

การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ที่มีความเสี่ยง ต่อโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

ชาตากานต์ ฝโลประการ พ.บ., ว.ว.สูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา, ว.ว.เวชศาสตร์มารดาและทารกในครรภ์*

บทคัดย่อ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบบ่อยที่สุดในประเทศไทย โรคนี้เกิดจากความผิดปกติของการสร้างเฮโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ซึ่งมีหลายชนิด ธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงอาจทำให้ทารกเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือทันทีหลังคลอด และทำให้มารดาเกิดภาวะครรภ์เป็นพิษตามมาได้ บางชนิดทำให้เกิดอาการซีดเรื้อรัง ตับและม้ามโต กระดูกเสีรูปร่าง และร่างกายเจริญเติบโตช้ากว่าปกติในระยะหลังคลอด การรักษาธาลัสซีเมียให้หายขาดทำได้โดยการปลูกถ่ายไขกระดูก ซึ่งเป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายสูงและเกิดภาวะแทรกซ้อนได้มาก ดังนั้นการรักษาส่วนใหญ่ในปัจจุบันจึงเป็นเพียงการรักษาตามอาการ ทั้งนี้การแก้ปัญหาธาลัสซีเมียที่มีประสิทธิภาพคือการป้องกันการเกิดโรคซึ่งทำได้โดยการตรวจคัดกรองพาหะของโรคในหญิงตั้งครรภ์ทุกรายและสามี ในกรณีที่ทารกในครรภ์มีความเสี่ยงต่อโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดควรทำในช่วงเวลาที่สมควร เพื่อนำไปสู่การดูแลรักษาที่เหมาะสมต่อไปได้

Abstract

Prenatal Diagnosis for Severe Thalassemia

Chadakarn Phaloprakarn MD

Department of Obstetrics and Gynecology, BMA Medical College and Vajira Hospital

Thalassemia is the most common genetic disease in Thailand. This disease results from abnormal hemoglobin synthesis in red blood cells. There are several forms of thalassemia. The severe form can cause intrauterine fetal death or early neonatal death, which may in turn lead to maternal preeclamptic condition. Some forms can cause chronic anemia, hepatosplenomegaly, bone changes, and growth retardation in postnatal life. The curative treatment of thalassemia is bone marrow transplantation, which is costly and may cause various complications. Therefore, current therapy in majority of patients is symptomatic treatment. An effective way to solve the thalassemia problem is to prevent a new case by screening for a carrier in all couples. In a circumstance that the fetus is at risk for severe thalassemia, a prenatal diagnosis should be performed in a suitable time, so that an appropriate management can be done.

Key words: prenatal diagnosis, thalassemia

* ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล

บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal recessive¹ ที่พบอุบัติการณ์สูงมากในประเทศไทยและมีแนวโน้มจะเพิ่มมากขึ้นทุกปี สาเหตุของโรคนี้เกิดจากความผิดปกติที่ยีนทำให้การสร้างเฮโมโกลบินที่เม็ดเลือดแดงผิดปกติ¹ ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะซีดเรื้อรังและพยาธิสภาพอื่น ๆ ตามมา^{1,2} ได้แก่ อาการเหนื่อย หอบ บวม ตัวและม้ามโต น้ำในถุงน้ำดี กระดูกเสียรูปทรง และร่างกายเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ ในรายที่เป็นรุนแรงมากอาจทำให้เสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์หรือทันทีภายหลังคลอด และอาจทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่อมารดาคือภาวะครรภ์เป็นพิษตามมาได้¹

ในประเทศไทยพบผู้ที่เป็พพาหะของโรคธาลัสซีเมียร้อยละ 30 - 40 (18 - 24 ล้านคน)² และร้อยละ 1 ของประชากร (620,000 คน) ป่วยเป็นโรค² การตั้งครรภ์ 5 ใน 100 ราย เป็นการตั้งครรภ์ที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรค โดยครึ่งหนึ่งจะเป็นโรคชนิดรุนแรงและต้องเข้ารับการรักษาตลอดอายุขัย² ทั้งนี้ค่าใช้จ่ายในการรักษาต่อรายประมาณ 10,000 บาทต่อเดือน ดังนั้นค่าใช้จ่ายในการรักษาแต่ละรายที่เป็นโรคชนิดรุนแรงตลอดอายุขัย (10-30 ปี) ประมาณ 1,200,000-3,600,000 บาท โรคธาลัสซีเมียจึงเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศ เป็นปัญหาต่อครอบครัว สังคม จิตวิทยา และเศรษฐกิจ ตลอดจนรัฐบาลที่จะต้องสูญเสียงบประมาณและบุคลากรต่าง ๆ ในการดูแลผู้ป่วยเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการป้องกันและควบคุมมิให้ทารกเกิดใหม่ป่วยเป็นโรคชนิดรุนแรงได้จะเป็นประโยชน์ต่อสังคมและช่วยลดค่าใช้จ่ายของประเทศชาติ

การจำแนกประเภทของธาลัสซีเมีย

ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ของยีนธาลัสซีเมียทำให้เกิดกลุ่มอาการธาลัสซีเมียได้มากกว่า 60 ชนิด³⁻⁵ สำหรับโรคธาลัสซีเมียที่ถือว่าเป็นชนิดรุนแรงและจำเป็นต้องได้รับการป้องกันและควบคุมไม่ให้เกิดผู้ป่วยรายใหม่ขึ้น มี 3 ชนิด⁶ ได้แก่

1. Alpha thalassemia syndrome คือ
 - 1.1 Hb Bart's hydrops fetalis (α -thal 1/ α -thal 1)
2. Beta thalassemia syndrome คือ
 - 2.1 Homozygous β -thalassemia (β -thal/ β -thal)
 - 2.2 β -thalassemia/Hb E disease

การตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมีย

การตรวจคัดกรองคู่สมรสเสี่ยง (couple at risk) อาจทำได้โดยการซักประวัติเกี่ยวกับโรคเลือดจางธาลัสซีเมียในญาติพี่น้อง ประวัติเคยตั้งครรภ์บุตรเป็นธาลัสซีเมีย หรือเคยตรวจคัดกรองพบว่า เป็นพาหะมาแล้ว ซึ่งเรียกว่า retrospective screening อย่างไรก็ตาม เนื่องจากพาหะของธาลัสซีเมียในประเทศไทยมีเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการตรวจคัดกรองจึงควรทำในหญิงตั้งครรภ์ทุกราย เรียกว่า universal prospective study สำหรับวิธีการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่ใช้อย่างแพร่หลายในประเทศไทย⁶ ได้แก่

1. การตรวจค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (red cell indices) ประกอบด้วย mean corpuscular volume (MCV) และ mean corpuscular hemoglobin (MCH) เป็นค่าที่ตรวจวัดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ (automated cell analyzer) ซึ่งค่าดัชนีต่ำหมายถึง ต่ำกว่า mean-2 S.D. ในผู้ใหญ่ที่เป็นพาหะของ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia จะมีค่า MCV ต่ำกว่า 80 fl หรือ MCH น้อยกว่า 27 pg อย่างไรก็ตาม ในรายที่เป็น homozygous Hb E, homozygous α -thalassemia 2 และผู้ที่มีภาวะเลือดจางจากการขาดธาตุเหล็ก จะพบ MCV เล็กเช่นเดียวกัน

2. วิธี one tube osmotic fragility test (OF test) เป็นการตรวจหาความเปราะของเม็ดเลือดแดง โดยดูการแตกของเม็ดเลือดแดงในน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.36 ซึ่งเม็ดเลือดแดงของคนปกติจะแตกหมด แต่ในพาหะของ α -thalassemia 1, β -thalassemia และรายที่เป็น homozygous Hb E จะแตกไม่หมด อย่างไรก็ตาม ในรายที่มีภาวะเลือดจางจากการขาดธาตุเหล็ก และร้อยละ 5 ของรายที่ปกติ ก็ให้ผลบวกจากการทดสอบได้เช่นกัน นอกจากนี้รายที่เป็นพาหะของ α -thalassemia 2, Hb E และ Hb CS อาจได้ผลเช่นเดียวกับคนปกติ

3. วิธีทดสอบเฮโมโกลบินไม่เสถียรโดยการตกตะกอนด้วยสี DCIP (dichlorophenol-indophenol precipitation test) สี DCIP มีคุณสมบัติทำให้โมเลกุลของเฮโมโกลบินที่ไม่เสถียรสลายตัวและตกตะกอน จึงใช้ตรวจหาเฮโมโกลบินผิดปกติ ได้แก่ Hb E และ Hb H

ในทางปฏิบัตินั้น การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์จำเป็นต้องเลือกวิธีที่ครอบคลุมโอกาสเสี่ยงของทารกต่อการเกิดโรคชนิดรุนแรงทั้ง 3 โรค คือ Hb Bart's hydrops fetalis,

homozygous β -thalassemia และ β -thalassemia/Hb E disease ดังนั้น วิธีที่เหมาะสมอาจเป็นการตรวจคัดค้นเม็ดเลือดแดงร่วมกับวิธีทดสอบเฮโมโกลบินไม่เสถียรโดยการตกตะกอนด้วยสี DCIP หรือวิธี one tube osmotic fragility test ร่วมกับวิธีทดสอบเฮโมโกลบินไม่เสถียรโดยการตกตะกอนด้วยสี DCIP ในกรณีที่การตรวจคัดกรองหญิงตั้งครรภ์พบว่าผิดปกติ (อย่างน้อย 1 วิธี) ควรทำการตรวจคัดกรองคู่สมรสต่อไป แต่ถ้าการตรวจคัดกรองหญิงตั้งครรภ์พบว่าปกติ (ทั้ง 2 วิธี) ก็ไม่จำเป็นต้องตรวจคัดกรองคู่สมรส และถ้าหญิงตั้งครรภ์และคู่สมรสมีผลการตรวจคัดกรองผิดปกติทั้งคู่ ก็จำเป็นต้องทำการตรวจวินิจฉัยหญิงตั้งครรภ์และคู่สมรสเพิ่มเติมต่อไป

การตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมีย

วิธีมาตรฐานที่ใช้ในการวินิจฉัยธาลัสซีเมียคือการตรวจ hemoglobin electrophoresis ซึ่งเป็นการตรวจชนิดของเฮโมโกลบินโดยดูตำแหน่งการเคลื่อนที่บนสนามไฟฟ้า สำหรับเทคนิคที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ในปัจจุบัน คือ เทคนิค high-performance liquid chromatography (HPLC)⁶ ซึ่งเป็นการแยกชนิดของโปรตีนโดยอาศัยความแตกต่างของประจุไฟฟ้า ในภาวะกรดต่างที่แตกต่างกันของเฮโมโกลบินแต่ละชนิด ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับตัวกลางที่มีประจุไฟฟ้า ความแรงของการจับระหว่างเฮโมโกลบินและตัวกลางขึ้นกับคุณสมบัติเฉพาะตัวของเฮโมโกลบิน และเวลาที่เฮโมโกลบินแต่ละชนิดถูกชะออกจากตัวกลางขึ้นอยู่กับความแรงที่เฮโมโกลบินจับตัวกลางและสารละลายที่ใช้ วิธีนี้สามารถให้การวินิจฉัยได้ทั้งโรคและพาหะของธาลัสซีเมีย อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดของวิธีนี้คือไม่สามารถแยกพาหะของ α -thalassemia 1 และพาหะของ α -thalassemia 2 ได้ชัดเจน และต้องอาศัยผู้ชำนาญในการดูแลเครื่องมือ

คู่สมรสที่ได้รับการวินิจฉัยว่าทารกในครรภ์มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ควรจะได้รับคำปรึกษาทางพันธุศาสตร์เพื่อการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ต่อไป

การตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ (prenatal diagnosis)

ในปัจจุบันมีการตรวจหลายวิธี ซึ่งมีรายละเอียดแตกต่างกันดังนี้

1. การตรวจ DNA ของทารกในครรภ์⁶⁻⁹ วิธีนี้ใช้วินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้ทั้ง 3 ชนิด คือ Hb Bart's hydrops fetalis, homozygous β -thalassemia และ β -thalassemia/Hb E disease ทั้งนี้ เทคนิคการเก็บตัวอย่าง DNA ของทารกในครรภ์อาจเก็บได้จาก

1.1 การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อรก (chorionic villus sampling; CVS)^{6,10,11} ทำในช่วงอายุครรภ์ 10-14 สัปดาห์ โดยการดูดหรือตัดชิ้นเนื้อรกผ่านทางปากมดลูก (transcervical) หรือทางหน้าท้อง (transabdominal) โดยอาศัยการตรวจคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นตัวชี้นำ วิธีนี้มีอัตราเสี่ยงต่อการแท้งประมาณร้อยละ 1

1.2 การเจาะน้ำคร่ำ (amniocentesis)^{6,7} ทำในช่วงอายุครรภ์ 16-20 สัปดาห์ โดยการใช้เข็มเจาะน้ำไขสันหลังเบอร์ 21 เจาะผ่านทางหน้าท้องเข้าสู่โพรงมดลูก ทิศทางและความลึกอาศัยการตรวจคลื่นเสียงความถี่สูงตรวจตลอดเวลาเพื่อลดน้ำคร่ำทำการส่งตรวจ วิธีนี้มีอัตราเสี่ยงต่อการแท้งประมาณร้อยละ 0.5

1.3 การเก็บตัวอย่างเลือดทารกในครรภ์ (fetal blood sampling)⁶ ทำในช่วงอายุครรภ์ตั้งแต่ 18 สัปดาห์ขึ้นไป โดยการใช้เข็มเจาะน้ำไขสันหลังเบอร์ 21 เจาะผ่านทางหน้าท้องเข้าสู่โพรงมดลูก ทิศทางและความลึกอาศัยการตรวจคลื่นเสียงความถี่สูง ตรวจตลอดเวลาเพื่อเจาะเลือดของทารกจากสายสะดือหรือ intrahepatic vein วิธีนี้มีอัตราเสี่ยงต่อการแท้งประมาณร้อยละ 2-3

การตรวจ DNA ในปัจจุบันนิยมใช้เทคนิค reverse dot blot analysis ในการตรวจหา known mutation ของยีนธาลัสซีเมีย ข้อดีของการตรวจ DNA คือทำให้ทราบถึงชนิดของ mutation ทำให้สามารถวินิจฉัยโรคได้แม่นยำกว่า และพยากรณ์ระดับความรุนแรงของโรคได้ดีกว่าวิธีการตรวจ hemoglobin electrophoresis ของเลือดทารกในครรภ์ ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดต่อไป อย่างไรก็ตาม การตรวจ DNA มีข้อเสียคือราคาแพง และอาจเกิดกรณี unknown mutation ของยีนธาลัสซีเมีย ทำให้ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ ซึ่งอาจต้องทำการทดสอบอื่น เช่น การตรวจ Hb typing ของทารกในครรภ์

2. การตรวจ hemoglobin electrophoresis (Hb typing) ของเลือดทารกในครรภ์⁶ ทำในช่วงอายุครรภ์ ตั้งแต่ 18 สัปดาห์ขึ้นไป โดยการใช้เข็มเจาะน้ำไขสันหลังเบอร์ 21 เจาะผ่านทางหน้าท้องเข้าสู่โพรงมดลูก โดยอาศัยการตรวจคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นตัวชี้นำ เพื่อเจาะเลือดจากสายสะดือของทารกมาส่งตรวจ hemoglobin electrophoresis เพื่อวัดปริมาณสัดส่วนต่าง ๆ ของเฮโมโกลบินในเลือดทารก โดยปกติ ทารกจะมีค่า Hb A ประมาณ ร้อยละ 4-7 ในขณะที่ β -thalassemia trait จะมี Hb A ร้อยละ 1.3-3.8 ส่วน Hb E trait จะพบ Hb A ร้อยละ 1.3-3.8 ร่วมกับ Hb E ร้อยละ 0.5-1.5 ที่เหลือเป็น Hb F ส่วน homozygous α -thalassemia 1 (Hb Bart's hydrops fetalis) จะไม่พบ Hb F และ Hb A เลย แต่จะพบ Hb Bart's มากกว่า

ร้อยละ 80 สำหรับ homozygous β -thalassemia จะไม่พบ Hb A เลย และสำหรับ β -thalassemia/Hb E disease จะไม่พบ Hb A เช่นกัน แต่พบ Hb E ร้อยละ 0.5-1.5 และที่เหลือเป็น Hb F ถึงแม้วิธีนี้จะมีความไวต่ำกว่าการตรวจ DNA แต่ในทางปฏิบัตินั้น การเจาะเลือดจากสายสะดือทารกเป็นเทคนิคที่ต้องอาศัยผู้ชำนาญในการทำหัตถการ วิธีนี้มีอัตราเสี่ยงต่อการแท้งค่อนข้างสูงคือประมาณร้อยละ 2-3 นอกจากนี้สัดส่วนเฮโมโกลบินของทารกในครรภ์มีความแตกต่างจากของผู้ใหญ่ ทำให้บางครั้งไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้

3. การตรวจคลื่นเสียงความถี่สูง^{12,13} เป็นวิธีที่ไม่ invasive และค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ไม่สามารถใช้วินิจฉัยโรคธาลัสซีเมียชนิด homozygous β -thalassemia และ β -thalassemia/Hb E disease ได้ สำหรับการวินิจฉัย Hb Bart's hydrops fetalis นั้น หลังอายุครรภ์ 20 สัปดาห์สามารถตรวจพบลักษณะ hydropic change ในทารกบวมน้ำที่เกิดจาก homozygous α -thalassemia 1 คือ ภาวะบวมน้ำทั้งตัว หัวใจโต มีน้ำในช่องเยื่อหุ้มหัวใจและช่องท้อง รกโตหนา น้ำคร่ำปริมาณลดลง เป็นต้น^{12,13} ทั้งนี้ ทารกที่ตรวจพบลักษณะดังกล่าวจากการตรวจคลื่นเสียงความถี่สูง ควรได้รับการยืนยันการวินิจฉัยโดยการเจาะเลือดจากสายสะดือส่งตรวจ hemoglobin electrophoresis

การรักษาทารกในครรภ์ที่เป็นธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

ได้มีความพยายามปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดแก่ทารกในครรภ์ (intrauterine hematopoietic stem cell transplantation) เพื่อรักษาโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง อย่างไรก็ตาม จนถึงปัจจุบันการรักษาดังกล่าวยังไม่ประสบความสำเร็จ

ปัญหาของการตรวจคัดกรองและวินิจฉัยโรคธาลัสซีเมีย

ในปัจจุบันการวางระบบตรวจคัดกรองและวินิจฉัยธาลัสซีเมียในหญิงตั้งครรภ์ยังคงเป็นปัญหาสำคัญของชาติ เนื่องจากบุคลากรเป็นจำนวนมากยังขาดความรู้ ความเข้าใจ ไม่ว่าจะเป็นการแปลผลการตรวจคัดกรองหรือการวินิจฉัยโดย Hb typing ที่ยังมีความสับสน อีกทั้งการตรวจความผิดปกติระดับ DNA สามารถทำได้แต่ในโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยหรือห้องปฏิบัติการขนาดใหญ่เท่านั้น นอกจากนี้ปัญหาหญิงตั้งครรภ์มาฝากครรภ์ช้าหรือการติดตามสามียากก็เป็นอุปสรรคสำคัญต่อการตรวจวินิจฉัยโรคหรือการประเมินความเสี่ยงต่อทารกในครรภ์

สรุป

โรคธาลัสซีเมียเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย การป้องกันและควบคุมโรคที่ได้ผลดีที่สุดคือการลดจำนวนทารกเกิดใหม่ที่เป็นโรคชนิดรุนแรง สิ่งนี้จะประสบความสำเร็จได้คงต้องอาศัยองค์ประกอบหลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นการให้ความรู้แก่ประชาชนและบุคลากรทางการแพทย์ การตรวจคัดกรองหญิงตั้งครรภ์ทุกราย และการวินิจฉัยทารกในครรภ์ได้อย่างถูกต้อง เพื่อให้ได้การดูแลรักษาที่เหมาะสมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. สุทัศน์ ฟูเจริญ, ปราณี (วินิจจะกุล) ฟูเจริญ. Thalassemia and hemoglobinopathy. ใน: ถนอมศรี ศรีชัยกุล, แสงสุรีย์ จูฑา, บรรณาธิการ. ตำราโลหิตวิทยา การวินิจฉัยและการรักษาโรคเลือดที่พบบ่อยในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ที.พี.พรินท์; 2537. หน้า 202-42.
2. คณะอนุกรรมการประเมินสถานการณ์โรคธาลัสซีเมีย. ใน: บุญเชียร ปานเสถียรกุล, บรรณาธิการ. สถานการณ์ปัจจุบันและกลวิธีในการป้องกันและควบคุมโรคเลือดในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: นวัตกรรมพิมพ์; 2533. หน้า 5-43.
3. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia: molecular biology and clinical medicine. Hemoglobin 1997; 21: 299-319.
4. Wasi P, Pootrakul P, Fucharoen S, Winichagoon P, Wilairat P, Promboon A. Thalassemia in Southeast Asia: determination of different degrees of severity of anemia in thalassemia. Ann N Y Acad Sci 1985; 445: 119-26.
5. Winichagoon P, Thonglairoam V, Fucharoen S, Wilairat P, Fukumaki Y, Wasi P. Severity differences in β -thalassemia/haemoglobin E syndromes: implication of genetic factor. Br J Haematol 1993; 83: 633-9.
6. ปราณี (วินิจจะกุล) ฟูเจริญ. Laboratory diagnosis of thalassemia and hemoglobinopathies. ใน: ทศนีย์ เลื่อนนาค, สุทัศน์ ฟูเจริญ, ปราณี ฟูเจริญ, นกตล ศิริธนาวัฒน์กุล, วรพรรณ ดันไพจิตร, บรรณาธิการ. Thalassemia: from molecular biology to clinical medicine.

- พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์
แห่งประเทศไทย; 2548. หน้า 85-99.
7. Kazazian HH Jr, Philips III JA, Boehm CD, Vik TA, Mahoney MJ, Ritchey AK. Prenatal diagnosis of β -thalassemia by amniocentesis: linkage analysis using multiple polymorphic restriction endonuclease sites. *Blood* 1980; 56: 926-30.
 8. Kan YW, Lee KY, Furbetta M, Angius A, Cao A. Polymorphism of DNA sequence in the β -globin gene region: application to prenatal diagnosis of β -thalassemia in Sardinia. *N Eng J Med* 1980; 302: 185-8.
 9. Pirastu M, Kan YW, Cao A, Conner BJ, Teplitz RL, Wallace RB. Prenatal diagnosis of β -thalassemia: detection of a single nucleotide mutation in DNA. *N Eng J Med* 1983; 309: 284-7.
 10. Rodeck CH, Morsman JM, Nicolaides KH, McKenzie C, Gosden CM, Gosden JR. A single-operator technique for first-trimester chorion biopsy. *Lancet* 1983; 2: 1340-1.
 11. Smidt-Jensen S, Hahnemann N, Hariri J, Jansen PK, Therkelsen AJ. Transabdominal chorionic villi sampling for first trimester fetal diagnosis: first 26 pregnancies followed to term. *Prenat Diagn* 1986; 6: 125-32.
 12. Lam YH, Ghosh A, Tang MHY, Lee CP, Sin SY. Second-trimester hydrops fetalis in pregnancies affected by homozygous alpha-thalassemia-1. *Prenat Diagn* 1997; 17: 267-9.
 13. Ko TM, Tseng CH, Hsu PM, Hwa HL, Lee TY, Chuang SMI. Ultrasonographic scanning of placental thickness and the prenatal diagnosis of homozygous alpha-thalassemia 1 in the second trimester. *Prenat Diagn* 1995; 15: 7-10.