ค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอี ที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน โดยวิธีทางอิมมูนในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

นางสาวลลิตา วัฒนะจรรยา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

REFERENCE INTERVALS FOR HEMOGLOBIN A_{1c} IN NON-DIABETIC ADULTS WITH HEMOGLOBIN E ESTABLISHED BY IMMUNOASSAY METHOD IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL

Miss Lalita Wattanachanya

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic year 2007

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน โดยวิธีทางอิมมูนในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
โดย	นางสาว ลลิตา วัฒนะจรรยา
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อดิศร ภัทราดูลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ บุญส่ง องค์พิพัฒนกุล)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ กมล แก้วกิติณรงค์)

ลลิตา วัฒนะจรรยา : ค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน โดยวิธีทางอิมมูนในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (REFERENCE INTERVALS FOR HEMOGLOBIN A_{1c} IN NON-DIABETIC ADULTS WITH HEMOGLOBIN E ESTABLISHED BY IMMUNOASSAY METHOD IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL) อ. ที่ปรึกษา : รศ.นพ. สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร, 53 หน้า.

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย : ระดับฮีโมโกลบินเอวันซีใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงผลรวมของการควบคุมระดับกลูโคสในเลือดในช่วง 2-3 เดือนที่ผ่านมา ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังจากโรคเบาหวาน แต่อย่างไรก็ตามมีหลายปัจจัยที่มีผลกระทบต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซีนี้ รวมทั้งโรคธาลัสซีเมียและภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมายังมีข้อมูลน้อยเกี่ยวกับค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอีทั้งชนิดแฝงและชนิดโฮโมไซโกส ซึ่งเป็นชนิดที่พบได้บ่อยในประเทศไทย

วัตถุประสงค์ในการวิจัย : เพื่อศึกษาค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยฮีโมโกลบินอีทั้งชนิดแฝงและชนิดโฮโมไซโกส ที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน โดยวิธีทางอิมมูนที่ใช้ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

วิธีการทำวิจัย : เก็บข้อมูลและตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวานทั้งชนิดแฝงและชนิดโฮโมไซโกส กลุ่มละ 60 คน และกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 60 คน ทำการวัดระดับน้ำตาลก่อนอาหารและระดับฮีโมโกลบินเอวันซีโดยใช้เครื่อง Roche Cobas Integra และหาค่าอ้างอิงโดยคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย : ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงและชนิดโฮโมไซโกส เท่ากับร้อยละ 5.22±0.39 (ค่าอ้างอิงร้อยละ4.44-6.0) ร้อยละ5.45±0.35 (ค่าอ้างอิงร้อยละ4.75-6.15) และร้อยละ5.23±0.33 (ค่าอ้างอิงร้อยละ4.57-5.89) ตามลำดับ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันโดยใช้ ANCOVA โดยปรับเรื่องอายุ ดัชนีมวลกาย และระดับน้ำตาลก่อนอาหาร พบว่าค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงแตกต่างกับอีก 2 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง p=0.032, กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส p=0.017) แต่ค่าความแตกต่างนั้นเท่ากับ 0.2 ซึ่งถือว่าไม่มีนัยสำคัญทางคลินิกที่ชัดเจน

สรุปผลการวิจัย : แม้ว่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ระหว่างกลุ่มจะมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ผลต่อการรักษาผู้ป่วยทางคลินิกน้อย ดังนั้นในทางปฏิบัติสามารถใช้ค่าอ้างอิงเดียวกันกับกลุ่มประชากรปกติได้

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2550.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4974768530 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : HEMOGLOBIN A_{1c} / THALASSEMIA AND HEMOGLOBINOPATHY / HOMOZYGOUS, HETEROZYGOUS HEMOGLOBIN E / IMMUNOASSAY METHOD

LALITA WATTANACHANYA : REFERENCE INTERVALS FOR HEMOGLOBIN A_{1c} IN NON-DIABETIC ADULTS WITH HEMOGLOBIN E ESTABLISHED BY IMMUNOASSAY METHOD IN KING CHULALONGKORN MEMORIAL HOSPITAL. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMPONGSE SUWANWALAIKORN, M.D. 53 pp.

Background : Hemoglobin A_{1c} (Hb A_{1c}) reflects blood glucose over the previous 2-3 months and is widely accepted as a valuable indicator for long-term glucose homeostasis. The presence of hemoglobin variants can affect the accuracy of some Hb A_{1c} methods. The effect of hemoglobin E on Hb A_{1c} levels had been studied but the reference intervals for Hb A_{1c} in non-diabetic adults with hemoglobin E are not well defined.

Objective : To establish Hb A_{1c} reference intervals for subjects with homozygous and heterozygous Hb E with the commercially available determinations method for Hb A_{1c} in King Chulalongkorn Memorial Hospital.

Methods : A total of 180 blood samples were obtained (60 normal hemoglobin typing, 60 heterogygous HbE and 60 homozygous HbE). HbA_{1c} measurements were performed with immunoassay method (Roche Cobas Integra). The reference intervals were calculated in mean$\pm$2SD.

Results : Mean$\pm$SD for HbA_{1c} in non-diabetic adults with normal Hb typing, heterozygous HbE and homozygous HbE were 5.22$\pm$0.39% (interval 4.44-6.0), 5.45 $\pm$ 0.35% (interval 4.75-6.15) and 5.23$\pm$0.33% (interval 4.57-5.89), respectively. The mean differences between normal Hb typing group vs heterozygous HbE group and heterozygous HbE group vs homozygous HbE group were statistical significance (p=0.032 and p=0.017,respectively)

Conclusion : In this study, although there was a statistical significance in the mean differences between heterozygous HbE group and the others, a clinical implication was little values. So we can use the same reference intervals as in general populations.

Department Medicine Student's signature

Field of study Medicine Advisor's signature

Academic year 2007 Co-Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของรศ.นพ.สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ช่วยแก้ปัญหา ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ในการวิจัย ด้วยดีมาตลอด และขอขอบพระคุณ รศ.พญ. ปราณี สุจริตจันทร์ หน่วยโลหิตวิทยา ที่ให้ฐานข้อมูลรายชื่อผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียและภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดอี ที่มารับการตรวจที่โรงพยาบาจุฬาลงกรณ์

ขอขอบคุณกองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภชน์ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณรายจ่ายต่างๆ

ขอขอบคุณคุณโศภิตศจี ปสาทรัตน์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยต่อมไร้ท่อ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชั้น 4 ตึก ภปร. ที่ได้กรุณาช่วยเก็บตัวอย่างเลือดและการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณคุณอาภาภรณ์ การินทร์ คุณชนิดา กาญจนาภา และคุณวาณี เปล่งพานิชย์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ที่ช่วยเหลือในการทำวิจัยเป็นอย่างดียิ่ง

ขอขอบคุณคุณวสันต์ ปัญญาแสง ที่ได้ให้คำแนะนำการใช้สถิติในการคำนวณขนาดตัวอย่างและการวิเคราะห์ข้อมูลแก่ผู้วิจัยในเรื่องนี้เป็นอย่างดี

และสุดท้ายต้องขอขอบพระคุณผู้ป่วยทุกท่านที่เสียสละเวลาและให้ความร่วมมือจนงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญรูป..... ฌ

สารบัญตาราง..... ญ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... ฏ

บทที่

1. บทนำ..... 1

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย..... 1

คำถามของการวิจัย..... 2

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

กรอบแนวความคิดในการวิจัย..... 3

ข้อตกลงเบื้องต้น..... 4

คำสำคัญ..... 4

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย..... 4

ปัญหาทางจริยธรรม..... 4

ข้อจำกัดในการวิจัย..... 4

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 5

อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข..... 5

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 6

ฮีโมโกลบินเอวันซี..... 6

วิธีอ้างอิงมาตรฐานสำหรับการตรวจวิเคราะห์หาระดับฮีโมโกลบินเอวันซี..... 10

ภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอี..... 19

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... 22

หน้า

3. วิธีการดำเนินการวิจัย..... 25
รูปแบบการวิจัย..... 25
ประชากรศึกษาและตัวอย่าง..... 25
กฎเกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา..... 25
กฎเกณฑ์การตัดออกจากการศึกษา..... 25
การคำนวณขนาดตัวอย่าง..... 26
วิธีดำเนินการวิจัย..... 27
การสังเกตและการวัด..... 27
การเก็บรวบรวมข้อมูล..... 27
การวิเคราะห์ข้อมูล..... 27
4. ผลการวิจัย..... 29
คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา..... 29
ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่ม..... 34
5. การอภิปรายผลการวิจัย..... 35
6. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 38
สรุปผลการวิจัย..... 38
ข้อเสนอแนะ..... 38
รายการอ้างอิง..... 39
ภาคผนวก..... 47
ภาคผนวก ก. แบบบันทึกข้อมูล..... 48
ภาคผนวก ข. ใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย..... 50
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 53

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.	โมเลกุลของฮีโมโกลบิน	5
2.	แสดงปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับโปรตีนโดยไม่อาศัยเอนไซม์ซึ่งได้ผลผลิตเป็นเบสซึ่งไม่คงตัว (Schiff base) ภายหลังมีการจัดเรียงโมเลกุลใหม่ (Amadori rearrangement) ได้เป็นฮีโมโกลบินเอวันซีที่คงตัวตัว	8
3.	การวิเคราะห์หาฮีโมโกลบินเอวันซี ด้วยวิธี Ion-Exchange chromatography ...	11
4.	แสดงเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบินเอวันซีที่ได้จากเครื่องโครมาโทกราฟฟี แบบต่างๆ	12
5.	การวิเคราะห์หาฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยวิธี Affinity chromatography	13
6.	การวิเคราะห์หาฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยวิธีทางอิมมูน (Immunoassay method)	14
7.	อุบัติการณ์ของโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในประเทศไทยแยกตามภาค	18
8.	การแทนที่กรดอะมิโนกลูตามิกด้วยกรดอะมิโนไลซีนที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 26 ของสายบีตาโกลบินของฮีโมลโกลบินอี.....	19
9.	แสดงตำแหน่งการเคลื่อนที่ของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆในสนามไฟฟ้า	19
10.	แสดงการกระจายตัวของข้อมูลเป็นแบบการแจกแจงแบบปกติทั้ง 3 กลุ่ม.....	31

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	แสดงชนิดของฮีโมโกลบินในมนุษย์.....	6
2.	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซี กับค่าพลาสมากลูโคสเฉลี่ยทั้งวัน..... …	8
3.	วิธีตรวจหาฮีโมโกลบินเอวันซีแบบต่างๆ	9
4.	แสดงผลของภาวะที่มีความผิดปกติภายในสายโกลบินที่เคยมีการศึกษาในต่างประเทศต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ในเครื่องที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน.....	15
5.	แสดงค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงของฮีโมโกลบินอีชนิดต่างๆ.	20
6.	แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษาจำแนกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส จำนวนกลุ่มละ 60 ราย.....	28
7.	แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	29
8.	แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่ม.....	32
9.	แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีทั้ง 3 กลุ่มโดยใช้ ANCOVA...	33

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
UKPDS	United Kingdom prospective diabetes study
Hb	Hemoglobin
HbE	Hemoglobin E
Hb A_{1c}	Hemoglobin A_{1c}
GHb	Glycated hemoglobin
CBC	Complete blood count
Hct	Hematocrit
MCV	Mean corpuscular volume
BUN	Blood urea nitrogen
Cr	Creatinine
HPLC	High performance liquid chromatography
SD	Standard deviation

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)

โรคเบาหวาน เกิดจากความผิดปกติทางเมตะบอลิสม ซึ่งมีลักษณะสำคัญคือระดับน้ำตาลกลูโคสสูงในเลือด (Hyperglycemia) ซึ่งเป็นผลจากความบกพร่องในการหลั่งอินสุลิน หรือ การออกฤทธ์ของอินสุลิน หรือ ทั้งสองอย่างร่วมกัน การเกิดน้ำตาลกลูโคสสูงในเลือดเป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังซึ่งเป็นผลให้มีการทำลาย, การเสื่อมสมรรถภาพ และการล้มเหลวในการทำงานของอวัยวะต่างๆ ที่สำคัญ ได้แก่ ตา (retinopathy), ไต (nephropathy), เส้นประสาท (neuropathy) และหลอดเลือดแดงทั้งขนาดเล็ก (microangiopathy) และขนาดใหญ่ (macroangiopathy)

การรักษาโรคเบาหวานให้ได้ผลดีต้องให้ความรู้เกี่ยวกับโรคแก่ผู้ป่วย และต้องติดตามและประเมินผลการรักษาเป็นระยะๆ เพื่อป้องกัน หรือชะลอภาวะแทรกซ้อนเรื้อรัง อันได้แก่การตรวจระดับน้ำตาลในเลือด และ การตรวจระดับฮีโมโกลบินเอวันซี โดยระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในเลือดใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงผลรวมของการควบคุมระดับกลูโคสในเลือดในช่วงระยะเวลา 2-3 เดือนที่ผ่านมา ซึ่งมีข้อมูลที่ชัดเจนจากการศึกษาวิจัยว่าสามารถทำนายการเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังจากเบาหวานในอนาคตได้แม่นยำกว่าการใช้ค่าระดับน้ำตาลก่อนอาหาร หรือ น้ำตาลหลังอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 ที่มีระดับกลูโคสในเลือดแกว่งมาก ทั้งการศึกษา DCCT(Diabetes Control and Complications Trial)(1) และ UKPDS (United Kingdom prospective diabetes study)(2) แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ผู้ป่วยเบาหวานที่มีระดับฮีโมโกลบินเอวันซีสูงจะมีโอกาสเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังมากกว่าผู้ป่วยที่มีระดับฮีโมโกลบินเอวันซีต่ำ ดังนั้นสมาคมเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกาจึงแนะนำให้ใช้เกณฑ์ที่ค่าต่ำกว่าร้อยละ 7 (3) เป็นเป้าหมายในการควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวาน เนื่องจากเป็นระดับที่สัมพันธ์กับการลดอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังได้อย่างชัดเจน

แม้ว่าการตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีจะมีประโยชน์มากดังกล่าว แต่พบว่ามีหลายภาวะที่มีผลกระทบต่อค่าฮีโมโกลบินเอวันซีนี้ เช่น กรณีที่เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้นกว่าปกติ ได้แก่ โรคเม็ดเลือดแดงแตกง่ายทุกชนิด, ภาวะที่มีการเสียเลือดทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง, โรคธาลัสซีเมียและภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ, การตั้งครรภ์ หรือภาวะไตวาย เป็นต้น ซึ่งจะทำให้ค่าที่ได้สูงหรือต่ำกว่าปกติแล้วแต่วิธีที่ใช้ในการตรวจวัด ซึ่งต้องระมัดระวังในการแปลผลด้วย (4-6)

เนื่องจากประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของโรคธาลัสซีเมียได้มาก ทั้งแบบแฝงและแบบที่แสดงอาการ กระจายอยู่ทั่วทุกภูมิภาค โดยพบความชุกของโรคธาลัสซีเมียแอลฟาร้อยละ 20-30, โรคธาลัสซีเมียบีตาร้อยละ 3-10 และฮีโมโกลบินอีร้อยละ 8-54 เป็นกลุ่มที่พบได้บ่อยที่สุดทั่วประเทศ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (7) โดยรายงานจากต่างประเทศพบอุบัติการณ์การของโรคเบาหวานในผู้ป่วยกลุ่มนี้ตั้งแต่ร้อยละ 2.3 ถึงร้อยละ 24 (8-12) โดยเฉพาะในกลุ่มโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียที่เป็นมาก และยังเป็นปัญหาในการตรวจติดตามการควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเหล่านี้อยู่ ซึ่งแม้ว่าจะมีการตรวจวัดไกลโคโปรตีนอื่นๆ เช่น ฟรุกโตซามีน แต่ก็ไม่มีหลักฐานทางคลินิกที่บ่งถึงระดับที่สัมพันธ์กับการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานในอนาคต

การศึกษานี้ต้องการหาค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน เนื่องจากเป็นกลุ่มที่พบได้บ่อยและไม่สามารถวินิจฉัยได้จากลักษณะภายนอก เป็นกลุ่มที่มีปัจจัยรบกวนน้อยไม่ต้องได้รับเลือดจากภายนอก โดยการตรวจจะใช้เครื่องที่ใช้อยู่ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ คือเครื่อง Roche Cobas Integra ที่อาศัยหลักการทางอิมมูน ซึ่งการศึกษาผลของฮีโมโกลบินผิดปกติส่วนมากทำในฮีโมโกลบินเอส และฮีโมโกลบินซี ซึ่งพบได้บ่อยในต่างประเทศ ส่วนฮีโมโกลบินอียังมีข้อมูลน้อยเกี่ยวกับผลดังกล่าว

คำถามของการวิจัย (Research Question)

ค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน ทั้งชนิดแฝงและชนิดโฮโมไซโกส มีค่าเป็นเท่าไร

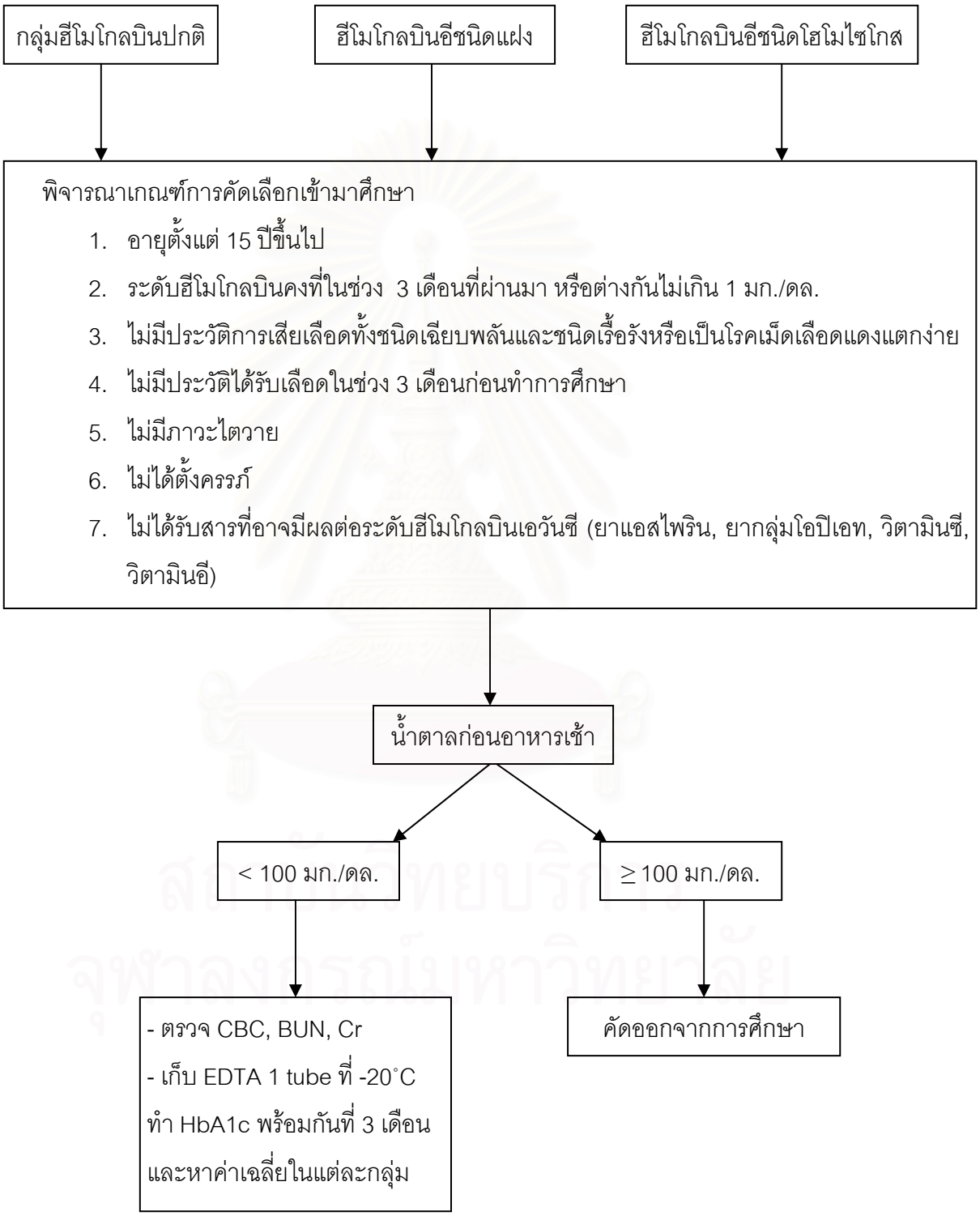
วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

เพื่อศึกษาหาค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยฮีโมโกลบินอี ที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน ทั้งชนิดแฝงและชนิดโฮโมไซโกส เพื่อใช้เป็นค่าอ้างอิงในการตรวจติดตามกรณีที่เป็นโรคเบาหวานแทนค่าอ้างอิงในกลุ่มประชากรปกติ

สมมุติฐาน (Hypothesis)

ไม่มี

กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework)



ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

ผลการศึกษาระดับฮีโมโกลบินเอวันซีที่ได้จากเครื่อง Roche Cobas Integra ที่รพ. จุฬาลงกรณ์ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับโรงพยาบาลอื่นๆ ที่ใช้เครื่องแบบเดียวกัน

คำสำคัญ (Key Words)

Hemoglobin A_{1c}

Thalassemia and Hemoglobinopathy

Heterozygous and homozygous Hemoglobin E

Immunoassay Method

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational definition)

1. ฮีโมโกลบินเอวันซี คือ เป็นฮีโมโกลบินชนิดที่มีน้ำตาลกลูโคสจับอยู่ ใช้เป็นตัวบ่งค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในเลือดในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา คิดเป็นเป็นร้อยละของฮีโมโกลบินทั้งหมด

2. ฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง คือ มีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) เป็นแบบ $\beta\beta^{E}$ ตรวจ Hb typing พบฮีโมโกลบินอีร้อยละ 25-35 ระดับฮีโมโกลบินเท่าคนปกติ และค่า MCV 84±5 fL

3. ฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส คือ มีลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) เป็นแบบ $\beta^{E}\beta^{E}$ ตรวจ Hb typing พบฮีโมโกลบินอีร้อยละ 80-100 ส่วนใหญ่มีระดับฮีโมโกลบิน 9-10 มก./ดล. และค่า MCV 70±4 fL

ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical considerations)

เนื่องจากการวิจัยเรื่องนี้เป็นการวิจัยโดยการตรวจเลือด ซึ่งอันตรายจากการเจาะเลือดมีน้อยมาก โดยการศึกษาจะทำเฉพาะอาสาสมัครที่เข้าใจและยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น

ข้อจำกัดในการวิจัย (Limitation)

1. เนื่องจากการวิจัยนี้ต้องอาศัยผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นหลัก ดังนั้นความแม่นยำของวิธีการตรวจเป็นสิ่งที่สำคัญ

2. ผู้ป่วยกว่าครึ่งหนึ่งไม่สามารถติดต่อได้ ดังนั้นอาจเกิด bias จากการเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษา โดยจะได้เฉพาะผู้ป่วยที่โทรศัพท์ติดต่อได้เท่านั้น

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected benefit and application)

สามารถบอกได้ว่าค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวานมีค่าเท่าไร แตกต่างกับในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันหรือไม่ และสามารถใช้ค่าที่ได้นี้ ใช้ในการติดตามการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดกรณีที่เป็นโรคเบาหวานแทนค่าอ้างอิงในกลุ่มประชากรปกติ

อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข (Obstacles and problem solving strategies)

ผู้ป่วยไม่สามารถมาได้ตามนัด การแก้ไข คือ โทรตามผู้ป่วยให้เกินจำนวนที่ต้องการ

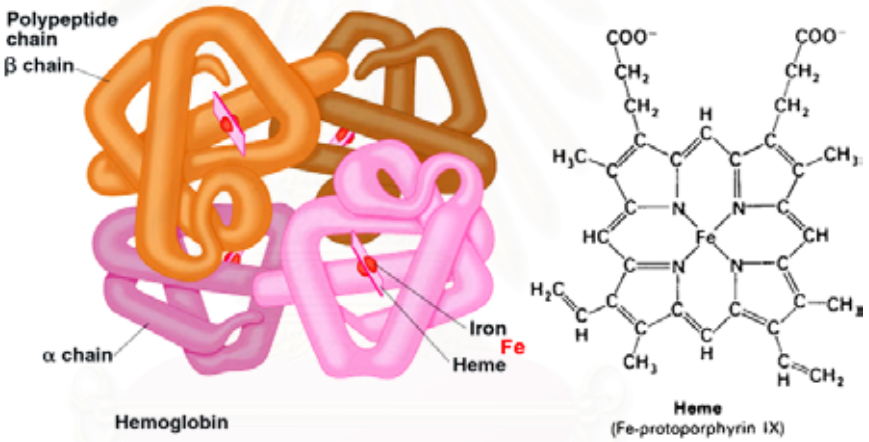
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ฮีโมโกลบินเอวันซี

ฮีโมโกลบินเกิดจากการรวมตัวกันแบบทุติยภูมิ ของสายโกลบิน (globin) 4 เส้น กับฮีม (Heme) ที่เรียกว่า Ferprotoporphyrin Complex จำนวน 4 ชุด แต่ละชุดสามารถจับกับออกซิเจนได้ 4 อนู



รูปที่ 1 โมเลกุลของฮีโมโกลบิน

การสร้างสายโกลบินสร้างจากยีนแอลฟาและยีนบีตา ซึ่งอยู่บนโครโมโซมต่างคู่กัน คือคู่ที่16 และคู่ที่ 11 ตามลำดับ โดยจะสังเคราะห์สายโกลบินขึ้นมา แล้วรวมตัวกัน 4 เส้น เกิดเป็นฮีโมโกลบินชนิดต่างๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสายโกลบินที่รวมตัวกัน

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของฮีโมโกลบินในมนุษย์

ชนิดของฮีโมโกลบิน	ส่วนประกอบของเส้นโพลีเปปไทด์	ผู้ใหญ่ปกติ พบร้อยละ
Hb A	$\alpha_2\beta_2$	92
Hb A_{1a1}	α_2(β-N-fructose 1,6 diphosphate)$_2$	0.2
Hb A_{1a2}	α_2(β-N-glucose-6-phosphate)$_2$	0.2
Hb A_{1b}	α_2(β-N-unknown carbohydrate)$_2$	0.5
Hb A_{1c}	α_2(β-N-glucose)$_2$	3
Hb A_2	$\alpha_2\sigma_2$	2.5
Hb F	α_2 Ÿ$_2$	<1
Hb Gower 1	Ç$_2$£$_2$	0
Hb Gower 2	α_2£$_2$	0
Hb Portland	Ç$_2$Ÿ$_2$	0
Hb H	β_4	0
Hb Bart's	Ÿ$_4$	0

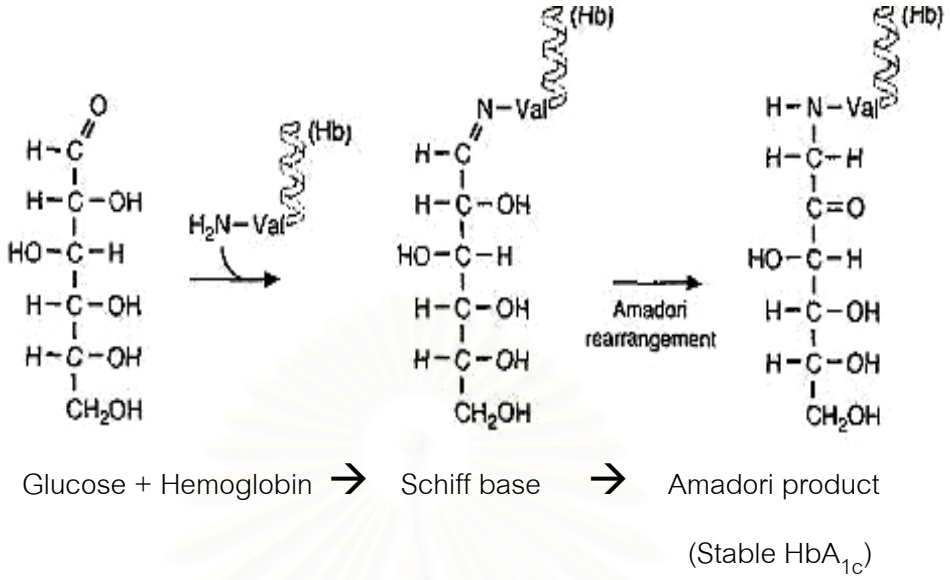
Total GHb = Hb A_{1c} + glucose-non-N-terminal valine

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลกลูโคส จะจับกับโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของฮีโมโกลบิน ด้วยกระบวนการที่เรียกว่าไกลเคชัน ซึ่งในผู้ใหญ่โดยทั่วไปแล้ว ประมาณร้อยละ 97 ของฮีโมโกลบิน คือ ฮีโมโกลบินเอ ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 2.5 และ 0.5 เป็นฮีโมโกลบินเอทู และฮีโมโกลบินเอฟ ตามลำดับ โดยฮีโมโกลบินเอ แบ่งเป็นชนิดย่อยๆ อีกหลายชนิด ที่สำคัญคือ ฮีโมโกลบินเอวัน ซึ่งแบ่งออกเป็นชนิดย่อยๆ ที่สำคัญได้อีก 3 ชนิด คือ ฮีโมโกลบินเอวันเอ, ฮีโมโกลบินเอวันบี, และ ฮีโมโกลบินเอวันซี จากศึกษาพบว่า ฮีโมโกลบินเอวันซีเป็นฮีโมโกลบินชนิดที่มีน้ำตาลกลูโคสจับอยู่มาก (13) แม้จะเป็นส่วนน้อยของฮีโมโกลบินทั้งหมด แต่ก็เป็นส่วนที่คงตัว และเนื่องจากเม็ดเลือดแดงมีอายุในระบบหมุนเวียนโลหิต 120 วัน ดังนั้นการวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซี จึงบ่งชี้ถึงระดับน้ำตาลที่ผ่านมาในระยะยาวถึง 2-3 เดือน สามารถใช้เป็นเครื่องมือที่สำคัญในการติดตามผลการควบคุมระดับน้ำตาลระยะยาวได้ดี และพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังของโรคเบาหวานด้วย

กระบวนการไกลเคชัน (glycation) เกิดขึ้นอยู่ตลอดช่วงอายุขัยของเม็ดเลือดแดง โดยกว่าร้อยละ 50 เกิดขึ้นในช่วงเดือนที่มีการเก็บตัวอย่างเลือด ส่วนอีกร้อยละ 25 สร้างขึ้นในช่วง 1 เดือนก่อนหน้าที่ทำการเก็บตัวอย่างเลือด และอีกร้อยละ 25 สร้างขึ้นในช่วงประมาณ 2-4 เดือนที่ผ่านมาก่อนหน้าที่จะทำการเก็บตัวอย่างเลือด โดยน้ำตาลสามารถซึมผ่านผิวเซลล์เม็ดเลือดแดง และจับกับกลุ่มเอมีนของสายบีตาโกลบิน โดยปริมาณน้ำตาลที่จับจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับระดับน้ำตาลในเลือดที่มีอยู่ ระยะแรกเป็นการจับกันแบบหลวมๆ ได้เป็นผลผลิตที่ไม่คงตัว และมีการเปลี่ยนแปลงกลับไปกลับมาได้อย่างรวดเร็ว เรียกสารที่ได้ในขั้นตอนนี้ว่าพรีฮีโมโกลบินเอวันซี (pre HbA_{1c}) หรือฮีโมโกลบินเอวันซีที่ไม่คงตัว (labile HbA_{1c}) โดยฮีโมโกลบินเอวันซีที่ไม่คงตัว ส่วนหนึ่งจะมีการแยกกลูโคสออกจากฮีโมโกลบินและอีกส่วนหนึ่งมีการจัดเรียงโมเลกุลใหม่โดยกระบวนการ Amadori rearrangement ซึ่งจะได้เป็นฮีโมโกลบินเอวันซีที่คงตัว (stable HbA_{1c})

พบว่าระดับของฮีโมโกลบินเอวันซี สามารถบ่งถึงระดับกลูโคสในพลาสมาโดยเฉลี่ยทั้งวันได้ (14) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตรคือ ระดับกลูโคสเฉลี่ยทั้งวัน = (35.6 x ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี) – 77.3 มก./ดล. หรือดังแสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 2 แสดงปฏิกิริยาระหว่างกลูโคสกับโปรตีนโดยไม่อาศัยเอนไซม์ซึ่งได้ผลผลิตเป็นเบสซึ่งไม่คงตัว (Schiff base) ภายหลังมีการจัดเรียงโมเลกุลใหม่ (Amadori rearrangement) ได้เป็นฮีโมโกลบินเอวันซีที่คงตัว

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีกับค่าพลาสมากลูโคสเฉลี่ยทั้งวัน (14)

ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (ร้อยละ)	ระดับพลาสมากลูโคสเฉลี่ย/วัน (มก./ดล.)
6	135
7	170
8	205
9	240
10	275
11	310
12	345
13	380
14	415

วิธีอ้างอิงมาตรฐานสำหรับการตรวจวิเคราะห์หาระดับฮีโมโกลบินเอวันซี

การตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีทำได้หลายวิธี แต่ละวิธีสามารถวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีได้ต่างชนิดกัน ทั้งในรูปคงตัวและไม่คงตัว และจะมีปัจจัยที่รบกวนการวัดที่แตกต่างกัน ทำให้ไม่สามารถนำผลการตรวจวัดจากแต่ละห้องปฏิบัติการมาเปรียบเทียบกันได้แม้ว่าจะใช้การตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีวิธีเดียวกันก็ตาม

วิธีสำคัญที่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ใช้ ได้แก่ วิธีโครมาโทกราฟฟี (Chromatography), วิธีทางอิมมูน (Immunoassays), วิธีไอโซอิเลคทริก โฟกัสซิ่ง (Isoelectric focusing Method) และ วิธีอิเลคโทรฟรอเรซิส (Electrophroresis) แต่วิธีที่นิยมคือ วิธีโครมาโทกราฟฟี และ วิธีทางอิมมูน (15;16) โดยวัดค่าออกมาเป็นร้อยละของฮีโมโกลบินเอวันซี หรือ ไกลโคฮีโมโกลบินรวม (glycohemoglobin) คือวัดฮีโมโกลบินที่จับกับน้ำตาลชนิดใดก็ได้หรือที่ตำแหน่งใดก็ได้รวมๆกัน ไม่จำเพาะว่าต้องเป็นฮีโมโกลบินเอวันซี ส่วนการรายงานผลจะมีการปรับมาตรฐานโดยอิงการวัดโดยวิธีที่ใช้ในการศึกษาของ DCCT

ตารางที่ 3 วิธีตรวจหาฮีโมโกลบินเอวันซีแบบต่างๆ

	HPLC	AC	Immunoassay	Electrophoresis
Analytical principle	HbA_{1c} has lower charge than HbA_0	*cis*-diol groups of carbohydrate adducts of Hb bind to immu-nobilized aminophe-nyl boronic acid	Antibodies react with the glycated end of the β-chain	Separation of charged compounds based on their electrical charge
Species measured	HbA_1, HbA_{1c}	Total gHb	HbA_{1c}	HbA_1, HbA_{1c}
Pre- HbA_{1c} interference	Yes	No	No	Yes
Hb variants interference	No, Yes	No	Yes, No	Yes (HbF), No (HbS, C)
Non-glucose adduct interference	Yes	No	No	Yes
Approx. between-batch CV (%)	6-8	3-5	6-8	4-9

AC, affinity chromatography; CV, coefficient of variation; gHb, glycated hemoglobin; Hb, hemoglobin; HPLC, high-performance liquid chromatography

(ตารางจาก Navapan Charuruks,M.D. Reference standard method for measurement of HbA1c. JRCP Thai 2003;2(1)27-34)

การตรวจโดยวิธีโครมาโทกราฟฟี แบ่งเป็นหลายชนิด ที่สำคัญได้แก่

1. Ion-Exchange chromatography ที่นิยมได้แก่วิธี High performance liquid chromatography (HPLC)
2. Affinity chromatography

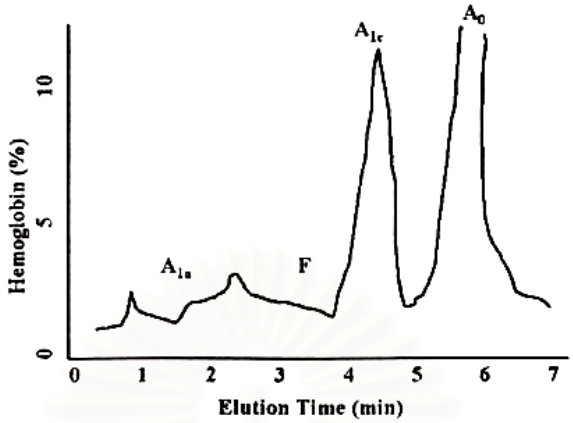
การตรวจโดยวิธีทางอิมมูน ที่นิยมได้แก่วิธี Immunoturbidity

หลักการวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีโดยวิธีต่าง ๆ

1) วิธีโครมาโทกราฟฟี

เป็นวิธีการที่ใช้สำหรับแยกสารประกอบ โดยอาศัยคุณสมบัติที่สารประกอบที่ต้องการจะแยกนั้นประกอบขึ้นด้วยสารที่มีคุณสมบัติในการทำปฏิกิริยาจับกับ mobile phase และ stationary phase ได้แตกต่างกัน ในขณะที่เคลื่อนผ่านสารตัวกลางที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางรองรับ (support medium) กล่าวคือสารที่จับกับ stationary phase ได้ดี จะคงอยู่ในสารตัวกลางได้ดีและนานกว่าสารที่จับกับ mobile phase ได้ดี ทำให้สามารถแยกสารที่เป็นส่วนประกอบของสารประกอบออกจากกันได้ ในปัจจุบัน วิธีโครมาโทกราฟฟี ที่ใช้อยู่ มี 2 ชนิด คือ Gas Chromatography และ Liquid Chromatography ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารประกอบนั้นๆ ว่าอยู่ในสภาพใด (17;18)

1.1 Ion-Exchange chromatography เป็น Liquid Chromatography อาศัยหลักการที่สารที่ต้องการจะแยก ประกอบด้วยสารที่มีประจุไฟฟ้าที่แตกต่างกัน ในที่นี้หมายถึงฮีโมโกลบิน ทำให้สามารถแยกจากกันได้โดยการ elute จาก ion-exchange column โดยใช้เวลาที่แตกต่างกัน และเลือกใช้บัฟเฟอร์ที่มี ion strength แตกต่างกัน แล้ววัดปริมาณด้วย spectrophotometry แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณค่าฮีโมโกลบินเอวันซี เป็นค่าร้อยละของฮีโมโกลบินเอวันซีต่อฮีโมโกลบินทั้งหมด ตัวอย่างเครื่องที่ใช้หลักการนี้ เช่น Tosoh A1c 2.2 plus, Bio-Rad Variants, Diamat



รูปที่ 3 การวิเคราะห์หาฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยวิธี Ion-Exchange chromatography โดยฮีโมโกลบินแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ไปในตัวกลางได้ในเวลาที่ต่างกัน (elution time) สำหรับฮีโมโกลบินเอวันซีจะถูก elute หลังฮีโมโกลบินเอวันเอ และฮีโมโกลบินเอฟ แต่ก่อนฮีโมโกลบินที่ไม่ผ่านกระบวนการไกลเคชั่น (A_0)

โดยทั่วไปถ้ามีฮีโมโกลบินผิดปกติที่มี elution time แยกจากฮีโมโกลบินเอและฮีโมโกลบินเอวันซี จะมีผลน้อยต่อค่าฮีโมโกลบินเอวันซีที่คำนวณได้ แต่ถ้าฮีโมโกลบินที่ผิดปกตินั้นเคลื่อนไปซ้อนทับกับฮีโมโกลบินเอหรือฮีโมโกลบินเอวันซี จะทำให้ค่าฮีโมโกลบินเอวันซีที่ได้มีความคลาดเคลื่อน ดังแสดงในรูปที่ 4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบินเอวันซีที่วัดได้จากเครื่อง Chromatography แบบต่างๆ (19)

HbA และ HbA_{1c} แสดงโดยสีดำ, HbX และ HbX_{1c} แสดงโดยสีขาว

<u>รูป A</u> ตัวอย่างเลือดปกติ

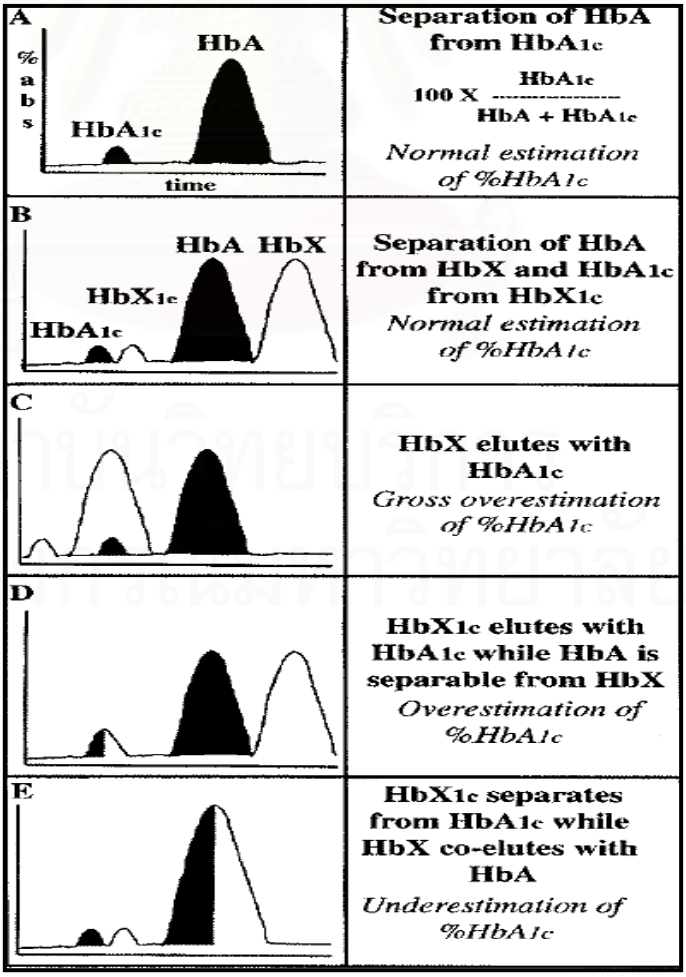
<u>รูป B</u> HbX และ HbX1c แยกจาก HbA และ HbA_{1c} จะไม่มีผลต่อ % HbA_{1c}

<u>รูป C</u> HbX ซ้อนอยู่ใน Hb A_{1c} ทำให้ได้ค่า % HbA_{1c} สูงผิดปกติ

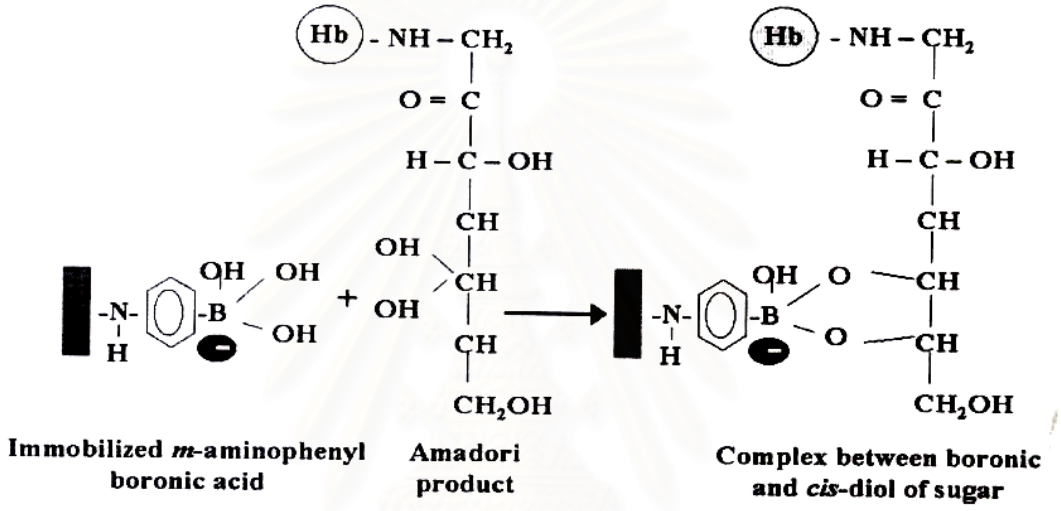
<u>รูป D</u> HbX_{1c} ซ้อนอยู่ใน HbA_{1c} ทำให้ได้ค่า % HbA_{1c} สูงผิดปกติ

<u>รูป E</u> HbX ซ้อนอยู่ใน HbA ทำให้ได้ค่า % Hb A_{1c} ต่ำกว่าปกติ

(ทั้งนี้ผลขึ้นอยู่กับน้ำยา, ชนิดของเรซิน, ขนาดของ column, องค์ประกอบของบัฟเพอร์ ที่ใช้ในแต่ละเครื่อง)

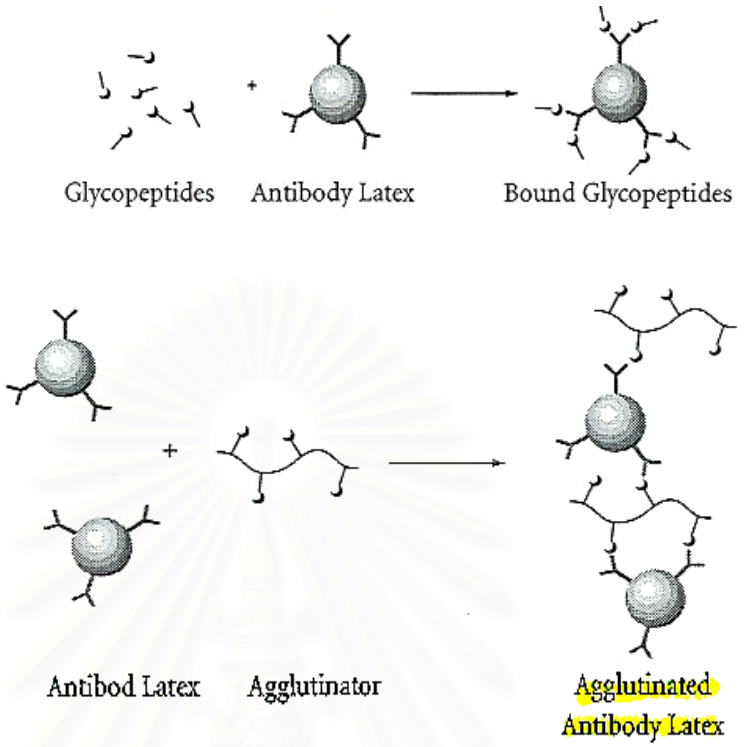


1.2 **Affinity chromatography** เป็น Liquid Chromatography ที่ใช้ Biochemical ligand เป็น Stationary phase และอาศัยคุณสมบัติในการเกิดปฏิกิริยา affinity ของสารที่แตกต่างกัน และสามารถแยกสารประกอบออกจากกันได้โดยวิธีการ elute เช่นเดียวกับวิธี Ion-Exchange chromatography ตัวอย่างเครื่องที่ใช้หลักการนี้ เช่น Abbott IMx, Helena



รูปที่ 5 การวิเคราะห์หาฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยวิธี Affinity chromatography

2) **วิธีทางอิมมูน** ที่นิยมได้แก่วิธี Immunoturbidity หลักการคือใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนนั้นๆ ซึ่งในที่นี้คือ N-terminal ของ glycated hemoglobin ไปติดกับสารลาเทก (latex) โดยแอนติบอดีดังกล่าวนี้จะจับกับ N-terminal ของ glycated hemoglobin ทำให้เกิดการตกตะกอน และเกิดความขุ่นขึ้น สามารถวัดปริมาณ glycated hemoglobin ได้จากปริมาณความขุ่นที่เกิดขึ้น โดยแอนติบอดีส่วนใหญ่ที่ใช้ จะจำเพาะกับส่วน N-terminal glycated amino acid ตำแหน่งที่ 4-10 ตัวแรกในสายบีตาโกลบินที่มีกลูโคสจับอยู่ โดยจะไม่จับกับฮีโมโกลบินเอวันซีที่ไม่คงตัว (Schiff base) หรือ ฮีโมโกลบินที่ผิดปกติอื่นๆ เช่น คาร์บามิลฮีโมโกลบิน (Carbamyl Hb) เป็นต้น ตัวอย่างเครื่องที่ใช้หลักการนี้ เช่น Roche Cobas Integra, Bayer DCA 2000



รูปที่ 6 การวิเคราะห์หาฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยวิธีทางอิมมูน

ปัจจัยที่มีผลต่อผลการตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (19-33)

โดยค่าที่ได้อาจมากขึ้นหรือน้อยลงขึ้นกับวิธีการที่ใช้ในการวัด

1. ภาวะโลหิตจางธาลัสซีเมียและภาวะที่มีความผิดปกติภายในสายโกลบิน ทั้งแบบพันธุกรรม เช่น ภาวะที่มีฮีโมโกลบินเอฟในเลือด สูงมากกว่าร้อยละ 30 ในเลือด เช่นในผู้ป่วยบีตาธาลัสซีเมีย, ภาวะฮีโมโกลบินอี หรือภาวะตั้งครรภ์ จะทำให้ผลการตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีที่ตรวจโดยวิธีทางอิมมูนมีค่าต่ำลงได้ หรือภาวะที่มีความผิดปกติภายในสายโกลบินจากสาเหตุที่เกิดภายหลัง เช่น ในภาวะไตวาย จะเกิดคาร์บามิลฮีโมโกลบิน (Carbamyl Hb) ซึ่งเกิดจากสารที่ได้จากการสลายตัวของยูเรีย คือกรดไอโซไซยานิด (isocyanid acid) จะจับที่ส่วนปลายกรดอะมิโนของสายบีตาของโมเลกุลฮีโมโกลบิน ทำให้มีคุณสมบัติคล้ายฮีโมโกลบินเอวันซี พบว่าผู้ป่วยไตวายที่มีระดับบียูเอนในเลือดมากกว่า 27 มก./ดล. ถ้าตรวจระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ด้วยวิธี Ion-exchange chromatography จะได้ค่าสูงกว่าที่ควรจะเป็น แต่ถ้าตรวจด้วยวิธีทางอิมมูน หรือ affinity chromatography จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้มีการศึกษาในหลอดทดลองพบว่ายาแอสไพรินปริมาณมาก จะทำให้เกิดอะเซทิลเลทฮีโมโกลบิน (Acetylated Hb) รบกวนการวัดค่า

ฮีโมโกลบินเอวันซีได้ แต่อย่างไรก็ตามไม่พบผลนี้ในผู้ป่วยที่ได้รับยาแอสไพรินเป็นเวลานาน ในปริมาณที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 กรัม/วัน

2. ภาวะที่เม็ดเลือดแดงมีอายุสั้นหรือแตกง่าย ภาวะที่มีการสร้างเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนหลัง จากที่มีการเสียเลือดเฉียบพลัน ภาวะที่มีการสร้างเม็ดเลือดแดงหมุนเวียนเร็ว หรือการได้รับเลือดจากภายนอก จะทำให้ระดับฮีโมโกลบินเอวันซีต่ำกว่าปกติ

3. ภาวะอื่นๆ เช่น การได้รับวิตามินซี วิตามินอี หรือสารกลุ่มโอปิเอท (opiate), ภาวะขีดจากการขาดเหล็ก, ภาวะไตรกลีเซอไรด์สูง, ภาวะบิลิรูบินในเลือดสูง และโรคพิษสุราเรื้อรัง

ตารางที่ 4 แสดงผลของภาวะที่มีความผิดปกติภายในสายโกลบินต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ที่เคยมีการศึกษาในต่างประเทศ ในเครื่องที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน (19;33-57)

Method	Interference (Yes/No)				
	HbC trait	HbS trait	HbE trait	Elevated HbF	Carbamyl-Hb
*Abbott Architect (Seradyn Reagents)	Yes	Yes	-	-	-
*Axis-Shield Nycocard (Primus Nycocard)	No	No	-	-	-
*Bayer Advia	Yes	Yes	-	-	-
*Bayer DCA 2000	No	No	No	Yes	No
Beckman Diatrac	Yes	Yes	-	Yes	Yes
*Beckman Synchron CX7	No	No	-	-	-
*Bio-Rad D-10 Dual	Yes	No	-	-	-

ตารางที่ 4 (ต่อ) แสดงผลของภาวะที่มีความผิดปกติภายในสายโกลบินต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ที่เคยมีการศึกษาในต่างประเทศ ในเครื่องที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน (29-57)

Method	Interference (Yes/No)				
	HbC trait	HbS trait	HbE trait	Elevated HbF	Carbamyl-Hb
Bio-Rad DiaSTAT	No	Yes	-	-	-
*Bio-Rad Variant A_{1c}	No	Yes	No	-	Yes
*Bio-Rad Variant GHb	No	No	-	-	-
*Bio-Rad Variant II A_{1c}	Yes/No	Yes/No	-	No	No
*Dade Dimension RxL	No	No	-	-	-
*Drew Scientific DS5	No	Yes	-	-	-
Helena Glyco-Tek	Yes	No	-	-	-
*Menarini HA8140	No	Yes	Yes	No	Yes/No
*Menarini HA8160	No	No	-	-	-
*Metrika A_{1c} Now	Yes	Yes	-	-	-
*Olympus	Yes	Yes	-	Yes (>10%)	-
*Ortho-Clinical Vitros	No	No	-	-	-
*PointeScientific HbA_{1c}	No	No	-	-	-
*Primus Boronate Affinity HPLC	No	No	No	Yes	No
*Provalis Glycosal (Bio-Rad MicroMat)	Yes	No	-	-	-

ตารางที่ 4 (ต่อ) แสดงผลของภาวะที่มีความผิดปกติภายในสายโกลบินต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ที่เคยมีการศึกษาในต่างประเทศ ในเครื่องที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน (29-57)

Method	Interference (Yes/No)				
	HbC trait	HbS trait	HbE trait	Elevated HbF	Carbamyl-Hb
Randox HemoglobinA_{1c}	Yes	Yes	-	Yes (>10%)	-
*Roche Cobas Integra	Yes	Yes	-	-	-
*Roche Cobas Integra Gen. 2	No	No	No	-	-
*Roche Tina-quant II	No	No	No	No (≤30% HbF)	No
*Roche Unimate	Yes	Yes	-	-	No
*Tosoh A_{1c} 2.2 Plus	No	No	Yes	Yes	Yes/No
*Tosoh G7	No	No	-	No	-

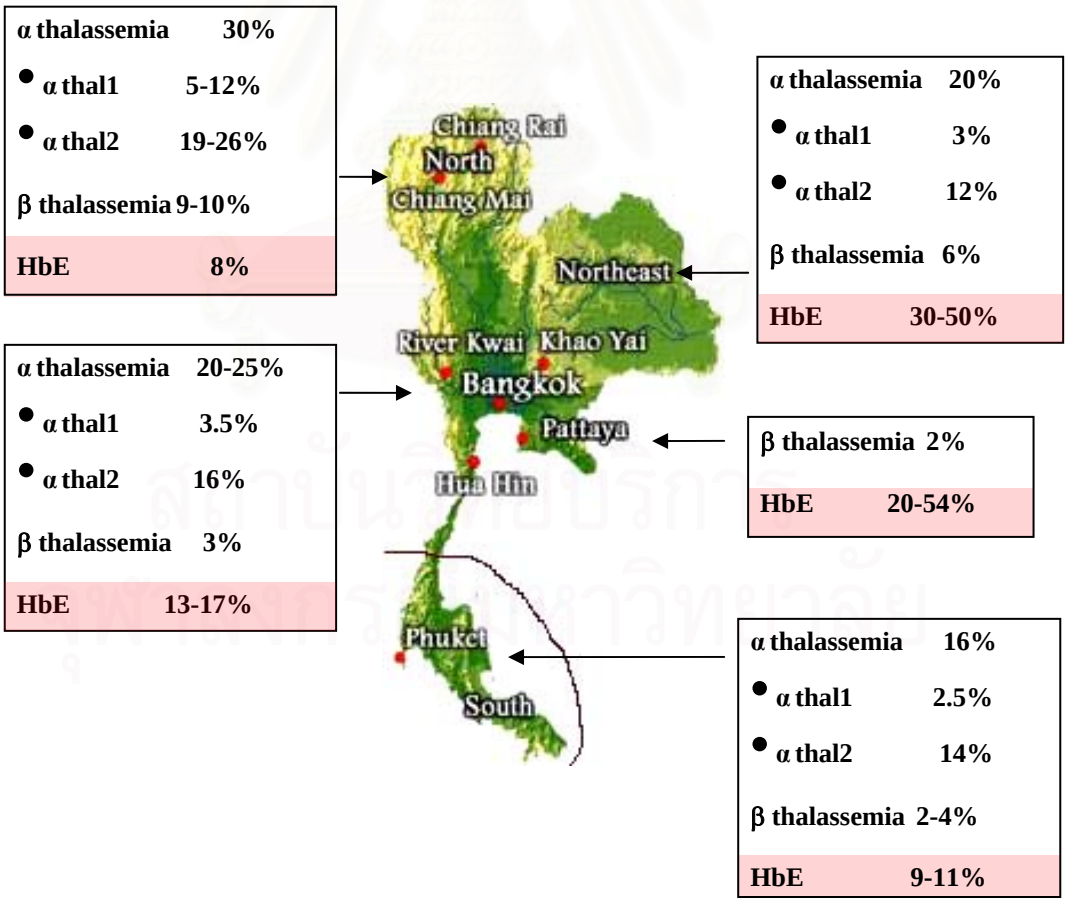
*indicates an NGSP certificated method (as of April 2007)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

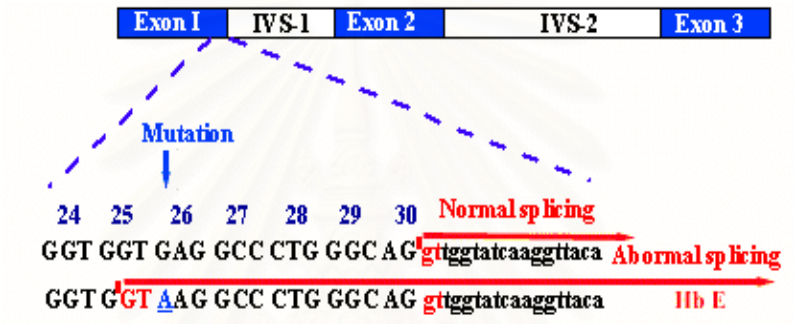
ภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอี

โรคธาลัสซีเมียเป็นโรคโลหิตจางชนิดหนึ่งเกิดจากความผิดปกติของการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดความไม่สมดุลของสายแอลฟาโกลบิน และสายบีตาโกลบิน ส่งผลให้เม็ดเลือดแดงถูกม้ามทำลายได้ง่ายกว่าปกติ นอกจากนี้ยังอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงลำดับกรดในสายโกลบินเกิดเป็นความผิดปกติของฮีโมลโกลบินแบบต่างๆ เช่น ฮีโมโกลบินเอส, ฮีโมโกลบินซี, ฮีโมโกลบินอี เป็นต้น โดยฮีโมโกลบินอีพบได้บ่อยรองจากฮีโมโกลบินเอส แต่ถ้าพิจารณาในทวีปเอเชีย โดยเฉพาะเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จะพบอุบัติการณ์ของฮีโมโกลบินอี มากเป็นพิเศษ ซึ่งในประเทศไทยพบเฉลี่ยร้อยละ 13 โดยพบสูงถึงร้อยละ 36-40 ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

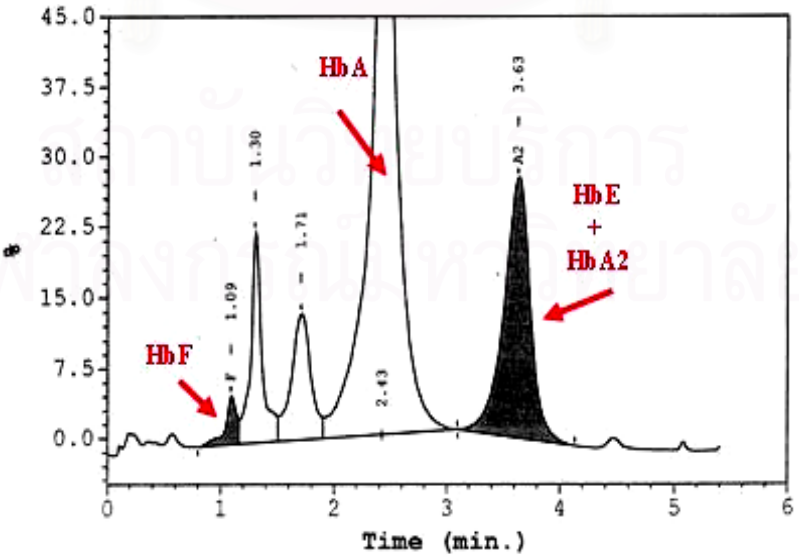
รูปที่ 7 แสดงอุบัติการณ์ของโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในประเทศไทย



ฮีโมโกลบินอีเกิดจากการแทนที่กรดอะมิโนกลูตามิกด้วยกรดอะมิโนไลซีนที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 26 ของสายบีตาโกลบิน ฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงมักไม่มีอาการ และไม่มีภาวะโลหิตจาง อายุของเม็ดเลือดแดงปกติหรือสั้นลงเล็กน้อย พบเม็ดเลือดมีขนาดเล็กลงได้ อาจพบทาเกทเซลล์ (target cells) ในกรณีเป็นโฮโมไซโกส การวินิจฉัยดูจากขนาดและลักษณะของเม็ดเลือด และตำแหน่งการเคลื่อนที่ของฮีโมโกลบินในสนามไฟฟ้า แถบจะอยู่ตำแหน่งเดียวกับฮีโมลโกลบินเอทู แต่เข้มมากกว่าเพราะมีปริมาณมากกว่า



รูปที่ 8 การแทนที่กรดอะมิโนกลูตามิกด้วยกรดอะมิโนไลซีนที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 26 ของสายบีตาโกลบินของฮีโมลโกลบินอี



รูปที่ 9 แสดงตำแหน่งการเคลื่อนที่ของฮีโมโกลบินชนิดต่างๆในสนามไฟฟ้า

ตารางที่ 5 แสดงค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงของฮีโมโกลบินอีชนิดต่างๆ (61)

	Hb, g/dL	MCV, fL	MCH, pg	MCHC, g/dL	RDW, %	Alkali denaturation test (Hb F), %	Hb typing
Normal	M15.9 ± 0.9 F12.5 ± 2.0	87 ± 6	31 ± 1.1	33 ± 0.9	13.1 ± 0.8	0.5 ± 0.2	A_2 (2.5 ± 0.2) + A
Hb E trait	12.8 ± 1.5	84 ± 5	30 ± 2.4	33 ± 1.8	14.1 ± 0.6	0.9 ± 0.7	E (29.4 ± 2.3%) + A
Hb E α-thalassemia 2	13.1 ± 1.4	88 ± 4	ND	ND	ND		E (28.5 ± 1.5%) + A
Hb E α-thalassemia 1	12.5 ± 1.4	77 ± 5	23 ± 1.1	32 ± 1.6	ND	0.9 ± 0.4	E (20.7 ± 1.2%) + A
Homozygous HbE	11.4 ± 1.8	70 ± 4	22 ± 1.9	33 ± 1.7	15.6	1.8 ± 1.4	E (87.7 ± 5.9%)
Hb E/β^0-thalassemia	7.8 ± 2.6	67 ± 6	19 ± 3.6	28 ± 4.8	26.5 ± 5.6	42 ± 1.5	E (58 ± 1.5%) + F
AE Bart's disease α-thalassemia 1/ α-thalassemia 2-Hb E	9.1 ± 1.1	60 ± 3	17 ± 2	31 ± 4	ND	2.0 ± 0.7	E (13.0 ± 2.1%) + A + Bart's (2.2 ± 1.8%)
α-thalassemia 1/ Hb CS-Hb E	8.0 ± 0.9	67 ± 4	19 ± 2	29 ± 2	ND	2.3 ± 1.4	CS (1.1 ± 0.4%) + E (13.9 ± 1.8%) + A + Bart's (3.9 ± 1.5%)
Hb EE + Hb H	8.0 ± 1.3	63 ± 6	18 ± 2	29 ± 2	ND	5.8 ± 3.7	E (80%) + F + Bart's (5%) or CS (1.9 ± 0.9%) + E (86.4 ± 8%) + F + Bart's (3.7 ± 1.9%)
Hb SE12	11.2 ± 1.8	75 ± 10	ND	ND	ND	ND	Hb S (62.8% ± 7.4%), Hb E (33.3% ± 3.6%), Hb F (range 1 – 5.2)

Abbreviations: CS, Hb Constant Spring; D, decreased; Hb, hemoglobin; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; N, normal; ND, not determined; RDW, red cell distribution width

(ตารางจาก Rees D.C., Styles L, Vichinsky E.P., Clegg J.B., Weatherall D.J. The Hemoglobin E Syndromes. Hematology 2007(1): 79 - 83.)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Review of Related Literatures)

ปัจจุบันมีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติมากกว่า 850 ชนิดทั่วโลก และมีรายงานว่าในผู้ป่วยเบาหวานพบภาวะนี้มากเกือบถึงหนึ่งในสาม โดยค่าของฮีโมโกลบินเอวันซีที่วัดได้ในภาวะฮีโมโกลบินผิดปกตินั้น จะขึ้นกับโครงสร้างหรือประจุที่เปลี่ยนแปลงไปของฮีโมโกลบินผิดปกตินั้นๆ และอายุขัยของเม็ดเลือดแดงที่ลดลง โดยค่าที่วัดได้จะขึ้นกับหลายอย่าง เช่น วิธีที่ใช้ในการตรวจหรือชนิดของน้ำยาที่ใช้ ทำให้ถึงแม้ว่าจะใช้หลักการเดียวกันอาจได้ค่าที่แตกต่างกันได้ เครื่องที่ใช้หลักการ Ion-exchange chromatography มักถูกรบกวนขึ้นกับ Lot น้ำยา, องค์ประกอบของบัฟเพอร์, ขนาดของ column และ elution time เป็นต้น เครื่องที่ใช้หลักการทางอิมมูน ขึ้นกับแอนติบอดีที่ใช้และตำแหน่งกรดอะมิโนที่เปลี่ยนแปลงของฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ ส่วนเครื่องที่ใช้หลักการ Affinity chromatography เชื่อว่าถูกรบกวนน้อยที่สุด โดยฮีโมโกลบินที่ผิดปกติสามารถตรวจพบได้โดยหลักการ Ion-Exchange chromatography โดยดูจาก chromatogram จะขึ้น peak ที่ผิดปกติให้เห็นซึ่งควรดูก่อนจะทำการรายงานผล ส่วนอีก 2 วิธีไม่สามารถตรวจพบได้ว่ามีฮีโมโกลบินผิดปกติอยู่หรือไม่

ในต่างประเทศมีการศึกษาเกี่ยวกับผลของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียและภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดต่างๆ ต่อระดับของฮีโมโกลบินเอวันซี โดยวิธีการวัดแบบต่างๆ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบบ่อยในประเทศแถบยุโรปและอเมริกา เช่น ฮีโมโกลบินเอสและฮีโมโกลบินซี ส่วนฮีโมโกลบินอีที่พบบ่อยในประเทศไทยนั้น มีการศึกษาเฉพาะกลุ่มที่เป็นแบบแฝงเท่านั้น ไม่มีข้อมูลในกลุ่มที่เป็นโฮโมไซโกส โดยผลของการศึกษามีดังต่อไปนี้

วิธีทางอิมมูน

- **Bayer DCA 2000** (39;40)

1. ศึกษาผู้ป่วย 40 ราย มีฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 2 ราย นอกนั้นเป็นชนิดอื่น เปรียบเทียบผล ที่ได้กับเครื่อง Affinity chromatography (Primus CLC 385) พบว่าค่าฮีโมโกลบินเอวันซีที่ได้ไม่แตกต่างกัน (โดยถือเอาเกณฑ์ที่ค่าต่างกันไม่เกินร้อยละ 1)

2. ศึกษาในประเทศมาเลเซีย หาค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 58 ราย และฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 63 ราย ข้อมูลพื้นฐานกลุ่มฮีโมโกลบินปกติอายุเฉลี่ย 24±8.2 ปี (17-47ปี) น้ำตาลก่อนอาหารเช้าเฉลี่ย 91.8±19.8 มก./ดล. (64.8-140.8 มก./ดล.) ค่าฮีโมโกลบินเอวันซีเฉลี่ยร้อยละ 5.1±0.5 ส่วนข้อมูลพื้นฐานกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงอายุเฉลี่ย 23.6±15.6 ปี (1-64ปี) น้ำตาลก่อนอาหารเช้าเฉลี่ย 77.4±23.4 มก./ดล. (61.2-133.2

มก./ดล.) ค่าฮีโมโกลบินเอวันซีเฉลี่ยร้อยละ 5.3±2.7 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีโดยใช้ Wilcoxon Signed Ranks test พบว่าค่าฮีโมโกลบินเอวันซีที่ได้ไม่แตกต่างกัน (p=0.69)

- **Roche Tina-quant II/Hitachi 911 analyzer** (50)

ศึกษาผู้ป่วย 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นเบาหวานที่ไม่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติ 93 ราย ทำเทียบกับวิธี HPLC (Diamat, Bio-Rad) พบว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกัน กลุ่มที่ 2 มีภาวะฮีโมโกลบินเอส, ฮีโมโกลบินซี, ฮีโมโกลบินอี และ ฮีโมโกลบินเอฟ โดยฮีโมโกลบินอีเป็นชนิดแฝงมีจำนวน 14 ตัวอย่าง ทำเทียบกับวิธี Affinity chromatography พบว่าค่าฮีโมโกลบินเอวันซีของ 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันโดยค่า correlation coefficience เท่ากับ 0.962 ค่าฮีโมโกลบินเอวันซีอยู่ช่วงร้อยละ 5-13.3

- **Roche Cobas Integra Hemoglobin A1c Gen 2** (60)

ศึกษาผู้ป่วย 4 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 58 ราย ฮีโมโกลบินเอสแฝง 61 ราย ฮีโมโกลบินซีแฝง 31 ราย และฮีโมโกลบินอีแฝง 5 ราย วัดค่าฮีโมโกลบินเอวันซีเทียบกับเครื่อง Primus Boronate affinity chromatography พบว่ากลุ่มฮีโมโกลบินเอสแฝงและฮีโมโกลบินซีแฝง ได้ค่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนฮีโมโกลบินอีแฝงก็เช่นกัน โดยความแตกต่างอยู่ในช่วงไม่เกินร้อยละ 0.4

วิธี Chromatography

Ion-Exchange Chromatography

- **Menarini HA 8140** (52) : ศึกษาผู้ป่วย 1 ราย พบว่ายอดของฮีโมโกลบินอีวันซีจะแยกกับยอดของฮีโมโกลบินเอวันซี ในขณะที่ฮีโมโกลบินอีจะเคลื่อนที่ไปซ้อนทับกับฮีโมโกลบินเอ ทำให้วัดค่าฮีโมโกลบินเอวันซี ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง

- **Bio-Rad Variant** : (การศึกษาเดียวกับ Bayer DCA 2000) (39) ศึกษาผู้ป่วยฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 2 รายที่ไม่เป็นเบาหวาน พบว่ายอดของฮีโมโกลบินอีวันซีซ้อนอยู่กับยอดของฮีโมโกลบินเอวันซี และฮีโมโกลบินอีจะเคลื่อนที่ไปซ้อนทับกับฮีโมโกลบินเอ ทำให้ไม่มีผลต่อค่าของฮีโมโกลบินเอวันซีที่คำนวณได้ (โดยถือเอาเกณฑ์ที่ค่าต่างกันไม่เกินร้อยละ 1)

- **Tosoh A_{1c} 2.2 Plus** : (การศึกษาเดียวกับ Bayer DCA 2000) (39)

ศึกษาผู้ป่วยฮีโมโกลบินอีแฝงที่ไม่เป็นเบาหวาน 2 ราย พบว่ายอดของฮีโมโกลบินอีวันซีจะแยกกับยอดของฮีโมโกลบินเอวันซี ในขณะที่ฮีโมโกลบินอีจะเคลื่อนที่ไปซ้อนทับกับฮีโมโกลบินเอ ทำให้วัดค่าฮีโมโกลบินเอวันซีได้ต่ำกว่าความเป็นจริง

Affinity chromatography (Primus CLC 330, CLC 385 และ Pierce glucotest II) พบว่าฮีโมโกลบินอีไม่มีผลต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (19)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย (Research method)

เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (Cross-sectional Descriptive study)

ประชากรศึกษาและตัวอย่าง(Population and sample)

ประชากรเป้าหมาย(Target population)

1. ผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติและไม่ได้เป็นเบาหวาน ใช้อาสาสมัครเจ้าหน้าที่รพ.หรือผู้ป่วยนอกที่มาตรวจที่คลินิกต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม รพ.จุฬาลงกรณ์ในช่วงปี พ.ศ. 2550
2. ผู้ป่วยโรคฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน ทั้งชนิดแฝงและชนิดโฮโมไซโกส ที่มาตรวจรักษาที่รพ.จุฬาลงกรณ์ โดยหาจากฐานข้อมูลของหน่วยโรคเลือดจำแนกตามปีที่เข้ารับการรักษา ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 -2550

ประชากรตัวอย่าง (Sample)

คัดเลือกตามลำดับที่มีการลงทะเบียนไว้ในฐานข้อมูลของหน่วยโรคเลือด เฉพาะผู้ที่สามารถติดต่อได้และสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัย

กฎเกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

กลุ่มผู้ที่เคยมาเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่ง

1. อายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป
2. ได้รับการตรวจยืนยันว่าเป็นโรคฮีโมโกลบินอีจากการทำ Hb typing
3. น้ำตาลก่อนอาหารเช้าน้อยกว่า 100 มก./ดล.
4. ระดับฮีโมโกลบินคงที่ในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา หรือต่างกันไม่เกิน 1 มก./ดล.

กฎเกณฑ์การตัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

กลุ่มผู้ที่จะเข้าร่วมการวิจัยจะต้องไม่มีลักษณะที่เข้าได้กับข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้

1. น้ำตาลก่อนอาหารเช้ามากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล.
2. มีประวัติการเสียเลือดทั้งชนิดเฉียบพลันและชนิดเรื้อรังหรือเป็นโรคเม็ดเลือดแดงแตก

ง่าย

3. มีประวัติได้รับเลือดในช่วง 3 เดือนก่อนทำการศึกษา
4. มีโรคตับ โรคไต
5. ภาวะตั้งครรภ์
6. มีประวัติได้รับสารที่อาจมีผลต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (ยาแอสไพริน, ยากลุ่มโอปิเอท, วิตามินซี, วิตามินอี)

ขนาดตัวอย่าง (Sample size)

ใช้สูตรคำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อประมาณค่าเฉลี่ยโดยใช้สูตร

$$n = \frac{Z^2\alpha\ ó^2}{d^2}$$

โดย $Z\alpha$ = ค่า Z ที่ระดับนัยสำคัญ α ชนิด two-tailed เมื่อกำหนดความเชื่อมั่นเท่ากับ 95% มีค่าเท่ากับ 1.96

$ó^2$ = ความแปรปรวนของประชากรหรือจากการสำรวจนำร่อง

d^2 = ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมให้ได้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 10 = 0.10

เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาในลักษณะดังกล่าวในฮีโมโกลบินอีโดยใช้เครื่อง Roche Cobas Integra จึงได้ทำ pilot study ในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ, ฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงและฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส ที่มีระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้าน้อยกว่า 100 มก./ดล. กลุ่มละ 5 ราย พบว่าค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซี ในแต่ละกลุ่มเท่ากับร้อยละ 5.34 ± 0.27, ร้อยละ 5.14 ± 0.30 และร้อยละ 5.04± 0.23 ตามลำดับ เมื่อนำมาแทนค่าในสูตรจะได้จำนวนตัวอย่างในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 28 ราย กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 36 ราย และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส 21 ราย

ในการศึกษานี้สามารถเก็บตัวอย่างได้กลุ่มละ 60 ราย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อธิบายให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าใจเกี่ยวกับการร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย

2. ซักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ และ ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์การคัดออก ตรวจร่างกาย และรวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล

3. ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจสอบคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเข้าและคัดออก

4. ให้ผู้เข้ารับการศึกษา ลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent)

5. ผู้ป่วยต้องงดน้ำและอาหารเป็นเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมงเพื่อรับการเจาะเลือด

6. การเจาะเลือดจะใช้เลือด 4 หลอด ประกอบด้วย EDTA 2 หลอด ตรวจความเข้มข้นของเลือด(complete blood count) และฮีโมโกลบินเอวันซี (กรณีที่ไม่เคยตรวจ Hb typing จะทำการตรวจยืนยันให้) หลอดที่ 3 ใช้หลอด fluoride เพื่อตรวจระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้า หลอดที่ 4 ใช้ clot blood เพื่อตรวจบียูเอ็นและครีเอทินิน

7. หลอดเลือด EDTA ที่จะทำการตรวจฮีโมโกลบินเอวันซี เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องซาเซลเซียส นำออกมาทำพร้อมกันที่ 3 เดือน โดยวิธีทางอิมมูนด้วยเครื่อง Roche Cobas Integra

การสังเกตและการวัด (Observation and measurement)

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (Record form) ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ ชื่อ เพศ อายุ น้ำหนักตัว ส่วนสูง

2. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโรค ได้แก่ ประวัติการได้รับเลือด ประวัติการได้รับยาขับเหล็ก ประวัติการเสียเลือด (เฉียบพลัน หรือ เรื้อรัง) และโรคประจำตัวอื่นๆ ยาประจำที่ใช้ รวมทั้งผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยอาศัยการซักประวัติและข้อมูลที่มีในเวชระเบียน

การเก็บรวบรวมข้อมูล (Data collection)

ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์ม และจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูลต่อไปโดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0 software

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

- การสรุปข้อมูล

เปรียบเทียบคุณลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มโดยใช้ unpaired sample T-test ทดสอบการกระจายของข้อมูลโดยใช้ 1 sample K-S ระดับฮีโมโกลบินเอวันซีคำนวณเป็นค่าเฉลี่ย

และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±SD) ค่าอ้างอิงคือ Mean ± 2SD เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโดยใช้ ANCOVA ที่ $p<0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

1. การนำเสนอข้อมูล

ตารางเปรียบเทียบ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

รายงานผลการวิจัย

คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2550 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 188 ราย มีผู้ถูกคัดออกจากการศึกษาจำนวน 8 ราย (เนื่องจากค่าน้ำตาลก่อนอาหารเช้ามากกว่า 100 มก./ดล. 4 ราย และตรวจพบว่าเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดอื่นๆ 4 ราย) เหลือจำนวน 180 ราย

คุณลักษณะทั่วไปของประชากรที่นำมาศึกษา จำแนกตามกลุ่มดังตารางที่ 5 และตารางที่ 6

- กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ อายุตั้งแต่ 18-62 ปี อายุเฉลี่ย 29.77 ± 6.9 ปี, เป็นเพศชาย 20 ราย เพศหญิง 40 ราย, ค่าดัชนีมวลกาย 15.2-31.5 กิโลกรัม/ตารางเมตร ค่าเฉลี่ย 21.17±3.37 กิโลกรัม/ตารางเมตร, ระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้า 66-95 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ค่าเฉลี่ย 82.8 ± 5.9 มิลลิกรัม/เดซิลิตร
- กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง อายุตั้งแต่ 20-67 ปี อายุเฉลี่ย 33.23 ± 7.87 ปี, เป็นเพศชาย 19 ราย เพศหญิง 41 ราย , ค่าดัชนีมวลกาย 17.1-40.9 กิโลกรัม/ตารางเมตร ค่าเฉลี่ย 23.05±4.41 กิโลกรัม/ตารางเมตร, ระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้า 69-99 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ค่าเฉลี่ย 85.4±7.35 มิลลิกรัม/เดซิลิตร
- กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส อายุตั้งแต่ 16-54 ปี อายุเฉลี่ย 30.52 ± 7.86 ปี, เป็นเพศชาย 16 ราย เพศหญิง 44 ราย, ค่าดัชนีมวลกาย 16.6-30 กิโลกรัม/ตารางเมตร ค่าเฉลี่ย 22.05±2.43 กิโลกรัม/ตารางเมตร, ระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้า 68-97 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ค่าเฉลี่ย 82.33 ± 6.35 มิลลิกรัม/เดซิลิตร

กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง มีอายุ น้ำหนัก และดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้า มากกว่ากลุ่มฮีโมโกลบินปกติ และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 6 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษาจำแนกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส จำนวนกลุ่มละ 60 ราย

	กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 60 ราย	**กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 60 ราย**	**กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส 60 ราย**
อายุ (ปี)	29.77±6.9 (18-62)	33.23±7.87[a]∞ (20-67)	30.52±7.86 (16-54)
เพศ(ชาย/หญิง)	20:40	19:41	16:44
น้ำหนัก(กก.)	56.36±11.11 (36-90)	59.35±11.25 (40-96.4)	55.77±8.43 (40-95)
ส่วนสูง (ซม.)	162.84±7.87 (140-186)	160.58±6.79 (150-185)	158.77±5.48 (150-178)
ค่าดัชนีมวลกาย (กก./ตร.ม.)	21.17±3.37 (15.2-31.5)	23.05±4.4[a] (17.1-40.9)	22.05±2.43 (16.6-30.0)

ค่าบวกลบแสดงถึงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าในวงเล็บคือค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มใช้ unpaired sample T-test โดยมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.005$

a กลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง $p<0.05$

ᵒᵒ กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส $p=0.051$

ตารางที่ 7 แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

	กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 60 ราย	**กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 60 ราย**	**กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส 60 ราย**
Hb (g/dl)	13.54±1.36 (9.8-16.5)	13.04±1.36 (10.5-17.3)	11.58±1.18 (8.2-14.2)
MCV(fL)	87.1±7.04 (64-99)	76.08±4.39[a] (64-87)	61.18±6.84[b,c] (47-98)
FPG (mg/dl)	82.8 ±5.9 (66-95)	85.40 ±7.35[a,b] (69-99)	82.33±6.35 (68-97)
BUN (mg/dl)	11±2.77 (6-18)	11.42±3.11 (6-18)	11.38±2.51 (6-17)
%HbA	96.24±0.8 (92.4-97.8)	61.55±2.94[a] (58.1-70.9)	3.6±1.9[b,c] (1-9.7)
%HbA_2/E	3.69±0.60 (2.2-5.0)	37.66±3.81[a] (28.3-41.9)	96.39±1.9[b,c] (90.3-99)

ค่าบวกลบแสดงถึงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าในวงเล็บคือค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มใช้ unpaired sample T-test โดยมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

a กลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง $p<0.05$

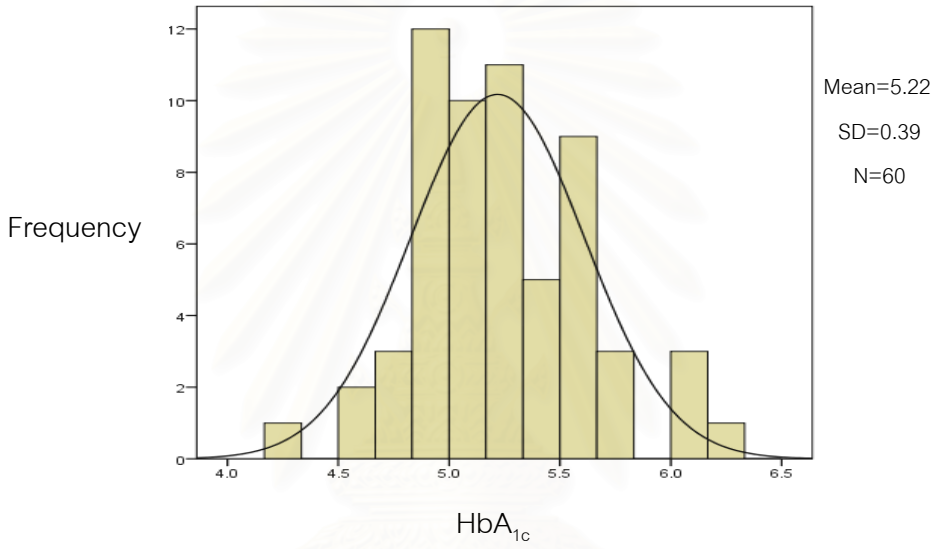
b กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

c กลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

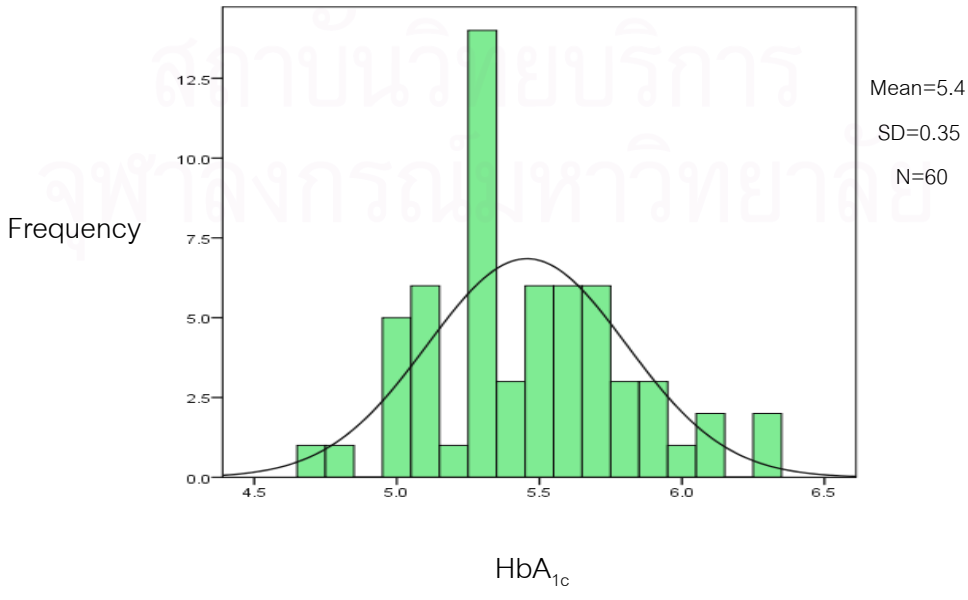
ค่าของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่มมีการแจกแจงแบบปกติ (Normal Distribution) แสดงดังรูปที่ 10 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±SD) ของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่มแสดงดังตารางที่ 8

รูปที่ 10 แสดงการกระจายตัวของข้อมูลเป็นแบบการแจกแจงแบบปกติทั้ง 3 กลุ่ม

(ก) กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ

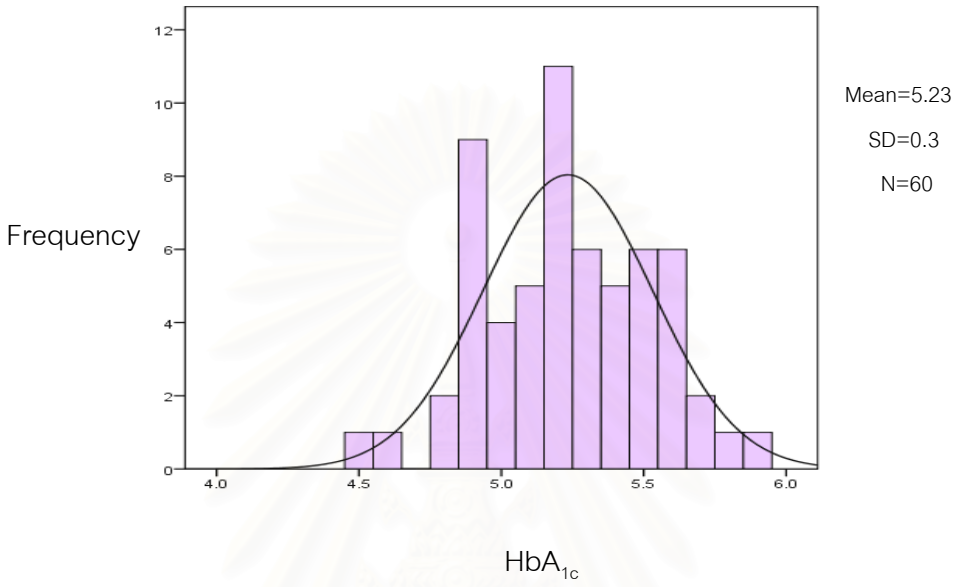


(ข) ฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง



รูปที่ 10 แสดงการกระจายตัวของข้อมูลเป็นแบบการแจกแจงแบบปกติทั้ง 3 กลุ่ม (ต่อ)

(ค) ฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส



● ค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับร้อยละ 5.22±0.39 (ค่าอ้างอิง 4.44-6.0)

● ค่าอ้างอิงของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงเท่ากับร้อยละ 5.45±0.35 (ค่าอ้างอิง 4.75-6.15)

● ค่าอ้างอิงของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสเท่ากับร้อยละ 5.23±0.33 (ค่าอ้างอิง 4.56-5.89)

ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Intra-assays CV (Coefficient of Variation) และ Inter-assay CV) ของค่าฮีโมโกลบินเอวันซีที่วัดจากเครื่อง Roche Cobas Integra มีค่าเท่ากับ 1.66 เปอร์เซ็นต์และ 1.17 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี เท่ากับร้อยละ 6.4 และร้อยละ 11.1 ตามลำดับ และเท่ากับ 2.8 เปอร์เซ็นต์ และ 2.4 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับฮีโมโกลบินเอวันซีเท่ากับร้อยละ 4.8 และร้อยละ 12.1 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่ม กลุ่มละ60 คน

กลุ่ม	ค่าเฉลี่ย ฮีโมโกลบินเอวันซี ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ช่วงค่าความเชื่อมั่นที่ ร้อยละ 95	ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด
ฮีโมโกลบินปกติ	5.22 ± 0.39	5.117 - 5.319	4.3-6.3
ฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง	5.45 ± 0.35	5.366 - 5.547	4.7-6.3
ฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส	5.23 ± 0.33	5.156 - 5.310	4.5-5-9

เมื่อนำค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่มมาเปรียบเทียบกันโดยใช้ ANCOVA โดยนำอายุ ดัชนีมวลกาย และระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้า เป็น covariates พบว่าค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงมากกว่ากลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.032 และ p=0.017 ตามลำดับ) แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีทั้ง 3 กลุ่มโดยใช้ ANCOVA มีอายุ ดัชนีมวลกาย และระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้า เป็น covariates

กลุ่ม	ค่าเฉลี่ย ฮีโมโกลบินเอวันซี	ช่วงค่าความเชื่อมั่นที่ ร้อยละ 95
ฮีโมโกลบินปกติ	5.25	5.170 - 5.337
ฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง	5.41	5.328 - 5.497
ฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส	5.24	5.160 - 5.330

a กลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p=0.032

b กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p=0.017

บทที่ 5

การอภิปรายผลการวิจัย

ค่าของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่มมีการแจกแจงแบบปกติ ดังนั้นจึงใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นค่าอ้างอิง (mean±2SD) โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีที่ตรวจโดยวิธีทางอิมมูนด้วยเครื่อง Roche Cobas Integra ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับร้อยละ 5.22±0.39 (ค่าอ้างอิงร้อยละ 4.44-6.0) กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงเท่ากับร้อยละ 5.45±0.35 (ค่าอ้างอิงร้อยละ 4.75-6.15) และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสเท่ากับร้อยละ 5.23±0.33 (ค่าอ้างอิงร้อยละ 4.57-5.89)

เครื่องที่ใช้ทำการศึกษามีค่า intra-assay CV และ inter-assay CV เท่ากับร้อยละ 1.16 และร้อยละ 2.8 ตามลำดับ ดังนั้นค่าเฉลี่ยที่คำนวณได้จึงมีความน่าเชื่อถือ โดยตัวอย่างเลือดเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสและนำมาตรวจพร้อมกันที่ 3 เดือน

จากการศึกษานี้พบว่าค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น จึงได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติม โดยเมื่อพิจารณาจากข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาพบว่า กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง มีอายุ ดัชนีมวลกาย และระดับน้ำตาลก่อนอาหารเช้ามากกว่ากลุ่มฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเนื่องจากคุณลักษณะพื้นฐานต่างกัน จึงนำปัจจัยต่างๆเหล่านี้มาเป็น covariates ในการคำนวณทางสถิติโดยใช้ ANCOVA และดูความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่ม ผลพบว่าค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับร้อยละ 5.25 (95%CI, 5.170-5.337) กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงเท่ากับร้อยละ 5.41 (95%CI, 5.328-5.497) กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสเท่ากับร้อยละ 5.24 (95%CI, 5.16-5.33) โดยกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงมีค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีมากกว่ากลุ่มฮีโมโกลบินปกติ และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p=0.032$ และ $p=0.017$ ตามลำดับ

การศึกษาที่ผ่านมา (39;40;50;60) ที่เกี่ยวข้องกับผลของฮีโมโกลบินอีต่อระดับของฮีโมโกลบินเอวันซี ส่วนใหญ่เป็นการเปรียบเทียบการตรวจ 2 วิธี คือวิธีทางอิมมูนหรือวิธี ion-exchange chromatography กับวิธี affinity chromatography เป็นวิธีอ้างอิง ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ ซึ่งเกณฑ์ที่กำหนดความแตกต่างไม่เหมือนกันในแต่ละการศึกษา โดยส่วนใหญ่ใช้เกณฑ์

ที่มากกว่าร้อยละ 1 (มีตั้งแต่ร้อยละ 0.4-1) และแต่ละการศึกษามีจำนวนตัวอย่างน้อย ดังนั้นจึงยากที่จะทำการสรุปผลได้ ส่วนการศึกษาที่เกี่ยวกับค่าอ้างอิงในประชากรกลุ่มนี้ มีอยู่ 1 การศึกษาของ Musalmah M. และคณะ (39) ทำการศึกษาที่ประเทศมาเลเซีย หาค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 58 ราย เปรียบเทียบและฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 63 รายที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน โดยเครื่อง DCA 2000 ข้อมูลพื้นฐานกลุ่มฮีโมโกลบินปกติอายุเฉลี่ย 24±8.2 ปี (17-47ปี) น้ำตาลก่อนอาหารเช้าเฉลี่ย 91.8±19.8 มก./ดล. (64.8-140.8 มก./ดล.) ค่าฮีโมโกลบินเอวันซีเฉลี่ยร้อยละ 5.1±0.5 ข้อมูลพื้นฐานกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง อายุเฉลี่ย 23.6±15.6 ปี (1-64ปี) น้ำตาลก่อนอาหารเช้าเฉลี่ย 77.4±23.4 มก./ดล. (61.2-133.2 มก./ดล.) ค่าฮีโมโกลบินเอวันซีเฉลี่ยร้อยละ 5.3±2.7 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซี โดยใช้ Wilcoxon Signed Ranks Test สรุปผลจากการศึกษาว่าค่าฮีโมโกลบินเอวันซีที่ได้ไม่แตกต่างกัน (p=0.69) ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือมีคนที่ระดับน้ำตาลก่อนอาหารเกิน 100 มก./ดล. ซึ่งจะรวมคนที่เป็น impaired fasting glucose และเบาหวานไว้ด้วย ส่วนกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.7 แสดงว่าข้อมูลมีการกระจายตัวมาก อาจเนื่องมาจากรวมเอาผู้ป่วยเบาหวานไว้ด้วย ดังนั้นผลที่ได้จึงไม่สามารถตอบคำถามของการศึกษานี้เช่นกัน

เมื่อวิเคราะห์โดยการแบ่งกลุ่มย่อย หาค่าเฉลี่ยเฉพาะคนที่อายุน้อยกว่า 35 ปี หรือ มีดัชนีมวลกายน้อยกว่า 23 กก./ตร.ม. หรือมีระดับน้ำตาลก่อนอาหารน้อยกว่า 90 มก./ดล. พบว่าได้ผลในลักษณะเดิม แต่ถ้านำปัจจัยทั้ง 3 อย่างมารวมกัน จะมีตัวอย่างในกลุ่มฮีโมโกลบิลปกติ 39 ราย กลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝง 19 ราย และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส 26 ราย ซึ่งค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มเท่ากับร้อยละ 5.18±0.38, ร้อยละ 5.28±0.25 และร้อยละ 5.28±0.26 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ one way ANOVA พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม (p=0.431) แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากเป็นการวิเคราะห์ที่นอกเหนือจากวัตถุประสงค์หลักที่ตั้งไว้ตั้งแต่แรก ดังนั้นต้องระวังในการแปลผลด้วย อาจต้องทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมต่อไป

สมมติฐานที่อาจเป็นไปได้ที่จะอธิบายผลการศึกษานอกเหนือไปจากข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่แตกต่างกัน คือลักษณะโครงสร้างของฮีโมโกลบินอีที่เปลี่ยนแปลงไปต่อความสามารถในการจับกับน้ำตาลหรือการจับกับแอนติบอดีที่ใช้ในการตรวจ เมื่อพิจารณาแอนติบอดีที่ใช้ใน Roche Cobas Integra จะจับกับกรดอะมิโน 3 ตัวแรกที่ N-terminal ของสายบีตาโกลบิน ซึ่งยังไม่มีข้อมูลในปัจจุบันมากพอที่จะสรุปว่าการเปลี่ยนแปลงลำดับกรดอะมิโนที่ตำแหน่งที่ 26 มีผลต่อการจับกับแอนติบอดีหรือไม่ ส่วนค่าของฮีโมโกลบินเอวันซีในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกสที่ไม่เป็นไป

ในทางเดียวกันอาจเนื่องมาจากมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องด้วย เช่นอายุของเม็ดเลือดแดงที่สั้นลงเล็กน้อยในผู้ป่วยกลุ่มนี้

ส่วนในแง่ความสำคัญทางคลินิกนั้น ถ้าเอาเกณฑ์ที่แตกต่างกันมากกว่าร้อยละ 10 ของค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีในแต่ละกลุ่ม ถือว่ามีนัยสำคัญทางคลินิก (36) ในการศึกษานี้ก็จะใช้เกณฑ์ที่มากกว่าหรือน้อยกว่าร้อยละ 0.5 จึงถือว่ามีนัยสำคัญทางคลินิก โดยผลของการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีต่างกันร้อยละ 0.1-0.2 จึงอาจมีผลน้อยในการนำไปใช้ทางคลินิก ดังนั้นถึงแม้ว่าความแตกต่างที่ได้จะมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีนัยสำคัญทางคลินิก ดังนั้นค่าอ้างอิงที่ใช้ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ สามารถใช้เกณฑ์เดิมที่ใช้ในคนปกติได้

ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือลักษณะข้อมูลพื้นฐานในแต่ละกลุ่มไม่เหมือนกัน ทำให้เป็นปัจจัยที่รบกวนผลที่ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

เมื่อใช้การตรวจด้วยวิธีทางอิมมูน โดยเครื่อง Roche Cobas Integra พบว่าในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดแฝงที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน จะมีค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเอวันซีมากกว่ากลุ่มฮีโมโกลบินปกติ และกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส อาจเกิดจากข้อมูลพื้นฐานที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องอาศัยการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมต่อไป แต่อย่างไรก็ตามค่าความแตกต่างที่พบนั้นมีค่าน้อย จึงมีนัยสำคัญทางคลินิกน้อย ดังนั้นแนะนำว่าค่าอ้างอิงของฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยกลุ่มนี้สามารถ ใช้ค่าเดียวกันกับในกลุ่มประชากรปกติได้ โดยการแปลผลต้องระวังในกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับของฮีโมโกลบินที่ไม่คงที่ ซึ่งอาจมีภาวะเม็ดเลือดแดงแตกง่ายในกลุ่มฮีโมโกลบินอีชนิดโฮโมไซโกส ทำให้ฮีโมโกลบินเอวันซีที่วัดได้มีค่าต่ำลง

ข้อเสนอแนะ

- ทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มโดยจับคู่คุณลักษณะต่างๆ ในแต่ละกลุ่มให้ใกล้เคียงกัน
- ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของฮีโมโกลบินอีต่อกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลองและการทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ใช้ในการตรวจ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

(1) H. Shamoon, H. Duffy, N. Fleischer, S. Engel, P. Saenger, M. Strelzyn et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. N Engl J Med 1993; 329:977-986.

(2) Robert C Turner, Rury R Holman, Carole A Cull, Irene M Stratton, David R Matthews, Valeria Frighi et al. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet 1998; 352:837-853.

(3) Rohlfing CL, Wiedmeyer H-M, Little RR. Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care 2005; 28 Suppl 1:S4-S36.

(4) Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. Clin Chem 2001; 47:153-163.

(5) Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FA, van der SW. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. Clin Chem 1993; 39:1717-1723.

(6) Roberts WL, Frank EL, Moulton L, Papadea C, Noffsinger JK, Ou CN. Effects of nine hemoglobin variants on five glycohemoglobin methods. Clin Chem 2000; 46:569-572.

(7) Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravatmuang P, Winichagoon P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. Ann N Y Acad Sci 1980; 344:352-363.

(8) DeSanctis Vincenzo, Roos Malgorzata, Gasser Theo, Fortini Monica, Raiola Giuseppe, Galati Maria Concetta. Multicentre study on prevalence of endocrine complications in thalassaemia major. Italian Working Group on Endocrine Complications in Non-endocrine Diseases. Clin Endocrinol1995; 42:581-586.

(9) Arrigo T, Crisafulli G, Meo A, Sturiale M, Lombardo F, Miceli M et al. Glucose tolerance, insulin secretion and peripheral sensitivity in thalassaemia major. J Pediatr Endocrinol Metab 1998; 11 Suppl 3:863-866.

(10) De S, V, Zurlo MG, Senesi E, Boffa C, Cavallo L, Di Gregorio F. Insulin dependent diabetes in thalassaemia. Arch Dis Child 1988; 63:58-62.

(11) Gamberini MR, Fortini M, Gilli G, Testa MR, De S, V. Epidemiology and chelation therapy effects on glucose homeostasis in thalassaemic patients. J Pediatr Endocrinol Metab 1998; 11 Suppl 3:867-869.

(12) Chern JP, Lin KH, Lu MY, Lin DT, Lin KS, Chen JD et al. Abnormal glucose tolerance in transfusion-dependent beta-thalassemic patients. Diabetes Care 2001; 24:850-854.

(13) McDonald MJ, Shapiro R, Bleichman M. Glycosylated minor components of human adult hemoglobin:purification, identification, and partial structure analysis. J Biol Chem 1978; 253:2327-2332.

(14) American Diabetes Association. Test of Glycemia in Diabetes. Diabetes care 2004; 27(suppl 1): S91-93.

(15) Hoelzel W, Miedema K. Development of a reference system for the international standardization of HbA1c/glycohemoglobin determinations. J Int Fed Clin Chem 1996; 9:62-67.

(16) Kilpatrick ES. Glycated hemoglobin in the year 2000. J Clin Pathol 2000; 53:335-339.

(17) Nguyen AND, Henry JB, Sunheimer RL. Principles of instrumentation. In: Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.19th ed,WB Saunds Co :Philadelphia,1996: 53-73.

(18) Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JI, Nathan D, Peterson CM: American Diabetes Association Technical Review on Tests of Glycemia. Diabetes Care 1995;18:896-909.

(19) Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycated hemoglobin. Clin Chem 2001; 47:153-163.

(20) Polage C, Little RR, Rohlfing CL, Cole TG, Roberts WL. Effects of beta thalassemia minor on results of six glycated hemoglobin methods. Clin Chim Acta 2004; 350:123-128.

(21) Schnedl WJ, Krause R, Halwachs-Baumann G, Trinker M, Lipp RW, Krejs GJ. Evaluation of HbA1c determination methods in patients with hemoglobinopathies. Diabetes Care 2000; 23:339-344.

(22) Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FA, van der SW. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. Clin Chem 1993; 39:1717-1723.

(23) Blakney GB, Higgins TN, Holmes DJ. Comparison of hemoglobin A1C results by two different methods on patients with structural hemoglobin variants. Clin Biochem 1998; 31:619-626.

(24) Polage C, Little RR, Rohlfing CL, Cole TG, Roberts WL. Effects of beta thalassemia minor on results of six glycated hemoglobin methods. Clin Chim Acta 2004; 350:123-128.

(25) Polage C, Little RR, Rohlfing CL, Cole TG, Roberts WL. Effects of beta thalassemia minor on results of six glycated hemoglobin methods. Clin Chim Acta 2004; 350:123-128.

(26) Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS. Effects of vitamin C on glycosylation of proteins. Diabetes 1992;41:167-173.

(27) Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre PJ. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. New prospect for prevention of diabetic complications? Diabetes Care 1991;14:68-72.

(28) Tarim O, Kucukerdogan A, Gunay U, Eralp O, Ercan I. Effects of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c in type 1 diabetes mellitus. Pediatr Int 1999;41:357-362.

(29) Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM: Glycosylated hemoglobin: Methodologies and clinical applications. In: Proceedings of the 9th Annual Arnold O. Beckman Conference. Diabetes Mellitus: From theory to therapy. Clin Chem l986; 32:B64-78.

(30) Nathan DM, Francis TB, Palmer JL. Effect of aspirin on determinations of glycosylated hemoglobin. Clin Chem 1983; 29:466-9.

(31) Stevens VJ, Fantl WJ, Newman CB, Sims RV, Cerami A, Peterson CM. Acetaldehyde adducts with hemoglobin. J Clin Invest 1981;67:361-9.

(32) Ceriello A, Giugliano D, Dello Russo P, Sgambato S, D'Onofrio F. Increased glycosylated haemoglobin A1 opiate addicts: evidence for a hyperglycaemic effect of morphine. Diabetologia 1982; 379**:55–59.**

(33) Frank EL, Moulton L, Little RR, Wiedmeyer HM, Rohlfing C, Roberts WL. Effects of Hemoglobin C and S Traits on Seven glycated hemoglobin Methods. Clin Chem 2000; 46:864-867.

(34) Bon C, Revenant MC, Sotta C, Mailliavin A, Bannier E, Goujon R, et al. Multicenter evaluation of the Abbott glycosylated hemoglobin assay on the IMX. Ann Biol Clin 1996; 54:151-157.

(35) Weykamp CW, Miedema K, de Haan T, Doleman C. Carbamylated hemoglobin interference in glycated hemoglobin assays. Clin Chem 1999; 45:438-440.

(36) Roberts WL, Barun KD, Brown D, Hanbury CM, Hoyer JD, John WG, Lambert TL, Lundell RB, Rohlfing C, Little RR. Hemoglobin C and S Trait on Eight glycated hemoglobin Methods. Clin Chem 2002; 48:383-385.

(37) Weykamp CW, Martina WV, van der Dijs F, Penders TJ, van der S lik W, Muskiet F. Hemoglobins S and C: reference values for glycated hemoglobin in heterozygous, double-heterozygotes and homozygous subjects, as established by 13 methods. Clin Chim Acta 1994; 231:161-171.

(38) Blakney G, Higgins TN, Holmes DJ. Comparison of hemoglobin A1c results by two different methods on patients with structural hemoglobin variants. Clin Biochem 1998;31:619-626.

(39) Roberts WL, Frank EL, Moulton L, Papadea C, Noffsinger J, Ou C. Effects of nine hemoglobin variants on five glycated hemoglobin methods. Clin Chem 2000; 46:569-572.

(40) Musalmah M, Normah J, Mohamad WBW, Salwah ON, Fatah HA, Zahari NAN. Effect of Hemoglobin E on glycosylated hemoglobin determinations using different commercial kits. Med J Malaysia 2000; 55:352-356.

(41) Little R, Mathew AS, Tennill AL, Rohlfing CL, Goldstein DG. Measurement of glycated hemoglobin (GHB) in patients with chronic renal failure (CRF): are ion-exchange HPLC results really invalid? (abstract). Clin Chem 1997; 43(suppl1):S136.

(42) Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FA, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycated hemoglobin determination, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. Clin Chem 1993; 39:1717-1723.

(43) Little RR, Tennill AL, Rohlfing C, Wiedmeyer H, Khanna R, Goel S, Aggrawal A, Madsen R, Goldstein DE. Can Glycohemoglobin (GHB) be used to assess Glycemic Control in Patients with Chronic Renal Failure? Clin Chem 2002; 48:784-786.

(44) Chevenne D, Fonfrede M, Ducrocq R, Chauffert M, Trivin F. Uremia and HbA1c measured by high-performance liquid chromatography. Diabetes Care 1998; 21:463-4.

(45) Roberts WL, McCraw M, Cook CB. Effects of sickle cell trait and hemoglobin C on determinations of HbA1c by immunoassay method. Diabetes Care 1998;21 (6): 983

(46) Hansen KW, Wrlandsen E, Helleberg K, Danielsen H. Uremia and HbA1c. Diabetes Care 1997; 20:1341-1342.

(47) Higgins TN, Blakney GB, Dayton J. Analytical evaluation of the Bio-Rad Variant II automated HbA1c analyzer. Clin Biochem 2001; 34:361-365.

(48) John WG, Braconnier F, Miedema K, Aulesa C, Piras G. Evaluation of the Menarini-Arkray HA 8140 hemoglobin A1c analyzer. Clin Chem 1997; 43:968-975.

(49) Chachou A, Randoux, Millart H, Chanard J, Gillery P. Influence of in vivo hemoglobin carbamylation on HbA1c measurements by various methods. Clin Chem Lab Med 2000; 38:321-6.

(50) Thoma J, Stirn F, Kutter D. Influence of Urea on HbA1c-determinations by Menarini HA 8140 and on the difference between immunoturbidimetric and HPLC HbA1c results. Clin Lab 2000; 46:261-268.

(51) Philipov G, Charles P, Beng C, Philips P. Alternate site testing for HbA1c using the Primus CLC 330 GHb analyzer. Diabetes Care 1997; 20:607-609.

(52) Chang J, Hoke C, Ettinger B, Penerian G. Evaluation and interference study of hemoglobin A1c measured by turbidimetric inhibition immunoassay. Am J Clin Pathol 1998;109:274-8.

(53) Roberts WL, Chiasera JM, Ward-Cook K. glycated hemoglobin results in samples with hemoglobin C or S trait: a comparison of four test systems. Clin Chem 1999; 45:906-9.

(54) Gibb I, Parnham A, Fonfrede M, Lecock F. Multicenter evaluation of Tosoh glycated hemoglobin analyzer. Clin Chem 1999; 45:1833-1841.

(55) Holbrook I. Measurement of HbA1c by high-performance liquid chromatography in patients with renal failure. Ann Clin Biochem 1999; 36:238-239.

(56) Roberts WL, Safar-Pour S, De B.K., Rohlfing C, Weykamp CW, Little RR. Effects of hemoglobin C and S traits on glycohemoglobin measurements by eleven methods. Clin Chem 2005; 51:776-778.

(57) Mongia SK, Connolly S, Hanson S, Little RR, Rohlfing CL, Roberts RF, Roberts WL. Effects of hemoglobin C and S traits on five commercial glycated hemoglobin (HbA1c) assays. (abstract) ACLPS, 2006.

(58) Rohlfing C, Connolly S, England J, Little R. Effect of Elevated Fetal Hemoglobin on HbA1c Measurements: Four Common Assay Methods compared to the IFCC Reference Method. Clin Chem 2006; 52, A108.

(59) Torke NS, Boral L, Nguyen T, Chakrin A, Kimball D, Comparison of four methods for Glycohemoglobin (HbA1c) determination. Clin Chem 2005; 51:A242-3.

(60) Luzzi VI, McKenna M, Landry C, Karstater L, Mongia SK, Robers WL, Rohlfing CL, Tennill A, Little RR. Cobas Integra Tina-Quant Hemoglobin A1c Gen.2 Assay: Accurately monitors HbA1c in patients with S, C, and E traits. Clin Chem Lab Med 2007; 45, Special Supplement,S1-S473.(Poster Abstracts)

(61) Rees D.C., Styles L, Vichinsky E.P., Clegg J.B., Weatherall D.J. The Hemoglobin E Syndromes. Hematology 2007: 79 - 83.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

แบบเก็บข้อมูลผู้ป่วย

(Thalassemia ชนิด .....)

เลขที่……

1.ข้อมูลส่วนตัวผู้ป่วย

1.1 ชื่อ …… นามสกุล ……..

1.2 HN……

1.3 อายุ ……. ปี BW .....kg Ht……cm

1.4 เพศ ……1.ชาย ……. 2.หญิง

1.5 ที่อยู่……..

……

1.6 เบอร์โทรศัพท์ ……

2. ข้อมูลเกี่ยวกับโรค

2.1 ประวัติการได้รับเลือด

ความถี่ ...../ ครั้ง ครั้งล่าสุดเมื่อ .....

ประวัติการได้รับยาขับเหล็ก

ความถี่ ...../ครั้ง ครั้งล่าสุดเมื่อ .....

ประวัติการเสียเลือด (เฉียบพลัน หรือ เรื้อรัง) เมื่อ.....

2.2 โรคประจำตัว

.....

2.3 ยาประจำ.....

3.ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

3.1 CBC (date……)

Hb …… Hct …… MCV..... MCH.....

MCHC…… RDW…….

WBC ……., N……..,L……..,M ……., E……

Plt ……..……..

3.2 BUN …..... mg/dl Creatinine …….....…. mg/dl

3.3 FPG ……mg/dl

3.4 HbA1C ……%

3.5 Hemoglobin typing (date ……..)

……

……

……

……

Remarks……

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

ใบยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย
การศึกษาหาค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในผู้ป่วยที่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอีที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน โดยวิธีทางอิมมูนในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

1. คำชี้แจงเกี่ยวกับงานวิจัยและวัตถุประสงค์ของการวิจัย

การศึกษานี้ต้องการหาค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ในผู้ป่วยโรคโลหิตจางที่มีภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติชนิดฮีโมโกลบินอี ที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน เนื่องจากเป็นกลุ่มที่พบได้บ่อยในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และยังไม่มีข้อมูลการศึกษาค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในประชากรกลุ่มนี้ ว่าค่าที่ได้แตกต่างจากค่าอ้างอิงในกลุ่มประชากรปกติที่ใช้กันอยู่หรือไม่ และสามารถใช้ค่าเดียวกันในการตรวจติดตามการควบคุมระดับน้ำตาลหรือไม่

2. คำชี้แจงเกี่ยวกับขั้นตอน วิธีการ ผลข้างเคียง และการปฏิบัติตัวในขณะเข้าร่วมการวิจัย

1. อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยโดยท่านจะได้รับเอกสารชุดนี้และได้ลงนามในใบยินยอมก่อน
2. อาสาสมัครจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ได้รับการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำเพียงหนึ่งครั้ง การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ โดยผู้เจาะเลือดจะทำความสะอาดบริเวณเส้นเลือดดำที่ข้อพับแขน ก่อนเจาะเลือดด้วยเข็มฉีดยาปลอดเชื้อ การเจาะเลือดจะกระทำโดยแพทย์ พยาบาล หรือ เจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ อาสาสมัครอาจรู้สึกเจ็บเล็กน้อยและอาจพบรอยเขียวช้ำบริเวณที่ถูกเจาะเลือด ซึ่งมักจะหายไปได้เองใน 2-3 วัน หลังเจาะเลือด อาสาสมัครสามารถประกอบกิจวัตรประจำวันได้ตามปกติ
3. อาสาสมัครจะต้องงดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมงก่อนการเจาะระดับน้ำตาลในเลือด ระดับความเข้มข้นเลือด ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี และ ตรวจระดับของเสียในเลือดบียูเอนและครีเอตินิน
4. อาสาสมัครที่เข้าร่วมในโครงการนี้ จะไม่เสียค่าใช้จ่าย สำหรับการตรวจระดับน้ำตาลในเลือด การตรวจระดับความเข้มข้นเลือด การตรวจระดับ ฮีโมโกลบินเอวันซี หรือการตรวจอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

3. ประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับ

อาสาสมัครจะได้รับการตรวจร่างกาย และตรวจคัดกรองโรคเบาหวาน ค่าอ้างอิงของระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ที่ได้จากการศึกษานี้ อาจไม่ได้ประโยชน์ต่อตัวท่านโดยตรงในขณะนี้ แต่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียที่เป็นเบาหวานคนอื่นๆ หรือกรณีที่ท่านเกิดโรคเบาหวานขึ้นในอนาคต

4. คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิของอาสาสมัคร

การเจาะเลือดเพื่อนำไปใช้ในการวิจัยครั้งนี้ จะนำเลือดที่ได้ไปทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการวิจัยของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้การดูแลอย่างใกล้ชิดของ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร และแพทย์หญิง ลลิตา วัฒนะจรรยา อาสาสมัครจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในส่วนของการเจาะเลือดและการทดลองในห้องปฏิบัติการแต่อย่างใด นอกจากนี้ อาสาสมัครมีสิทธิที่จะปฏิเสธการเจาะเลือดเพื่อนำไปใช้ในการวิจัยดังกล่าว โดยไม่มีผลกระทบใดๆต่ออาสาสมัคร

การเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยสมัครใจ อาสาสมัครอาจจะปฏิเสธที่จะเข้าร่วมหรือถอนตัวออกจากการศึกษาวิจัยนี้ได้ทุกเมื่อ อนึ่ง ผลของการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะใช้สำหรับวัตถุประสงค์ทางวิชาการเท่านั้น โดยที่ข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการเปิดเผยชื่อ และไม่มีการเผยแพร่สู่สาธารณชน

หากท่านมีปัญหาหรือข้อสงสัยประการใด กรุณาติดต่อ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร และแพทย์หญิง ลลิตา วัฒนะจรรยา ที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-256-4101 และ 081-8166513 หรือติดต่อสำนักงานคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-256-4455 ต่อ 14,15

5. คำยินยอมของอาสาสมัครในการเข้าร่วมโครงการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจทั้งหมดที่เกี่ยวกับโครงการวิจัยในใบยินยอมครบถ้วนดีแล้ว ข้าพเจ้าเข้าใจถึงลักษณะ วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย พร้อมทั้งได้รับการอธิบายเกี่ยวกับขั้นตอนและประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย ข้าพเจ้าเข้าใจว่าการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เป็นไปด้วย

ความสมัครใจ ซึ่งข้าพเจ้าได้มีเวลาที่จะพิจารณาตัดสินใจในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ข้าพเจ้ายินดีที่จะเข้าร่วมตามโครงการวิจัยนี้ จึงลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ ..... (อาสาสมัคร)

(.....)

..... (แพทย์ผู้ทำการวิจัย)

(.....)

..... (พยาน)

(.....)

วันที่ ..... / ..... / .....

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นามสกุล	นางสาว ลลิตา วัฒนะจรรยา
ประวัติส่วนตัว	เกิดวันที่ 9 มีนาคม พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาแพทยศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1) จากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2543
ประวัติการทำงาน	
ปี 2543-2546	แพทย์ใช้ทุน แผนกอายุรกรรม โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา จ.ชลบุรี
ปี 2546-2549	ศึกษาแพทย์ประจำบ้านภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปี 2549-ปัจจุบัน	ศึกษาแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสาร

1. Wattanachanya L, Golachanvit S. Proton pump inhibitors as a therapeutic treatment for non-cardiac chest pain from esophageal reflux disease. Chula Med J 2007 Jul - Aug; 51(7): 327 - 42

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย