, hematological and clinical aspects of thalassemia major and thalassemia intermedia associated with Hb E-beta-thalassemia in northeast Thailand. *Blood Cells Mol Dis* 2009; 42: 32-5.
 29. Fucharoen S, Pengjam Y, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular and hematological characterization of HPFH-6/Indian deletion-inversion $G\gamma(A\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia and $G\gamma(A\gamma\delta\beta)^0$ /Hb E in Thai patients. *Am J Hematol* 2002; 71: 109-13.
 30. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Surapot S. Molecular characterization of thalassemia intermedia associated with HPFH-6/beta-thalassemia and HPFH-6/Hb E in Thai patients. *Acta Haematol* 2002; 108: 157-61.
 31. Panyasai S, Fucharoen S, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular basis and hematologic characterization of $\delta\beta$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin in Thailand. *Haematologica* 2004; 87: 777-81.
 32. Fucharoen S, Panyasai S, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Compound heterozygote state for $G\gamma A\gamma(\delta\beta)^0$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Am J Hematol* 2005; 80: 119-23.
 33. Wood WG. Increased Hb F in adult life. *Bailliere's Clin Haematol* 1993; 6: 177-213.
 34. Chunpanich S, Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Kam-itsara K. Molecular and hematological characterization of hemoglobin Hope

- / hemoglobin E and hemoglobin Hope / alpha-thalassemia 2 in Thai patients. *Lab Hematol* 2004; 10: 215-20.
35. Fucharoen S, Fucharoen G, Sae-ung N, Sanchaisuriya K, Fukumaki Y. Molecular and hematological characterization of Hb Tak and Hb Pyrgos in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 28(suppl 3): 110-4.
 36. Sanchaisuriya K, Chunpanich S, Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y. Association of Hb Q-Thailand with homozygous Hb E and heterozygous Hb Constant Spring in pregnancy. *Eur J Haematol* 2005; 74: 221-7.
 37. Siriratmanawong N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Ratanasiri T, Fucharoen S. Simultaneous PCR detection of beta -thalassemia and alpha -thalassemia 1 (SEA type) in prenatal diagnosis of complex thalassemia syndrome. *Clin Biochem* 2001; 34: 377-80.
 38. Boonsa S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Wiangnon S, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. The diverse molecular basis and hematological features of Hb H and AEBart-s diseases in northeast Thailand. *Acta Haematol* 2004; 111: 149-54.
 39. กุลนภา พู่เจริญ, สุพรรณ พู่เจริญ. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2551; 20: 165-77.