

บทความพื้นวิชา

Molecular Basis of Thalassemia and Hemoglobin Disorder

กิตติ ต่อจรัส

กองพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบอุบัติการณ์ของธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติสูงโดยเฉพาะในประเทศไทยพบผู้ที่เป็นพาหะและเป็นโรคร้อยละ 30-40 และ 1 ตามลำดับ¹ เนื่องจากโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติเป็นโรคถ่ายทอดทางพันธุกรรม การทราบพยาธิสภาพระดับโมเลกุลสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ทางคลินิกและการป้องกันโรคที่จะเกิดขึ้นใหม่

ยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีน

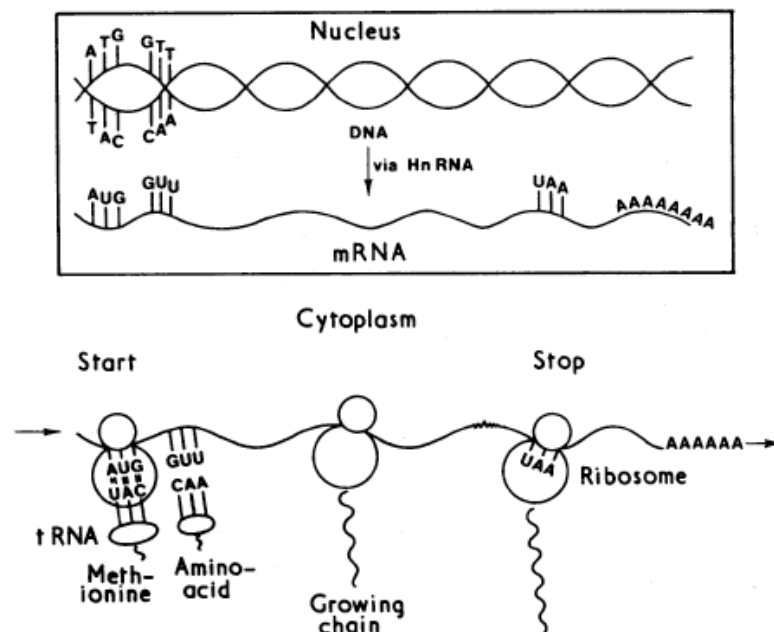
เซลล์ของสิ่งมีชีวิตประกอบด้วย cytoplasm และ nucleus ใน nucleus จะมี deoxynucleic acid (DNA) 2 เส้นพันกันเป็นเกลียว ใน DNA จะมี base 4 ชนิด ประกอบด้วย adenine (A), thymine (T), guanine (G), และ cytosine (C) ในการกำหนดให้มีการสร้างโปรตีนโดยจะมีรหัส (genetic code) ประกอบด้วย base 3 ตัว กำหนดให้สร้าง กรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งจะประกอบเป็นโปรตีนต่อไป กระบวนการสร้างโปรตีนดังกล่าวจึง

ประกอบด้วย 1) มีการคลายเกลียวของคู่ DNA 2) มีการ copy รหัสของ DNA เป็น messenger ribonucleic acid (mRNA) โดย thymine (T) จะเปลี่ยนเป็น uridine (U) 3) หลังจากนั้น mRNA จะออกจาก nucleus มาสู่ cytoplasm 4) โดยอาศัย ribosome และ transfer RNA (tRNA) จะมีรหัส AUG ทำให้มีการเริ่มสร้าง amino acid ตัวแรกซึ่งคือ methionine กระบวนการสร้างจะดำเนินต่อไปจนได้โปรตีนที่ต้องการ 5) การสร้างโปรตีนจะสิ้นสุดโดยมีรหัส UAA ให้หยุดการสร้าง² ขั้นตอนการสร้างโปรตีนสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 1

วิวัฒนาการของการสร้าง Hb

ใน hemoglobin ซึ่งมีโปรตีนหรือโกลบิน (globin) ที่สำคัญอยู่ 3 ชนิด คือ alpha (α), beta (β) และ gamma (γ) globin จะมีการบวนการสร้างโปรตีนขึ้นตามทีกล่าวข้างต้น ทารกในครรภ์จะมี Hb F ซึ่งประกอบด้วย α และ γ globin อย่างละ 2 เส้น เมื่อ

ทารกใกล้คลอดจะมีการสร้าง Hb A ซึ่งประกอบด้วย α และ β globin อย่างละ 2 เส้น หลังคลอดการสร้าง Hb F ลดลงและจะหมดไปในอายุมากกว่า 1 ปี ส่วน delta (δ) globin จะสร้างหลังคลอดเช่นกันรวมกับ β globin เป็น Hb A₂ โดยในผู้ใหญ่จะมี Hb A และ Hb A₂ ร้อยละ 97 และ 3 ตามลำดับ



รูปที่ 1 แสดงความกระบวนการสร้างโปรตีน

ยีนที่ควบคุมการสร้างฮีโมโกลบิน

ในคนปกติโครโมโซมคู่ที่ 11 จะมี β globin gene cluster ประกอบด้วย β -gene, δ -gene, γ -gene และ ϵ -gene และบนโครโมโซมคู่ที่ 16 จะมี α globin gene cluster ประกอบด้วย $\alpha 1$, $\alpha 2$ gene และ zeta (ζ) gene การสร้าง α และ β globin ถูกกำหนดโดย α -gene กับ β -gene เกิดเป็น Hb A ($\alpha 2\beta 2$) ส่วน α -gene

กับ δ -gene คู่การสร้าง α และ δ globin เกิดเป็น Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$) และ α -gene กับ γ -gene คู่การสร้าง α และ γ globin เกิดเป็น Hb F ($\alpha_2\gamma_2$)

ธาลัสซีเมียเป็นโรคชนิดทางพันธุกรรมที่ถ่ายทอดแบบ autosomal recessive แบ่งธาลัสซีเมียเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือมี α และ β -thalassemia จะมี α และ β -thalassemia gene กำหนดให้การสร้าง α หรือ β globin ในปริมาณที่ลดลงหรือสร้างไม่ได้ตัวอย่างเช่น α^0 -thalassemia และ α^+ -thalassemia จะไม่มีการสร้าง α globin และสร้างได้ในปริมาณที่ลดลงตามลำดับ นอกจากนี้ผู้ที่ไม่มีฮีโมโกลบินผิดปกติ เช่น Hb E จะมี Hb E gene ซึ่งอยู่บน beta globin gene cluster ควบคุมให้มีการสร้าง Hb E ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติทำหน้าที่เหมือน β -thalassemia trait เป็นต้น

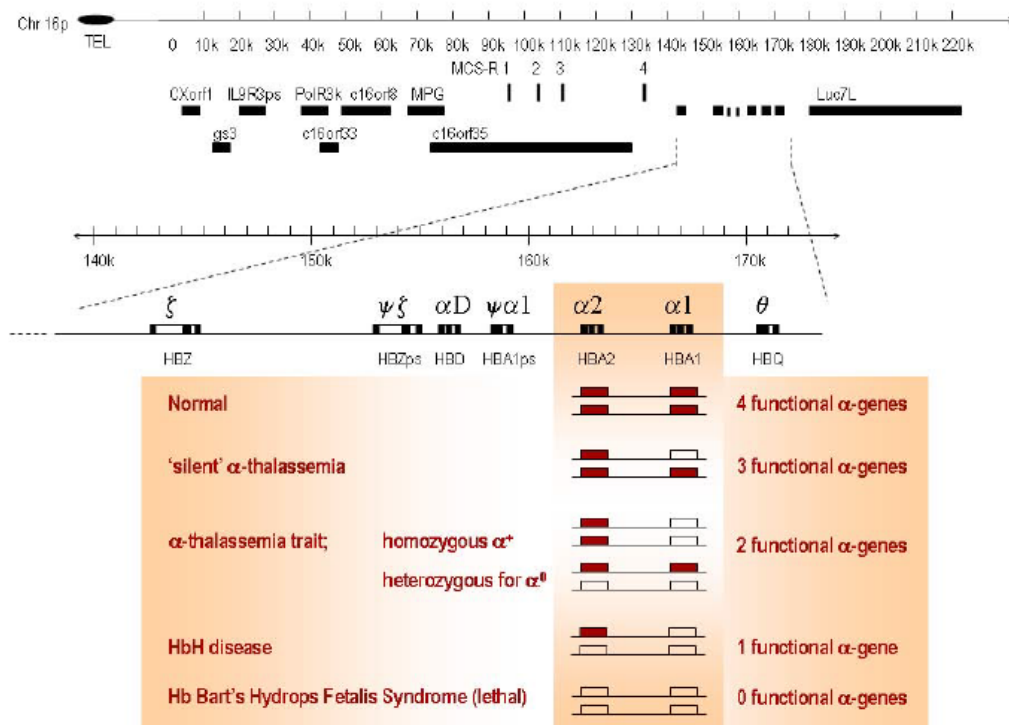
α - thalassemia and abnormal Hb

ในคนปกติ α - thalassemia gene จะมียีนที่ทำหน้าที่ (functional gene) 4 gene หรือเขียนเป็น $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ผู้ที่เป็นพาหะ α - thalassemia 1 (- α/α) ส่วนใหญ่เป็นชนิดเกิดจากการขาดหายของยีนไป (deletion)³ จากการศึกษาดูพบเป็นชนิด

SEA (Southeast Asian) หรือ - $\alpha^{SEA}/\alpha\alpha$ และ THAI deletion หรือ - $\alpha^{THAI}/\alpha\alpha$ ร้อยละ 99 และ 1 ตามลำดับ⁴ แต่สำหรับพาหะ α - thalassemia 2 (- α/α) นั้น ตรวจพบทั้งชนิด 3.7 kb deletion และ 4.2 kb deletion โดยชนิด 3.7 kb deletion พบได้มากกว่า⁵ (ตารางที่ 1) functional gene ในพาหะและโรคของกลุ่มแอลฟาธาลัสซีเมียดังแสดงในรูปที่ 2 ในส่วนของ α - thalassemia 2 ชนิด non deletion นั้น ตรวจพบ hemoglobin ผิดปกติ 5 ชนิด คือ Hb Constant Spring (α_2 : Term-Gln) และ Hb Pakse' (α_2 : Term-Tyr)⁵, Hb Quang Sze (α_{125} Leu - Pro)^{5,6}, Hb Q-Thailand [α_{74} Asp - His & (- $\alpha^{4.2}$)]⁷ และ codon 30 (GAG deletion)⁸ นอกจากนั้นยังพบ Hb Pak Num Po⁹ ที่เกิดจาก insertion ของ nucleotide T ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 1 แสดง α -thalassemia ชนิด deletion ที่พบบ่อย

α -thalassemia mutation	Phenotype
Southeast Asian deletion (-SEA)	α^0
Thai deletion (-Thai)	α^0
3.7 kb deletion (- $\alpha^{3.7}$)	α^+
4.2 kb deletion (- $\alpha^{4.2}$)	α^+



รูปที่ 2 แสดง functional gene ใน α -thalassemia บนโครโมโซมคู่ที่ 16

ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ประกอบด้วย Hb H, Hb Bart's hydrops fetalis และ Hb A E Bart's disease ตัวอย่างของ Hb H มีลักษณะของยีน (genotype) ได้หลากหลายโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ ชนิดที่มีการขาดหายของยีน (deletional Hb H disease) และ ไม่มีการขาดหายของยีน (non-deletional Hb H disease)⁵ ดังตารางที่ 2 ส่วนอาการแสดงของ Hb H, Hb H-CS และ Hb PS ดังตารางที่ 3 แม้ว่า α -thalassemia 1 ที่พบบ่อยจะเป็นชนิด SEA deletion แต่อย่างไรก็ตามยังพบ Hb Bart's hydrops fetalis ที่เกิดจาก homozygous α - thalassemia 1 ชนิด SEA deletion ร่วมกับ THAI deletion ($-SEA/-THAI$) ในคนไทยได้¹⁰ ดังนั้นการตรวจกรองพาหะของ α -thalassemia 1 จึงจะตรวจชนิด THAI deletion ร่วมด้วยเสมอ

β - thalassemia and abnormal Hb

การสร้าง β -globin ได้น้อยหรือไม่มีการสร้างเลยทำให้เกิด β^+ หรือ β^0 - thalassemia ตามลำดับ พยาธิสภาพส่วนน้อยเกิดจาก deletion ส่วนใหญ่เกิดจากใน DNA มีการแทนที่ของเบส (single base substitution) ดังรูปที่ 3 ในกระบวนการของการสร้างสายโกลบินคือ transcription, mRNA processing และ translation^{11, 12} จากการศึกษา β - thalassemia gene พบว่าเป็นกลุ่มที่มีอาการน้อย (mild β^+ - thalassemia) พบ 3 ชนิด คือ - 28 (A-G), -87 (C-A) และ codon 19 (Hb Malay) ส่วน severe β^+ - thalassemia พบ 2 ชนิด คือ IVS2#654 (C-T) และ IVS1#5 (G-C) ที่เหลือเป็นกลุ่มที่มีอาการมาก (β^0 -thalassemia) ทั้งหมด สำหรับ Hemoglobin ผิดปกติในกลุ่ม β -thalassemia ดังแสดงในตารางที่ 4

ประโยชน์ของการตรวจความผิดปกติระดับโมเลกุลของ β -thalassemia คือใช้ในการวางแผนควบคุมและป้องกันการ

ตารางที่ 2 แสดง Genotype ของ Hb H disease

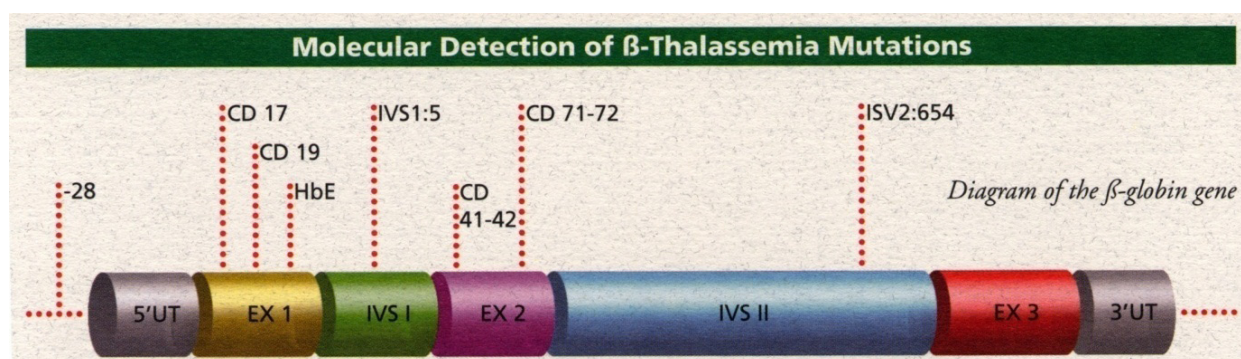
Genotype	Number	%
Deletional Hb H disease		
--SEA/- $\alpha^{3.7}$	135	38.03
--SEA/- $\alpha^{4.2}$	5	1.41
--THAI/- $\alpha^{3.7}$	1	0.28
--SEA/- $\alpha^{4.2}$ (Q-Thailand)	1	0.28
Total	142	40.0
Non-deletional Hb H disease		
--SEA/ α^{CS}	181	51.0
--SEA/ α^{PS}	23	6.48
--SEA/ α^{PNP}	3	0.84
--SEA/ α^{OS}	2	0.56
--THAI/ α^{CS}	1	0.28
--SEA/ $\alpha^{Anti\ G-T}$	1	0.28
--SEA/ α^{AATA-}	1	0.28
--SEA/ $(\alpha\alpha)^{unknown}$	1	0.28
Total	213	60.0

SEA = Southeast Asian; CS=Constant Spring;

PS = Pakse'; PNP = Pak Nam Po

ตารางที่ 3 แสดงอาการแสดงของ Hb H, Hb H-CS และ Hb PS

Symptoms	Hb H	Hb H-CS and Hb PS
N	125	145
Age at first transfusion (yr)	11 $\pm$ 5.5	1.5 $\pm$ 2.1
History of blood transfusion	29%	50%
Growth retardation	rare	15%
Anemia	58%	65%
Jaundice	24%	27%
Hepatomegaly	6%	11%
Splenomegaly	15%	24%
Gall stones	10%	28%



รูปที่ 3 แสดงความผิดปกติระดับโมเลกุลของ β - thalassemia

ตารางที่ 4 แสดงฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศไทย

Hemoglobin	Mutation	Base change
α-thalassemia		
Hb Q Thailand	α 34 Asp $\rightarrow$ His	<u>G</u> AC $\rightarrow$ <u>C</u> AC
Hb Saun Dok	α 109 Leu $\rightarrow$ Arg	CTG $\rightarrow$ C <u>G</u> G
Hb Quong Sze	α 125 Leu $\rightarrow$ Pro	CTG $\rightarrow$ C <u>C</u> G
Hb Pak Num Po	α 131/132 insertion	+T
Hb Constant Spring	α C terminal elongation	<u>T</u> AA $\rightarrow$ <u>C</u> AA
Hb Pakse'	α C terminal elongation	<u>T</u> AA $\rightarrow$ <u>T</u> AT
β-thalassemia		
Hb C	β 6 Glu $\rightarrow$ Lys	<u>G</u> AG $\rightarrow$ <u>A</u> AG
Hb S	β 6 Glu $\rightarrow$ Val	<u>G</u> AG $\rightarrow$ G <u>T</u> G
Hb Siriraj	β 7 Glu $\rightarrow$ Lys	<u>G</u> AG $\rightarrow$ AAG
Hb Malay	β 19 Asn $\rightarrow$ Ser	A <u>A</u> C $\rightarrow$ A <u>G</u> C
Hb E	β 26 Glu $\rightarrow$ Lys	<u>G</u> AG $\rightarrow$ AAG
Hb Pygos	β 83 Gly $\rightarrow$ ASp	G <u>G</u> C $\rightarrow$ G <u>A</u> C
Hb D Punjab	β 121 Glu $\rightarrow$ Gln	GAA $\rightarrow$ <u>C</u> AA
Hb Khon Kaen	β 123-125 (-8bp)	-ACCC <u>C</u> ACC
Hb Dhonburi	β 126 Val $\rightarrow$ Gly	G <u>T</u> G $\rightarrow$ G <u>G</u> G
Hb Hope	β 136 Gly $\rightarrow$ Asp	G <u>G</u> T $\rightarrow$ GAT
Hb Tak	β C terminal elongation	+AC
$\delta\beta$-thalassemia		
Hb Leporee Washington-Boston	δ 87- β 116 fusion	deletion
Hb Leporee-Hollandia	δ 22- β 50 fusion	deletion

เกิดผู้ป่วยธาลัสซีเมียรายใหม่โดยการวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอด (prenatal diagnosis, PND) และบอกความรุนแรงของโรค ความผิดปกติของ β -thalassemia gene ที่พบบ่อย ในแต่ละภูมิภาคในประเทศไทยจะพบอุบัติการณ์ได้ แตกต่างกันดังตารางที่ 5

Hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH)

เป็นภาวะที่ไม่มีการสร้าง β globin เป็นผลให้มีการสร้าง γ globin มากขึ้นทำให้มีปริมาณ Hb F หรือ fetal Hb สูงตลอด (persistence of fetal hemoglobin) และเกิดจากถ่ายทอดของยีนหรือเรียกว่าเป็นพันธุกรรม (hereditary) จึงเรียกภาวะนี้ว่าเป็น hereditary persistence of fetal hemoglobin หรือเขียนย่อเป็น HPFH ภาวะนี้ทำให้มีการสร้าง Hb F สูงอาการไม่รุนแรง ซีดไม่มากสาเหตุหรือพยาธิสภาพมีได้หลายอย่างเช่น จากการผ่าเหล่าของ γ gene (single point mutation of γ -globin gene promotor) หรือจากการขาดหายไปส่วน β -globin gene cluster ทำให้มีการขาดหายไปของ $\delta\beta$ และ γ -gene เช่น $^G\gamma$ ($^A\gamma\delta\beta$)⁰ และ HPFH-6

จะพบปริมาณ Hb F ปริมาณ 9.9% และ 17.2-20.0% ตามลำดับ ผู้ที่เป็นพาหะของ HPFH จะมีอาการรุนแรงน้อยอาจซีดเล็กน้อย MCV ต่ำเล็กน้อย ระดับ Hb F อยู่ระหว่าง 10-20%¹³

Delta-Beta thalassemia [$(\delta\beta)^0$ -thalassemia]

เดลต้าเบต้าธาลัสซีเมีย ($\delta\beta$ -thalassaemia) เป็นภาวะที่มีการแสดงออกของ γ -globin gene และไม่มีแสดงออกของ $\delta\beta$ -globin gene ผลจะมีการสร้าง Hb F สูง เม็ดเลือดแดงจะติดสีจางมีขนาดเล็ก (hypochromic microcytic red cell) ผู้ที่เป็นพาหะจะมี Hb F ระหว่าง 4-18%¹⁴

HPFH-6/ β -thalassemia และ HPFH-6 /Hb E

เป็น thalassemia intermedia ที่เกิดจากยีน HPFH-6 ร่วมกับ β -thalassemia gene และ HPFH-6 ร่วมกับ Hb E gene ตามลำดับอาการทางคลินิกจะไม่รุนแรงตรวจทางห้องปฏิบัติการพบซีดเล็กน้อย MCV ต่ำเล็กน้อย ตรวจเสมียร์เลือดพบเม็ดเลือดแดง

ตารางที่ 5 แสดงอุบัติการณ์ความผิดปกติของ β -thalassemia gene ในประเทศไทยแบ่งตามภูมิภาค

No.	ความผิดปกติ (mutation)	ชนิด	กรุงเทพ ¹⁷ จำนวน (%)	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ¹⁸ จำนวน (%)	ภาคใต้ ¹⁹ จำนวน (%)	ภาคเหนือ ²⁰ จำนวน (%)
1.	Codon 41/42 (-CTTT)	β^0	50 (36.3)	307 (36.1)	33 (32.0)	108 (49.5)
2.	Codon 17 (A-T)	β^0	24 (17.4)	215 (25.3)	11 (10.7)	75 (34.4)
3.	-28 (A-G)	β^+	20 (14.5)	191 (22.5)	8 (7.8)	3 (1.4)
4.	IVS II-654 (C-T)	β^0	8 (5.8)	19 (2.2)	1 (0.9)	1 (0.4)
5.	IVS I-5 (G-C)	β^+	7 (5.1)	14 (1.6)	23 (12.3)	-
6.	Codon 71/71 (+A)	β^0	6 (4.3)	36 (4.2)	1 (0.9)	13 (6)
7.	-31 (A-G)	β^+	4 (3.0)	1 (0.1)	-	1 (0.4)
8.	Codon 19 (A-G)	β^+	3 (2.2)	1 (0.1)	8 (7.8)	-
9.	IVS I-1 (G-T)	β^0	3 (2.2)	26 (3.1)	8 (7.8)	15 (6.9)
10.	Codon 35 (C-A)	β^0	2 (1.4)	4 (0.4)	-	-
11.	-87 (C-A)	β^+	1 (0.7)	2 (0.2)	-	2 (1.0)
12.	Del 3.4 kb	β^+	1 (0.7)	19 (2.2)	-	-
13.	Codon 126 (T-G)	β^+	3 (2.2)	-	-	-
14.	Int (T-G)	β^0	2 (1.4)	-	-	-
15.	-30 (T-C)	β^+	2 (1.4)	-	-	-
16.	Codon 16/17(+G)	β^0	1 (0.7)	-	-	-
17.	Codon 123/125(-8bp)	β^0	1 (0.7)	-	-	-
18.	Codon 43 (G-T)	β^0	-	6 (0.7)	-	-
19.	Codon 26 (G-T)	β^+	-	4 (0.5)	-	-
20.	Codon 95 (+A)	β^+	-	1 (0.1)	8 (7.8)	-
21.	Codon 41 (-C)	β^+	-	-	1 (0.9)	-
22.	Uncharacterized		-	-	5 (4.8)	-
รวม			138 (100)	849 (100)	103 (100)	218 (100)

ดิดสีจาง (hypochromic) มีขนาดเล็ก (microcytosis) ตรวจชนิดของฮีโมโกลบิน (Hb type) จะพบ Hb A₂F และ Hb E F ตามลำดับ ผู้ป่วยไม่จำเป็นต้องได้รับเลือด (non-transfusion dependent) การดำเนินชีวิตใกล้เคียงปกติ¹⁵

Hemoglobin Lepore

เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติเกิดจากการรวมกัน (hybrid) ของ δ และ β globin เกิดจาก unequal crossover ของ δ และ β globin gene ชนิดที่พบได้แก่ Hb Lepore-Washington-Boston, Hb Lepore-Baltimore และ Hb Lepore-Hollandia ผู้ที่เป็นพาหะจะมีลักษณะทางคลินิกเป็น β -thalassemia trait การสังเคราะห์ Hb F สูงหากมีปฏิสัมพันธ์กับ β - thalassemia หรือ Hb E จะมีลักษณะเป็นแบบ thalassemia intermedia¹⁶

การศึกษา $\delta\beta$ - thalassemia และ HPFH ในระดับโมเลกุล¹⁴ พบร้อยละ 92.7 เกิดจาก DNA deletion ขนาดใหญ่แตกต่างกันสามารถจำแนกออกเป็นชนิด $\gamma^A\gamma(\delta\beta)^0$ -thalassemia พบร้อยละ 54.2, deletional HPFH-6 พบร้อยละ 30.4 และชนิด deletion-inversion $\gamma^A(\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia พบร้อยละ 8.1 ที่เหลืออีก ร้อยละ 7.3 บางส่วนตรวจพบว่าเกิดจากภาวะ high Hb F determinant อื่นๆ เช่น Chinese $\gamma^A(\gamma\delta\beta)^0$ -thalassemia, SEA -HPFH และ $\delta\beta$ -hybrid Hb (Hb Lepore type) เป็นต้น ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยแยกภาวะ $\delta\beta$ - thalassemia และ HPFH ออกจาก β - thalassemia ในงานประจำวันจึงมีความสำคัญต่อการดูแลรักษาและให้คำปรึกษาแนะนำทางพันธุกรรมแก่ผู้ป่วยและผู้ที่เกี่ยวข้อง

โดยสรุป ปัจจุบันเนื่องจากการสังเกตพบชนิดของฮีโมโกลบินมากขึ้น จึงมีโอกาสตรวจพบฮีโมโกลบินผิดปกติมากขึ้น อาจจำเป็นต้องตรวจ Hb type ของบุคคลในครอบครัวร่วมด้วย และการวินิจฉัยข้อมูลเหล่านี้จำเป็นต้องใช้การตรวจหลายๆ อย่างร่วมกัน ตลอดจนลักษณะพื้นฐานการเกิดฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ และโรคธาลัสซีเมียในระดับโมเลกุล เพื่อให้การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการถูกต้องนำมาซึ่งการให้บริการการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ เพื่อการวางแผนงานการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียให้ลดลง

เอกสารอ้างอิง

1. Fucharoen S, Winichagoon P. Haemoglobinopathies in southeast Asia. *Indian J Med Res* 2011;134:498-506.
2. Weatherall DJ. Molecular basis for some disorders of haemoglobin synthesis I. *Br Med J* 1974;4(5942):451-4.
3. Hartevelde CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:13.
4. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha(0)-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2007;117:78-82.
5. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009:26-34.
6. Laosombat V, Wiriyasateinkul A, Chrangtrakul Y, Fucharoen S. Rapid detection of an alpha thalassemia variant (Hb Quong Sze). *Haematologica* 2003;88:ELT27.
7. Singsanan S, Karnpean R, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-Ung N, Fucharoen S. Hemoglobin Q-Thailand related disorders: origin, molecular, hematological and diagnostic aspects. *Blood Cells Mol Dis* 2010;45:210-4.
8. 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.
9. Viprakasit V, Tanphaichitr VS, Veerakul G, Chinchang W, Petrarat S, Pung-Amritt P, et al. Co-inheritance of Hb Pak Num Po, a novel alpha1 gene mutation, and alpha0 thalassemia associated with transfusion-dependent Hb H disease. *Am J Hematol* 2004;75:157-63.
10. Siriratmanawong N, Pinmuang-Ngam C, Fucharoen G, Fucharoen S. Prenatal diagnosis of Hb Bart's hydrops fetalis caused by a genetic compound heterozygosity for two different alpha-thalassemia determinants. *Fetal Diagn Ther* 2007;22:264-8.
11. Kazazian HH, Jr., Boehm CD. Molecular basis and prenatal diagnosis of beta-thalassemia. *Blood* 1988;72:1107-16.
12. Thein SL, Winichagoon P, Hesketh C, Best S, Fucharoen S, Wasi P, et al. The molecular basis of beta-thalassemia in Thailand: application to prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet* 1990;47:369-75.
13. Carrocini GC, Zamaro PJ, Bonini-Domingos CR. What influences Hb fetal production in adulthood? *Rev Bras Hematol Hemoter* 2011;33:231-6.
14. Panyasai S, Fucharoen S, Surapot S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Molecular basis and hematologic characterization of deltabeta-thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin in Thailand. *Haematologica* 2004;89:777-81.
15. 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.
16. Viprakasit V, Pung-Amritt P, Suwanthorn L, Clark K, Tanphaichitr VS. Complex interactions of deltabeta hybrid haemoglobin (Hb Lepore-Hollandia) Hb E (beta(26G-->A)) and alpha+ thalassaemia in a Thai family. *Eur J Haematol* 2002;68:107-11.
17. Viprakasit V, Limwongse C, Sukpanichnant S, Ruangvutilert P, Kanjanakorn C, Glomglao W, et al. Problems in determining thalassemia carrier status in a program for prevention and control of severe thalassemia syndromes: a lesson from Thailand. *Clin Chem Lab Med* 2013:Inpress.
18. Yamsri S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-Ung N, Fucharoen S. Genotype and phenotype characterizations in a large cohort of beta-thalassemia heterozygote with different forms of alpha-thalassemia in northeast Thailand. *Blood Cells Mol Dis* 2011;47:120-4.
19. Laosombat V, Fucharoen SP, Panich V, Fucharoen G, Wongchanchailert M, Sriroongrueng W, et al. Molecular basis of beta thalassemia in the south of Thailand. *Am J Hematol* 1992;41:194-8.
20. Sirichotiyakul S, Saetung R, Sanguansermsri T. Analysis of beta-thalassemia mutations in northern Thailand using an automated fluorescence DNA sequencing technique. *Hemoglobin* 2003;27:89-95.