

ประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ในเขตสุขภาพที่ 7

An evaluation of risk for severe β - thalassemia in the public health area 7 of Thailand

สุทัศน์ วิมลเศรษฐ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

ชาลี วิมลเศรษฐ ป.จพ. วิทยาศาสตร์การแพทย์

อุดมเกียรติ พรธนะประเทศ วท.ม. (วิทยาศาสตร์อาหาร)

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น

Sutudsanee Vimolsarte B.Sc. (Medical Technology)

Charlie Vimolsarte Cert. Med. Sci. Tech.

Udomkiat Puntanaprated M.Sc. (Food Science)

Regional Medical Science Center 7th Khon Kaen

บทคัดย่อ

โรคธาลัสซีเมียในประเทศไทยมีอุบัติการณ์สูง ประชากรประมาณ 18-24 ล้านคนเป็นพาหะ ในขณะที่อีกประมาณ 6 แสนคนเป็นโรค และพบเบต้าธาลัสซีเมียร้อยละ 3-9 พบแอลฟาธาลัสซีเมียร้อยละ 20-30 ภาวะยีนแฝงที่พบบ่อยคือ ฮีโมโกลบินอีเทรต เบต้าธาลัสซีเมียเทรต แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 เทรต แอลฟาธาลัสซีเมีย 2 เทรต ฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง เป็นต้น ชนิดและปริมาณของยีนแฝงเหล่านี้มีอัตราการพบไม่เท่ากันในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย การดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในประเทศไทย มุ่งเน้นที่จะทำการควบคุมโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 ชนิด คือ โฮโมซัยกัสเบต้าธาลัสซีเมีย เบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี และ ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮดรอฟล์ฟีตลีส โดยมีเป้าหมายเพื่อลดจำนวนผู้ป่วยรายใหม่ ตลอดจนการรักษาศูนย์ผู้ป่วยที่มีอยู่ให้ดีที่สุด การตรวจหาผู้ป่วยและพาหะ และการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ ข้อมูลที่ได้นำไปใช้ในการแนะนำทางพันธุกรรม และช่วยในการตัดสินใจสำหรับสามีภรรยาคู่เสี่ยงที่มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงดังกล่าว การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาพาหะเบต้าธาลัสซีเมียโดยวิธีอัลลีลสเปซิฟิกพีซีอาร์ (Allele Specific PCR; ASPCR) ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำ และราคาถูก สามารถบอกชนิดและความรุนแรงของโรคได้ และเพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในเขตสุขภาพที่ 7 โดยนำตัวอย่างเลือดจากโรงพยาบาลต่างๆในเขตสุขภาพที่ 7 ที่ส่งตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ในปี 2555 ที่ผลการตรวจพบว่าเป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมียโดยวิธี Automate Cation Exchange Chromatography เช่น HPLC และ LPLC โดยยึดหลักที่การแปลผลของพาหะเบต้าธาลัสซีเมียมีค่าเปอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบินเอ-สอง เท่ากับ 4.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจำนวน 100 ราย มาตรวจหาความผิดปกติของยีนสายเบต้าด้วยเทคนิค ASPCR ให้ผลบวกจำนวน 90 รายคิดเป็นร้อยละ 90 และส่งตรวจยืนยันโดยวิธี Gene Sequencing ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบผลสอดคล้องกันร้อยละ 100 และพบว่าเป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจำนวน 59 ราย (ร้อยละ 65.5) ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเทคนิค ASPCR สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจหาพาหะเบต้าธาลัสซีเมียแทนการตรวจโดยวิธี Gene Sequencing ซึ่งต้องใช้เครื่องมือพิเศษและมีราคาแพง และสามารถประเมินได้ว่าในเขตสุขภาพที่ 7 มีโอกาสเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคโฮโมซัยกัสเบต้าธาลัสซีเมีย และเบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอีชนิดรุนแรงเนื่องจากพบพาหะเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงสูงถึงร้อยละ 65.5 ข้อมูลผลการตรวจใช้ประโยชน์ในการวางแผนป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียให้ครอบคลุมได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเกิดประสิทธิผล

คำสำคัญ: โรคธาลัสซีเมีย เบต้าธาลัสซีเมีย อัลลีลสเปซิฟิกพีซีอาร์

Abstract

Thalassemia disease is high incidence in Thailand. In Thai people, 600,000 case of disease and about 3-9% of the Thalassemia are β -thalassemia disease and 20-30% of case are α -thalassemia disease. This disease is a group of inherited autosomal recessive blood disorder, although persons who carry the minor form β or α -thalassemia gene and/or abnormal globin gene but they usually have no sign or no symptoms. Many Thai peoples have these genes (or call carrier) and gene-genes interactions in this population can lead to several thalassemia syndromes. The common thalassemia carriers are usually founded such as Hemoglobin E trait, β -thalassemia trait, α -thalassemia trait, α -thalassemia-2 and Hemoglobin constant spring trait. The frequency of thalassemia types were varied in different parts of Thailand. Thai national policy for prevention and control thalassemia emphasized on 3 severe thalassemia disease such as homozygous β -thalassemia, β -thal/ Hb E and Hemoglobin Bart's hydrop fetalis. These serious cases have severe symptoms and early death. The effectiveness of prevention and control program in communities can reduce the new serious patients. The study aims to screen for β -thalassemia trait by using Automatic Cation Exchange Chromatography (HPLC and LPLC). One hundred blood samples which had Hb A₂ value was equal or more than 4.0%, were detected to the abnormal globin genes by using the Allele Specific PCR (ASPCR) and Gene Sequencing method was used as the confirmatory test. The result found that 65.5% of all, were severe β -thalassemia trait and 100% of these results were similar between ASPCR technique and Gene Sequencing. This present study is useful and applicable for the effective prevention and control of overall thalassemia diseases.

keywords: Thalassemia disease, β -thalassemia, Allele Specific PCR

บทนำ

ธาลัสซีเมีย (Thalassemia) เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติในการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญที่มีอยู่ในเม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่นำออกซิเจนจากปอดไปยังอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย และนำคาร์บอนไดออกไซด์มาส่งที่ปอด ผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ ทำให้สร้างฮีโมโกลบินไม่ได้หรือสร้างได้น้อยลง เกิดพยาธิสภาพต่อเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดแดงไม่มีความยืดหยุ่นและถูกทำลาย ผู้ป่วยธาลัสซีเมียจึงมีอาการโลหิตจางมาตั้งแต่กำเนิด ถ้าเป็นมากจะเติบโตไม่สมอายุ ตับโต ม้ามโต หัวใจวายและมีอาการอื่นๆแทรกซ้อน การถ่ายทอดของยีนธาลัสซีเมียเป็นแบบลักษณะด้อย (autosomal recessive) ผู้ที่เป็นพาหะของโรคธาลัสซีเมียจึงไม่แสดงอาการ^(1,2) ภาวะยีนแฝงที่พบบ่อยคือ ฮีโมโกลบินอีเทรต เบตาธาลัสซีเมียเทรต

แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 เทรต แอลฟาธาลัสซีเมีย 2 เทรต และฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริงเป็นต้น เบต้าธาลัสซีเมีย คือ ความผิดปกติของยีนที่สร้างโปรตีนเบต้าโกลบิน ซึ่งความผิดปกตินี้มี 2 แบบ คือ สร้างโปรตีนเบต้าโกลบินได้น้อยลงหรือสร้างไม่ได้เลย โรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดที่รุนแรงที่สุด คือ ฮีโมซัยกัสเบต้าศูนย์ธาลัสซีเมีย ผู้ป่วยมีอาการซีดเรื้อรัง ตับม้ามโต ต้องได้รับการถ่ายเลือดเป็นประจำ และมักเสียชีวิตก่อนกำหนด โดยมีอายุขัยเฉลี่ย 10 ปี นอกจากนี้โรคเบต้าธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย คือ โรคเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี ผู้ป่วยโรคนี้มีอาการทางคลินิกได้หลายแบบ บางรายมีอาการซีดเพียงเล็กน้อย บางรายมีอาการซีดปานกลาง และบางรายมีอาการซีดมากต้องให้เลือดเป็นประจำ อาการรุนแรงขึ้นกับชนิดของเบต้าธาลัสซีเมีย ทำให้ผู้ป่วยโรคนี้มีอายุขัยเฉลี่ย 30 ปี ทำให้เป็นปัญหา

ต่อคุณภาพชีวิต เศรษฐกิจ สังคม และปัญหาสาธารณสุขของประเทศ^(3,4) ดังนั้นทั้งสองโรคดังกล่าวจึงกำหนดอยู่ในแผนงานโครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียแห่งชาติ และเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือยังพบความผิดปกติของฮีโมโกลบินอีสูงถึงร้อยละ 30-60⁽²⁻⁴⁾ ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดโรคเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี การควบคุมโรคธาลัสซีเมียสายเบต้าธาลัสซีเมียนั้น จะต้องค้นหาพาหะของเบต้าธาลัสซีเมีย ซึ่งปัจจุบันใช้การตรวจวินิจฉัยโดยวิธี Automate Cation Exchange Chromatography เช่น HPLC และ LPLC โดยยึดหลักที่ค่าเปอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบิน เอ-สอง มีค่า 4.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป แต่ค่าดังกล่าวยังไม่เป็นที่ยืนยัน และไม่สามารถบอกชนิดและความรุนแรงของอาการของโรคได้ ทำให้การให้คำปรึกษาแก่คู่เสี่ยงขาดประสิทธิภาพ ดังนั้นศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น จึงตรวจหาความผิดปกติของยีนที่เป็นสาเหตุของเบต้าธาลัสซีเมียด้วยเทคนิค Allele Specific PCR (ASPCR)⁽⁵⁾ ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วและสะดวก ราคาไม่แพง สามารถบอกถึงชนิดของความผิดปกติ และความรุนแรงของโรคได้ เพื่อเกิดประโยชน์ในการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียแห่งชาติได้อย่างครบวงจร มีประสิทธิภาพและเกิดประสิทธิผลในการควบคุมโรค

วัตถุประสงค์

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของยีนที่เป็นสาเหตุของเบต้าธาลัสซีเมียด้วยเทคนิคการตรวจวินิจฉัยความผิดปกติระดับยีน ASPCR และเพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในเขตสุขภาพที่ 7

วัสดุและวิธีการ

1. เก็บตัวอย่างเลือดคู่เสี่ยงจากโรงพยาบาลต่าง ๆ ในเขตสุขภาพที่ 7 ที่ส่งตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น และผลการ

ตรวจพบว่าเป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมียโดยวิธี Automate Cation Exchange Chromatography เช่น HPLC และ LPLC โดยยึดหลักที่การแปลผลของพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย มีค่าเปอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบินเอ-สอง เท่ากับ 4.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปจำนวน 100 ราย

2. นำตัวอย่างเลือดมาตรวจหาความผิดปกติของยีนที่เป็นสาเหตุของเบต้าธาลัสซีเมียชนิดที่พบได้บ่อยในประเทศไทยด้วยเทคนิค Allele Specific PCR (ASPCR)

3. นำตัวอย่างทั้งหมดส่งตรวจยืนยันความผิดปกติของยีนด้วยการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรม (Gene sequencing) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบและประเมินผล

4. การวิเคราะห์ข้อมูล วิเคราะห์ความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์ระหว่างเทคนิค Allele Specific PCR และเทคนิค Automate Cation Exchange Chromatography โดยการเปรียบเทียบความถูกต้องของทั้งสองเทคนิคกับวิธีมาตรฐาน Gene Sequencing

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างเลือดที่ตรวจโดยวิธี HPLC และ LPLC ที่ให้ผลเป็นพาหะเบต้าธาลัสซีเมียตามเกณฑ์ที่ค่าเปอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบินเอ-สอง มีค่า 4.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 100 รายนำมาตรวจเพื่อหาพาหะเบต้าธาลัสซีเมีย โดยเทคนิค ASPCR พบผลสอดคล้องกันร้อยละ 90 ดังตารางที่ 1 และผลการตรวจยืนยันโดยวิธี Gene Sequencing สอดคล้องกับวิธี ASPCR ร้อยละ 100 ดังตารางที่ 2 และจากการตรวจโดยวิธี ASPCR ยังสามารถแยกชนิดของพาหะเบต้าธาลัสซีเมียได้ดังตารางที่ 3 และสามารถแยกได้ว่า เป็นเบต้าศูนย์หรือเบต้าบวกธาลัสซีเมียซึ่งถ้าเป็นเบต้าศูนย์ธาลัสซีเมียถือว่าเป็นชนิดรุนแรง โดยผลพบเบต้าศูนย์ธาลัสซีเมียจำนวน 59 รายคิดเป็นร้อยละ 65.5 ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 1 ร้อยละของผลการตรวจเบต้าธาลัสซีเมียด้วยวิธี ASPCR จากตัวอย่างที่มีผลการตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบินมีค่าเปอร์เซ็นต์เอ-สอง 4.0 เปอร์เซนต์ขึ้นไป

จำนวนตัวอย่าง $A_2 \geq 4\%$ (ราย)	จำนวนตัวอย่างให้ผล บวก วิธี ASPCR (ราย)	ร้อยละ	จำนวนตัวอย่างให้ผลบวก Gene Sequencing (ราย)	ร้อยละ
100	90	90	90	90

ตารางที่ 2 ร้อยละของผลการตรวจเบต้าธาลัสซีเมียด้วยวิธี ASPCR เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน Gene Sequencing

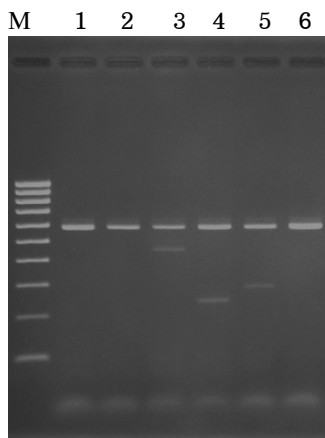
จำนวนตัวอย่าง ให้ผลบวก ASPCR (ราย)	จำนวนตัวอย่าง ให้ผลบวก Gene Sequencing (ราย)	ร้อยละ	จำนวนตัวอย่าง ให้ผลลบวิธี ASPCR (ราย)	จำนวนตัวอย่าง ให้ผลลบ Gene Sequencing (ราย)	ร้อยละ
90	90	100	10	10	100

ตารางที่ 3 ร้อยละผลการตรวจแยกชนิดของเบต้าศูนย์ธาลัสซีเมียและเบต้าบวกธาลัสซีเมียที่พบได้บ่อยในประเทศไทย

β -thalassemia Mutation	Type	No of Alleles (%)
CD 41/42	0	37 (41.1)
CD 17	0	16 (7.78)
Nucleotide - 28	+	30 (3.3)
CD 71/72	0	2 (2.2)
IVS I - 1	0	2 (2.2)
IVS II - 654	0	2 (2.2)
IVS I-5	+	1 (1.1)

ตารางที่ 4 ร้อยละของเบต้าศูนย์ธาลัสซีเมียที่พบในเบต้าธาลัสซีเมียเทรต

จำนวนตัวอย่าง ให้ผลบวก ASPCR (ราย)	จำนวนตัวอย่าง ให้ผลบวก β^0 - thalassemia (ราย)	ร้อยละ
90	59	65.5



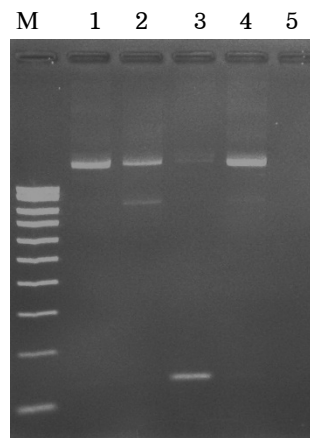
Lane 1,2 = Negative

Lane 3 = Positive $\beta^{41/42}$ (445 bp)

Lane 4 = Positive β^{17} (243 bp)

Lane 5 = Positive $\beta^{IVSI\#5}$ (243 bp)

Lane 6 = Internal control (578 bp)



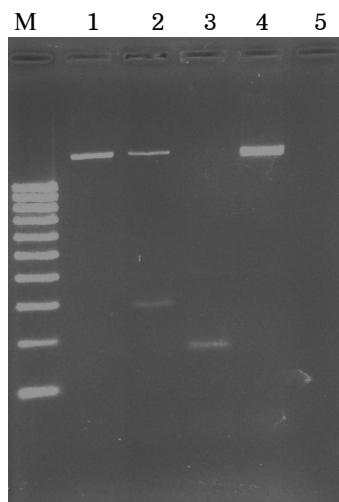
Lane 1 = Negative

Lane 2 = Positive β^{-28} (800 bp)

Lane 3 = Positive $\beta^{71/72}$ (130 bp)

Lane 4 = Internal control (1 Kb)

Lane 5 = Reagent control



Lane 1 = Negative

Lane 2 = Positive $\beta^{IVSI\#1}$ (284 bp)

Lane 3 = Positive $\beta^{IVSI\#654}$ (243 bp)

Lane 4 = Internal control (1,419 bp)

Lane 5 = Reagent control

ภาพที่ 1 ภาพถ่ายเจลอีเล็กโตรโฟรีซิสการตรวจเบต้าธาลัสซีเมียด้วยวิธี ASPCR โดยสามารถแยกชนิดของพาหะเบต้าธาลัสซีเมียได้ตามตำแหน่งลำดับเบสของยีนที่ปรากฏ

สรุปและวิจารณ์

ปี 2555 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 7 ขอนแก่น ได้ตรวจหาฮีนฟีดปกติสายเบต้าโดยวิธี AS-PCR โดยตรวจในตัวอย่างเลือดที่วินิจฉัยว่าเป็นเบต้าธาลัสซีเมียที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบินเอ-สองตั้งแต่ 4 % ขึ้นไป จำนวน 100 ราย ผลการตรวจพบว่าให้ผลบวกจำนวน 90 รายคิดเป็นร้อยละ 90 แสดงให้เห็นว่าการกำหนดค่าเอ-สองตั้งแต่ 4 % ขึ้นไปมีความถูกต้องร้อยละ 90 และยังพบว่าเป็นเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงถึงร้อยละ 65.5 ซึ่งให้ผลคล้ายกับการศึกษาของสุภาวดี ยามศรีและคณะ⁽⁵⁾ และได้นำตัวอย่างทั้งหมด ตรวจยืนยันด้วยการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรม (Gene sequencing) ให้ผลตรงกันกับวิธี ASPCR ร้อยละ 100 การศึกษาวิจัยครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ASPCR มีความถูกต้องรวดเร็วใช้เวลาในการตรวจเพียงวันเดียว อีกทั้งมีความแม่นยำและราคาถูกเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานคือวิธี Gene sequencing ซึ่งต้องใช้เครื่องมือพิเศษและมีราคาแพง ขั้นตอนยุ่งยาก ใช้เวลาในการตรวจหลายวัน ดังนั้นวิธี ASPCR สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการให้บริการเพื่อค้นหาพาหะและผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียอย่างครบวงจร นอกจากนั้นข้อมูลการตรวจวิเคราะห์ยังใช้ประโยชน์ในการวางแผนป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียให้ครอบคลุมทั้งผู้ที่เป็นโรคชนิดรุนแรง ชนิดปานกลาง และผู้ที่เป็นพาหะ เพื่อให้สามารถทำการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียได้อย่างสมบูรณ์ครบถ้วน ส่งผลให้ลดจำนวนผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียรายใหม่ได้มากยิ่งขึ้นอันจะนำไปสู่การบริหารจัดการทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์ในการพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการเพื่อสนับสนุนการควบคุมโรคธาลัสซีเมียของประเทศให้สามารถดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและเกิดประสิทธิผลต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณ พุเจริญ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจ

วินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้คำปรึกษา คุณ สิริภากร แสงกิจพร นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ ศูนย์วิจัยทางคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจยืนยันโดยวิธี Gene Sequencing และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเครือข่ายเขตสุขภาพที่ 7 ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในโครงการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียแห่งชาติอย่างดียิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์วิจัยทางคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. หนังสือการประชุมวิชาการเรื่องธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 15 “ตั้งใจถาม ความหวังดี วิธีเลิศ”. นนทบุรี; 2552.
2. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องการตรวจ DNA เพื่อวินิจฉัยพาหะและโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย. “ธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย”. ขอนแก่น; 2552.
3. Fucharoen S. Hemoglobin E disorders. In: Steinberg MH, editor. Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge University Press; 2001. p.1139-54.
4. Fucharoen S, Winichagoon P, Issaragrisil S. Hemoglobin E disorders. In: Aurelio Maggio & A.V. Hoffbrand, editors. Clinical Aspects and Therapy of Hemoglobinopathies. Italy: Proprieta letteraria riservata; 2004. p 511-25.
5. Yamsri S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Saeng N, Ratanasiri T, Fucharoen S. Prevention of severe thalassemia in northeast Thailand 16 years of experience at a single university center. Prenat Diagn 2010; 30: 540-6.