



เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม

ผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินอีที่มีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ  
ฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยหลักการ HPLC และ  
IMMUNOTURBIDIMETRIC  
THE EFFECTS OF HEMOGLOBIN E HETEROZYGOSITY ON THE  
HEMOGLOBIN A1C MEASUREMENT BY HPLC AND  
IMMUNOTURBIDIMETRIC METHOD

จารุวรรณ บุญลาโภ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
หลักสูตรเทคนิคการแพทย์มหาบัณฑิต  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ  
พ.ศ. 2561

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินอีที่มีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี  
ด้วยหลักการ HPLC และ IMMUNOTURBIDIMETRIC  
THE EFFECTS OF HEMOGLOBIN E HETEROZYGOSITY ON THE HEMOGLOBIN A1C  
MEASUREMENT BY HPLC AND IMMUNOTURBIDIMETRIC METHOD

จารุวรรณ บุญลาโภ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ตรวจสอบและอนุมัติให้  
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
หลักสูตรเทคนิคการแพทย์มหาบัณฑิต  
เมื่อวันที่ 27 สิงหาคม พ.ศ. 2561

.....  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรทิพย์ พึ่งม่วง  
ประธานกรรมการ  
.....  
อาจารย์ ดร.ชมพูนุท สิ้นธุพิบูลยกิจ  
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....  
อาจารย์ ดร.สิรินารถ ชูเมียน  
กรรมการ  
.....  
อาจารย์ ดร.กรวิภา วิภัยนภากุล  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....  
อาจารย์ ดร.ชมพูนุท สิ้นธุพิบูลยกิจ  
กรรมการ

.....  
อาจารย์ ดร.กรวิภา วิภัยนภากุล  
กรรมการ  
.....  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรทิพย์ พึ่งม่วง  
ประธานหลักสูตรเทคนิคการแพทย์มหาบัณฑิต

.....  
รองศาสตราจารย์อิสยา จันทรวิธานุชิต  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
.....  
รองศาสตราจารย์อิสยา จันทรวิธานุชิต  
คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์

ผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินอีที่มีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับฮีโมโกลบินเอวันซีด้วย  
หลักการ HPLC และ IMMUNOTURBIDIMETRIC

จากรุวรรณ บุญลาโภ 586024

เทคนิคการแพทยมหาบัณฑิต

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ชมพูนุท สินธุพิบูลยกิจ, Ph.D., กรวิภา วิภัยนภากุล, Ph.D.

บทคัดย่อ

การตรวจวิเคราะห์ระดับ hemoglobin A1c (HbA1c) มีข้อจำกัดในการตรวจวิเคราะห์บางหลักการและเครื่องตรวจวิเคราะห์บางรุ่น เนื่องจากถูกรบกวนโดยฮีโมโกลบินที่ผิดปกติหลายชนิด เช่น ฮีโมโกลบินเอส ฮีโมโกลบินซี ฮีโมโกลบินดี โดยเฉพาะฮีโมโกลบินอี ซึ่งมีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินอีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC และหลักการ immunoturbidimetric ซึ่งเป็นหลักการที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทย โดยตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดจำนวน 90 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ ( $A_2A$ ) จำนวน 30 ตัวอย่าง และพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) จำนวน 60 ตัวอย่าง ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) เมื่อเปรียบเทียบระดับ HbA1c ที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละหลักการ พบว่าระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดชนิดฮีโมโกลบินปกติ ( $A_2A$ ) ไม่แตกต่างจากตัวอย่างเลือดที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) [HPLC: 5.75% (5.62, 5.88) และ 5.66% (5.58, 5.94),  $p = 0.349$  ; immunoturbidimetric: 5.79% (5.67, 5.91) และ 5.70% (5.65, 5.90),  $p = 0.227$ ] เมื่อเปรียบเทียบระดับ HbA1c ที่ตรวจได้จากทั้ง 2 หลักการ พบว่าระดับ HbA1c ที่ได้จากการตรวจด้วยหลักการ HPLC มีค่าไม่แตกต่างจากหลักการ immunoturbidimetric [ $A_2A$ : 5.75% (5.62, 5.88) และ 5.79% (5.67, 5.91),  $p = 0.377$ ; EA: 5.66% (5.58, 5.94) และ 5.70% (5.65, 5.90),  $p = 0.360$ ] และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่า HbA1c ที่ตรวจได้จาก ทั้ง 2 หลักการ พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $r = 0.789$ ,  $p = 0.000$ ) สรุปว่าระดับ HbA1c ที่วิเคราะห์ได้จากทั้ง 2 หลักการมีค่าไม่แตกต่างกัน มีความสัมพันธ์กันและไม่ถูกรบกวนจากพาหะฮีโมโกลบินอี จึงสามารถใช้แทนกันได้

คำสำคัญ: ฮีโมโกลบินเอวันซี พาหะฮีโมโกลบินอี HPLC Immunoturbidimetric

THE EFFECTS OF HEMOGLOBIN E HETEROZYGOSITY ON THE HEMOGLOBIN A1C  
MEASUREMENT BY HPLC AND IMMUNOTURBIDIMETRIC METHOD

JARUWAN BOONLAPOE 586024

MASTER OF MEDICAL TECHNOLOGY (MEDICAL TECHNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: CHOMPUNOOT SINTHUPIBULYAKIT, Ph.D.

KORNWIPA WIKAINAPAKUL, Ph.D.

ABSTRACT

Hemoglobin variants are one of the most common method-specific interferences of hemoglobin A1c (HbA1c) measurement. It has been demonstrated that hemoglobin S, hemoglobin C, hemoglobin D and hemoglobin E, which is high incidence in Thailand, can interfere the HbA1c analysis in some principles and models. This work aimed to study the effects of heterozygous hemoglobin E on the HbA1c measurements by HPLC and immunoturbidimetric methods. The HbA1c levels of 90 EDTA blood samples; 30 samples of hemoglobin typing A<sub>2</sub>A and 60 samples of heterozygous hemoglobin E(EA), were analyzed by cation-exchange high performance liquid chromatography or HPLC (H9 HbA1c analyzer) and immunoturbidimetric method (XL-200 automated chemistry analyzer). The HbA1c levels of A<sub>2</sub>A and EA samples were not different [HPLC: 5.75% (5.62, 5.88) vs 5.66% (5.58, 5.94),  $p = 0.349$ ; immunoturbidimetric: 5.79% (5.67, 5.91) vs 5.70% (5.65, 5.90),  $p = 0.227$ ]. In addition, the HbA1c levels measured by HPLC were also not significantly different, compared with immunoturbidimetric assay in each hemoglobin typing [A<sub>2</sub>A: 5.75% (5.62, 5.88) vs 5.79% (5.67, 5.91),  $p = 0.377$ ; EA: 5.66% (5.58, 5.94) vs 5.70% (5.65, 5.90),  $p = 0.360$ ]. The statistically significant correlation of the two methods was observed ( $r = 0.789$ ,  $p = 0.000$ ). This study suggested that there were no statistically significant difference in HbA1c levels measured by HPLC and immunoturbidimetric assay.

**Keywords:** HemoglobinA1c, Heterozygous hemoglobin E, HPLC, Immunoturbidimetric

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ขอขอบคุณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 5 จังหวัดสมุทรสงคราม กระทรวงสาธารณสุข ในการรวบรวมตัวอย่าง เลือดและข้อมูลของตัวอย่าง ขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย ขอขอบคุณคณาจารย์คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียว เฉลิมพระเกียรติ ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไข ข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของ อาจารย์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำหลักสูตรเทคนิคการแพทยมหาบัณฑิต อาจารย์ที่ปรึกษา และคณาจารย์พิเศษทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้อันมีค่ายิ่งแก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 จังหวัดสมุทรสงคราม กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างเลือด ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ได้เป็นแหล่งประสิทธิ์ ประสาทความรู้และคุณธรรมแก่ผู้วิจัย อันจะเป็นพื้นฐานที่ดั่งงามในการประกอบวิชาชีพเทคนิค การแพทย์ จะได้สร้างประโยชน์ต่อส่วนรวมและประเทศชาติสืบไปให้สมกับปรัชญาของมหาวิทยาลัย ที่ว่า “เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม”

จารุวรรณ บุญลาโภ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญแผนภูมิ	ซ
สารบัญภาพ	ณ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	2
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
<b>บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 กลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable disease, NCD)	5
2.2 โรคเบาหวาน	5
2.3 การประเมินความเสี่ยงต่อโรคเบาหวาน	8
2.4 การคัดกรองผู้ป่วยเบาหวาน	9
2.5 เกณฑ์ในการวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวาน	10
2.6 การประเมินทางคลินิกเมื่อแรกวินิจฉัยโรคเบาหวาน	10
2.7 ภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวาน	11
2.8 การประเมินภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน	13
2.9 การควบคุมโรคเบาหวานสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน	17
2.10 การติดตามและประเมินผลการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน	18
2.11 ฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1c)	20
2.12 หลักการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ HbA1c	23
2.13 ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อผลการตรวจวิเคราะห์ HbA1c	29
2.14 ฮีโมโกลบิน	33
2.15 ฮีโมโกลบินชนิดผิดปกติ (abnormal hemoglobin or variant hemoglobins)	35

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.16 การวินิจฉัย Hb E	36
2.17 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	40
<b>บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย</b>	
3.1 กลุ่มตัวอย่าง	43
3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี	44
3.3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	44
3.4 การตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC	45
3.5 การตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ immunoturbidimetric	48
3.6 วิธีวิเคราะห์ข้อมูล	50
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	
4.1 ข้อมูลของตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษา	51
4.2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีจากการตรวจโดยหลักการ cation-exchange HPLC	53
4.3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีจากการตรวจโดยหลักการ immunoturbidimetric	54
4.4 ผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย % HbA1c เปรียบเทียบระหว่างหลักการ cation-exchange HPLC และ immunoturbidimetric	55
4.5 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับ immunoturbidimetric ในกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ	55
4.6 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับ immunoturbidimetric ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี	56

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.7 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200)	57
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย</b>	
อภิปรายผลและสรุปผล	61
บรรณานุกรม	66
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก เอกสารรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย	74
ภาคผนวก ข ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ในกลุ่มตัวอย่าง ประวัติผู้เขียน	80



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การประเมินผู้ป่วยเพื่อหาความเสี่ยง/ระยะของโรคแทรกซ้อนและการส่งปรึกษา/ส่งต่อ	14
2	เป้าหมายการควบคุมเบาหวานสำหรับผู้ใหญ่	17
3	ตัวอย่างและส่วนประกอบของ glycated hemoglobin บางชนิด	21
4	ผลกระทบของฮีโมโกลบินผิดปกติต่อเครื่องวิเคราะห์หลักการต่าง ๆ	31
5	ข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย (N=90) แบ่งตามชนิดของฮีโมโกลบิน	52
6	ระดับ % HbA1c [ค่าเฉลี่ย (95% CI)] ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ (A <sub>2</sub> A) และกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) ที่ตรวจโดยหลักการ cation-exchange HPLC	53
7	ระดับ % HbA1c [ค่าเฉลี่ย (95% CI)] ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ (A <sub>2</sub> A) และกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) ที่ตรวจโดยหลักการ immunoturbidimetric	54
8	ระดับค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย หลักการ cation-exchange HPLC และหลักการ immunoturbidimetric	55
9	ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย หลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับหลักการ immunoturbidimetric	56
10	ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย หลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับหลักการ immunoturbidimetric	57

## สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่		หน้า
1	ภาพรวมการให้การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวาน	19
2	ตัวอย่าง chromatogram จากการวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC ด้วยเครื่อง Bio-Rad™	24
3	ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	47
4	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ในกลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีพาหะฮีโมโกลบินอี	58
5	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ	59
6	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี	60

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1	กระบวนการเกิด HbA1c	22
2	การตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ enzymatic	25
3	หลักการ affinity chromatography	26
4	หลักการ immunoturbidimetric	27
5	หลักการ immunoturbidimetric inhibition	28
6	โครงสร้างโมเลกุลฮีโมโกลบินเอในคนปกติ	33
7	การรายงานชนิดฮีโมโกลบินจากโครมาโตแกรมด้วยหลักการ HPLC	38
8	การรายงานชนิดฮีโมโกลบินที่ตรวจด้วยหลักการ HPLC และ CE	39
9	เครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 หลักการ cation-exchange HPLC	46
10	เครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 หลักการ immunoturbidimetric	48
11	หลักการ immunoturbidimetric ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c automated chemistry analyzer รุ่น XL-200	49

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่เกิดจากความผิดปกติของการหลั่งหรือการออกฤทธิ์ของอินซูลินที่ลดลง จึงส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในร่างกายนสูงเป็นระยะ ๆ หรือสม่ำเสมอ ถ้าไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมจะทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลานานซึ่งมีผลทำลายหลอดเลือดและนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้ โรคเบาหวานจัดเป็นปัญหาสำคัญระดับโลก จากรายงานของสหพันธ์เบาหวานโลกในปี ค.ศ. 2017 พบว่าจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานทั่วโลกมีถึง 425 ล้านคนและจะเพิ่มขึ้นเป็น 629 ล้านคนในปี ค.ศ. 2045 (1) โดยในจำนวนนี้กว่า 159 ล้านคน เป็นประชากรในกลุ่มประเทศ Western Pacific; IDFWR (The International Diabetes Federation Western Pacific Region) ตามการแบ่งของ The World Health Organization (WHO) มีประเทศสมาชิกตั้งแต่มหาสมุทรแปซิฟิกมาถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้แก่ ประเทศในหมู่เกาะแปซิฟิก ออสเตรเลีย นิซิวแลนด์ ญี่ปุ่น เกาหลี จีน ไต้หวัน ฟิลิปปินส์ ปากัวนิวกินี อินโดนีเซีย มาเลเซีย สิงคโปร์ เวียดนาม และไทย ซึ่งคาดการณ์ว่า จะพบจำนวนผู้ป่วยเบาหวานในประชากรกลุ่มนี้เพิ่มเป็น 183 ล้านคนเมื่อถึงปี ค.ศ. 2045 (1) นอกจากพบว่ามีอัตราการเสียชีวิตจากโรคเบาหวานของประชากรในกลุ่มประเทศ IDFWR สูงถึง 1.3 ล้านคนในปี ค.ศ. 2017 ที่ผ่านมา (1) สำหรับประเทศไทยจากรายงานฉบับเดียวกันนี้ พบว่ามีคนไทยถึง 4.2 ล้านคน ที่ป่วยเป็นโรคเบาหวานซึ่งในจำนวนนี้มีอัตราการเสียชีวิตถึง 44,045 คนสำหรับปี ค.ศ. 2017 ที่ผ่านมา (1) จะเห็นได้ว่าโรคเบาหวานเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของโลกรวมทั้งประเทศไทยด้วย เบาหวานเป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้แต่สามารถควบคุมได้โดยการปฏิบัติตามคำสั่งของแพทย์อย่างเคร่งครัดเพื่อรักษาระดับน้ำตาลในเลือดไม่ให้สูงเกินไป กระบวนการติดตามและประเมินผลการรักษาทำได้โดยการตรวจระดับ hemoglobin A1c (HbA1c) ควบคู่กับการตรวจระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (fasting blood glucose) เพื่อสะท้อนถึงระดับน้ำตาลในเลือดอย่างแท้จริง

Hemoglobin A1c (HbA1c) เกิดจากกระบวนการไกลเคชัน (glycation) ของกรดอะมิโน วาลีน (valine) บริเวณตำแหน่งที่ 1 บนสายเบต้าโกลบิน ( $\beta$ -globin chain) ของฮีโมโกลบิน ระดับ HbA1c สะท้อนถึงระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสะสมย้อนหลัง 3 เดือน จึงนำมาใช้ประโยชน์ในแง่ของการติดตามผลและวางแผนทางการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานของแพทย์ ระดับ HbA1c จะมากขึ้นหรือน้อยขึ้นกับความเข้มข้นของระดับน้ำตาลในเลือด (plasma glucose) จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง HbA1c และระดับน้ำตาลในเลือดพบว่าระดับ HbA1c จะเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 1 เมื่อระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นประมาณ 30 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (2) สมาคมโรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกา

(American Diabetes Association; ADA) แนะนำว่าระดับ HbA1c ในเลือดควรมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 7.0 (3) และจะดีมากสำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่จะควบคุมระดับ HbA1c ให้อยู่ในระดับที่ไม่เกินร้อยละ 6.5 เนื่องจากสามารถลดภาวะแทรกซ้อนที่จะเกิดจากโรคเบาหวาน และจากการศึกษาของ UK prospective diabetes study (UKPDS) (4) และ diabetes control and complications trial (DCCT) พบว่าระดับ HbA1c มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงในการเกิดโรคแทรกซ้อนจากเบาหวานในระยะยาว (5)

สำหรับหลักการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ HbA1c มีหลายหลักการสามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มคือ 1) การตรวจวิเคราะห์โดยอาศัยความแตกต่างของประจุไฟฟ้า ได้แก่ หลักการ electrophoresis, isoelectric focusing และ cation-exchange high performance liquid chromatography 2) การตรวจวิเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยาเคมี ได้แก่ หลักการใช้อนุพันธ์เอนไซม์ (enzymatic method) และ 3) การตรวจวิเคราะห์โดยอาศัยความแตกต่างทางกายภาพ ได้แก่ affinity chromatography และ immunoassay สำหรับห้องปฏิบัติการในประเทศไทยนิยมใช้หลักการ HPLC และ immunoassay หลักการ cation-exchange HPLC แยก HbA1c ฮีโมโกลบินเอ (hemoglobin A; HbA) และฮีโมโกลบินชนิดอื่น ๆ ออกจากกันแล้วคำนวณค่าเป็นร้อยละของระดับ HbA1c โดยเทียบกับฮีโมโกลบินทั้งหมด ส่วนหลักการ immunoassay เป็นหลักการที่ใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดี (monoclonal antibody) ต่อตำแหน่งที่จำเพาะ (epitope) บริเวณปลายด้านหมู่อะมิโน (N-terminal) ของสายเบต้าโกลบิน ทำให้เกิดการรวมกลุ่ม (agglutination) ระหว่าง antibody และ HbA1c (antibody-HbA1c complex) หลักการ immunoassay สามารถแบ่งเป็น 2 หลักการย่อยได้แก่ หลักการ immunoturbidimetric ซึ่งวัดความขุ่นที่เกิดจากการรวมกลุ่มระหว่าง antibody และ HbA1c โดยตรง และหลักการ immunoturbidimetric inhibition ซึ่งใช้สารอีกชนิดมาจับกับแอนติบอดีที่เหลือจากปฏิกิริยาการรวมกลุ่มแล้ววัดความขุ่นที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าความผิดปกติของฮีโมโกลบินสามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ได้ทั้งในเชิงบวกและเชิงลบ (6) ขึ้นอยู่กับชนิดของความผิดปกติของฮีโมโกลบินและหลักการที่ใช้ในการวิเคราะห์

ฮีโมโกลบินอีเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศไทย ลาว กัมพูชาและเวียดนาม ฮีโมโกลบินอีเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติ (abnormal hemoglobin) ที่เกิดจากการกลายพันธุ์เพียง 1 ตำแหน่ง (single point mutation) ของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 26 บนสายเบต้าโกลบินของฮีโมโกลบินโดยเกิดการแทนที่ของกรดอะมิโนกลูตามิก (glutamic acid) ด้วยกรดอะมิโนไลซีน (lysine) ในประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของฮีโมโกลบินอีโดยเฉลี่ยร้อยละ 13 และสูงขึ้นในภาคตะวันออกเฉียงเหนือถึงร้อยละ 30-40 (7) จากการศึกษาพบว่าฮีโมโกลบินอีสามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ HPLC ได้ในเครื่องตรวจวิเคราะห์บางรุ่น เช่น ผลงานวิจัยของ Little และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 (8) ซึ่งได้ศึกษาผลกระทบของ

ตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (heterozygous hemoglobin E; EA) ที่มีต่อการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์หลักการ HPLC จำนวน 10 รุ่น เทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินชนิดปกติ (homozygous hemoglobin A) พบว่าพาหะฮีโมโกลบินอีไม่มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์สำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์บางรุ่น [D-10 (short), D-10 (extended), Variant, Variant II NU และ HA8160 TP] ในขณะที่เครื่องตรวจวิเคราะห์รุ่น Variant II Turbo, HA8160 DM, 2.2 Plus, G7 และ G8 สามารถถูกรบกวนโดยพาหะฮีโมโกลบินอีได้

สำหรับหลักการ immunoassay ในปี ค.ศ. 2008 Little และคณะ (8) ได้ศึกษาผลกระทบของตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี ที่มีต่อการตรวจวิเคราะห์ HbA1c เทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินชนิดปกติ ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์หลักการ immunoassay จำนวน 9 รุ่น พบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์รุ่น A1c Now, Synchron UniCel DxC1, Dimension RxL, Au400, Vitros, Pointe Scientific, Integra 800 Gen2, Tina-quant 917 และ DCA2000 ไม่ถูกรบกวนโดยพาหะฮีโมโกลบินอี ในขณะที่ Paisooksantivatana และคณะ (9) เปรียบเทียบระดับ HbA1c ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ ( $A_2A$ ) และกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์หลักการ turbidimetric inhibition immunoassay (Cobas Integra) และหลักการ immunoturbidimetric (Dimension RxL) พบว่าระดับ HbA1c เฉลี่ยในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี มีค่าต่ำกว่ากลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ ( $A_2A$ ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ที่ตรวจโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้ง 2 รุ่น กับปริมาณฮีโมโกลบินอีในตัวอย่าง

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ในหลายหลักการ และหลายรุ่นของเครื่องตรวจวิเคราะห์ถูกรบกวนได้จากฮีโมโกลบินชนิดผิดปกติ เช่น ฮีโมโกลบินอี ซึ่งประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่มีความชุกของฮีโมโกลบินอีสูง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินอีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC และหลักการ immunoturbidimetric ซึ่งเป็นหลักการที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินอีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC และหลักการ immunoturbidimetric
2. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจด้วยหลักการ cation-exchange HPLC และหลักการ immunoturbidimetric

### 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

เก็บตัวอย่างเลือดที่ได้รับการตรวจชนิดฮีโมโกลบินด้วยหลักการ HPLC ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ VariantTMII hemoglobin testing system (Bio-Rad, USA) จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 จังหวัดสมุทรสงคราม กระทรวงสาธารณสุข จำนวน 90 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ ( $A_2A$ ) จำนวน 30 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างเลือดพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) จำนวน 60 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างเลือดมาวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 (Lifotronic, China) และหลักการ immunoturbidimetric ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (Erba Mannheim, Germany) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 23.0

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 กลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable disease, NCD)

โรคไม่ติดต่อเรื้อรังหรือเรียกระยะยาวว่า เอนซีดี (non-communicable disease, NCD) คือโรคที่ไม่ได้เกิดจากเชื้อโรคและการติดเชื้อใด ๆ จึงไม่สามารถติดต่อจากคนสู่คนได้โดยการสัมผัสคลุกคลี มักเป็นโรคเรื้อรัง อาการของโรคจะเกิดขึ้นอย่างค่อยเป็นค่อยไปจนถึงขั้นมีอาการรุนแรงขึ้นเรื่อย ๆ หากไม่ได้รับการดูแลควบคุม โรคในกลุ่มนี้มักเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ ภายในร่างกาย ส่วนใหญ่มาจากผลของรสนิยมในการดำเนินชีวิต เช่น การดื่มสุรา สูบบุหรี่ การขาดการออกกำลังกาย พฤติกรรมการบริโภค รวมถึงความเครียด ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้เพิ่มความเสี่ยงต่อโรคอ้วนหรือน้ำหนักตัวเกิน โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน โรคไขมันในเลือดสูง โรคความดันโลหิตสูง โรคมะเร็ง โรคทางพันธุกรรม โรคไตเรื้อรัง จากรายงานของ The World Health Organization (WHO) ในปี ค.ศ. 2015 พบว่ากลุ่มโรค NCD เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรถึง 40 ล้านคนทั่วโลกในแต่ละปี หรือคิดเป็นร้อยละ 70 ของการเสียชีวิตของประชากรโลกทั้งหมด (56 ล้านคน) การเสียชีวิตส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากโรคไม่ติดต่อเรื้อรังในกลุ่ม 4 โรคหลักดังนี้คือ โรคหัวใจและหลอดเลือด 17.7 ล้านคนทั่วโลก (45%) โรคมะเร็ง 8.8 ล้านคน (22%) โรคระบบทางเดินหายใจเรื้อรังเสียชีวิต 3.9 ล้านคน (10%) โรคเบาหวานมีผู้เสียชีวิต 1.6 ล้านคนเสียชีวิต (4%) (10) ในขณะที่ประเทศไทยเป็นอีกประเทศที่มีปัญหาของโรค NCD ทวีความรุนแรงขึ้นเช่นกัน จากรายงานฉบับเดียวกันพบว่า โอกาสการเสียชีวิตจากโรค NCD สูงถึงร้อยละ 16.2 ในปี ค.ศ. 2015 (10) สำหรับกลุ่มโรค NCD ที่องค์การอนามัยโลกและประเทศสมาชิกให้ความสำคัญในการป้องกันและควบคุมอย่างเร่งด่วน ตามมาตรการ “4x4x4 model” คือ 4 โรคหลัก ได้แก่ 1) โรคหัวใจและหลอดเลือด 2) โรคเบาหวาน 3) โรคมะเร็ง 4) โรคทางเดินหายใจเรื้อรัง ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาสำคัญ 4 ปัจจัย คือ 1) ภาวะไขมันในเลือดสูง 2) ภาวะความดันโลหิตสูง 3) ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง 4) ภาวะน้ำหนักเกินและอ้วน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ นั้นเกิดจากการมีพฤติกรรมทางสุขภาพที่ไม่เหมาะสม โดยปัจจัยเสี่ยงทางพฤติกรรมร่วมที่สำคัญประกอบด้วย 1) การบริโภคยาสูบ 2) การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ 3) การบริโภคอาหารที่ไม่เหมาะสม 4) การมีกิจกรรมทางกายไม่เพียงพอ (11)

#### 2.2 โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังโรคหนึ่งที่ตั้งอยู่ในกลุ่มโรค NCD ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของการหลั่งอินซูลินหรือการออกฤทธิ์ของอินซูลินหรือทั้งสองอย่าง จึงส่งผลทำให้ระดับน้ำตาลในร่างกายสูง



ในระยะยาว ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงจะส่งผลให้การทำงานของอวัยวะหรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ เสื่อมลง สามารถแบ่งประเภทของโรคเบาหวานตามสาเหตุของการเกิดโรคได้เป็น 4 ประเภทดังต่อไปนี้ (12)

**1. โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (type 1 diabetes)** เป็นเบาหวานชนิดที่ต้องพึ่งพาอินซูลินจากภายนอก เนื่องจากตับอ่อนไม่สามารถผลิตอินซูลินได้จึงต้องฉีดเข้าไปเพื่อการอยู่รอด สาเหตุของเบาหวานชนิดนี้เกิดจากมีการทำลายเบต้าเซลล์ที่ตับอ่อนจากภูมิคุ้มกันของร่างกาย (autoimmune cellular mediated) มักพบในคนอายุน้อย รูปร่างไม่อ้วน อาการของโรคโดยทั่วไปมักปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำมาก อ่อนเพลีย น้ำหนักลด สามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง (มักพบในวัยเด็ก) ซึ่งในบางกรณีพบภาวะเลือดเป็นกรดจากสารคีโตน (ketoacidosis) ซึ่งเป็นอาการแสดงในระยะแรกของโรคหรือมักเกิดจากการดำเนินไปของโรคอย่างช้า ๆ จากระดับน้ำตาลที่สูงปานกลางแล้วเกิดภาวะ ketoacidosis เมื่อมีการติดเชื้อหรือสิ่งกระตุ้นชนิดอื่น ซึ่งมักจะพบกรณีเช่นนี้ในผู้ใหญ่ ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 1 มีแนวโน้มที่จะเป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น Hashimoto thyroiditis, โรคเกรฟส์, โรค Addison, Celiac, vitiligo, โรคตับอักเสบ Autoimmune และ Myasthenia gravis (12) จากรายงานของสมาคมโรคเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกา (American Diabetes Association; ADA) พบว่าความชุกของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ในประชากรประเทศไทยและในประเทศกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้น้อยกว่าประเทศแถบยุโรป (13) และพบว่าอุบัติการณ์ของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ทั่วโลกค่อยๆเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ปีละประมาณร้อยละ 2.5-3.0 โดยเฉพาะเด็กอายุต่ำกว่า 4 ปี (14)

**2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (type 2 diabetes)** คือเบาหวานชนิดที่ไม่ต้องพึ่งพาอินซูลิน (non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) มักเกิดจากร่างกายหลังอินซูลินได้ลดน้อยลงหรือมีภาวะดื้อของเนื้อเยื่อต่ออินซูลินหรือทั้งสองสาเหตุร่วมกัน มักพบในวัยทำงานที่มีอายุมากกว่า 30 ปีขึ้นไป และปัจจุบันมีแนวโน้มจะพบในคนที่มีอายุน้อยลง โดยผู้ป่วยมักมีรูปร่างอ้วนหรือน้ำหนักมากกว่าเกณฑ์ปกติ (BMI มากกว่าหรือเท่ากับ 30 กิโลกรัม/เมตร<sup>2</sup>) หรือมีความเสี่ยงจากประวัติครอบครัวที่มีสมาชิกเป็นโรคเบาหวาน มักมีอาการแสดง คือ กระหายน้ำ ปัสสาวะบ่อย น้ำหนักลดลงในช่วงแรกของการเป็นโรค อ่อนเพลีย เบาหวานชนิดนี้พบประมาณร้อยละ 95 ของผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมด (12) และเป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุดในคนไทย ปัจจัยเสี่ยงของโรคเบาหวานชนิดนี้ได้แก่ อายุที่มากขึ้น ความอ้วน พันธุกรรม ประวัติการเป็นเบาหวานขณะตั้งครรภ์ ความต้านทานต่อกลูโคสต่ำ การมีกิจกรรมทางกายไม่เพียงพอ เชื้อชาติ ความดันโลหิตสูงและภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ

**3. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus: GDM)** คือเบาหวานชนิดที่มีความผิดปกติในแง่ของความทนต่อกลูโคสทุกระดับและผู้ป่วยมีภาวะดื้อต่ออินซูลินมากขึ้นในระหว่างตั้งครรภ์ ซึ่งเกิดขึ้นหรือวินิจฉัยได้ครั้งแรกในขณะตั้งครรภ์โดยไม่คำนึงว่าผู้ป่วยจะได้รับการรักษาด้วยวิธีใด (การควบคุมอาหารหรือการฉีดอินซูลิน) และเบาหวานชนิดนี้อาจจะ

หายหรือไม่หายหลังจากการตั้งครรภ์สิ้นสุดลงก็ได้ รายงานความชุกของ GDM มีความแตกต่างกันตามเชื้อชาติและภูมิภาค เช่น กลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงต่ำ เช่น ชาวสวีเดน มีความชุกของ GDM น้อยกว่าร้อยละ 2 ในขณะที่กลุ่มประชากรความเสี่ยงสูง เช่น คนในประเทศอเมริกา รัฐแคลิฟอร์เนียมีรายงานความชุกร้อยละ 4.9-12.8 ความชุกในประเทศออสเตรเลียเป็นร้อยละ 3 และร้อยละ 17 สำหรับประเทศอินเดีย (15) สำหรับประเทศไทยจากข้อมูลของโรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช ระหว่าง 1 กรกฎาคม ค.ศ. 2011 ถึง 31 ธันวาคม ค.ศ. 2012 พบความชุกของการเกิด GDM ร้อยละ 2.6 (16) เบาหวานชนิดนี้ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนในมารดา เช่น ความดันโลหิตสูง อัตราผ่าตัดคลอดเพิ่มขึ้นและที่สำคัญทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนในทารก เช่น ภาวะทารกตัวโต เพิ่มการเจ็บป่วยและการตายของทารกปริกำเนิด การวินิจฉัยสามารถตรวจพบได้จากการทำ oral glucose tolerance test (OGTT) ผู้หญิงที่มีภาวะเบาหวานขณะตั้งครรภ์มีโอกาสเสี่ยงเพิ่มขึ้นของการพัฒนาไปเป็นเบาหวานชนิดที่ 2

**4. เบาหวานชนิดที่มีสาเหตุเฉพาะ (other specific types of diabetes)** เกิดจากการทำให้เบต้าเซลล์ของตับอ่อนเสียหายที่ส่งผลให้มีการทำงานที่ผิดปกติ จึงหลั่งอินซูลินได้น้อยลงร่างกายจึงนำน้ำตาลในเลือดไปใช้เป็นพลังงานไม่ได้ ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงและเป็นเบาหวานในที่สุด สาเหตุของเบาหวานชนิดนี้ ได้แก่ โรคของตับอ่อน: เคยมีประวัติการผ่าตัดตับอ่อนหรือตับอ่อนอักเสบ

- 1) โรคตับอ่อน: เคยมีประวัติการผ่าตัดตับอ่อนหรือตับอ่อนอักเสบ
- 2) ยีนที่ควบคุมการทำงานของตับอ่อนผิดปกติ (monogenic defect of pancreatic beta cell) เช่น maturity-onset diabetes of the young (MODY)
- 3) ความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการทำงานของอินซูลิน
- 4) โรคต่อมไร้ท่ออื่น ๆ เช่น เนื้องอกต่อมหมวกไตหรือเนื้องอกต่อมใต้สมองบางชนิดที่ผลิตฮอร์โมนมากผิดปกติ (Acromegaly, Cushing syndrome, Pheochromocytoma)
- 5) โรคที่มีความผิดปกติของโครโมโซม เช่น Down's syndrome, Turner syndrome, Klinefelter syndrome
- 6) โรคที่มีความผิดปกติของภูมิคุ้มกัน เช่น Autoimmune disease, Insulin receptor antibody ยา หรือสารเคมีบางชนิดที่ทำให้การหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนผิดปกติ เช่น สเตียรอยด์ ไวรัสบางชนิด เช่น ติดเชื้อหัดเยอรมันตั้งแต่กำเนิด

## 2.3 การประเมินความเสี่ยงต่อโรคเบาหวาน

การตรวจคัดกรองเพื่อค้นหาผู้ป่วยโรคเบาหวานมีความสำคัญมากในปัจจุบันและเป็นสิ่ง ที่ทั่วโลกให้ความสนใจเป็นพิเศษเนื่องจากโรคเบาหวานเป็นโรคที่พบได้บ่อยมาก จัดเป็นโรคเรื้อรังที่ ยังไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ และนอกจากนี้ภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานนับเป็นปัญหา สำคัญ เพราะผู้ป่วยโรคเบาหวานส่วนหนึ่งไม่มีอาการของระดับน้ำตาลในเลือดสูงชัดเจน ดังนั้น การ ตรวจคัดกรองเพื่อการวินิจฉัยในระยะแรกเริ่มของโรคจึงมีความจำเป็นอย่างมาก เพื่อค้นหาความเสี่ยง ต่อการเกิดโรคเบาหวานและประเมินความเสี่ยงที่จะเกิดโรคเบาหวานในอนาคตเพื่อที่จะได้ให้การ วินิจฉัยและรักษาตั้งแต่เริ่มแรก ดังนั้น องค์การอนามัยโลกจึงได้เสนอแนะเกณฑ์การประเมินความ เสี่ยงต่อโรคเบาหวานไว้ดังต่อไปนี้ (17)

1. ผู้ที่มีอายุ 35 ปีขึ้นไป
2. ผู้ที่มีภาวะอ้วนหรือเป็นโรคอ้วน ( $BMI \geq 25$  กิโลกรัม/เมตร<sup>2</sup> และ/หรือมีรอบเอวเกินมาตรฐาน) และผู้ที่มีประวัติครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน โดยเฉพาะผู้ที่มีพี่น้องหรือบิดามารดาเป็นโรคเบาหวานอยู่ถือ ว่ามีปัจจัยเสี่ยงของโรคเบาหวาน
3. เป็นผู้ที่มีความดันโลหิตสูงหรือรับประทานยาควบคุมความดันโลหิตอยู่
4. ระดับไขมันในเลือดผิดปกติ (ระดับไตรกลีเซอไรด์  $\geq 250$  มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและ หรือเอชดีแอล คอเลสเตอรอลน้อยกว่า 35 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรหรือได้รับยาไขมันในเลือดอยู่
5. มีประวัติเป็นโรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (GDM) หรือเคยคลอดบุตรที่มีน้ำหนักตัวแรกเกิด เกิน 4 กิโลกรัม
6. เคยได้รับการตรวจพบว่าเป็น impaired glucose tolerance (IGT) หรือ impaired fasting glucose (IFG)
7. มีโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease)
8. กลุ่มอาการของโรคถุงน้ำในรังไข่ (polycystic ovary syndrome)

ผู้ที่มีเกณฑ์เสี่ยงข้อใดข้อหนึ่งใน 8 ข้อนี้ควรได้รับการตรวจคัดกรองโรคเบาหวาน หากผล การทดสอบเป็นปกติควรตรวจซ้ำเป็นประจำทุกปีในผู้ที่มีภาวะเสี่ยง

## 2.4 การคัดกรองผู้ป่วยเบาหวาน

จากแนวเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวานปี พ.ศ. 2560 แนะนำวิธีการคัดกรองผู้ป่วยเบาหวาน โดยใช้วิธีใดวิธีหนึ่งดังต่อไปนี้ (17)

### 1. การตรวจวัดพลาสมากลูโคสขณะอดอาหาร (fasting plasma glucose, FPG, venous blood) โดยตรวจเลือดจากหลอดเลือดดำ

ถ้าระดับ FPG (หรือ FCBG) 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ให้ตรวจยืนยันด้วย FPG อีกครั้งหนึ่งในวันหรือสัปดาห์ถัดไป ถ้าพบ FPG 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซ้ำอีก ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน ในกรณีที่ FPG มีค่า 100-125 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร วินิจฉัยว่าเป็นภาวะระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารผิดปกติ (impaired fasting glucose; IFG) ควรได้รับคำแนะนำให้ป้องกันโรคเบาหวาน โดยการควบคุมอาหารและการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอและติดตามวัดระดับ FPG ซ้ำทุก 1-3 ปี ทั้งนี้ขึ้นกับปัจจัยเสี่ยงที่มี ในกรณีที่ผู้นั้นมีปัจจัยเสี่ยงหลายปัจจัย ต้องการวินิจฉัยให้แน่ชัดว่ามีความผิดปกติของระดับน้ำตาลในเลือดยุทธวิธีใด สามารถตรวจคัดกรองด้วย 75 กรัม Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) เพื่อเริ่มการป้องกันหรือรักษาได้เร็วขึ้น

### 2. การตรวจน้ำตาลในเลือดโดยวิธีเจาะจากปลายนิ้ว (fasting capillary blood glucose, FCBG)

การคัดกรองโรคเบาหวานโดยใช้การตรวจวัด capillary blood glucose จากปลายนิ้ว โดยที่ไม่ต้องอดอาหาร สามารถใช้ได้ ในกรณีที่ไม่สามารถอดอาหารหรือไม่สามารถตรวจระดับ FPG ถ้าระดับ capillary blood glucose ขณะที่ไม่อดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ควรได้รับการตรวจยืนยันด้วยค่า FPG เนื่องจากค่า capillary blood glucose ที่วัดได้มีโอกาสที่จะมีความคลาดเคลื่อน แต่ถ้าระดับ capillary blood glucose ขณะที่ไม่อดอาหารน้อยกว่า 110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โอกาสจะพบความผิดปกติของระดับน้ำตาลในเลือดมีน้อยจึงควรได้รับการตรวจซ้ำทุก 3 ปี

### 3. การตรวจความทนต่อกลูโคส (75 กรัม Oral Glucose Tolerance Test, OGTT)

มีความไวในการวินิจฉัยเบาหวานมากกว่า FPG ถ้าระดับพลาสมากลูโคส 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลเป็น 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ให้ตรวจยืนยันอีกครั้งในสัปดาห์ถัดไป ถ้าพบระดับพลาสมา กลูโคส 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลยังเป็น 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซ้ำอีก ก็ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน

การวัดระดับ HbA1c สามารถใช้วินิจฉัยภาวะก่อนเบาหวานและโรคเบาหวานได้ (18) แต่ยังไม่แนะนำให้ใช้ในการคัดกรองโรคเบาหวานในคนไทย เนื่องจากค่าใช้จ่ายสูง และห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐาน ได้รับการรับรองโดย National Glycohemoglobin Standardization Program

(NGSP) ([www.ngsp.org](http://www.ngsp.org)) และเทียบมาตรฐานอ้างอิงกับวิธีวัดของ DCCT (Diabetes Control and Complications Trial reference assay) พบว่ายังมีน้อย

## 2.5 เกณฑ์ในการวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวาน

จากแนวเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวานปี พ.ศ.2560 ได้สรุปเกณฑ์ในการวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวาน ทำได้โดยวิธีใดวิธีหนึ่งใน 4 วิธี ต่อไปนี้ (17)

1. ผู้ที่มีอาการของโรคเบาหวานชัดเจนคือ หิวน้ำบ่อย ปัสสาวะบ่อยและมาก น้ำหนักตัวลดลงโดยที่ไม่มีสาเหตุ สามารถตรวจวัดระดับพลาสมากลูโคสจากหลอดเลือดดำเวลาใดก็ได้โดยไม่จำเป็นต้องอดอาหาร (random plasma glucose) มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน

2. การตรวจวัดระดับพลาสมากลูโคสตอนเช้าหลังอดอาหารข้ามคืนมากกว่า 8 ชั่วโมง (fasting plasma glucose; FPG) มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งวิธีนี้เหมาะสำหรับคนทั่วไปที่มาตรวจสุขภาพและผู้ที่ไม่มีอาการของโรคเบาหวาน

3. การตรวจความทนต่อกลูโคส (75 กรัม Oral Glucose Tolerance Test, OGTT) ทำโดยให้ผู้ทดสอบดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัมผสมน้ำ 250-300 มิลลิลิตร หมดภายในเวลา 5 นาทีเก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำเพื่อตรวจวัดระดับพลาสมากลูโคส หลังดื่มสารละลายกลูโคส 2 ชั่วโมง ถ้ามีค่า มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน

4. ระดับ HbA1c มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 6.5 ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน (ในกรณีที่ไม่มีอาการของโรคเบาหวานชัดเจน ควรได้รับการยืนยันโดยการทดสอบซ้ำ ตรวจโดยวิธีที่ได้รับการรับรองโดย NGSP และเทียบมาตรฐานอ้างอิงกับวิธีวัดของ DCCT)

## 2.6 การประเมินทางคลินิกเมื่อแรกวินิจฉัยโรคเบาหวาน

เมื่อผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคครั้งแรกควรได้รับการปฏิบัติดังต่อไปนี้ (17)

1. การซักประวัติ ทำการซักประวัติ อาชีพ ลักษณะการดำเนินชีวิต การออกกำลังกาย การสูบบุหรี่ อุปนิสัยการรับประทานอาหาร ประวัติการเจ็บป่วยรวมถึงโรคอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องข้องกับโรคเบาหวาน เช่น ความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ โรคระบบหลอดเลือดหัวใจและสมอง เก๊าท์ โรคตาและไต (เนื่องจากผู้ป่วยเหล่านี้มีโอกาสพบโรคเบาหวานร่วมด้วย)

2. การตรวจร่างกายทั่วไป ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง วัดรอบเอว วัดความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ ตรวจสุขภาพช่องปาก การตรวจร่างกายตามระบบต่าง ๆ การตรวจตาและจอตา การตรวจเท้า แผล ประสาทรับความรู้สึกที่เท้า คลำชีพจรที่ข้อเท้า ค้นหาภาวะหรือโรคแทรกซ้อนเรื้อรังที่อาจเกิดขึ้นที่จอตา ไต เส้นประสาท และโรคระบบหัวใจและหลอดเลือด

3. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำเพื่อวัดระดับ FPG, HbA1c, คอเลสเตอรอล, ไตรกลีเซอไรด์, เอชดีแอล คอเลสเตอรอล, แอลดีแอล คอเลสเตอรอล, ตรวจประสิทธิภาพการทำงานของตับ ได้แก่ อัลบูมิน (Albumin), Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), Alkaline phosphatase (ALP), Total bilirubin (TBIL), Direct bilirubin, serum creatinine/eGFR, urine exam ถ้าไม่พบ proteinuria ให้ส่งตรวจ microalbuminuria

4. การส่งต่อพบแพทย์ ผู้เชี่ยวชาญ นักโภชนาการ เพื่อกำหนดอาหารและลดน้ำหนักและ จักษุแพทย์ เพื่อตรวจพบความผิดปกติของตาและจอตา อายุรแพทย์โรคไตเมื่อตรวจพบว่าไตผิดปกติ อายุรแพทย์โรคหัวใจเมื่อพบว่ามีความผิดปกติของคลื่นไฟฟ้าหัวใจและทันตแพทย์เมื่อพบว่ามีความผิดปกติของเหงือกและฟัน

## 2.7 ภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวาน

ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงเป็นเวลานานมีสัมพันธ์กับความเสียหายและความล้มเหลวของระบบอวัยวะต่าง ๆ เช่น ดวงตา เส้นประสาท ไตและหัวใจ ภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังจากโรคเบาหวานสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ โรคแทรกซ้อนทางหลอดเลือดขนาดเล็ก (microvascular complication) ได้แก่ nephropathy, retinopathy และ neuropathy ในขณะที่โรคแทรกซ้อนทางหลอดเลือดขนาดใหญ่ (macrovascular complication) ได้แก่ coronary artery disease cerebrovascular disease และ peripheral vascular disease ซึ่งภาวะแทรกซ้อนทั้งหมดที่กล่าวมาเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วย พิการจนถึงขั้นเสียชีวิตในผู้ป่วยเบาหวาน (19)

1. โรคแทรกซ้อนทางตาในผู้ป่วยเบาหวาน ได้แก่ ภาวะจอตาผิดปกติจากเบาหวาน (diabetic retinopathy) เกิดจากความผิดปกติใน microvascular network ของ retina ร่วมกับการอุดตันของเส้นเลือดฝอย จึงส่งผลให้ผู้ป่วยอาจจะเกิดโรคเกี่ยวกับดวงตาได้ เช่น ต้อกระจก ต้อหิน จอประสาทตาเสื่อมและอาจจะส่งผลให้จอร์ับภาพเกิดการฉีกขาดหรือแตกส่งผลให้ผู้ป่วยถึงขั้นตาบอดได้ (20-21)

2. โรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy, DN) พบว่าโรคไตมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับน้ำตาลในเลือด ความดันโลหิตสูงและปัจจัยทางพันธุกรรม โรคเบาหวานจะส่งผลกระทบต่อไตให้ไตทำงานหนักมากกว่าปกติ ในช่วงแรกอาจจะไม่เกิดอาการอะไรเกี่ยวกับไต แต่เมื่อปล่อยไว้เป็นเวลานานจะเกิดภาวะไตเสื่อมและไตวายตามมา สามารถแบ่งการดำเนินไปของโรคไตจากเบาหวานได้เป็น 5 ระยะดังนี้ (22)

1) ระยะที่ 1 renal hyperfunction หรือ initial stage ระยะนี้เกิดขึ้นทันทีที่มีน้ำตาลในเลือดสูง จะพบ glomerular filtration rate (GFR) เพิ่มขึ้นจากเดิมประมาณร้อยละ 20-40

2) ระยะที่ 2 clinical latency หรือ early renal involvement ระยะนี้เกิดขึ้นห่างจากระยะที่ 1 ประมาณ 2-3 ปี การเปลี่ยนแปลงที่สำคัญคือ มีพยาธิสภาพที่ไตมากขึ้น มักพบ GFR สูงกว่าปกติได้ถึงร้อยละ 35-40 และจะมีการดำเนินโรคเข้าสู่ระยะที่ 3

3) ระยะที่ 3 microalbuminuria หรือ incipient nephropathy ระยะนี้พบหลังจากเป็นเบาหวานมาประมาณ 5-10 ปี การตรวจพบที่สำคัญคือ microalbuminuria หมายถึงพบ urinary albumin excretion (UAE) 30-300 มิลลิกรัมต่อวันหรือ 20-200 ไมโครกรัมต่อนาที โดยจะต้องตรวจพบ 2 ใน 3 ครั้งถึงจะถือว่ามีความสำคัญและการตรวจเพียงครั้งเดียวพบว่า มีเพียงประมาณร้อยละ 50 เท่านั้นที่ตรวจซ้ำแล้วยังคงให้ผลตามเดิม ในระยะอาจตรวจพบความดันโลหิตสูงร่วมด้วยได้

4) ระยะที่ 4 macroalbuminuria หรือ overt nephropathy ระยะนี้เกิดขึ้นหลังจากเป็นเบาหวานประมาณ 10-20 ปี การตรวจพบที่สำคัญคือ UAE มากกว่า 300 มิลลิกรัมต่อวัน สำหรับการตรวจปัสสาวะด้วยวิธี dipstick สำหรับ albumin จะให้ผลบวก มักพบความดันโลหิตสูงร่วมด้วยเสมอ การตรวจปัสสาวะอาจพบเม็ดเลือดแดงได้ประมาณร้อยละ 30 พบ red blood cell cast ได้ประมาณร้อยละ 10

5) ระยะที่ 5 end stage renal disease ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 5-10 ปีหลังจากเข้าสู่ระยะที่ 4 พบว่าระยะที่ 5 นี้ยังไม่พบข้อมูลเกี่ยวกับการดำเนินไปของโรคชัดเจนมากนักทั้งในเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 เนื่องจากมีปัจจัยอื่นที่มีผลที่ทำให้ไตเสื่อมเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น อายุที่มากขึ้น ความดันโลหิตสูง ร่วมกับภาวะแทรกซ้อนทางระบบหัวใจและหลอดเลือด อาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตก่อนที่จะเกิด DN ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ I-Ching Kuo และคณะในปี ค.ศ. 2016 (23) ที่ศึกษาภาวะแทรกซ้อนทางไตในผู้ป่วยเบาหวานพบว่า ระดับ HbA1c มีความสัมพันธ์กับโรคไตระยะที่ 3 และ 4 แต่ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคไตในระยะที่ 5

ดังนั้น เพื่อเป็นการป้องกันโรคแทรกซ้อนทางไตในผู้ป่วยเบาหวานควรตรวจหา DN ในระยะแรก ๆ ของโรคถือว่าจะมีประโยชน์ต่อคนไข้มากที่สุด ร่วมกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้ใกล้เคียงระดับปกติให้มากที่สุดเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิด DN

3. โรคความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยเบาหวาน เป็นโรคแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยในคนไข้เบาหวาน Grossman และ Messerli (24) ได้ศึกษาทบทวนรายงานเกี่ยวกับผลกระทบของความดันโลหิตสูงและเบาหวานต่อหัวใจ พบว่า ความดันโลหิตสูงเป็นส่วนสำคัญในการเกิดโรคหลอดเลือดโคโรนารีในผู้ป่วยเบาหวานและชี้ให้เห็นว่า ความถี่และความรุนแรงของโรคและอาการแทรกซ้อนที่ตามมา เช่น โรคหัวใจล้มเหลวก่อนวัยอันควร ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย รวมไปถึงการเสียชีวิตกะทันหันจะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับ Julie K. Bower และคณะ (25) ที่พบความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับความเสี่ยงของโรคความดันโลหิตสูงและภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis)

4. โรคแทรกซ้อนที่ปลายประสาท (diabetic neuropathy) เป็นโรคแทรกซ้อนที่มีความชุกถึงร้อยละ 30 ของโรคแทรกซ้อนจากเบาหวานทั้งหมด ปัจจัยเสี่ยงขึ้นกับระยะเวลาของโรคเบาหวาน ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูง อายุ ความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในเลือดและโรคอ้วน การสูบบุหรี่และความต้านทานต่ออินซูลิน โรคแทรกซ้อนนี้มักเกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนปลาย โดยเฉพาะที่บริเวณนิ้วเท้ามักจะมีการชาและไม่มีความรู้สึก ผู้ป่วยเบาหวานที่มีอาการชาและหลอดเลือดอุดตันตามแขนขา มักจะเกิดแผลและติดเชื้อได้ง่าย อันเป็นผลมาจากการเกิดแผลที่มือเท้าโดยไม่รู้ตัว ดังนั้นผู้ป่วยควรระมัดระวังดูแลรักษามือเท้าให้ดีอยู่เสมอ (26)

5. โรคแทรกซ้อนที่เกิดจากผลกระทบต่อหลอดเลือดขนาดใหญ่ (macrovascular complication) การที่ระดับน้ำตาลในเลือดสูงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานจะส่งผลทำให้เกิด atherosclerosis ซึ่งเป็นสภาวะที่หลอดเลือดแดงแข็งเนื่องจากคราบไขมันสะสมเป็นผลทำให้หลอดเลือดตีบ ส่งผลทำให้เลือดไปเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ ที่สำคัญของร่างกายไม่เพียงพอร่วมกับการมีความดันโลหิตที่สูงขึ้น ถ้าเหตุการณ์นี้เกิดขึ้นกับหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงที่หัวใจ จะส่งผลให้เกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (myocardial infarction) หรือกล้ามเนื้อหัวใจวายเฉียบพลันเป็นผลให้เกิดอาการเจ็บหน้าอก หรือเสียชีวิตโดยเฉียบพลันได้อันเป็นผลมาจากหลอดเลือดตีบตันและถ้าเกิดที่หลอดเลือดที่ไปเลี้ยงสมองเกิดการตีบตัน (stroke) อาจทำให้เกิดอัมพาตได้ในที่สุด (19)

## 2.8 การประเมินภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวาน

การประเมินผู้ป่วยเพื่อหาภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานแบ่งเป็น 2 กรณีดังต่อไปนี้ (17)

### 1. การประเมินและการติดตามในกรณีที่ยังไม่มีโรคแทรกซ้อนสามารถทำได้ดังนี้

- 1) ตรวจร่างกายอย่างละเอียดรวมทั้งการตรวจเท้าอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง
- 2) ตรวจตาปีละ 1 ครั้ง
- 3) ตรวจฟันและสุขภาพช่องปากโดยทันตแพทย์อย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง
- 4) ตรวจระดับไขมันในเลือดปีละ 1 ครั้ง (หากปกติ)
- 5) ตรวจปัสสาวะและ albuminuria (microalbuminuria) หรือ urine albumin /creatinine ratio ปีละ 1 ครั้ง
- 6) ควบคุมการสูบบุหรี่
- 7) การดื่ม alcohol
- 8) ประเมินคุณภาพชีวิตและสุขภาพจิตของผู้ป่วยและครอบครัว



## 2. การประเมินและการติดตามในกรณีที่มีโรคแทรกซ้อนจากเบาหวาน

การประเมินและติดตามในกรณีที่มีโรคแทรกซ้อนไม่ว่ากับอวัยวะใดก็ตาม ควรควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้เป็นไปตามเป้าหมายรวมถึงปัจจัยเสี่ยงที่พบและเมื่อมีโรคแทรกซ้อนเกิดขึ้นแล้วความถี่ของการประเมินและติดตามจะเพิ่มมากขึ้นดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การประเมินผู้ป่วยเพื่อหาความเสี่ยง/ระยะของโรคแทรกซ้อนและการส่งปรึกษา/ส่งต่อ

รายการ	ความเสี่ยงต่ำ/ ไม่มีโรคแทรก ซ้อน	ความปาน กลาง/มีโรค แทรกซ้อน ระยะต้น*	ความเสี่ยงสูง/ โรคแทรกซ้อน ระยะกลาง*	มีโรคแทรก ซ้อนเรื้อรัง รุนแรง**
การควบคุมระดับ น้ำตาลในเลือด	HbA1c < 7%	HbA1c 7-7.9 %	HbA1c ≥ 8 % มี hypoglycemia ≥ 3 ครั้งต่อสัปดาห์	
โรคแทรกซ้อนที่ตา	ไม่มีretinopathy	mild NPDR	moderate NPDR หรือ VA ผิดปกติ	severe NPDR PDR macular edema

ที่มา: สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. 2560.

\*ผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงปานกลางและความเสี่ยงสูงควรส่งพบอายุรแพทย์หรือแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางเป็นระยะ

\*\*ผู้ป่วยที่มีโรคแทรกซ้อนเรื้อรังรุนแรงควรส่งพบแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะโรคเพื่อดูแลรักษาต่อเนื่อง

eGFR = estimated glomerular filtration rate; สูตรคำนวณ eGFR ตาม CKD-EPI

NPDR = non-proliferative diabetic retinopathy

PDR = proliferative diabetic retinopathy

VA = visual acuity

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รายการ	ความเสี่ยงต่ำ/ ไม่มีโรคแทรก ซ้อน	ความปาน กลาง/มีโรค แทรกซ้อน ระยะต้น*	ความเสี่ยงสูง/ โรคแทรกซ้อน ระยะกลาง*	มีโรคแทรกซ้อน เรื้อรังรุนแรง**
โรคแทรก ซ้อนที่ไต	ไม่มีproteinuria/ urine albumin /creatinine ratio < 30 ไมโครกรัม/ มิลลิกรัม	มี urine albumin /creatinine ratio 30-300 ไมโครกรัม/ มิลลิกรัม	มี urine albumin /creatinine ratio > 300ไมโครกรัม/ มิลลิกรัม หรือ eGFR 30-59 ml/min/1.73m <sup>2</sup> . และมีอัตราการลดลง < 7 ml/min/1.73m <sup>2</sup> /	eGFR 30-59 ml/min/1.73m <sup>2</sup> / และมีอัตราการลดลง >7 ml/min/1.73m <sup>2</sup> / หรือ eGFR < 30 ml/min/1.73m <sup>2</sup> .

**ที่มา:** สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. 2560.

\*ผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงปานกลางและความเสี่ยงสูงควรส่งพบอายุรแพทย์หรือแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางเป็นระยะ

\*\*ผู้ป่วยที่มีโรคแทรกซ้อนเรื้อรังรุนแรงควรส่งพบแพทย์เชี่ยวชาญเฉพาะโรคเพื่อดูแลรักษาต่อเนื่อง

eGFR = estimated glomerular filtration rate; สูตรคำนวณ eGFR ตาม CKD-EPI

NPDR = non-proliferative diabetic retinopathy

PDR = proliferative diabetic retinopathy

VA = visual acuity

ตารางที่ 1 (ต่อ)

รายการ	ความเสี่ยงต่ำ/ ไม่มีโรคแทรก ซ้อน	ความปานกลาง/ มีโรคแทรกซ้อน ระยะต้น*	ความเสี่ยงสูง/ โรคแทรกซ้อน ระยะกลาง*	มีโรคแทรกซ้อน เรื้อรังรุนแรง**
โรคหัวใจและ หลอดเลือด	ไม่มี hypertension ไม่มี dyslipidemia ไม่มีอาการของ ระบบหัวใจและ หลอดเลือด	มี hypertension และ/หรือ dyslipidemia และควบคุมได้ ตามเป้าหมาย	ควบคุม hypertension และ/หรือ dyslipidemia ไม่ได้ตาม เป้าหมาย	มี angina pectoris หรือ CAD หรือ myocardial infarction หรือ ผ่าตัด CABG มี CVA มี heart failure
โรคแทรกซ้อนที่ เท้า	Protective sensation ปกติ peripheral pulse ปกติ	มี peripheral neuropathy peripheral pulse ลดลง	มีประวัติแผลที่เท้า Previous amputation มี intermittent claudication	มี rest pain พบ gangrene

ที่มา: สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. 2560.

\*ผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงปานกลางและความเสี่ยงสูงควรส่งพบอายุรแพทย์หรือแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางเป็นระยะ

\*\*ผู้ป่วยที่มีโรคแทรกซ้อนเรื้อรังรุนแรงควรส่งพบแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะโรคเพื่อดูแลรักษาต่อเนื่อง

CAD = coronary artery disease

CABG = coronary artery bypass graft

CVA = cerebrovascular accident

## 2.9 การควบคุมโรคเบาหวานสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน

เกณฑ์การควบคุมโรคเบาหวานสำหรับผู้ป่วยเบาหวานโดยอาศัยผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เป้าหมายการควบคุมเบาหวานสำหรับผู้ใหญ่

การควบคุมเบาหวาน	เป้าหมายควบคุมเข้มงวดมาก	เป้าหมายควบคุมเข้มงวด	เป้าหมายควบคุมไม่เข้มงวด
ระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร	> 70-110 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	80-130 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	140-170 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร 2 ชั่วโมง	< 140 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	-	-
ระดับน้ำตาลในเลือดสูงสุดหลังอดอาหาร	-	< 180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร	-
HbA1c (% total Hb)	< 6.5 %	< 7.0 %	7.0 - 8.0 %

ที่มา: สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. 2560.

## 2.10 การติดตามและประเมินผลการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน

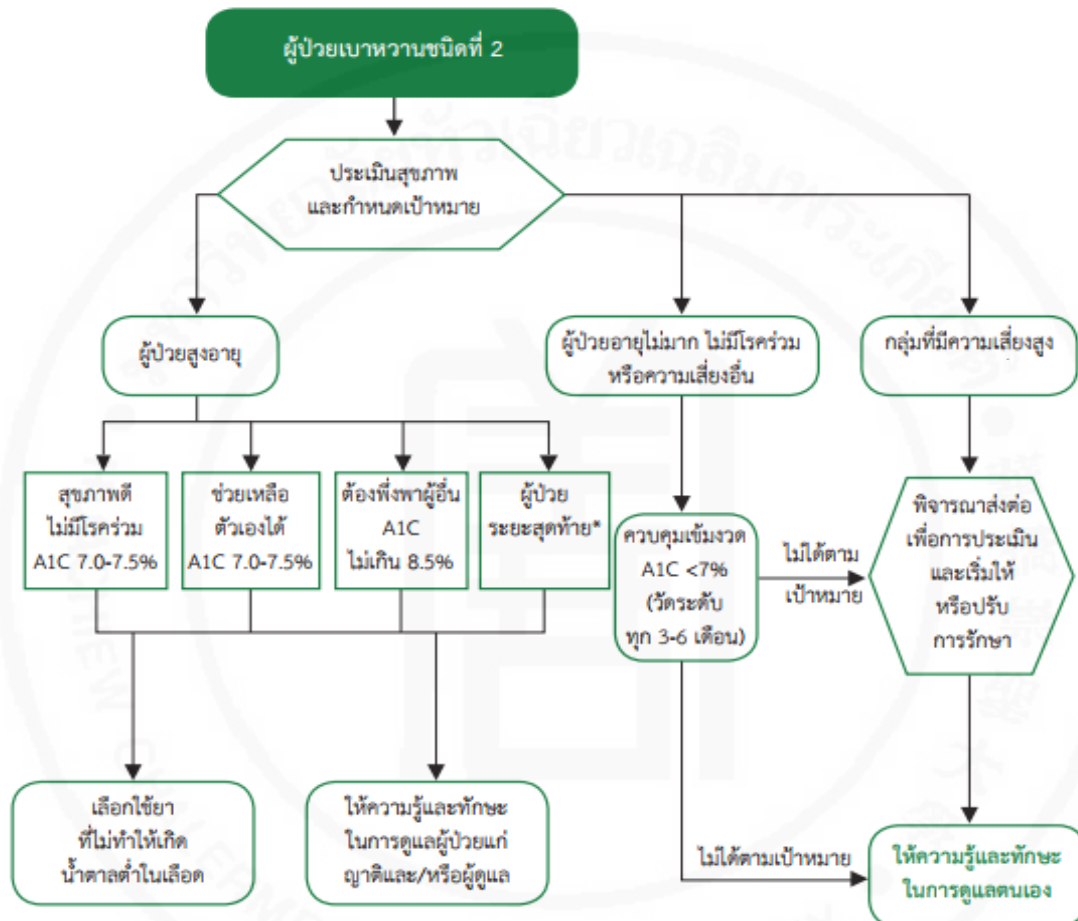
การติดตามผลการรักษาจะขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรคเบาหวานและวิธีการรักษาของแพทย์แต่ละท่านโดยจะกำหนดความถี่ของการประเมินและติดตามเป็นระยะ ๆ ดังนี้ (17)

ระยะแรกแพทย์ผู้รักษาจะนัดผู้ป่วยทุก 1-4 สัปดาห์ เพื่อให้ความรู้เกี่ยวกับโรคเบาหวาน เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถดูแลตนเองได้ พร้อมทั้งติดตามระดับน้ำตาลในเลือดเพื่อปรับขนาดของยา จนกว่าจะควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ตามเป้าหมายภายใน 3-6 เดือน

ระยะต่อไปติดตามทุก 1-3 เดือน เพื่อประเมินการควบคุมว่ายังคงเป็นไปตามเป้าหมายที่ตั้งไว้ ควรประเมินระดับน้ำตาลในเลือดทั้งก่อนและหลังอาหาร และ/หรือระดับ HbA1c (แผนภูมิที่ 1) ตรวจสอบว่ามีการปฏิบัติตามแผนการรักษาอย่างสม่ำเสมอและถูกต้องหรือไม่ หรือมีอุปสรรคในการรักษาอย่างไร พร้อมทั้งติดตามผลการรักษาซึ่งมีข้อปฏิบัติดังต่อไปนี้

1. ชั่งน้ำหนักตัว วัดความดันโลหิต
2. ตรวจระดับน้ำตาลในเลือดทุกครั้งที่พบแพทย์ (ระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารและ/หรือหลังอาหาร)
3. ตรวจ HbA1c ทุก 3-6 เดือน หรืออย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง
4. ตรวจระดับไขมันในเลือด (lipid profiles) ในครั้งแรกและถ้าครั้งแรกปกติ ควรตรวจซ้ำปีละ 1 ครั้ง
5. ควรได้รับการฉีดวัคซีนไข้หวัดใหญ่ปีละ 1 ครั้ง

## แผนภูมิที่ 1 ภาพรวมการให้การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวาน



**ที่มา:** สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. 2560.

\*ผู้ป่วยที่คาดว่าจะมีชีวิตอยู่ได้ไม่นาน

(ระดับน้ำตาลในเลือดสูงพอประมาณแต่ไม่มีอาการ ไม่กำหนดระดับ HbA1c)

### 2.11 ฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1c)

ฮีโมโกลบินเอวันซีเกิดจากการจับกันระหว่างน้ำตาลกลูโคสกับโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของฮีโมโกลบิน ด้วยกระบวนการ glycation ซึ่งในผู้ใหญ่ทั่วไปจะพบ HbA, HbA<sub>2</sub> และ HbF ประมาณร้อยละ 97-98, 2.5 และ 0.5 ตามลำดับ สำหรับ HbA จะมีการเรียกชื่อที่แตกต่างกันออกไป โดยจะเรียก HbA ที่ไม่มีการจับของน้ำตาลกลูโคสว่า HbA<sub>0</sub> และเรียก HbA ที่มีการจับของน้ำตาลกลูโคสว่า HbA1 ซึ่ง HbA1 จะมีหลายรูปแบบขึ้นกับจำนวน ชนิดและลักษณะของน้ำตาลกลูโคสที่จับตรงตำแหน่งปลาย N ของสายเบต้าโกลบิน (ดังแสดงในตารางที่ 3) แต่ที่พบว่ามีผลสำคัญคือ HbA1c ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของฮีโมโกลบินเอวันซีที่มีโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสจับอยู่ที่กรดอะมิโนวาเลินตรงปลาย N ของสายเบต้า โดยฮีโมโกลบินเอวันซีเป็นฮีโมโกลบินเอวันซีที่สามารถจับกับน้ำตาลกลูโคสได้อยู่มากที่สุดโดยมีประมาณร้อยละ 80 ของ HbA1 ทั้งหมด (14) ด้วยเหตุนี้เองจึงได้รับความสนใจและนำมาศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานเพราะสามารถสะท้อนระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดในช่วง 8-12 สัปดาห์ที่ผ่านมาได้ (27)

HbA1c เกิดจากกระบวนการไกลเคชัน (glycation) ของกรดอะมิโนวาเลิน (valine) บริเวณตำแหน่งที่ 1 บนสายเบต้าโกลบิน ( $\beta$ -globin chain) ของฮีโมโกลบิน โดยน้ำตาลกลูโคสในเลือดจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเม็ดเลือดแดงเข้าไปในเซลล์ได้อย่างอิสระและจับกับฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงในขั้นต้นจะได้ schiff base ซึ่งเป็นผลผลิตที่ไม่คงตัวและมีการเปลี่ยนแปลงกลับไปกลับมาได้อย่างรวดเร็วจึงเรียก glycated hemoglobin ที่ได้จากขั้นตอนนี้ว่า pre-HbA1c หรือ labile HbA1c โดยที่ labile HbA1c นี้เองส่วนหนึ่งจะแยกกลูโคสออกจากฮีโมโกลบินและอีกส่วนหนึ่งจะมีการจัดเรียงโมเลกุลใหม่ โดยกระบวนการ amadori rearrangement เมื่อสิ้นสุดกระบวนการนี้จะได้ glycated hemoglobin ที่คงตัวหรือที่รู้จักกันในนาม stable HbA1c (28) ดังปฏิกิริยาแสดงในภาพที่ 1

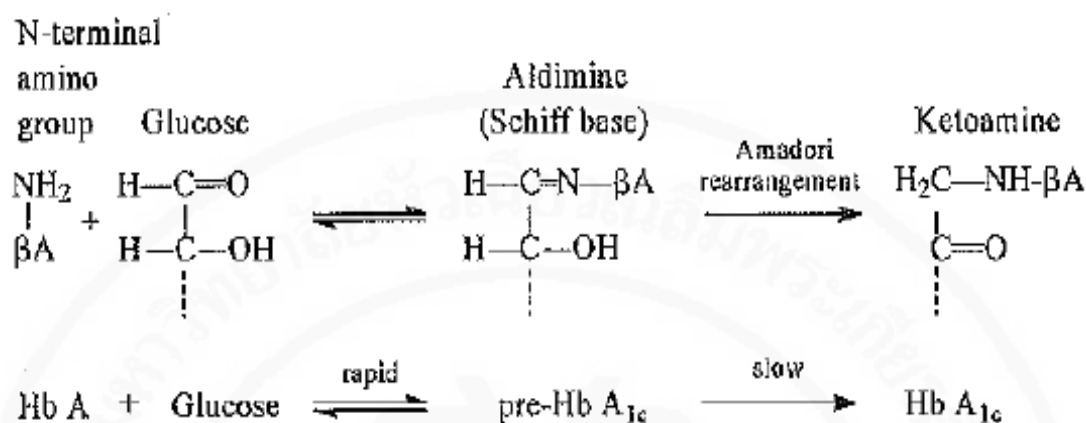
**ตารางที่ 3** ตัวอย่างและส่วนประกอบของ glycated hemoglobin บางชนิด

ชื่อ	ส่วนประกอบ
HbA	เป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 97 ของฮีโมโกลบินในผู้ใหญ่
HbA <sub>0</sub>	ฮีโมโกลบิน A ที่ยังไม่ถูกเติมน้ำตาล
HbA1a <sub>1</sub>	ฮีโมโกลบิน A ที่ต่อกับ fructose-1,6-diphosphate ตรงปลาย N ของสายเบต้า
HbA1a <sub>2</sub>	ฮีโมโกลบิน A ที่ต่อกับ fructose-6-phosphate ตรงปลาย N ของสายเบต้า
HbA1a	ประกอบด้วย HbA1a <sub>1</sub> และ HbA1a <sub>2</sub>
HbA1b	ฮีโมโกลบิน A ที่ต่อกับ pyruvic acid ตรงปลาย N ของสายเบต้า
HbA1c	ฮีโมโกลบิน A ที่ต่อกับ glucose ตรงปลาย N ของสายเบต้าที่กรดอะมิโนวาเลอีน
pre-HbA1c	ตัวกลางที่ไม่เสถียรของ HbA1c
HbA1	ประกอบด้วย HbA1a, HbA1b และ HbA1c
Total glycated hemoglobin	ประกอบด้วย HbA1c และตัวที่ต่อกับน้ำตาลอื่น ๆ ทุกตัว

ที่มา: รัชดา เกรสซี่. 2557 : 95.



ภาพที่ 1 กระบวนการเกิด HbA1c



ที่มา: Hinzmann R, Schlaeger C, Tran CT. 2012 : 665-681.

อย่างไรก็ตามปฏิกิริยา glycation อาจเกิดที่ตำแหน่งอื่นที่นอกเหนือไปจาก N-terminal ของสายเบตาก็ได้ ยกตัวอย่างเช่น ที่ตำแหน่งของกรดอะมิโนไลซีนบนสายเบต้า ฮีโมโกลบินเหล่านี้จะเรียกรวมกันว่า glycated hemoglobin A หรือ total glycated hemoglobin ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างจาก non-glycated hemoglobin เมื่อตรวจวิเคราะห์โดยเทคนิคที่อาศัยความแตกต่างของประจุ

ระดับ HbA1c สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในแง่ของการวินิจฉัยและติดตามดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวานได้ จากการศึกษาของ DCCT เทียบกับ UKPDS พบว่าทุก ๆ ร้อยละ 1 ของการลดลงของ HbA1c ทำให้ความเสี่ยงในการเกิดโรค microvascular complication ลดลงถึงร้อยละ 37 (29) ความเสี่ยงในการเสียชีวิตอันเนื่องมาจากโรคเบาหวานลดลงถึงร้อยละ 21 (29) และเนื่องจากการควบคุมระดับน้ำตาลเป็นหัวใจอย่างหนึ่งของการรักษาโรคเบาหวาน หากผู้ป่วยไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลให้ใกล้เคียงระดับปกติได้ จะส่งผลให้มีโอกาสเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังจากโรคเบาหวานได้มากกว่าปกติ สำหรับการตรวจวัดระดับ HbA1c ควรได้รับการตรวจในผู้ป่วยเบาหวานทุกรายตั้งแต่แรกวินิจฉัยโรคก่อนการรักษาเพื่อประเมินความรุนแรงของโรคเบาหวาน หลังจากนั้นควรติดตามเพื่อประเมินผลการรักษาเป็นระยะ ๆ โดยทั่วไปจึงควรตรวจวัดระดับ HbA1c ทุก 3 เดือน โดยผู้ป่วยควรควบคุมระดับ HbA1c ให้ต่ำกว่าร้อยละ 7 (ค่าปกติร้อยละ 4-6) เนื่องจากเป็นระดับที่สัมพันธ์กับการลดอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังได้อย่างชัดเจน (5)

## 2.12 หลักการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ HbA1c

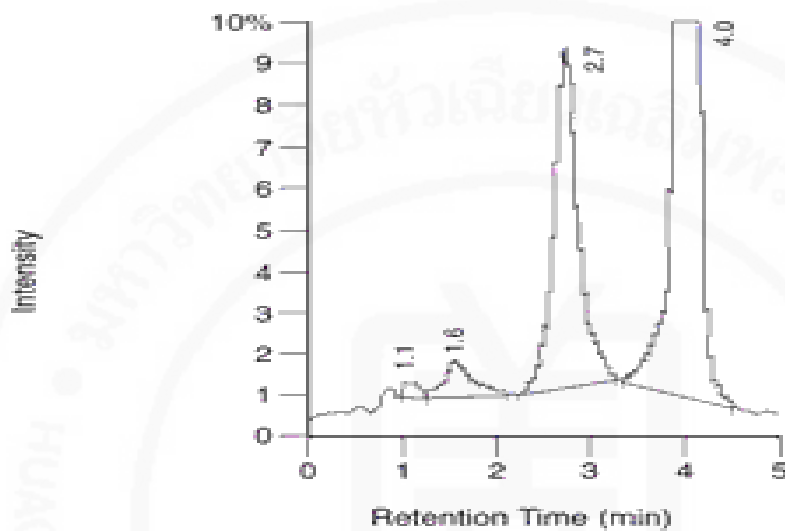
การตรวจวิเคราะห์ HbA1c มีหลักการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หลายหลักการ สามารถจำแนกได้ 3 กลุ่มใหญ่คือ (1) วิเคราะห์โดยอาศัยความแตกต่างของประจุไฟฟ้า ได้แก่ หลักการ electrophoresis, isoelectric focusing และ cation-exchange high performance liquid chromatography (HPLC) (2) วิเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยาเคมี ได้แก่ หลักการ enzymatic และ (3) วิธีที่แยกโดยอาศัยความแตกต่างทางกายภาพที่นิยมมีสองหลักการ คือ affinity chromatography และ immunoassay

### 1. หลักการ cation-exchange HPLC

หลักการ cation-exchange HPLC เป็นหลักการที่อาศัยการแลกเปลี่ยนประจุบวก โดยตัวอย่างเลือดจะถูกทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเพื่อให้ได้ฮีโมโกลบินชนิดต่าง ๆ ออกมา จากนั้นตัวอย่างตรวจดังกล่าวจะถูกส่งผ่านเข้ามาในคอลัมน์ ฮีโมโกลบินในตัวอย่างตรวจจะถูกจับไว้กับเรซินซึ่งมีประจุลบภายในคอลัมน์และเมื่อเติมบัฟเฟอร์ที่มีความแรงของประจุมากกว่าประจุของ hemoglobin จะทำให้ hemoglobin ถูกชะหลุดออกมา ตามลำดับขึ้นอยู่กับความแรงของบัฟเฟอร์แต่ละชนิด ซึ่ง glycosylated hemoglobin ที่มีประจุบวกลดลงกว่าจะถูกชะออกมาก่อนตามด้วย non-glycosylated hemoglobin โดยมีลำดับดังนี้ HbA1a HbA1b HbA1c และ HbA<sub>0</sub> ตามลำดับ จากนั้นจะถูกส่งผ่านไปยัง detector เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร แปลงให้อยู่ในรูป chromatogram ดังแผนภูมิที่ 2 เพื่อคำนวณค่าร้อยละของระดับ HbA1c ดังสมการ

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{\text{HbA1c area}}{\text{Total area}} \times 100$$

แผนภูมิที่ 2 ตัวอย่าง chromatogram จากการวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC ด้วยเครื่อง Bio-Rad™



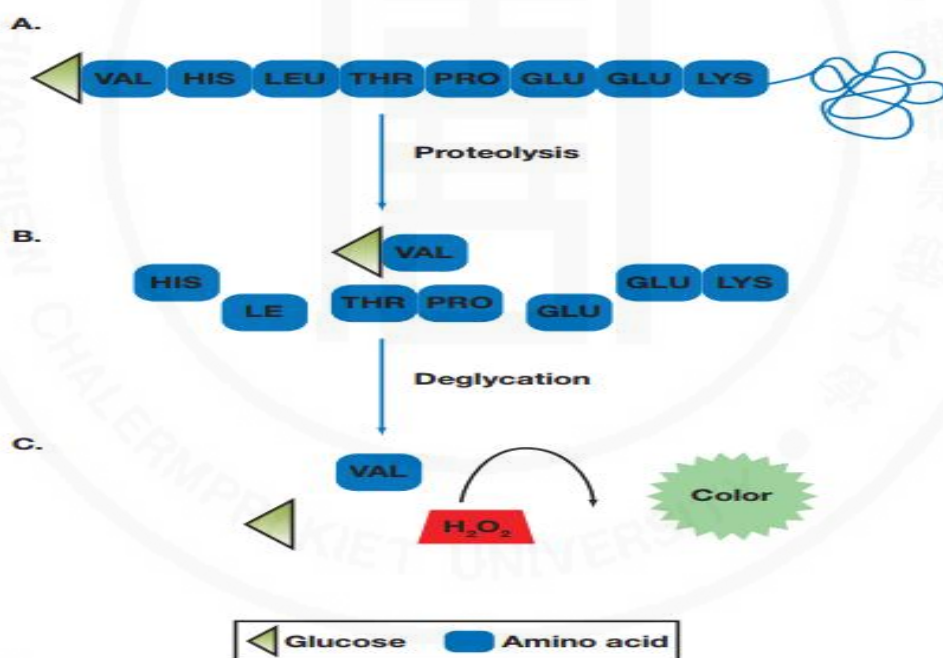
HbA1a: 1.1 min, HbA1b: 1.6 min, HbA1c: 2.7 min, HbA0: 4.0 min

ที่มา: ClinRep® Diagnostics. 2012.

## 2. หลักการ enzymatic

หลักการ enzymatic (14) เมื่อเม็ดเลือดแดงถูกทำให้แตก เอนไซม์ protease จะเข้าไปย่อยกรดอะมิโน 8 ลำดับแรกเพื่อให้ได้เป็นกรดอะมิโนอิสระออกมาซึ่งรวมถึง N-terminal glycosylated valine ด้วย จากนั้นเอนไซม์ fructosyl valine oxidase (FVO) จะออกซิไดซ์ glycosylated valine ได้ผลิตเป็น hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) ซึ่ง  $H_2O_2$  จะถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ peroxidase เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสี (ดังภาพที่ 2) สามารถวัดการดูดกลืนแสงได้ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับระดับความเข้มข้นของ HbA1c ในสิ่งส่งตรวจ

ภาพที่ 2 การตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ enzymatic

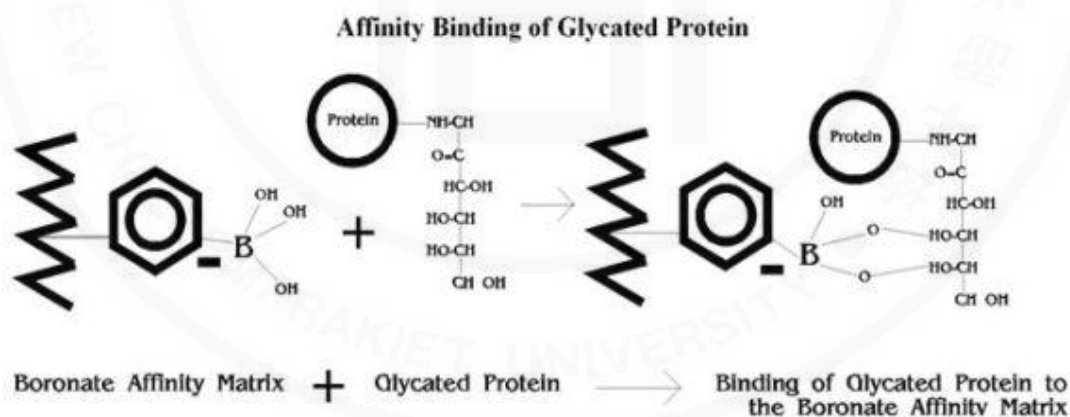


ที่มา: Rhea JM, Molinaro R. 2014 : 5-16, 141.

### 3. หลักการ affinity chromatography

Affinity gel column จะแยก glycosylated hemoglobin ออกจาก nonglycosylated hemoglobin โดย glycosylated hemoglobin จะถูกจับไว้ใน column ซึ่งใช้ m-aminophenyl boronic acid ที่ cross-link ไว้กับเม็ด bead agarose หรือ matrix อื่น ๆ (เช่น glass fiber) เป็นตัวดักจับ boronic acid ทำปฏิกิริยาแบบผันกลับได้กับ cis-diol groups ของกลูโคสซึ่งจับกับฮีโมโกลบินกลายเป็น five-member ring complex (ดังภาพที่ 3) ดังนั้น column จึงเลือกจับเฉพาะ glycosylated hemoglobin เอาไว้ในขณะที่ส่วนที่เป็น non-glycosylated hemoglobin จะไม่ถูกจับ ต่อมาเติม sorbitol เพื่อแยก complex และชะ glycosylated hemoglobin ออกจากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร เพื่อคำนวณหาร้อยละของ glycosylated hemoglobin (30)

ภาพที่ 3 หลักการ affinity chromatography



ที่มา: Fairbanks VF, Zimmerman BR. 1983 : 770-3.

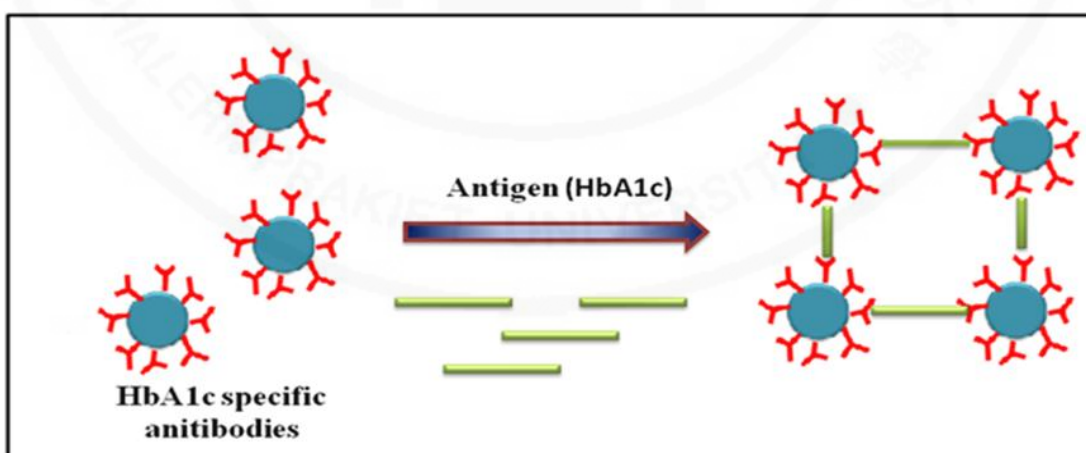
#### 4. หลักการ immunoassay

หลักการ immunoassay เป็นหลักการที่ใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดี (monoclonal antibody) ที่มีความจำเพาะ (epitope) ต่อส่วนของกลูโคสที่ต่ออยู่กับกรดอะมิโนวาเลอีน (ketoamine linkage) และกรดอะมิโนอีก 2-3 ตัวทางด้านปลาย N บนสาย  $\beta$  chain ทำให้เกิดการรวมกลุ่ม (agglutination) ระหว่าง antibody และ HbA1c (antibody-HbA1c complex) หลักการ immunoassay สามารถแบ่งเป็น 2 หลักการย่อยดังต่อไปนี้

##### 1) หลักการ immunoturbidimetric

เป็นหลักการที่วัดความขุ่นที่เกิดจากการรวมกลุ่มระหว่าง HbA1c และ antibody ซึ่งใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดี (monoclonal antibody) ต่อตำแหน่งที่จำเพาะ (epitope) บริเวณปลายด้านหมู่อะมิโน (N-terminal) ของสายเบต้าโกลบิน ทำให้เกิดการรวมกลุ่ม (agglutination) ระหว่าง antibody และ HbA1c (antibody-HbA1c complex) ดังภาพที่ 4 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของ antibody-HbA1c complex ที่เกิดขึ้น ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ HbA1c ในสิ่งส่งตรวจ

ภาพที่ 4 หลักการ immunoturbidimetric

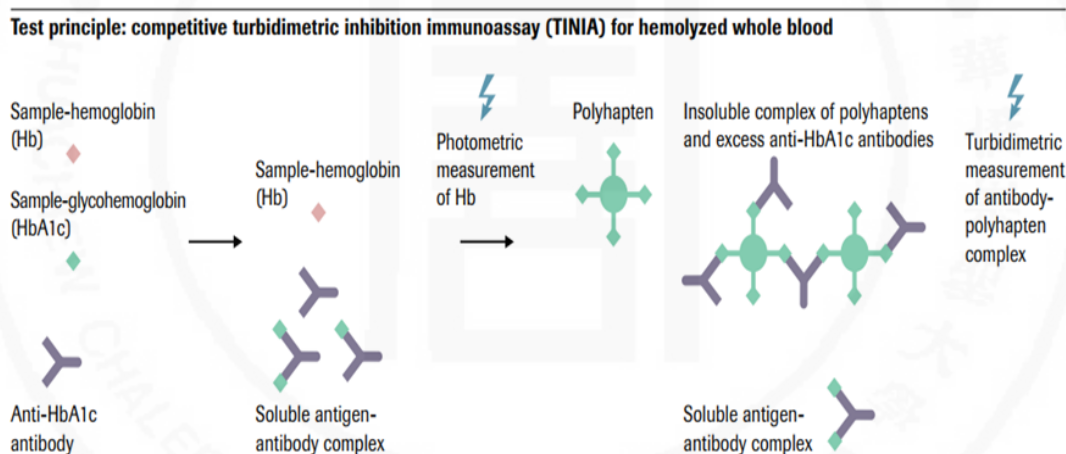


ที่มา: Gupta S, Jain U, Chauhan N. 2017 : 4

## 2) หลักการ immunoturbidimetric inhibition

หลักการ immunoturbidimetric inhibition คือหลักการที่ HbA1c จะจับกับ anti-HbA1c antibody อยู่ในรูป antigen-antibody complex เมื่อเติม polyhapten ลงไป anti-HbA1c antibody ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาจะจับกับ polyhapten อยู่ในรูปของ antibody-polyhapten complex ซึ่งไม่ละลายน้ำ วัดความขุ่นของ polyhapten and excess anti-HbA1c antibody complex ที่เกิดขึ้นแล้วคำนวณความเข้มข้น HbA1c ค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผกผันกับความเข้มข้นของ HbA1c ในตัวอย่างตรวจ ดังภาพที่ 5

ภาพที่ 5 หลักการ immunoturbidimetric inhibition



ที่มา: Roche Diagnostics Ltd. 2010.

วิธีมาตรฐานของการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c กำหนดโดยองค์กร International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) ได้แก่ หลักการ HPLC-Capillary electrophoresis (HPLC-CE) และ HPLC-Mass spectrometry (HPLC-MS) (31) สำหรับวิธีตรวจวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทย แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน 2560 ได้กำหนดไว้ว่าต้องได้รับการรับรองโดย National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) ซึ่งเป็นโครงการที่จัดตั้งขึ้นเพื่อทำหน้าที่ให้การรับรองวิธีการตรวจวิเคราะห์และน้ำยาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ที่สามารถสอบกลับไปยังวิธีอ้างอิงที่ใช้ในการศึกษา Diabetes Control and Complications Trial reference assay (DCCT) โดยสามารถตรวจสอบวิธีตรวจวิเคราะห์ที่ได้รับการรับรองได้จากเว็บไซต์ [www.ngsp.org](http://www.ngsp.org) (32)

### 2.13 ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อผลของการตรวจวิเคราะห์ HbA1c

การตรวจวิเคราะห์ HbA1c สามารถถูกรบกวนได้จากหลายปัจจัย ซึ่งสามารถสรุปสาเหตุที่สำคัญได้ดังต่อไปนี้

1. กลไกการสร้างเม็ดเลือดแดง (erythropoiesis) มักเกิดจากการสร้างเม็ดเลือดแดงน้อยลง (decreased red blood cell production) เช่น โรคโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก (iron deficiency anemia) (33), vitamin B12 deficiency (34), ภาวะที่มีการสร้างเม็ดเลือดแดงน้อยลง (decreased erythropoiesis) (6, 35-36) จะมีผลทำให้ระดับ HbA1c ที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าความเป็นจริงและในทางตรงกันข้ามระดับ HbA1c ที่วิเคราะห์ได้จะให้ค่าที่ต่ำกว่าความเป็นจริงในกรณีที่มีการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนในกระแสเลือด (reticulocytosis) (6, 35-36) โรคตับเรื้อรัง (chronic liver disease) (37) และผลของการใช้เหล็กและ erythropoietin ทางหลอดเลือดดำด้วย (38)

2. ความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงที่เกิดจากกลไกการทำลายเม็ดเลือดแดง (erythrocyte destruction) พบว่าการตัดม้าม (splenectomy) จะทำให้เม็ดเลือดแดงมีช่วงชีวิตที่ยาวกว่าปกติ (6, 35-36) ส่งผลให้ระดับ HbA1c ที่วิเคราะห์ได้ค่าที่สูงกว่าความเป็นจริงในทางตรงกันข้าม ระดับ HbA1c ที่วิเคราะห์ได้จะให้ค่าต่ำกว่าความเป็นจริงในคนไข้ที่มีภาวะม้ามโต (splenomegaly), hemoglobinopathies และ rheumatoid arthritis (39)

3. ภาวะดีซ่าน (jaundice) เป็นอาการที่ ตัว ตาขาว และเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเฉพาะเยื่อเมือกมีสีเหลือง และเมื่อเจาะเลือดจะพบว่ามีสีเหลืองของบิลิรูบิน (icteric) เช่นกัน บิลิรูบินจะเป็นตัวรบกวนการตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดต่าง ๆ รวมถึงการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วย (40)

4. ภาวะไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง (hypertriglyceridaemia) พบว่าปริมาณไตรกลีเซอไรด์ที่สูงจะรบกวนการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยจะส่งผลให้การวิเคราะห์ระดับ HbA1c ได้ค่าสูงกว่าความเป็นจริง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลักการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

5. ฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ (variant hemoglobins) ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ได้แก่ hemoglobin D, hemoglobin S, hemoglobin C และ hemoglobin E อาจมีผลกระทบต่อ การตรวจวิเคราะห์ HbA1c (41-47) ตัวอย่างเช่น การศึกษาผลกระทบของ HbD จากผลการศึกษา Little และคณะ (8) ได้ศึกษาผลกระทบของ HbD traits ที่มีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วย เครื่องตรวจวิเคราะห์จำนวน 23 เครื่อง 6 หลักการ ได้แก่ หลักการ immunoassay จำนวน 9 เครื่อง หลักการ cation-exchange HPLC จำนวน 10 เครื่อง หลักการ capillary electrophoresis หลักการ Affinity chromatography และหลักการ enzymatic อย่างละ 1 เครื่อง ตรวจวิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบผลต่างระหว่าง HbA1c ที่ตรวจโดยวิธีต่าง ๆ เทียบกับวิธี boronate affinity HPLC ซึ่งใช้เป็นวิธี comparative method ผลการวิจัยพบว่า HbD trait ไม่มีผลต่อการตรวจวัด HbA1c



ด้วยหลักการ immunoassay, boronate affinity และ enzymatic ในขณะที่หลักการ ion-exchange HPLC ที่ใช้ในการตรวจวัด HbA1c นั้นจะถูกรบกวนได้ด้วย HbD trait ในเครื่องตรวจวิเคราะห์บางรุ่น การศึกษาผลกระทบของ HbS และ HbC โดย Shella K. Mongia และคณะ (48) ศึกษาถึงผลกระทบของ Hemoglobin C และ Hemoglobin S traits ที่มีผลรบกวนการตรวจวัด HbA1c ด้วย 14 เครื่องมือวิเคราะห์ 4 หลักการได้แก่ หลักการ immunoassay 5 เครื่องตรวจวิเคราะห์ หลักการ cation-exchange HPLC จำนวน 6 เครื่อง หลักการ boronate affinity 2 เครื่องและหลักการ enzymatic 1 เครื่อง โดยเปรียบเทียบระหว่าง 3 กลุ่มตัวอย่าง คือ homozygous HbA (AA), heterozygous HbC (AC) และ heterozygous HbS (AS) จากผลการวิจัยพบว่าผลของ HbA1c ในกลุ่ม heterozygous HbC (AC) และ heterozygous HbS (AS) ตรวจโดยหลักการ immunoassay โดยเฉพาะในเครื่อง Olympus AU400 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก เมื่อเปรียบเทียบ (comparative method) โดย NGSP ได้รวบรวมข้อมูลการรบกวนการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ในเครื่องวิเคราะห์หลักการต่าง ๆ จากงานวิจัย ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลกระทบของฮีโมโกลบินผิดปกติต่อเครื่องวิเคราะห์หลักการต่าง ๆ

Method	HbC	HbS	HbE	HbD	elevated HbF
Abbott Architect Enzymatic	No	No	No	No	-
Alere Afinion	No	No	No	No	\$
Arkray ADAMS A1c HA-8180V (Menarini)	No	No	HbA1c not quantified (No for ver. EU 1.41)	HbA1c not quantified (No for ver. EU 1.41))	No <30% HbF
Beckman AU system (reagent lot OSR6192, lot B00389 not yet evaluated)	Yes↑	Yes↑	No	No	\$
Beckman Synchron System	No	No	No	No	\$

ที่มา: National Glycohemoglobin Standardization Program. 2018 : Online.

\$ In the absence of specific method data, it can generally be assumed that both immunoassay and boronate affinity methods show interference from HbF levels above ~10-15%

↑ Interference causes a higher result

↓ Interference causes a lower result

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Method	HbC	HbS	HbE	HbD	elevated HbF
Bio-Rad D-10 (A1c program)	No	No	No	No	No <10% HbF
Bio-Rad D-100 (A1c program)	No	No	No	No	-
Bio-Rad Variant II NU	No	No	No	No	No <10% HbF
Bio-Rad Variant II Turbo	No	No	Yes↑	Yes↑	No <5% HbF
Bio-Rad Variant II Turbo 2.0	No	No	No	No	No <25% HbF
Ortho-Clinical Vitros	No	No	No	No	\$
Polymer Tech Systems A1cNOW	Yes↑	Yes↑	No	No	\$
Roche Cobas Integra Gen.2	No	No	No	No	\$
Roche/Hitachi (Tina Quant II)	No	No	No	No	\$

ที่มา: National Glycohemoglobin Standardization Program. 2018 : Online.

\$ In the absence of specific method data, it can generally be assumed that both immunoassay and boronate affinity methods show interference from HbF levels above ~10-15%

↑ Interference causes a higher result

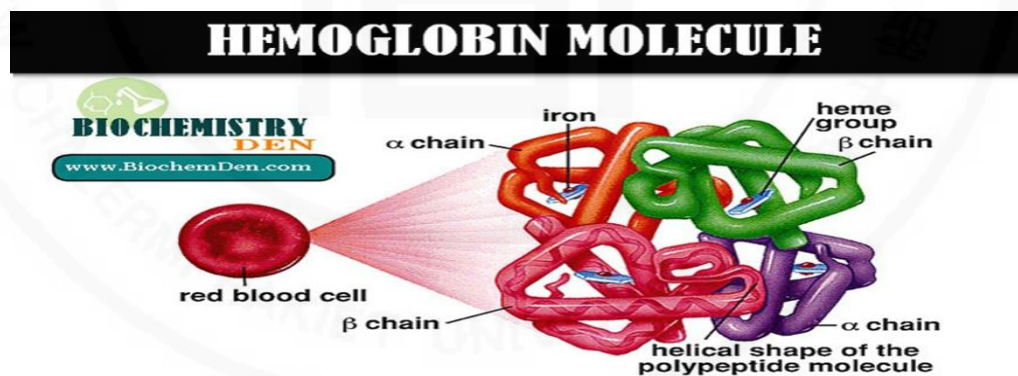
↓ Interference causes a lower result

## 2.14 ฮีโมโกลบิน

ฮีโมโกลบิน (hemoglobin; Hb) คือสารที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในเม็ดเลือดแดง (red blood cell) ทำหน้าที่นำออกซิเจน ( $O_2$ ) ไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย องค์ประกอบสำคัญของฮีโมโกลบินคือ ฮีม (heme) ซึ่งมีธาตุเหล็กเป็นส่วนประกอบและทำหน้าที่จับและปล่อยออกซิเจน องค์ประกอบที่ 2 คือ สายโกลบินซึ่งเป็นโปรตีนเส้นยาวขดพันกันอยู่ โดยแต่ละสายมีฮีมติดอยู่ 1 อนุ ฮีโมโกลบิน 1 โมเลกุล จึงประกอบด้วยฮีม 4 อนุและสายโกลบิน 4 สาย ซึ่งสายโกลบินมีอยู่ 4 ชนิดคือแอลฟา (alpha:  $\alpha$ ), เบต้า (beta:  $\beta$ ), แกมมา (gamma:  $\gamma$ ) และ เดลตา (delta:  $\delta$ )

ฮีโมโกลบินในผู้ใหญ่ปกติ (adult hemoglobin) จะเป็นฮีโมโกลบินเอ (Hb A) ซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วยสายโกลบิน 2 ชนิด คือ สายแอลฟาโกลบิน ( $\alpha$ -chain) และสายเบต้าโกลบิน ( $\beta$ -chain) อย่างละ 2 สาย ( $\alpha_2\beta_2$ ) ดังแสดงในภาพที่ 6 โดยมีฮีโมโกลบินเอ (HbA;  $\alpha_2\beta_2$ ) เป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 97.5, ฮีโมโกลบินเอ 2 (HbA<sub>2</sub>;  $\alpha_2\delta_2$ ) ร้อยละ 2.5-3.0 และฮีโมโกลบินเอฟ (Hb F;  $\alpha_2\gamma_2$ ) น้อยกว่าร้อยละ 1

ภาพที่ 6 โครงสร้างโมเลกุลฮีโมโกลบินเอในคนปกติ



ที่มา: สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. เล่มที่ 29 : เรื่องที่ 8.

ฮีโมโกลบินเอเป็นฮีโมโกลบินที่พบเป็นส่วนใหญ่ ประกอบด้วยสายโกลบินแอลฟาและสายโกลบินเบต้า จึงมีความสำคัญและมีผลตามมามากสำหรับกรณีที่มีการสร้างสายแอลฟาหรือสายเบต้าผิดปกติไป ยีนที่ควบคุมการสร้างสายแอลฟา เรียกว่า ยีนแอลฟาโกลบิน ( $\alpha$ -globin gene) ยีนนี้อยู่บนแขนข้างสั้นของอโตโซมัลโครโมโซม คู่ที่ 16 ส่วนยีนเบต้าโกลบิน ( $\beta$ -globin gene) ซึ่งควบคุมการสร้างสายเบต้าอยู่บนแขนข้างสั้นของอโตโซมัลโครโมโซมคู่ที่ 11 ซึ่งยีนทั้งสองนี้ถ่ายทอดไปสู่ลูกโดยไม่ขึ้นต่อกันและไม่เกี่ยวข้องกับโครโมโซมเพศลูกสาวหรือลูกชายจึงมีโอกาสรับยีนที่ควบคุมการสร้างสายโกลบินจากพ่อแม่เท่าเทียมกัน การกลายพันธุ์ของยีนที่ควบคุมการสร้างสายโกลบินส่งผลทำให้เกิดความผิดปกติได้ 3 ลักษณะดังนี้ (49)

1. ความผิดปกติในเชิงปริมาณ คือมีการสร้างสายโกลบินได้ลดลงหรือสร้างไม่ได้เลยที่เรียกว่า ธารัสซีเมียซึ่งจะแบ่งตามความผิดปกติได้เป็น 2 ชนิดคือชนิดแอลฟาธารัสซีเมีย (สร้างสายแอลฟา ลดลงหรือสร้างไม่ได้) ซึ่งสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการขาดหายไปของยีนแอลฟาโกลบินบางส่วนหรือทั้งหมดและชนิดเบต้าธารัสซีเมีย (สร้างสายเบต้าได้ลดลงหรือสร้างไม่ได้) สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเบสจำนวนน้อย ๆ ในยีนเบต้าโกลบิน

2. ความผิดปกติในเชิงคุณภาพ (abnormal hemoglobin: hemoglobinopathies) สายโกลบินประกอบด้วยกรดอะมิโนเรียงตัวกันตามชนิดและลำดับซึ่งจะเป็นแบบจำเพาะ สายแอลฟามีกรดอะมิโน 141 ตัว สายเบต้ามีกรดอะมิโน 146 ตัว ทำให้การเปลี่ยนชนิดของกรดอะมิโนเพียง 1 ตัว จะทำให้สายโกลบินทั้งสายมีคุณสมบัติเปลี่ยนไปจากปกติ เช่น เคลื่อนที่ช้าลงหรือเร็วขึ้น เมื่อนำมาไว้ในตัวกลางที่ให้กระแสไฟฟ้าผ่าน ส่งผลให้ฮีโมโกลบินบางชนิดจับออกซิเจนแน่นกว่าปกติและไม่ปล่อยส่งผลให้เนื้อเยื่อขาดออกซิเจน ฮีโมโกลบินบางชนิดไม่เสถียร ตกตะกอนง่าย ทำให้เม็ดเลือดแดงขาดความยืดหยุ่นและแตกสลายง่าย ผู้ที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติเหล่านี้ ส่วนน้อยก่อให้เกิดอาการซีด แต่ส่วนใหญ่ไม่มีอาการใด ๆ มักตรวจพบโดยบังเอิญจากการตรวจเลือด ปัจจุบันพบฮีโมโกลบินผิดปกติรวมมากกว่า 750 ชนิดทั่วโลกและในประเทศไทยค้นพบฮีโมโกลบินผิดปกติมากกว่า 35 ชนิด (50)

3. ความผิดปกติทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ (thalassemia hemoglobinopathies) เป็นภาวะที่เกิดจากการมีฮีโมโกลบินผิดปกติร่วมกับการมีปริมาณที่สร้างลดลงด้วย ชนิดที่มีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย ได้แก่ ฮีโมโกลบินอี (hemoglobin; HbE) ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินที่ผิดปกติที่เกิดจากการมีการกลายพันธุ์ตำแหน่งเดียว (single point) ในโปรตีนสายเบต้าของฮีโมโกลบินบนกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 26 จากกลูตามิกกลายเป็นไลซีน พบได้บ่อยในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่พบได้น้อยในพื้นที่อื่น

## 2.15 ฮีโมโกลบินชนิดผิดปกติ (abnormal hemoglobin or variant hemoglobins)

สายพันธุ์ของฮีโมโกลบินมีมากกว่า 750 ชนิดทั่วโลกแต่ที่มีความสำคัญทางการแพทย์มีเพียงไม่กี่ชนิด เช่น hemoglobin D, hemoglobin S, hemoglobin C และ hemoglobin E

1. Hemoglobin D เกิดจากการแทนที่ glutamic acid ด้วย glutamine ที่ตำแหน่งที่ 121 ของสาย  $\beta$ -globin

2. Hemoglobin S เกิดจากการแทนที่ glutamic acid ด้วย valine ที่ตำแหน่งที่ 6 ของสาย  $\beta$ -globin ส่งผลให้ผู้ป่วยมีอาการโลหิตจางที่เรียกว่า sickle cell anemia พบได้มากในคนพื้นเมืองของ Africa

3. Hemoglobin C เกิดจากการแทนที่ glutamic acid ด้วย lysine ที่ตำแหน่งที่ 6 ของสาย  $\beta$ -globin

4. Hemoglobin E เป็น abnormal hemoglobin เป็นชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทย ซึ่งเป็นความผิดปกติในการสร้างสาย  $\beta$ -globin ตำแหน่งที่ 26 ที่ glutamic acid ถูกแทนที่ด้วย lysine เป็นผลทำให้ฮีโมโกลบินไม่เสถียรถูกออกซิไดส์ได้ง่ายพบว่ามีอุบัติการณ์สูงถึงร้อยละ 13 และสูงถึงร้อยละ 30-40 ในจังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สำหรับจังหวัดสุรินทร์พบ Hb E สูงถึงร้อยละ 52 ของฮีโมโกลบินผิดปกติทั้งหมดที่พบ (7) มีลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของ Hb E มี 2 ลักษณะ

1) heterozygous Hb E (Hb E trait) เกิดจากมีความผิดปกติของยีน  $\beta$  บนแขนของโครโมโซมเพียงข้างเดียว โดยที่ผู้ป่วยจะไม่มีอาการแสดงทางคลินิก red blood cell parameters อาจปกติหรือผิดปกติก็ได้เช่น มีค่า mean corpuscular volume (MCV) ต่ำกว่าปกติ ส่วน red blood cell morphology อาจจะพบ anisocytosis, poikilocytosis, hypochromia และ microcytosis

2) homozygous Hb E (Hb EE) เป็นความผิดปกติในโครงสร้างของสาย  $\beta$ -globin ที่เกิดขึ้นจากยีน  $\beta$  บนโครโมโซมทั้งสองข้าง ผู้ป่วยจะมีอาการซีดเพียงเล็กน้อยเมื่อตรวจสเปกโตรสโกปีเลือดจะพบลักษณะเด่นคือมีจำนวน target cell สูงมากกว่าร้อยละ 50, anisocytosis ไม่ชัดเจน อาจพบ spherocyte ได้บ้างเล็กน้อย โดยปกติจะไม่มี hypochromia ยกเว้นมีภาวะโลหิตจางจากการขาดเหล็กเกิดร่วมด้วย

## 2.16 การวินิจฉัย Hb E

โดยทั่วไปการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยฮีโมโกลบินอี (49) มีดังนี้คือ

### 1. การตรวจคัดกรอง (screeing test) ประกอบไปด้วยดังต่อไปนี้

1) การตรวจคัดกรองด้วยค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง โดยพิจารณาพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), mean cell volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) และ red blood cell distribution width (RDW) ที่ตรวจโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัตินำไปใช้ในการตรวจกรองได้ร่วมกับการทดสอบอื่น

2) การตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีโดยการตกตะกอนด้วยดีซีไอพี (dichlorophenol indolphenol (DCIP) precipitation test for Hb E screening) DCIP เป็นสารเคมีที่สามารถ oxidized hemoglobin ได้ทุกชนิดเมื่อนำไป incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส โดยที่ Hb E และ Hb ที่ไม่เสถียรอื่น ๆ เช่น Hb H จะถูก oxidized ให้ตกตะกอนได้เร็วกว่า Hb ชนิดอื่น จึงนำหลักการนี้มาใช้ในการตรวจกรอง Hb E และ Hb H โดยปริมาณตะกอนที่พบในผู้ที่ เป็น Homozygous Hb E จะมากกว่าผู้ที่เป็นพาหะ Hb E และ Hb H

Hb E เป็น Hb ที่มีความผิดปกติที่ amino acid ตำแหน่งที่ 26 ของสาย  $\beta$ -globin เปลี่ยนจากกรด glutamic acid เป็น lysine ทำให้โครงสร้างที่จุดสัมผัสระหว่างสาย  $\alpha_1\beta_1$  ไม่แข็งแรง เมื่ออยู่ในสารละลาย DCIP จะถูก oxidized ให้กลายเป็นโกลบินสายเดี่ยวที่มี sulfhydryl group อิสระจนตกตะกอนได้ง่ายและเร็วกว่า Hb ปกติเมื่อหยุดปฏิกิริยาเพื่อกำจัด DCIP ส่วนเกินที่ยังไม่ทำปฏิกิริยาออกไป ในเวลาที่เหมาะสมความขุ่นของตะกอนที่เกิดขึ้นก็จะจำเพาะกับ Hb

3) การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงชนิดหลอดเดียว (one-tube osmotic fragility test; OF) ใช้หลักการวัดปริมาณการแตกของเม็ดเลือดแดงใน hypotonic saline solution (0.36% NaCl) โดยปกติเม็ดเลือดแดงคนปกติเมื่ออยู่ในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 จะคงสภาพปกติ แต่ถ้าลดความเข้มข้นของน้ำเกลือลง เม็ดเลือดแดงที่มีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวน้ำเซลล์ต่อความเข้มข้นของสารภายในเซลล์สูงเช่น target cell และ hypochromic cell จะแตกยาก ส่วน spherocyte จะแตกง่าย ดังนั้น เม็ดเลือดแดงของคนปกติจะแตกได้หมด ส่วนผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มี target cell และ hypochromic cell จะแตกยาก

### 2. การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (Hb typing)

Hb typing เป็นการตรวจวินิจฉัยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อย เช่น ฮีโมโกลบินอี (Hb E) ฮีโมโกลบินคอนสแตนท์สปริง (Hb CS) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน ห้องปฏิบัติการสามารถเลือกหลักการตรวจวิเคราะห์ที่มีความเหมาะสมสำหรับใช้งานดังนี้ (51)

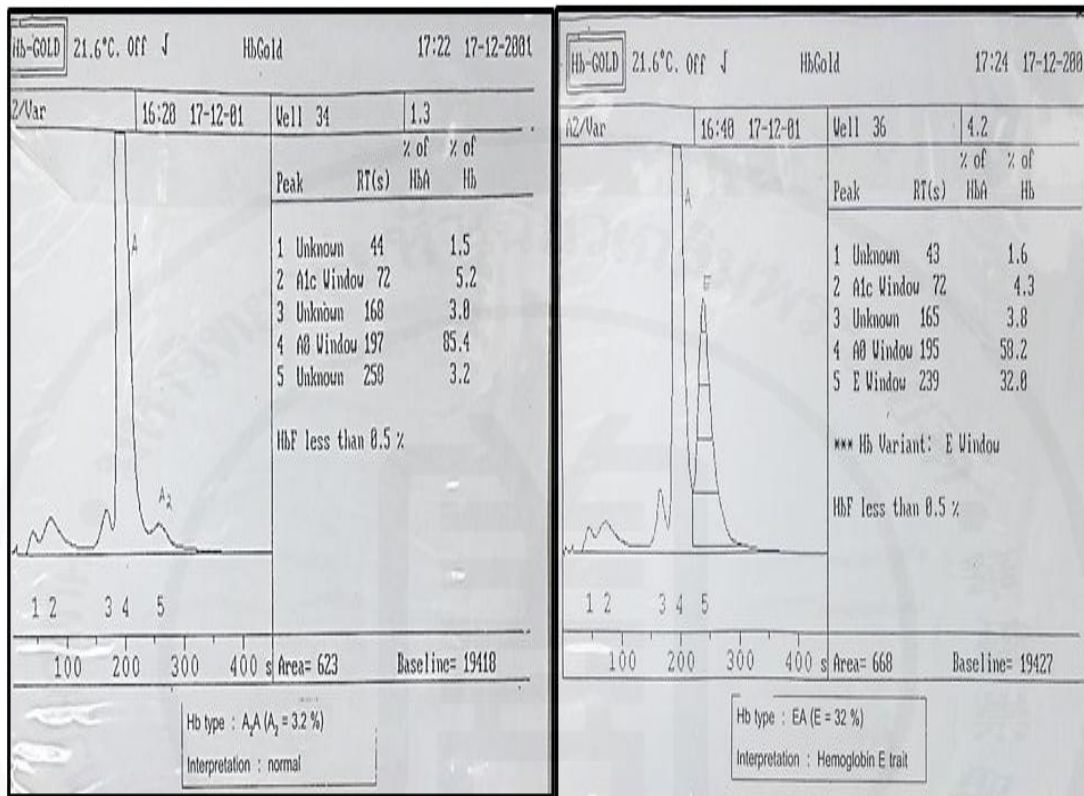
- 1) High pressure liquid chromatography (HPLC)
- 2) Low pressure liquid chromatography (LPLC)
- 3) Capillary electrophoresis (CE)

การรายงานผลจากเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติระบบคอลัมน์โครมาโตกราฟี (HPLC และ LPLC) จะรายงานชนิดฮีโมโกลบินตามลักษณะโครมาโตแกรมที่ปรากฏในส่วนแสดงผล ดังภาพที่ 7 พร้อมทั้งรายงานปริมาณฮีโมโกลบินชนิดต่าง ๆ คือ Hb A<sub>2</sub>/E, Hb A, Hb F, Hb Constant Spring, Hb Bart's และ Hb H

การวิเคราะห์ด้วยหลักการ capillary electrophoresis (CE) อาศัยการแยกชนิดฮีโมโกลบิน ด้วยกระแสไฟฟ้าความต่างศักย์สูง ผ่านตัวกลางคือหลอดแก้วนำไฟฟ้าขนาดเล็กมาก (silica capillary) โดยตัวอย่างจะถูกปล่อยเข้าไปในหลอดแก้วทางด้านขั้วบวกเคลื่อนที่ไปยังขั้วลบผ่านเครื่องตรวจวัดการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร และระบบแปลงสัญญาณแล้วรายงานชนิดฮีโมโกลบินในรูปแบบ electrophoregram ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 7 การรายงานชนิดฮีโมโกลบินจากโครมาโตแกรมด้วยหลักการ HPLC



**Hb type : A<sub>2</sub>A (A<sub>2</sub>=3.2%)**

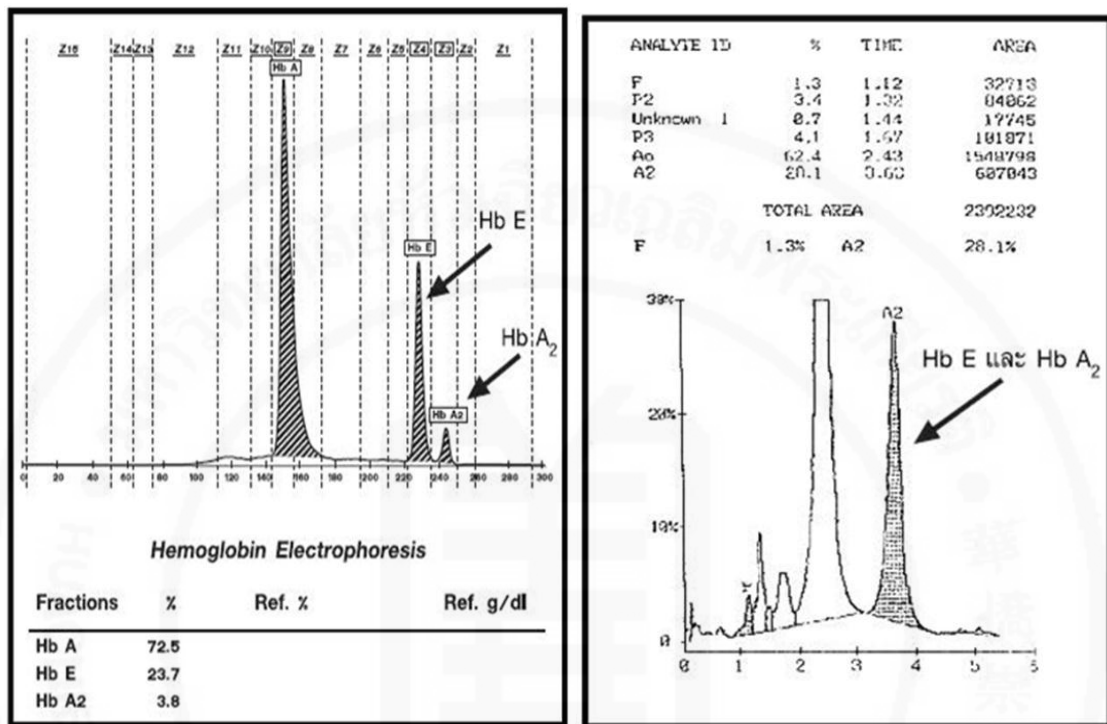
**แปลผล : Normal**

**Hb type : EA (E=32%)**

**แปลผล : Hemoglobin E trait**

ที่มา: คู่มือทางห้องปฏิบัติการ การตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ. 2556.

ภาพที่ 8 การรายงานชนิดฮีโมโกลบินที่ตรวจด้วยหลักการ HPLC และ CE



เครื่อง CE จะรายงาน Hb E  
คนละตำแหน่งกับ Hb A<sub>2</sub>

เครื่อง HPLC จะรายงาน Hb E ในตำแหน่ง  
เดียวกับ Hb A<sub>2</sub>

ที่มา: คู่มือทางห้องปฏิบัติการ การตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ. 2556.

### 3. การตรวจวิเคราะห์ DNA

การตรวจวิเคราะห์ระดับดีเอ็นเอ (49) ใช้ในกรณีที่ผลการตรวจ Hb typing ไม่สามารถให้การวินิจฉัยได้ชัดเจนหรือกรณีต้องการทราบชนิดของการกลายพันธุ์ของธาลัสซีเมียที่วินิจฉัยได้ และกรณีการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ที่มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

การตรวจ DNA จะใช้ตัวอย่างเลือดที่ส่งตรวจ Hb typing มาปั่นแยก buffy coat แล้วนำไปเตรียม DNA เพื่อตรวจหาชนิดของการกลายพันธุ์ยีนเบต้าและแอลฟา โดยแอลฟาธาลัสซีเมีย จะตรวจด้วยวิธี gap-PCR สำหรับ  $\alpha$ -thal 1 mutation ที่พบในประเทศไทย 2 ชนิด คือชนิด SEA และชนิด THAI ในขณะที่เบต้าธาลัสซีเมีย จะวินิจฉัยโดยใช้ตัวตรวจจับ (probe) ที่จำเพาะต่อความผิดปกติที่มีรายงานแล้วในประเทศไทย 17 ชนิด และใช้วิธี gap-PCR ตรวจชนิด Large deletion อีก 5 ชนิด แต่อย่างไรก็ตามสำหรับการวิเคราะห์ระดับดีเอ็นเอ พบว่า มีบางส่วนที่ยังจำแนกไม่ได้ว่าเป็นความผิดปกติชนิดใด ซึ่งอาจใช้เวลาในการตรวจนานเป็นเดือน

#### 2.17 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของฮีโมโกลบินผิดปกติต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการต่าง ๆ พบว่าชนิดฮีโมโกลบินผิดปกติบางชนิดสามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการต่อไปนี้ได้

##### 1. หลักการ cation-exchange HPLC

หลักการ cation-exchange HPLC สามารถถูกรบกวนได้จากฮีโมโกลบินผิดปกติหลายชนิด เช่น พาหะฮีโมโกลบินอี (heterozygous hemoglobin E) รบกวนการตรวจวิเคราะห์ในเครื่องบางรุ่น โดยให้ค่าสูงแบบมีนัยสำคัญทางคลินิกในเครื่องรุ่น Bio-Rad Variant II Turbo 2.0 (8) และมีผลรบกวนโดยให้ค่าต่ำแบบมีนัยสำคัญทางคลินิกในเครื่องรุ่น Menarini HA8160 Diabetes mode, Tosoh 2.2 Plus, Tosoh G7, Tosoh G8 (8, 44) และ Tosoh GX (51) สำหรับพาหะฮีโมโกลบินดี (heterozygous hemoglobin D) สามารถรบกวนการตรวจวิเคราะห์ได้ในเครื่องบางรุ่นโดยให้ค่าสูงแบบมีนัยสำคัญทางคลินิกในเครื่องรุ่น Bio-Rad Variant II Turbo (8) และมีผลรบกวนโดยให้ค่าต่ำแบบมีนัยสำคัญทางคลินิกในเครื่องรุ่น Bio-Rad Variant, Menarini HA8160 Diabetes mode (8), Tosoh GX และ Tosoh GX V1.22 (51) ในขณะที่ HA8160 TP ไม่สามารถให้ผลการตรวจวิเคราะห์ออกมาได้ (8) พาหะฮีโมโกลบินซี (heterozygous hemoglobin C) รบกวนการตรวจวิเคราะห์โดยให้ค่าต่ำแบบมีนัยสำคัญทางคลินิกในเครื่องรุ่น Tosoh G8 variant mode, Tosoh GX, Tosoh GX V1.22 และ Tosoh G11 variant mode (51) ขณะที่พาหะฮีโมโกลบินเอส (heterozygous hemoglobin S) รบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ในเครื่องวิเคราะห์รุ่น Tosoh G8 variant mode, Tosoh GX และ Tosoh GX V1.22 โดยให้ค่าที่ต่ำแบบมีนัยสำคัญทางคลินิกเช่นกัน (51)

## 2. หลักการ immunoassay

หลักการ immunoassay ประกอบไปด้วยหลักการ 2 หลักการย่อยคือ หลักการ immunoturbidimetric และหลักการ immunoturbidimetric inhibition

1) หลักการ immunoturbidimetric พบว่าฮีโมโกลบินผิดปกติที่สำคัญเช่น พาหะฮีโมโกลบินอีและพาหะฮีโมโกลบินดีไม่รบกวนตรวจวิเคราะห์โดยหลักการ immunoturbidimetric จากเครื่องรุ่น A1cNow, Pointe Scientific on Modular P (8)

2) หลักการ immunoturbidimetric inhibition พบว่าเครื่องวิเคราะห์หลายรุ่นไม่ว่าจะเป็น Synchron UniCel Dx<sub>C</sub>, Siemens DCA2000, Vitros, Integra Gen2 on Hitachi 917 และ Tina-quant on Hitachi 917 ไม่ถูกรบกวนโดยพาหะฮีโมโกลบินอี (8) ในขณะที่ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากเครื่องรุ่น Olympus AU 400 สามารถถูกรบกวนจากพาหะฮีโมโกลบินซีและเอสได้โดยให้ค่าไปในทางที่สูงแบบมีนัยสำคัญทางคลินิก (48)

## 3. หลักการ boronate affinity chromatography

เครื่องวิเคราะห์รุ่น Afinion AS100 ไม่ถูกรบกวนจากฮีโมโกลบินผิดปกติที่สำคัญเช่น พาหะฮีโมโกลบินอี พาหะฮีโมโกลบินดี พาหะฮีโมโกลบินซี พาหะฮีโมโกลบินเอส (8, 48) และสำหรับเครื่องรุ่น Ultra2 ไม่ถูกรบกวนจากพาหะฮีโมโกลบินซีและพาหะฮีโมโกลบินเอส ในขณะที่บางการศึกษาพบว่าผลการตรวจวิเคราะห์จากเครื่องรุ่น In 2 it สามารถถูกรบกวนได้จากพาหะฮีโมโกลบินซีและฮีโมโกลบินอีโดยให้ค่าสูงแบบมีนัยสำคัญทางคลินิก (44)

## 4. หลักการ capillary electrophoresis

จากหลายการศึกษาในเครื่องรุ่น capillars 2 Flex Piercing ยังไม่พบว่าถูกรบกวนจากฮีโมโกลบินผิดปกติใด ๆ ไม่ว่าจะเป็นพาหะฮีโมโกลบินดี ฮีโมโกลบินซี ฮีโมโกลบินอีและฮีโมโกลบินเอส (41, 44)

## 5. หลักการ enzymatic

จากการศึกษาพบว่าฮีโมโกลบินผิดปกติไม่ว่าจะเป็นพาหะฮีโมโกลบินดี ฮีโมโกลบินซี ฮีโมโกลบินอีและฮีโมโกลบินเอส ไม่มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์จากเครื่องวิเคราะห์รุ่น Architect enzymatic (51) และสำหรับเครื่องรุ่น Diazyme พบว่าไม่มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินซีและเอสเช่นกัน (48)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA<sub>1c</sub> ที่ต่างหลักการและต่างรุ่นของเครื่องตรวจวิเคราะห์ จากหลายงานวิจัยพบว่าสามารถถูกรบกวนได้จากฮีโมโกลบินชนิดผิดปกติ เช่น ฮีโมโกลบินอี ซึ่งประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่มีความชุกของฮีโมโกลบินอีสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินอีต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA<sub>1c</sub> ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA<sub>1c</sub> analyzer

รุ่น H9 และหลักการ immunoturbidimetric ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ซึ่งเป็นหลักการที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทยและยังไม่มีการศึกษาวิจัยสำหรับเครื่องวิเคราะห์รุ่นนี้มาก่อน



### บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

งานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ เลขที่รับรอง อ.432/2559

#### 3.1 กลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือด (EDTA blood) ที่ส่งตรวจวิเคราะห์หาชนิดฮีโมโกลบิน (Hb typing) ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 จังหวัดสมุทรสงคราม กระทรวงสาธารณสุข จำนวน 90 ตัวอย่าง โดยจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้คำนวณจากสูตร sample size for one proportion test (52) จากสูตร

$$N = \frac{[Z_{1-\alpha} \sqrt{P_0(1-P_0)} + Z_{1-\beta} \sqrt{P_1(1-P_1)}]^2}{(P_1 - P_0)^2}$$

$$N = \text{จำนวนตัวอย่าง}$$

$$Z_{1-\alpha} = 1.96$$

$$Z_{1-\beta} = 1.282$$

$$P_0 = 0.33$$

$$P_1 = 0.50$$

$$N = \frac{[1.96(0.4705) + 1.282(0.5)]^2}{0.0286}$$

$$N = 85.36$$

ดังนั้น จำนวนตัวอย่างที่ต้องใช้อย่างน้อย 86 ตัวอย่าง

สำหรับงานวิจัยนี้ใช้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 90 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วย

- 1) ตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ ( $A_2A$ ) 30 ตัวอย่าง
- 2) ตัวอย่างเลือดที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) 60 ตัวอย่าง

### 3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

#### 1. วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

1) เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ HbA1c analyzer รุ่น H9 (Lifotronic, China) หลักการ cation-exchange high performance liquid chromatography (HPLC)

2) เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (Erba Mannheim, Germany) หลักการ immunoturbidimetric

3) Automatic pipettes ขนาด 10  $\mu$ L, 100  $\mu$ L และ 1,000  $\mu$ L

4) Pipette tip ขนาด 0.5-10  $\mu$ L, 200  $\mu$ L และ 1,000  $\mu$ L

5) Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 mL

6) Vortex mixer

7) Sample cup

8) Sample cup rack

9) Gloves

#### 2. น้ำยาสำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์

1) HbA1c calibrator (Lifotronic, China)

2) HbA1c control material (Lifotronic, China)

3) HbA1c reagent kit (HPLC) (Lifotronic, China)

4) Deionized water

5) HbA1c calibrator (Linear chemicals, Spain)

6) HbA1c control (Linear chemicals, Spain)

7) HbA1c turbidimetric kits (Linear chemicals, Spain)

### 3.3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3

1. นำตัวอย่างเลือดทั้ง 90 ตัวอย่าง (A<sub>2</sub>A 30 ตัวอย่าง, EA 60 ตัวอย่าง) มาทำการวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยเครื่องวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 หลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 หลักการ immunoturbidimetric

2. เครื่องวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 ใช้ตัวอย่างเลือด 5  $\mu$ L ผสมกับน้ำกลั่น 750  $\mu$ L นำเข้าเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ เครื่องจะประมวลผลออกมาเป็น chromatogram และร้อยละของความเข้มข้น HbA1c ในสิ่งส่งตรวจ

3. เครื่องวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ใช้ตัวอย่างเลือด 3.6  $\mu\text{L}$  นำเข้าเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ เครื่องจะประมวลผลออกมาเป็นร้อยละของความเข้มข้น HbA1c ในสิ่งส่งตรวจ

4. นำผลการวิเคราะห์ระดับ HbA1c จากทั้งสองเครื่องวิเคราะห์มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างชนิดฮีโมโกลบินปกติและตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC และ immunoturbidimetric และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c ที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้ง 2 หลักการ

### 3.4 การตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC

หลักการ cation-exchange HPLC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ HbA1c analyzer รุ่น H9 (ภาพที่ 9) เป็นหลักการที่อาศัยการแลกเปลี่ยนประจุบวก โดยตัวอย่างเลือดจะถูกทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเพื่อให้ได้ hemoglobin ชนิดต่าง ๆ ออกมา จากนั้นตัวอย่างตรวจดังกล่าวจะถูกส่งผ่านเข้ามาในคอลัมน์ hemoglobin ในตัวอย่างตรวจจะถูกจับไว้กับเรซินซึ่งมีประจุลบภายในคอลัมน์และเมื่อเติมบัฟเฟอร์ที่มีความแรงของประจุมากกว่าประจุของ Hemoglobin จะทำให้ hemoglobin ถูกชะหลุดออกมาตามลำดับขึ้นอยู่กับความแรงของบัฟเฟอร์แต่ละชนิด ซึ่ง glycosylated hemoglobin ที่มีประจุบวกลดกว่าจะถูกชะออกมาก่อนตามด้วย un-glycosylated hemoglobin โดยมีลำดับดังนี้ HbA1a HbA1b HbA1c และ HbA<sub>0</sub> ตามลำดับ จากนั้นจะถูกส่งผ่านไปยัง detector เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร แปลงให้อยู่ในรูป chromatogram เพื่อคำนวณค่าร้อยละของระดับ HbA1c ดังสมการ

$$\% \text{ HbA1c} = \frac{\text{HbA1c area}}{\text{Total area}} \times 100$$

#### การตรวจสอบผลการตรวจวิเคราะห์ (results review)

- Total area ของ ตัวอย่างเลือดควรอยู่ในช่วง 4.5-20 วินาที
- Peak time ของ HbA1c ควรอยู่ในช่วง 45-65 วินาที
- Peak time ของ HbA<sub>0</sub> ควรอยู่ในช่วง 85-95 วินาที
- HbF peak ไม่เกินร้อยละ 10
- Labile A1c peak ไม่เกินร้อยละ 3



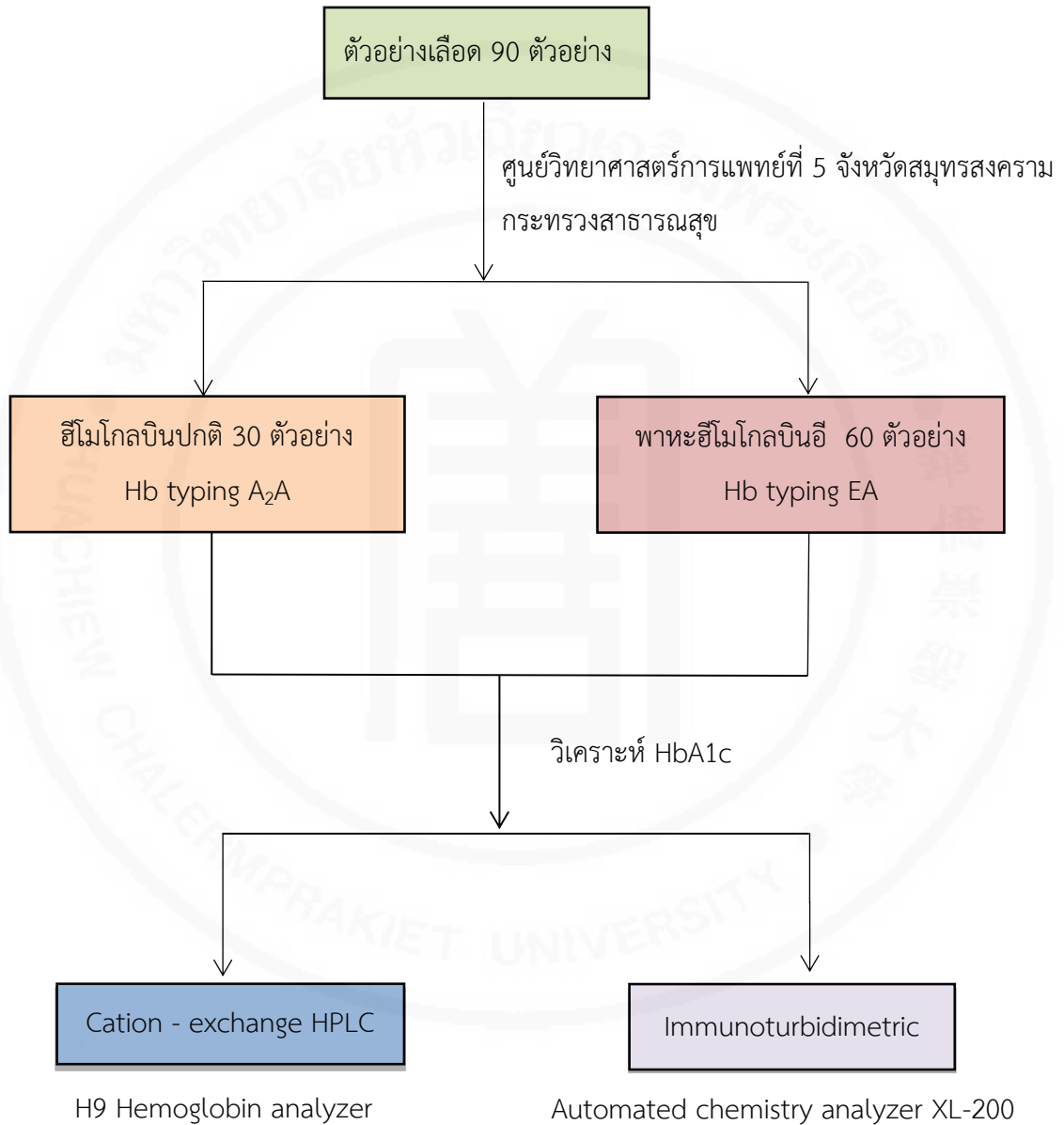
- f) HbA1c results ที่รายงานผลได้เท่ากับร้อยละ 3.8–18.0
- g) Baseline ของ chromatogram มีความคงที่และไม่ตกขอบ
- h) Peak ของ HbA1c มีขอบเขตคมชัดและมีความสมมาตร

ภาพที่ 9 เครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 หลักการ cation-exchange HPLC



ที่มา: HbA1c analyzer H9. 2015 : Online.

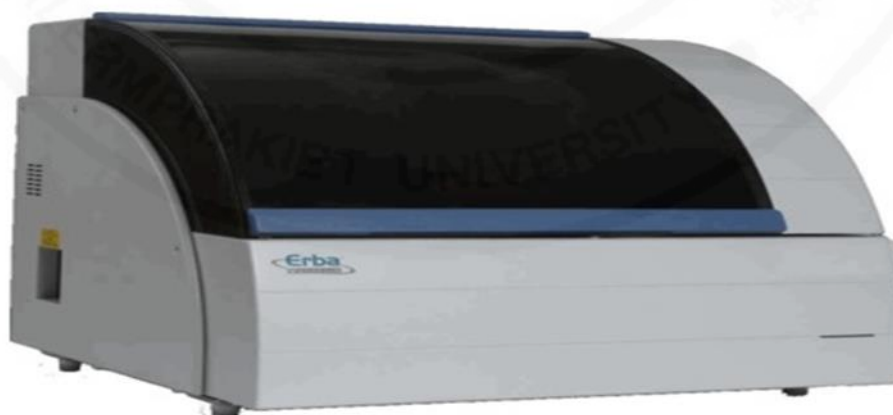
## แผนภูมิที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย



### 3.5 การตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ immunoturbidimetric

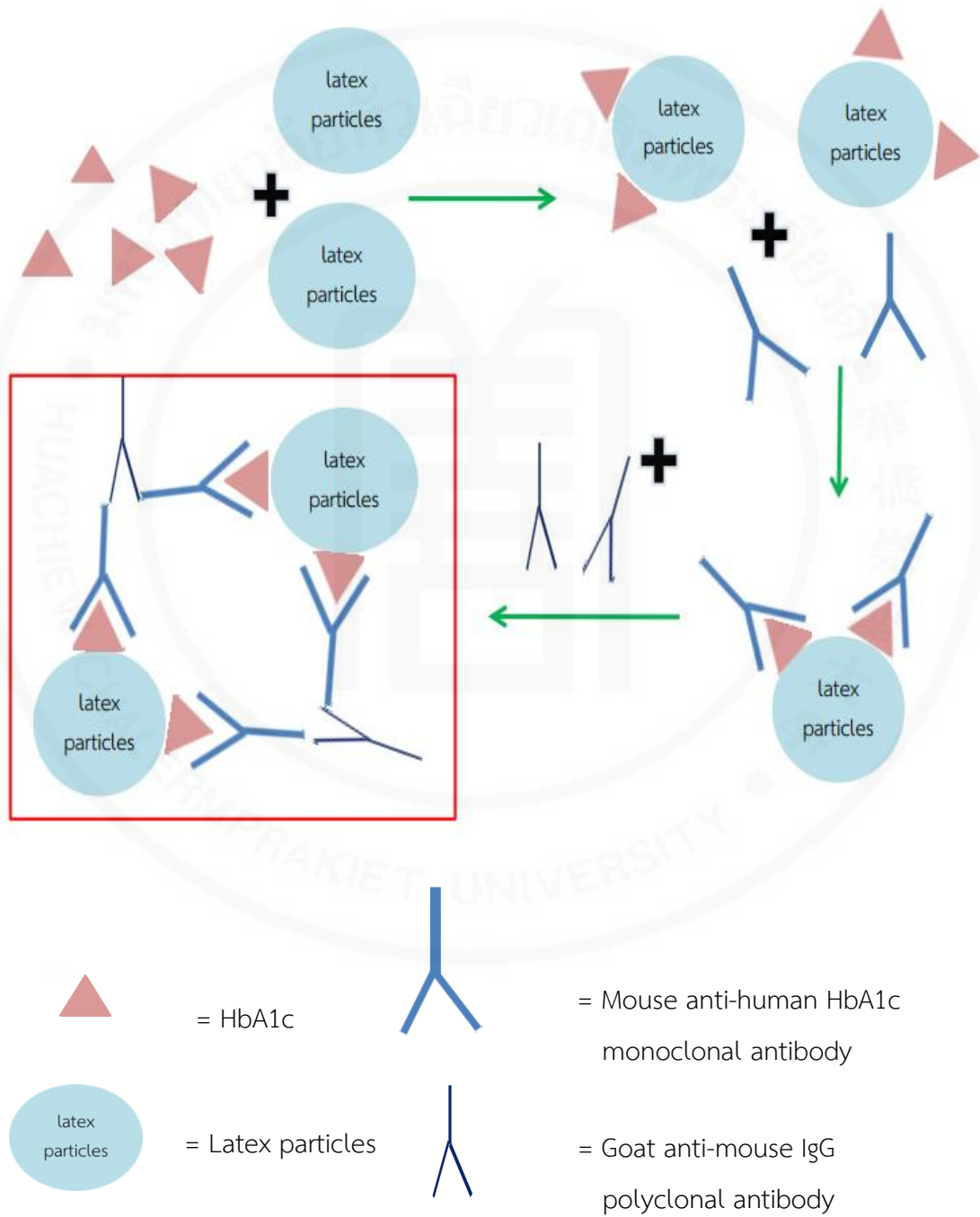
เครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (Erba Mannheim, Germany) (ภาพที่ 10) ตรวจวิเคราะห์ HbA1c โดยอาศัยการจับกันระหว่าง HbA1c กับ antibody ต่อ HbA1c โดย HbA1a, HbA1b, HbA1c และ HbA<sub>0</sub> สามารถจับกับ latex particles เกิดเป็น complexes ที่ไม่จำเพาะ จากนั้นจะใส่ mouse anti-human HbA1c monoclonal antibody ลงไปเพื่อไปจับแบบจำเพาะกับ HbA1c เกิดเป็น HbA1c- mouse anti-human HbA1c monoclonal antibody complex และใส่ goat anti-mouse IgG polyclonal antibody ลงไปเพื่อจับกับ mouse anti-human HbA1c monoclonal antibody หลาย ๆ อนุภาคและสานกันเป็น complex ขนาดใหญ่ขึ้น ดังภาพที่ 11 วัดค่าการดูดกลืนแสงของ complex ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณระดับ HbA1c ในตัวอย่างตรวจโดยเทียบกับ calibration curve ความขุ่นที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของ HbA1c ในสิ่งส่งตรวจ

**ภาพที่ 10** เครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 หลักการ immunoturbidimetric



ที่มา: Erba Mannheim. 2016 : Online.

ภาพที่ 11 หลักการ immunoturbidimetric ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c automated chemistry analyzer รุ่น XL-200



### 3.6 วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ทั้ง 2 หลักการ จะนำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 23.0 ดังต่อไปนี้

1. เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลตัวอย่างเลือด ได้แก่ อายุเฉลี่ย ค่าเฉลี่ยของ % Hb F ค่าเฉลี่ยของ % Hb A<sub>0</sub> ด้วยสถิติ t-test และเพศด้วยสถิติ Chi-Square โดยกำหนดนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

2. เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างชนิดฮีโมโกลบินปกติ และตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี ที่ตรวจโดยหลักการ cation-exchange HPLC ด้วยสถิติ independent t-test โดยกำหนดนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

3. เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างชนิดฮีโมโกลบินปกติ และตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี ที่ตรวจโดยหลักการ immunoturbidimetric ด้วยสถิติ independent t-test โดยกำหนดนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

4. เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC และ immunoturbidimetric ในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด ด้วยสถิติ paired t-test โดยกำหนดนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

5. เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับ immunoturbidimetric ในกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติด้วยสถิติ paired t-test โดยกำหนดนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

6. เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับ immunoturbidimetric ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี ด้วยสถิติ paired t-test โดยกำหนดนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

7. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย 2 หลักการด้วยสถิติ Pearson correlation โดยกำหนดนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

เมื่อนำตัวอย่างเลือดที่ได้รับการตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยหลักการ HPLC จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ Variant<sup>TM</sup> II hemoglobin testing system (Bio-Rad, USA) ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 จังหวัดสมุทรสงคราม กระทรวงสาธารณสุข จำนวน 90 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ (A<sub>2</sub>A) จำนวน 30 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างเลือดพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) จำนวน 60 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 (Lifotronic, China) เทียบกับหลักการ immunoturbidimetric ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (Erba Mannheim, Germany) จากผลการวิจัยทั้งหมดสามารถสรุปได้ดังนี้

#### 4.1 ข้อมูลของตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษานี้จำนวน 90 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างเลือดที่ได้จากเพศชายจำนวน 40 ตัวอย่าง เพศหญิงจำนวน 50 ตัวอย่าง มีอายุระหว่าง 14-47 ปี ผลการวิเคราะห์แยกชนิดของฮีโมโกลบิน พบว่าเป็นชนิดฮีโมโกลบินปกติ (normal hemoglobin typing; A<sub>2</sub>A) จำนวน 30 ตัวอย่าง (33.3%) และเป็นชนิดพาหะฮีโมโกลบินอี (heterozygous hemoglobin E) จำนวน 60 ตัวอย่าง (66.7%) โดยเพศและอายุระหว่างกลุ่มที่มีฮีโมโกลบินปกติ (A<sub>2</sub>A) และกลุ่มที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.504$  และ  $0.911$  ตามลำดับ) ค่าเฉลี่ย % Hb F และ % Hb A<sub>0</sub> ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบิน A<sub>2</sub>A และ EA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.000$ ) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย (N = 90) แบ่งตามชนิดของฮีโมโกลบิน

ข้อมูล	ชนิดฮีโมโกลบิน		p-value	กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด (N = 90)
	กลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ A <sub>2</sub> A (N = 30)	กลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี EA (N = 60)		
จำนวน เพศ (ร้อยละ)				
ชาย	15 (50.0)	25 (41.7)	0.504 <sup>a</sup>	40 (44.4)
หญิง	15 (50.0)	35 (58.3)		50 (55.6)
ค่าเฉลี่ย อายุ ปี (พิสัย)	26 (15-45)	26 (14-47)	0.911 <sup>b</sup>	26 (14-47)
ค่าเฉลี่ย % Hb F (พิสัย)	0.40 (0.20-0.90)	0.98 (0.40-2.80)	0.000 <sup>b</sup>	0.79 (0.20-2.80)
ค่าเฉลี่ย % Hb A <sub>0</sub> (พิสัย)	86.96 (85.40-89.60)	61.72 (59.70-69.10)	0.000 <sup>b</sup>	70.14 (59.70-89.60)
ค่าเฉลี่ย % Hb A <sub>2</sub> (พิสัย)	2.93 (2.50-3.20)	-	-	-
ค่าเฉลี่ย % Hb E (พิสัย)	-	27.71 (24.50-31.00)	-	-

a. Chi-Square

b. t-test

#### 4.2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี จากการตรวจโดยหลักการ cation-exchange HPLC

ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดที่ตรวจโดยหลักการ cation-exchange HPLC ด้วยเครื่อง HbA1c analyzer รุ่น H9 ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$  ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี เมื่อแสดงด้วยค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) พบว่าระดับ HbA1c ของเลือดทั้งหมด 90 ตัวอย่าง มีค่าเท่ากับ 5.69% (5.59, 5.79) ขณะที่กลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีมีระดับ HbA1c เท่ากับ 5.75% (5.62, 5.88) และ 5.66% (5.58, 5.94) ตามลำดับ ดังตารางที่ 6

**ตารางที่ 6** ระดับ % HbA1c [ค่าเฉลี่ย (95% CI)] ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ (A<sub>2</sub>A) และกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) ที่ตรวจโดยหลักการ cation-exchange HPLC

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) เมื่อวิเคราะห์ด้วย HbA1c analyzer รุ่น H9 (cation-exchange HPLC)
กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด (N = 90)	5.69 (5.59, 5.79)
กลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ (A <sub>2</sub> A) (N = 30)	5.75 (5.62, 5.88)
กลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) (N = 60)	5.66 (5.58, 5.94)
p-value	0.349 <sup>a</sup>

a. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี



#### 4.3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี จากการตรวจโดยหลักการ immunoturbidimetric

เมื่อวิเคราะห์ระดับ HbA1c จากทั้ง 90 ตัวอย่างด้วยหลักการ immunoturbidimetric โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 พบว่าค่าของ HbA1c ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$  และเมื่อแสดงค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ของตัวอย่างเลือดทั้งหมด 90 ตัวอย่าง พบว่าระดับ HbA1c มีค่าเท่ากับ 5.73% (5.66, 5.80) ในกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีมีค่า HbA1c เท่ากับ 5.79% (5.67, 5.91) และ 5.70 (5.65, 5.90) ตามลำดับ ดังแสดงตารางที่ 7

**ตารางที่ 7** ระดับ % HbA1c [ค่าเฉลี่ย (95% CI)] ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ (A<sub>2</sub>A) และ กลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) ที่ตรวจโดยหลักการ immunoturbidimetric

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) เมื่อวิเคราะห์ด้วย automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (immunoturbidimetric)
กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด (N = 90)	5.73 (5.66, 5.80)
กลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ (A <sub>2</sub> A) (N = 30)	5.79 (5.67, 5.91)
กลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) (N = 60)	5.70 (5.65, 5.90)
p-value	0.227 <sup>a</sup>

a. เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี

#### 4.4 ผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย % HbA1c เปรียบเทียบระหว่างหลักการ cation-exchange HPLC และ immunoturbidimetric

ค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c รวม 90 ตัวอย่าง โดยไม่แบ่งชนิดของฮีโมโกลบินเมื่อวิเคราะห์โดยหลักการ cation-exchange HPLC และ immunoturbidimetric ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 8

**ตารางที่ 8** ระดับค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC และหลักการ immunoturbidimetric

	เครื่องวิเคราะห์		p-value
	HbA1c analyzer รุ่น H9 (cation-exchange HPLC)	Automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (immunoturbidimetric)	
ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) (N = 90)	5.69 (5.59, 5.79)	5.73 (5.66, 5.80)	0.213

#### 4.5 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับ immunoturbidimetric ในกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ

เมื่อทดสอบหาความแตกต่างของการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ระหว่าง 2 หลักการในกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติจำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่าระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 9

**ตารางที่ 9** ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับหลักการ immunoturbidimetric

	เครื่องวิเคราะห์		p-value
	HbA1c analyzer รุ่น H9 (cation-exchange HPLC)	Automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (immunoturbidimetric)	
ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ (A <sub>2</sub> A) (N = 30)	5.75 (5.62, 5.88)	5.79 (5.67, 5.91)	0.377

**4.6 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับ immunoturbidimetric ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี**

เมื่อทดสอบหาความแตกต่างของการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ระหว่าง 2 หลักการ ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีจำนวน 60 ตัวอย่าง พบว่าระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 10

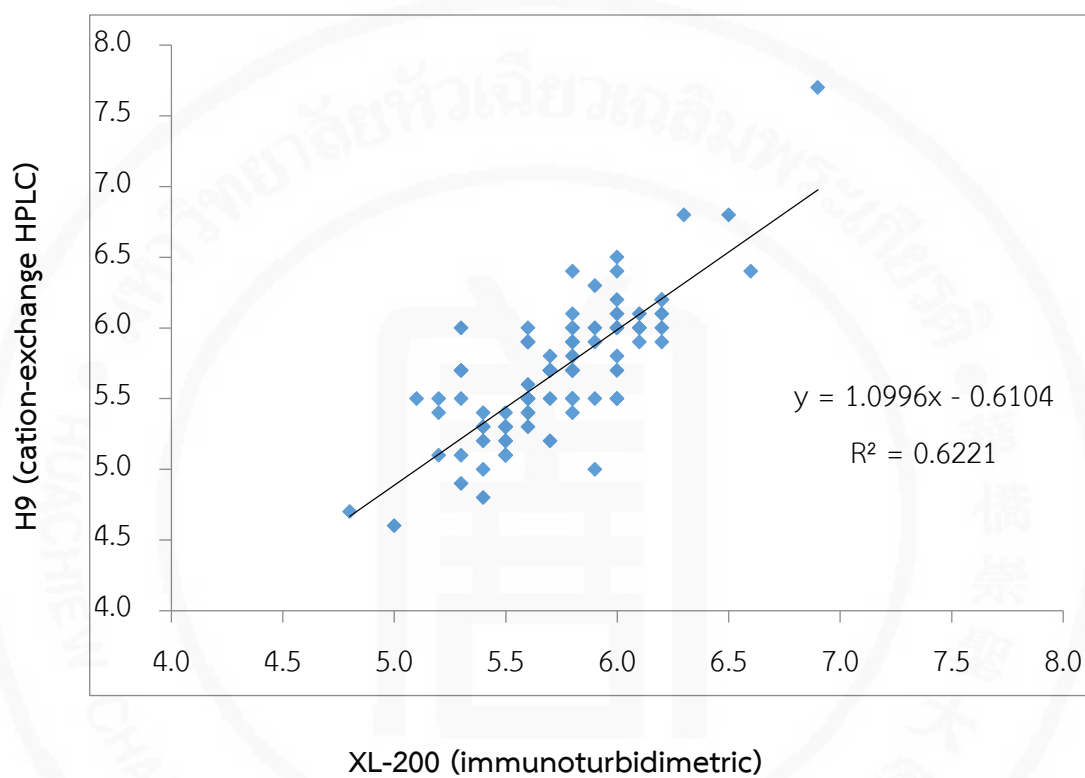
**ตารางที่ 10** ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC เทียบกับหลักการ immunoturbidimetric

	เครื่องวิเคราะห์		p-value
	HbA1c analyzer รุ่น H9 (cation-exchange HPLC)	Automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (immunoturbidimetric)	
ค่าเฉลี่ย % HbA1c (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) (N = 60)	5.66 (5.58, 5.94)	5.70 (5.65, 5.90)	0.360

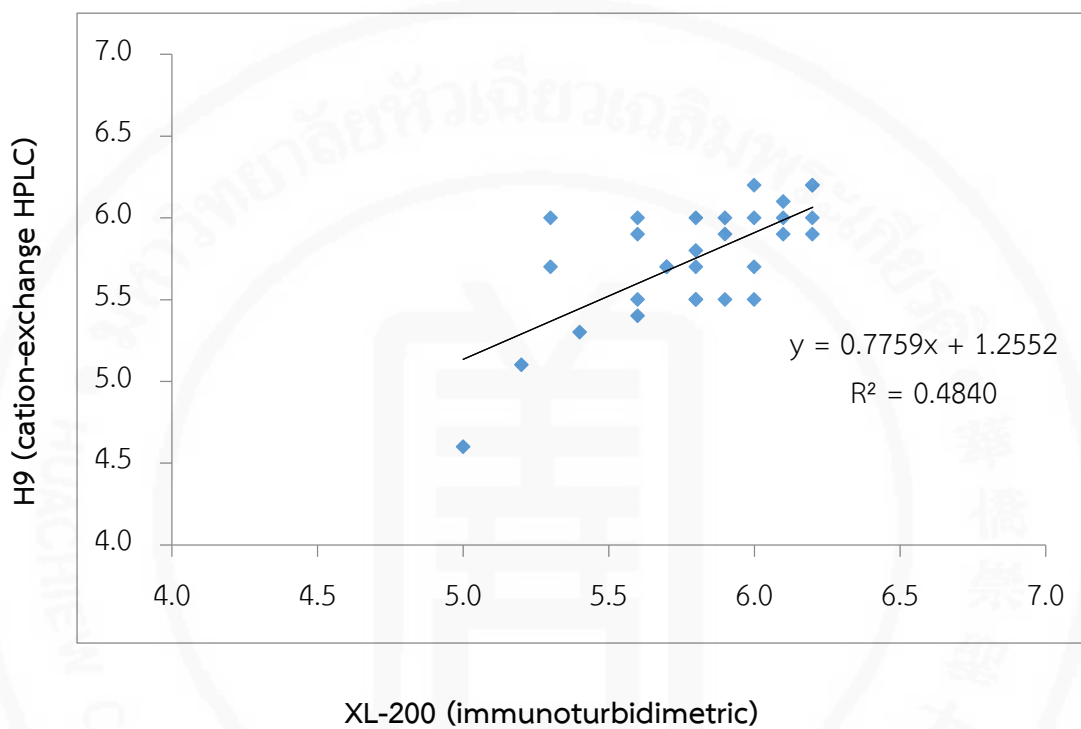
#### 4.7 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200)

การตรวจวิเคราะห์ HbA1c ทั้งสองหลักการ พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.789 ( $p = 0.000$ ) และมีสมการถดถอยอย่างง่ายคือ  $y = 1.0996x - 0.6104$  มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.6221 ดังแผนภูมิที่ 4 และเมื่อแยกศึกษาความสัมพันธ์ตามชนิดฮีโมโกลบินพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.696 ( $p = 0.000$ ) และมีสมการถดถอยอย่างง่ายคือ  $y = 0.7759x + 1.2552$  มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.4840 ดังแผนภูมิที่ 5 และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ในกลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอีพบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.820 ( $p = 0.000$ ) และมีสมการถดถอยอย่างง่ายคือ  $y = 1.2249x - 1.3197$  มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.6725 ดังแผนภูมิที่ 6

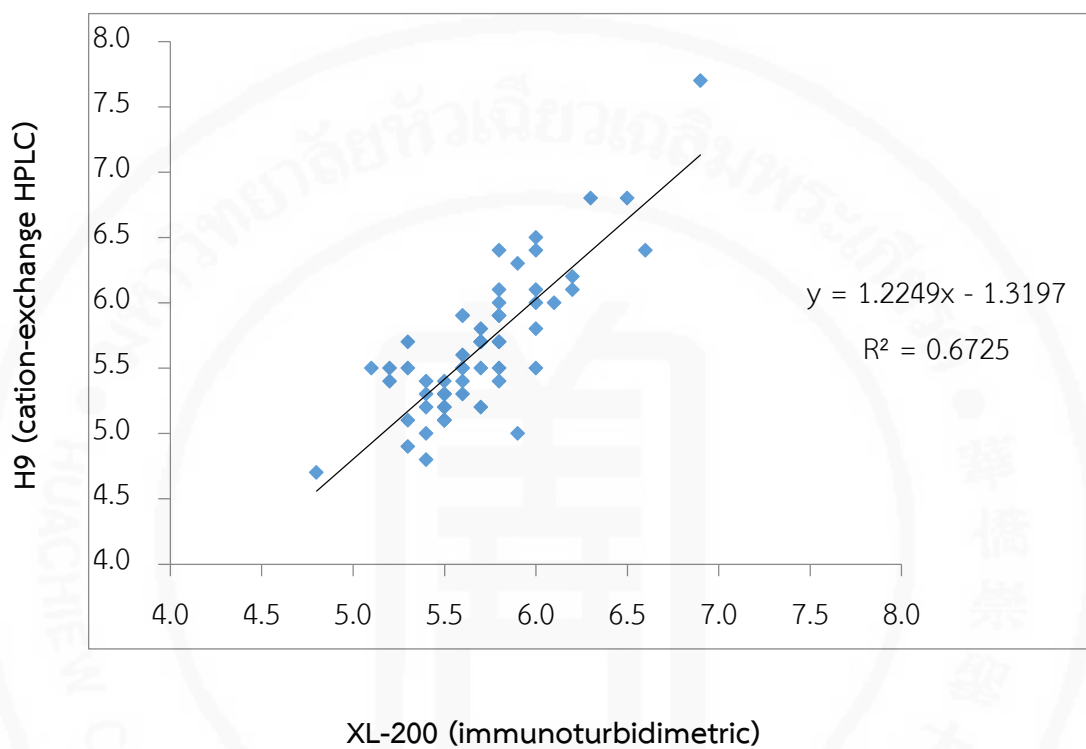
**แผนภูมิที่ 4** ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ในกลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี



**แผนภูมิที่ 5** ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ



**แผนภูมิที่ 6** ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ในกลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอี



## บทที่ 5 การอภิปรายผล และสรุปผล

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของพาหะฮีโมโกลบินต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange high performance liquid chromatography (HPLC) และหลักการ immunoturbidimetric และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจโดย 2 หลักการดังกล่าวข้างต้น ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ได้รับการอนุเคราะห์จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 สมุทรสงคราม กระทรวงสาธารณสุข โดยได้รับการตรวจแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ Variant™ II hemoglobin testing system (Bio-Rad, USA) งานวิจัยครั้งนี้ใช้ตัวอย่างเลือดจำนวน 90 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ (normal hemoglobin typing; A<sub>2</sub>A) จำนวน 30 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างเลือดพาหะฮีโมโกลบินอี (heterozygous hemoglobin E; EA) จำนวน 60 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างเลือดทั้งหมดมาวิเคราะห์ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (hemoglobin A1c; HbA1c) โดยเปรียบเทียบกันระหว่าง 2 หลักการ คือ cation-exchange high performance liquid chromatography (HPLC) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 (Lifotronic, China) และหลักการ immunoturbidimetric ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 (Erba Mannheim, Germany) เมื่อทำการทดลองครบทั้ง 2 หลักการ นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม SPSS version 23.0 ได้ผลสรุปดังนี้

จากข้อมูลตัวอย่างเลือดพบว่า เป็นเพศชาย 40 ตัวอย่าง เพศหญิง 50 ตัวอย่าง มีอายุระหว่าง 14-47 ปี แบ่งเป็นตัวอย่างเลือดที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติ (normal hemoglobin typing; A<sub>2</sub>A) และตัวอย่างเลือดพาหะฮีโมโกลบินอี (heterozygous hemoglobin E; EA) 33.3% และ 66.7% ตามลำดับ โดยเพศและอายุของกลุ่มตัวอย่างเลือดที่มีฮีโมโกลบินปกติ (A<sub>2</sub>A) และกลุ่มที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี (EA) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.504$  และ  $0.911$  ตามลำดับ) และค่าเฉลี่ย % Hb F และ % Hb A0 ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบิน A<sub>2</sub>A และ EA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.000$ )

จากงานวิจัยนี้พบว่าระดับ HbA1c เฉลี่ยที่ตรวจด้วยหลักการ cation-exchange HPLC จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 และหลักการ immunoturbidimetric จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ให้ผลไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติและกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอี ( $p = 0.349$  และ  $0.227$  ตามลำดับ)



การวิเคราะห์ด้วยหลักการ HPLC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 ให้ค่า HbA1c ที่แสดงด้วยค่าเฉลี่ย (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติเท่ากับ 5.75% (5.62, 5.88) และในกลุ่มที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีเท่ากับ 5.66% (5.58, 5.94) และสำหรับการวิเคราะห์ด้วยหลักการ immunoturbidimetric โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ให้ค่าระดับ HbA1c ที่แสดงด้วยค่าเฉลี่ย (95% CI) ในกลุ่มตัวอย่างที่มีชนิดฮีโมโกลบินปกติเท่ากับ 5.79% (5.67, 5.91) และกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีเท่ากับ 5.70% (5.65, 5.90) เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c รวมทั้ง 90 ตัวอย่าง โดยไม่แบ่งชนิดของฮีโมโกลบิน พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ที่วิเคราะห์ด้วยหลักการ HPLC และ immunoturbidimetric มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.213$ ) โดยค่าเฉลี่ยของ HbA1c ที่แสดงด้วยค่าเฉลี่ย (95% CI) และเมื่อวิเคราะห์ด้วยหลักการ HPLC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 ให้ค่า HbA1c เฉลี่ยเท่ากับ 5.69% (5.59, 5.79) และเมื่อวิเคราะห์ด้วยหลักการ immunoturbidimetric โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ให้ค่า HbA1c เฉลี่ยเท่ากับ 5.73% (5.66, 5.80) จากข้อมูลทั้งหมดข้างต้นจึงสรุปได้ว่าพาหะฮีโมโกลบินอี ไม่มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ที่วิเคราะห์โดยเครื่องทั้ง 2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Little และคณะ (8) ที่พบว่าพาหะฮีโมโกลบินอีไม่มีผลรบกวนต่อการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ HPLC ที่ตรวจวิเคราะห์โดยเครื่อง Variant (classic) และการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ immunoassay โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ A1cNow และ Pointe Scientific on Modular P และยังคงสอดคล้องกับงานวิจัยของ Werawan และคณะ (53) ที่พบว่าพาหะฮีโมโกลบินอีที่มีปริมาณของฮีโมโกลบินอีไม่เกิน 25-30% ไม่มีผลรบกวนการวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ ion exchange HPLC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์รุ่น HCL-723GX และหลักการ turbidimetric inhibition immunoassay โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์รุ่น Cobas Integra 800 ถึงแม้ว่าผลตรวจจะให้ค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันก็ตาม นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Azizi และคณะ (54) ที่พบว่าพาหะฮีโมโกลบินอีไม่มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC โดยเครื่อง Bio-Rad Variant II turbo 2.0 อย่างมีนัยสำคัญทางคลินิกที่ระดับความเข้มข้น HbA1c ที่ 6% และ 9% แต่อย่างไรก็ตามสำหรับหลักการ cation-exchange HPLC ในเครื่องบางรุ่นที่ถูกรบกวนโดยพาหะฮีโมโกลบินอีนั้น ในแต่ละรุ่นจะให้ผลของการรบกวนมีทั้งที่ทำให้ค่าสูงขึ้นหรือลดลงแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับข้อจำกัดของเครื่องวิเคราะห์ในแต่ละบริษัทซึ่งมีความหลากหลายของชนิดเรซิน lot การผลิตของเรซิน ขนาดคอลัมน์ ส่วนประกอบของบัฟเฟอร์ และระยะเวลาที่ฮีโมโกลบินใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ (31) การตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC จึงขึ้นอยู่กับความสามารถในการแยกชนิดฮีโมโกลบินที่ผิดปกติออกจากฮีโมโกลบินเอและฮีโมโกลบินเอวันซี เนื่องจากความผิดปกติของฮีโมโกลบินชนิดต่าง ๆ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประจุ (14) แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ให้ผลขัดแย้งกับพอนและคณะ (55) ที่พบว่าพาหะฮีโมโกลบินอีมีผลรบกวนการวิเคราะห์โดยวิธี cation-exchange HPLC โดยเครื่อง

วิเคราะห์รุ่น Bio-Rad Variant โดยให้ค่าต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและจากงานวิจัยของ Rohlfing และคณะ (51) พบว่าเครื่องวิเคราะห์ 2 ใน 9 รุ่นที่ใช้หลักการ cation-exchange HPLC สามารถถูกรบกวนได้จากพาหะฮีโมโกลบินอีโดยให้ค่าต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิกในเครื่องรุ่น G8 variant mode และ GX ในขณะที่เครื่องบางรุ่นที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่สูงนั้นอาจเกิดมาจากการมี carbamylated hemoglobin ในสิ่งส่งตรวจ (carbamylated hemoglobin เกิดจากภาวะที่มี urea ที่สูงขึ้นในเลือดและ urea จะถูกเปลี่ยนไปเป็น cyanate และสามารถจับกับปลาย N ของสายเบต้าโกลบิน) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ carbamylated hemoglobin มักพบในผู้ป่วยเบาหวานที่มีภาวะแทรกซ้อนทางไตจึงส่งผลให้เมื่อวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC แล้วให้ peak ของ carbamylated hemoglobin ซ้อนทับกับ peak ของ HbA1c จึงส่งผลให้ค่า HbA1c ที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าความเป็นจริง (14) สำหรับหลักการ immunoturbidimetric ในงานวิจัยนี้พบว่าพาหะฮีโมโกลบินอีไม่รบกวนการตรวจวิเคราะห์อาจเนื่องมาจากลำดับในการละลายพันธะของฮีโมโกลบินอีอยู่ในตำแหน่งที่ 26 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่อยู่ห่างออกมาจากบริเวณที่ถูก glycosylated (วาเลินที่ตำแหน่งที่ 1) ดังนั้น การตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการนี้จึงมักไม่ถูกรบกวนจากพาหะฮีโมโกลบินอีซึ่งสอดคล้องกับ Little และคณะ (8) ที่ศึกษาในเครื่องวิเคราะห์รุ่น A1cNow และ Pointe Scientific on Modular P ทั้งนี้ จากข้อมูลทั้งหมดข้างต้นจะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC ผู้วิเคราะห์จะต้องตระหนักถึงผลกระทบต่าง ๆ เหล่านี้ ปัจจุบันจึงมีข้อกำหนดให้บริษัทผู้ผลิตปรับมาตรฐานการตรวจเพื่อให้สอดคล้องกับข้อกำหนดของ NGSP

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ระหว่างหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) พบว่าการตรวจวิเคราะห์จากทั้งสองหลักการมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) เท่ากับ 0.789 ( $p = 0.000$ ) และมีสมการถดถอยอย่างง่าย คือ  $y = 1.0996x - 0.6104$  มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (coefficient of determination;  $R^2$ ) เท่ากับ 0.6221 และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์โดยแยกศึกษาตามชนิดฮีโมโกลบินพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC (HbA1c analyzer รุ่น H9) และหลักการ immunoturbidimetric (automated chemistry analyzer รุ่น XL-200) ในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.696 ( $p = 0.000$ ) และมีสมการถดถอยอย่างง่าย คือ  $y = 0.7759x + 1.2552$  มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.4840 ในกลุ่มพาหะฮีโมโกลบินอี พบว่าการตรวจวิเคราะห์จากทั้งสองหลักการมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.820 ( $p = 0.000$ ) และมีสมการถดถอยอย่างง่าย คือ  $y = 1.2249x - 1.3197$  มีค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.6725 จากข้อมูลทั้งหมดข้างต้น แสดงให้เห็นว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 ที่ใช้หลักการ cation-exchange HPLC และ

เครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ซึ่งใช้หลักการ immunoturbidimetric ให้ผลการวิเคราะห์ HbA1c ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอีที่มีปริมาณของฮีโมโกลบินอีไม่เกิน 25-30% ที่ไม่แตกต่างกันและมีความสัมพันธ์กันดี สามารถใช้แทนกันได้โดยไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ลมุล วงศ์กฤตวิทย์ (56) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ turbidimetric inhibition immunoassay โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ Cobas รุ่น Integra 800 และหลักการ HPLC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ ADAMS A1C รุ่น HA8180V พบว่าทั้ง 2 หลักการให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันและมีความสัมพันธ์กันดีทางสถิติในระดับสูง ทั้งในตัวอย่างเลือดที่มีระดับความเข้มข้นช่วงปกติ (HbA1c 4-6.4%) ระดับความเข้มข้นช่วงวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวาน (HbA1c 6.5-8%) และระดับความเข้มข้นมากกว่า 8% โดยมีค่า  $r$  เท่ากับ 0.941 0.923 และ 0.989 มีสมการถดถอยอย่างง่าย คือ  $y=1.066x-0.451$   $y=0.982x+0.219$  และ  $y=1.024x-0.017$  มีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.886 0.8533 และ 0.9795 ตามลำดับ และเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Werawan และคณะ (53) ที่พบว่าเครื่องวิเคราะห์ รุ่น HCL-723GX (ion-exchange HPLC) และ cobas integra 800 (turbidimetric inhibition immunoassay) มีความสัมพันธ์กันในระดับสูงเช่นกันโดยมีค่า  $r$  เท่ากับ 0.916 และมีสมการถดถอยอย่างง่าย คือ  $y=1.068x-0.4639$  มีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.840

การศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c รวมทั้ง 90 ตัวอย่าง โดยไม่แบ่งชนิดของฮีโมโกลบินที่วิเคราะห์ด้วยหลักการ HPLC และ immunoturbidimetric ให้ค่าการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและยังพบว่ามีความสัมพันธ์กันดีระหว่าง 2 หลักการ โดยมีค่า  $r = 0.789$  ( $p=0.000$ ) ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างเลือดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีความเข้มข้นของระดับ HbA1c อยู่ในช่วงระดับ 4.6 - 6.0% (คิดเป็นร้อยละ 96.7 ของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด) และมากกว่า 6.5% (คิดเป็นร้อยละ 3.3 ของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด) จึงส่งผลให้ค่า  $r$  ไม่ถึง 0.9

จากงานวิจัยนี้จึงสรุปได้ว่าพาหะฮีโมโกลบินอีไม่มีผลรบกวนการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยหลักการ cation-exchange HPLC ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ HbA1c analyzer รุ่น H9 และหลักการ immunoturbidimetric ซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ automated chemistry analyzer รุ่น XL-200 ผลการวิเคราะห์ HbA1c จากทั้งสองหลักการ จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสองรุ่นนี้ให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันและมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสามารถใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ทั้งสองรุ่นในการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c เพื่อติดตามผลการรักษาผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีได้ ทำให้ผู้ปฏิบัติงานที่ต้องใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ดังกล่าว เกิดความมั่นใจในผลการตรวจวิเคราะห์มากยิ่งขึ้นว่าจะได้ผลที่ถูกต้อง เนื่องจากไม่มีผลกระทบจากพาหะฮีโมโกลบินอี (heterozygous hemoglobin E) แต่ยังคงมีความจำเป็นในการศึกษาผลกระทบของชนิดฮีโมโกลบินที่ผิดปกติชนิดอื่นๆ อีก เช่น โอลิโกซัยดฮีโมโกลบิน อี (homozygous hemoglobin E) เพื่อเพิ่มความถูกต้องในการวิเคราะห์ HbA1c ในผู้ป่วยเบาหวานที่อาจมีชนิดของฮีโมโกลบินที่ผิดปกติได้และควรศึกษาให้ครอบคลุมระดับความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน

ในช่วงต่าง ๆ เช่น ระดับความเข้มข้นช่วงปกติ ระดับความเข้มข้นช่วงวินิจฉัยผู้ป่วยเบาหวานและระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าช่วงวินิจฉัย



### บรรณานุกรม

1. International diabetes federation. Diabetes Atlas Eighth edition 2017:7-127.
2. Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, Heine RJ. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008;31:1473-8.
3. American Diabetes Association. The Journal of Clinical and Applied Research and Education. *Diabetes Care* 2018;41:S59.
4. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-53.
5. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-86.
6. World Health Organization. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus (Abbreviated Report of a WHO Consultation): WHO; 2011.
7. มุลินธิโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย. แนวทางการวินิจฉัยและรักษาโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย 2557. กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 1.
8. Little RR, Rohlfing CL, Hanson S, Connolly S, Higgins T, Weykamp CW, *et al.* Effects of hemoglobin (Hb) E and HbD traits on measurements of glycated Hb (HbA1c) by 23 methods. *Clin Chem* 2008;54(8):1277-82.
9. Paisooksantivatana K, Kongsomgan A, Banyatsuppasin W, Khupulsup K. Influence of hemoglobin E on measurement of hemoglobin A1c by immunoassays. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;83(3):e84-5.
10. World Health Organization. World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs; Sustainable Development Goals. Geneva: WHO; 2017.

**บรรณานุกรม (ต่อ)**

11. สำนักงานพัฒนานโยบายสุขภาพระหว่างประเทศ. รายงานสถานการณ์โรค NCDs ฉบับที่ 2. นนทบุรี: แผนงานเครือข่ายควบคุมโรคไม่ติดต่อ; 2016.
12. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2018;41(Suppl1):S13-27.
13. ชิติ สันบุญ. ระบาดวิทยาโรคเบาหวาน. ใน:วิทยา ศรีดามา บรรณาธิการ. การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวาน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2545. หน้า 15-9.
14. รัชดา เครสซี. โรคเบาหวาน:ความรู้พื้นฐานและการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้อง. เชียงใหม่. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2557.
15. Hunt KJ, Schuller KL. The increasing prevalence of diabetes in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2007;34:173-99.
16. Kanthiya K, Luangdansakul W, Wacharasint P, Prommas S, Smanchat B. Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus and Pregnancy Outcomes in Women with Risk Factors Diagnosed by IADPSG Criteria at Bhumibol Adulyadej Hospital. *Thai J Obstet Gynaecol* 2013;21(4):141-9.
17. สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย, กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ. แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: บริษัท ร่มเย็นมีเดีย จำกัด; 2560.
18. Zhang X, Gregg EW, Williamson DF, Barker LE, Thomas W, Bullard KM, *et al.* A1C level and future risk of diabetes: a systematic review. *Diabetes Care* 2010; 33(7):1665-73.
19. Chawla A, Chawla R, Jaggi S. Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum?. *Indian J Endocr Metab* 2016;20(4):546-51.

## บรรณานุกรม (ต่อ)

20. Chetthakul T, Deerochanawong C, Suwanwalaikorn S, Kosachunhanun N, Ngarmukos C, Rawdaree P, *et al.* Thailand diabetes registry project: prevalence of diabetic retinopathy and associated factors in type 2 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai* 2006;89(1):S27-36.
21. Ozmen B, Guçlu F, Kafesçiler S, Ozmen D, Hekimsoy Z. The relationship between glycosylated haemoglobin and diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Turk Jem* 2007;11:10-5.
22. โสภณ นภธร. โรคไตจากเบาหวาน. ใน: *วิทยา ศรีดามา, บรรณาธิการ. การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวาน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2545. หน้า 127-37.*
23. Kuo IC, Lin HY, Niu SW, Hwang DY, Lee JJ, Tsai JC, *et al.* Glycated hemoglobin and outcomes in patients with advanced diabetic chronic kidney disease. *Sci Rep* 2016;28(6):1-9.
24. Grossman E, Messerli FH. Diabetic and hypertensive heart disease. *Ann Intern Med* 1996;125(4):304-10.
25. Bower JK, Appel LJ, Matsushita K, Young JH, Alonso A, Brancati FL, *et al.* Glycated hemoglobin and risk of hypertension in the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes Care* 2012;35(5):1031-37.
26. Papanas N, Ziegler D. Risk Factors and Comorbidities in Diabetic Neuropathy: An Update 2015. *Rev Diabet stud* 2015;12(1-2):48-62.
27. Nathan DM, Turgeon H, Regan S. Relationship between glycated haemoglobin levels and mean glucose levels over time. *Diabetologia* 2007;50(11):2239-44.
28. Higgins PJ, Bunn HF. Kinetic analysis of the nonenzymatic glycosylation of hemoglobin. *J Biol Chem* 1981;256(10):5204-8.
29. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, *et al.* Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000; 321(7258):405-12.

**บรรณานุกรม (ต่อ)**

30. Rhea JM, Molinaro R. Pathology consultation on HbA1c methods and interferences. *Am J Clin Pathol* 2014;141(1):5-16.
31. Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, *et al.* Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:78-89.
32. National Glycohemoglobin Standardization Program [Internet]. List of NGSP Certified Methods. [update 2018 Sep; cited 2018 Sep 1]. Available from: <http://www.ngsp.org/docs/methods>.
33. Shanthi B, Revathy C, Manjula Devi AJ, Subhashree. Effect of iron deficiency on glycation of haemoglobin in nondiabetics. *J Clin Diagn Res* 2013;7(1):15-7.
34. Parlapally RP, Kumari KR, Srujana T. Effect of Iron Deficiency Anemia on Glycation of Hemoglobin in Non-diabetics. *Int J Sci Stud* 2016;4(5):192-6.
35. Gallagher EJ, LeRoith D, Bloomgarden Z. Review of hemoglobin A1c in the management of diabetes. *J Diabetes* 2009;1:9-17.
36. Haque S, Siddiqui MR. Clinical Significance of Glycated Hemoglobin (HbA1c). *AKMMCJ* 2013;4(1):3-5.
37. Christman AL, Lazo M, Clark JM, Selvin E. Low glycated hemoglobin and liver disease in the U.S. population. *Diabetes Care* 2011;34(12):2548-50.
38. Ng JM, Cooke M, Bhandari S, Atkin SL, Kilpatrick ES. The effect of iron and erythropoietin treatment on the A1C of patients with diabetes and chronic kidney disease. *Diabetes Care* 2010;33(11):2310-3.
39. Bernstein RM, Freedman DB, Liyanage SP, Dandona P. Glycosylated haemoglobin in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1982;41(6):604-6.
40. Choi SW, Lee YH, Kweon SS, Song HR, Ahn HR, Rhee JA, *et al.* Association between Total Bilirubin and Hemoglobin A1c in Korean Type 2 Diabetic Patients. *J Korean Med Sci* 2012;27(10):1196-201.



**บรรณานุกรม (ต่อ)**

41. Wu X, Chao Y, Wan Z, Wang Y, Ma Y, Ke P, *et al.* A comparative evaluation of the analytical performances of Capillary 2 Flex Piercing, Tosoh HLC-723 G8, Premier Hb 9210, and Roche Cobas c501 Tina-quant Gen 2 analyzers for HbA1c determination. *Biochem Med (Zagreb)* 2016;26(3):353-64.
42. Lahousen T, Roller RE, Lipp RW, Schnedl WJ. Silent haemoglobin variants and determination of HbA1c with the HPLC Bio-Rad Variant II. *J Clin Pathol* 2002; 55(9):699-703.
43. Lorenzo-Medina M, De-La-Iglesia S, Ropero P, Nogueira-Salgueiro P, Santana-Benitez J. Effects of hemoglobin variants on hemoglobin A1c values measured using a high-performance liquid chromatography method. *J Diabetes Sci Technol* 2014;8(6):1168-76.
44. Lina CN, Emery TJ, Little RR, Hanson SE, Rohlfing CL, Jaisson S, *et al.* Effects of hemoglobin C, D, E, and S traits on measurements of HbA1c by six methods. *Clin Chim Acta* 2012;413(7-8):819-21.
45. Chu CH, Lam HC, Lee JK, Wang MC, Lu CC, Sun CC, *et al.* Common hemoglobin variants in southern Taiwan and their effect on the determination of HbA1c by ion-exchange high-performance liquid chromatography. *J Chin Med Assoc* 2009;72(7):362-7.
46. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. *Clin Chem* 2001;47(2):153-63.
47. Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FA, Van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem* 1993; 39(8):1717-23.

### บรรณานุกรม (ต่อ)

48. Mongia SK, Little RR, Rohlfing CL, Hanson S, Roberts RF, Owen WE, *et al.* Effects of hemoglobin C and S traits on the results of 14 commercial glycosylated hemoglobin assays. *Am J Clin Pathol* 2008;130(1):136-40.
49. คณะทำงานทบทวนแนวทางปฏิบัติในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อสนับสนุนและควบคุมโรคธาลัสซีเมีย. แนวทางปฏิบัติในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อสนับสนุนและควบคุมโรคธาลัสซีเมีย. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2559.
50. สุพรรณ พุเจริญ, กุลนภา พุเจริญ. ฮีโมโกลบินผิดปกติในประเทศไทย: ข้อมูลศูนย์รับการส่งต่อที่มหาวิทยาลัยขอนแก่นจนถึงปี 2558. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2015;27(3):225-39.
51. Rohlfing C, Hanson S, Weykamp C, Siebelder C, Higgins T, Molinaro R, *et al.* Effects of hemoglobin C, D, E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods. *Clin Chim Acta* 2016;455:80-3.
52. Lemeshow S, Hosmer Jr DW, Klar J, Lwanga SK. Adequacy of sample size in health studies. Baffins Lane, Chichester John Wiley & Sons Ltd.;1990.
53. Prasertwatanakorn W, Vattanaviboon P, Rerksngarm T. The effect of thalassemia and abnormal hemoglobins on hba1c assay by ion exchange HPLC, Boronate affinity chromatography and immunoassay. *J Med Tech Assoc Thailand* 2016;44(3):5842-53.
54. Azizi A, Sthaneshwar P, Shanmugam H, Arumugam S. Effect of HbE trait on measurement of HbA1c by three different methods. *Pathology* 2015; 47(5):495-7.
55. พอน สิงหามาตร, สายพิน สุวรรณจุณี, ทิพย์วารินทร์ พุทธิรักษา, บังอร ลายบัว. ผลกระทบฮีโมโกลบินต่อการตรวจวัดไกลโคเซตฮีโมโกลบิน (HbA1c) โดยวิธีแลกเปลี่ยนอนุภาคไอออนโครมาโตกราฟีชนิดความดันสูง (ion-exchange HPLC). *กุมารเวชสาร* 2553;17(3):163-6.

**บรรณานุกรม (ต่อ)**


56. ลมุล วงศ์กฤตวิทย์. การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี ด้วยวิธี immunoturbidity และ high performance liquid chromatography ในผู้ป่วยที่เข้ารับการตรวจที่คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช. วชิรเวชสาร. 2559;4:9-16.





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
เอกสารรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย



เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม  
เอกสารรับรอง  
(Certificate of Exemption)  
คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย  
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

---


วันที่ 15 กันยายน 2559

ชื่อเรื่อง      การศึกษาผลกระทบของชนิดซีโมโกลบินต่อการตรวจวิเคราะห์ระดับซีโมโกลบินเอวันซี

ชื่อนักวิจัย/หัวหน้าโครงการ      อาจารย์ ดร.ชมพูนุท สินธุพิบูลยกิจ  
คณะวิชา/หลักสูตร      คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ขอรับรองว่า งานวิจัยดังกล่าวข้างต้นได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบโดยสอดคล้องกับประกาศ  
เฮลซิงกิ จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ลงนาม 

(รองศาสตราจารย์ ดร.จริยาวัตร คมพัยค์ม์)  
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย  
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

วันที่รับรอง      วันที่ 15 กันยายน 2559  
เลขที่รับรอง      อ.432/2559

วันที่ให้การรับรอง:      15 กันยายน 2559  
วันหมดอายุใบรับรอง:      14 กันยายน 2561

## ภาคผนวก ข

## ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1C ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ

ลำดับ	เพศ	อายุ	%HbE	%Hb F	% A <sub>2</sub>	% A <sub>0</sub>	H9	XL-200
N1	ชาย	27	-	0.4	3.1	86.7	5.9	5.6
N2	หญิง	34	-	0.3	2.7	87.5	5.5	5.8
N3	ชาย	34	-	0.5	3.2	86.1	5.9	6.2
N4	ชาย	22	-	0.5	3.1	86.1	6.0	6.1
N5	ชาย	35	-	0.4	3.1	86.3	6.0	5.3
N6	ชาย	45	-	0.3	3.0	86.7	5.5	6.0
N7	ชาย	22	-	0.3	2.7	87.2	6.0	5.8
N8	หญิง	32	-	0.3	2.9	87.8	5.4	5.6
N9	ชาย	35	-	0.4	2.7	88.3	5.1	5.2
N10	หญิง	15	-	0.4	2.8	88.1	5.3	5.4
N11	ชาย	20	-	0.2	2.8	86.7	6.2	6.0
N12	หญิง	19	-	0.2	2.9	89.6	4.6	5.0
N13	ชาย	18	-	0.3	3.0	87.2	5.7	5.8
N14	หญิง	24	-	0.3	2.9	87.2	6.0	5.6
N15	หญิง	31	-	0.4	2.9	86.6	6.2	6.2
N16	หญิง	16	-	0.2	3.2	86.7	5.7	5.3
N17	ชาย	16	-	0.2	3.0	87.2	5.7	5.7
N18	ชาย	22	-	0.4	3.1	85.9	6.2	6.2
N19	หญิง	25	-	0.3	2.9	87.6	5.5	5.9
N20	หญิง	29	-	0.5	3.2	86.3	6.0	6.2
N21	หญิง	28	-	0.4	3.1	86.8	5.9	5.9
N22	ชาย	19	-	0.2	2.9	86.9	6.0	6.0
N23	ชาย	36	-	0.5	2.9	87.1	5.8	5.8
N24	หญิง	15	-	0.7	2.9	86.9	5.7	5.7

## ภาคผนวก ข (ต่อ)

## ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1C ในกลุ่มตัวอย่างฮีโมโกลบินปกติ

ลำดับ	เพศ	อายุ	%HbE	%Hb F	% A <sub>2</sub>	% A <sub>0</sub>	H9	XL-200
N25	หญิง	23	-	0.4	3.0	87.5	5.5	5.8
N26	ชาย	24	-	0.7	3.0	86.3	5.9	6.1
N27	หญิง	33	-	0.8	2.5	86.1	6.1	6.1
N28	หญิง	19	-	0.9	3.0	85.4	6.0	5.9
N29	หญิง	25	-	0.2	2.8	87.1	5.5	5.6
N30	ชาย	34	-	0.5	2.5	86.9	5.7	6.0
						MIN	4.60	5.00
						Mean	5.75	5.79
						MAX	6.20	6.20
						SD	0.36	0.32

**ภาคผนวก ข (ต่อ)**  
**ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1C ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี**

ลำดับ	เพศ	อายุ	%Hb E	%Hb	% A <sub>2</sub>	% A <sub>0</sub>	H9	XL-200
EA1	หญิง	22	28.3	0.8	-	62.2	5.9	5.6
EA2	หญิง	25	31.0	1.4	-	59.7	5.9	5.8
EA3	หญิง	37	28.8	0.6	-	62.6	5.7	5.3
EA4	ชาย	20	27.0	1.2	-	61.8	6.1	6.0
EA5	หญิง	19	29.3	0.5	-	60.9	6.2	6.2
EA6	หญิง	24	30.1	0.8	-	60.4	5.7	5.7
EA7	ชาย	38	29.2	0.6	-	61.1	6.4	5.8
EA8	หญิง	24	25.7	0.9	-	64.4	5.5	6.0
EA9	ชาย	23	28.0	0.4	-	63.6	5.3	5.5
EA10	ชาย	34	29.2	1.5	-	60.6	5.7	5.7
EA11	หญิง	22	28.8	0.7	-	61.7	6.1	5.8
EA12	ชาย	22	29.1	0.6	-	62.0	5.6	5.6
EA13	หญิง	17	28.9	1.2	-	62.3	5.2	5.4
EA14	ชาย	30	28.0	0.4	-	62.6	5.9	5.6
EA15	ชาย	25	30.0	0.6	-	61.6	5.3	5.5
EA16	หญิง	14	28.3	1.0	-	63.0	5.3	5.5
EA17	หญิง	21	29.3	1.2	-	60.9	5.5	5.2
EA18	ชาย	27	30.2	1.1	-	60.8	5.8	5.7
EA19	หญิง	40	29.3	1.4	-	60.5	6.4	6.0
EA20	ชาย	47	28.4	0.8	-	60.6	6.4	6.6
EA21	ชาย	32	31.0	0.6	-	60.8	5.0	5.9
EA22	หญิง	20	29.5	1.6	-	62.6	5.2	5.7
EA23	หญิง	28	29.5	1.3	-	61.5	6.0	6.0
EA24	ชาย	32	26.5	0.5	-	61.9	6.0	6.1



## ภาคผนวก ข (ต่อ)

## ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1C ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี

ลำดับ	เพศ	อายุ	%Hb E	%Hb	% A <sub>2</sub>	% A <sub>0</sub>	H9	XL-200
EA25	ชาย	21	25.8	1.0	-	61.0	6.3	5.9
EA26	ชาย	45	25.1	0.7	-	61.9	6.8	6.5
EA27	ชาย	36	26.2	1.2	-	61.5	6.1	6.2
EA28	หญิง	20	26.7	2.1	-	61.1	5.5	5.6
EA29	ชาย	20	25.5	0.5	-	65.0	4.8	5.4
EA30	หญิง	16	25.7	0.4	-	64.4	5.1	5.5
EA31	ชาย	18	27.1	0.7	-	61.4	5.7	5.8
EA32	หญิง	27	27.4	0.6	-	62.0	5.2	5.5
EA33	หญิง	18	28.0	0.5	-	62.1	4.9	5.3
EA34	หญิง	17	25.0	0.8	-	65.1	5.2	5.5
EA35	ชาย	35	26.8	0.5	-	61.6	5.7	5.8
EA36	หญิง	14	25.4	0.8	-	64.1	5.4	5.4
EA37	หญิง	22	26.8	0.6	-	63.5	5.3	5.4
EA38	ชาย	31	27.3	0.8	-	61.2	6.5	6.0
EA39	หญิง	18	28.1	2.4	-	60.7	5.3	5.6
EA40	หญิง	32	27.0	1.9	-	60.9	5.5	5.8
EA41	ชาย	38	25.5	0.4	-	61.5	6.8	6.3
EA42	หญิง	25	27.0	0.8	-	61.5	5.7	5.7
EA43	ชาย	29	26.2	0.7	-	61.9	5.9	5.8
EA44	หญิง	30	25.6	0.5	-	63.9	5.4	5.6
EA45	หญิง	21	27.6	0.9	-	62.2	5.1	5.5
EA46	ชาย	17	28.0	1.6	-	59.7	6.0	5.8
EA47	หญิง	34	26.8	1.6	-	59.7	7.7	6.9
EA48	หญิง	17	25.8	0.5	-	63.6	5.4	5.8

## ภาคผนวก ข (ต่อ)

## ผลการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1C ในกลุ่มตัวอย่างพาหะฮีโมโกลบินอี

ลำดับ	เพศ	อายุ	%Hb E	%Hb	% A <sub>2</sub>	% A <sub>0</sub>	H9	XL-200
EA49	ชาย	18	30.0	0.9	-	60.3	4.7	4.8
EA50	หญิง	17	24.5	0.5	-	62.7	5.5	5.7
EA51	หญิง	22	27.5	1.3	-	60.9	5.1	5.3
EA52	หญิง	34	28.0	1.3	-	60.4	5.0	5.4
EA53	หญิง	31	27.5	2.8	-	60.2	5.5	5.3
EA54	หญิง	17	28.3	1.5	-	60.3	5.5	5.6
EA55	หญิง	18	29.7	0.7	-	60.7	5.4	5.2
EA56	ชาย	19	28.6	1.4	-	60.4	5.1	5.5
EA57	หญิง	37	28.2	1.4	-	60.0	5.7	5.7
EA58	ชาย	32	27.7	1.0	-	60.9	5.8	6.0
EA59	หญิง	36	27.0	1.2	-	61.8	5.5	5.1
EA60	ชาย	35	25.8	0.8	-	63.2	5.4	5.5
						MIN	4.7	4.8
						Mean	5.7	5.7
						MAX	7.7	6.9
						SD	0.54	0.36

**ประวัติผู้เขียน**

<b>ชื่อ - สกุล</b>	นางสาวจรรววรรณ บุญลาโภ
<b>วัน เดือน ปีเกิด</b>	11 มีนาคม 2523
<b>ที่อยู่ปัจจุบัน</b>	41/75 หมู่ 19 บางหญ้าแพรก พระประแดง สมุทรปราการ 10130
<b>ประวัติการศึกษา</b>	
พ.ศ. 2547 - 2550	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)
<b>ประวัติการทำงาน</b>	
พ.ศ. 2549 - 2552	บริษัทควอลิตี้แล็บ จำกัด
พ.ศ. 2553 - 2554	บริษัทกาญจน์รัชต์การแพทย์แล็บ จำกัด
พ.ศ. 2554 - ปัจจุบัน	นักเทคนิคการแพทย์ ศูนย์บริการสาธารณสุข 29 (ช่วง นุชเนตร) สำนักอนามัย กรุงเทพมหานคร