ความแตกต่างระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่ความทนต่อกลูโคสปกติ

น.ส.ใจแก้ว อิฐรัตน์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The difference between HbA1c levels in Beta thalassemia trait and normal hemoglobin individuals with normal glucose tolerance

Miss Jaikaew Ittharat

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine
Department of Medicine
FACULTY OF MEDICINE
Chulalongkorn University
Academic Year 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความแตกต่างระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่ความทนต่อกลูโคสปกติ
โดย	น.ส.ใจแก้ว อิฐรัตน์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ปฏิณัฐ บูรณะทรัพย์ขจร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงปราณี สุจริตจันทร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ณัฐชัย ศรีสวัสดิ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ปฏิณัฐ บูรณะทรัพย์ขจร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงปราณี สุจริตจันทร์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ แพทย์หญิงณัฏยา ตียพันธ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์สุภมัย สุนทรพันธ์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ใจแก้ว อิฐรัตน์ : ความแตกต่างระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่ความทนต่อกลูโคสปกติ. (The difference between HbA1c levels in Beta thalassemia trait and normal hemoglobin individuals with normal glucose tolerance) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. นพ.ปฏิณัฐ บูรณะทรัพย์ขจร , อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. พญ.ปราณี สุจริตจันทร์

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความแตกต่างของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติชาวไทยที่ความทนต่อกลูโคสปกติ

วิธีการวิจัย: การศึกษาภาคตัดขวางทำการศึกษาในผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวนทั้งหมด 120 ราย แบ่งเป็น กลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า 60 ราย และกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 60 ราย ผู้เข้าร่วมวิจัยทุกรายได้รับการวินิจฉัยความทนต่อกลูโคสปกติโดยการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม ทั้งสองกลุ่มได้รับการตรวจระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ระดับฟรุกโตซามีน และค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีที่ปรับแล้วของทั้งสองกลุ่มและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีและ corrected reticulocyte count

ผลการศึกษา: จากข้อมูลพื้นฐานของทั้งสองกลุ่มพบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม globulin และค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ามีค่าต่ำว่าผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติเล็กน้อย โดยจากการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณพบว่าตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับระดับฮีโมโกลบินเอวันซีได้แก่ พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า และเพศ ($p < 0.05$) ค่าเฉลี่ยของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีที่ปรับแล้วของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับร้อยละ 5.07 (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.3) ค่าเฉลี่ยของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีที่ปรับแล้วของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับร้อยละ 5.22 (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.3) โดยพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีที่ปรับแล้ว ($p < 0.001$) และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างค่าเฉลี่ยของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีและ corrected reticulocyte count ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (R-squared = 0.26, $p < 0.001$)

สรุป: ในผู้ที่มีความทนต่อกลูโคสปกติค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าต่ำว่าผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติเล็กน้อยและมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างระดับ HbA1c และ corrected reticulocyte count ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า ซึ่ง corrected reticulocyte count อาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงระดับความรุนแรงของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าซึ่งมีผลต่อระดับ HbA1c ที่แตกต่างกัน การแปลผลระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า จะให้ค่าที่ต่ำกว่าที่ควรจะเป็น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....
ปีการศึกษา 2564 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

6370077730 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: HBA1C/ BETA THALASSEMIA TRAIT/ β- THALASSEMIA TRAIT/ HB TYPING/ NORMAL GLUCOSE TOLERANCE/ FRUCTOSAMINE

Jaikaew Ittharat : The difference between HbA1c levels in Beta thalassemia trait and normal hemoglobin individuals with normal glucose tolerance . Advisor: Asst. Prof. PATINUT BURANASUPKAJORN Co-advisor: Asst. Prof. Pranee Suchasitjun

Objective: To measure the difference of HbA1c levels between Beta thalassemia trait and normal hemoglobin individuals with normal glucose tolerance.

Method: This is a cross-sectional analytical study. One hundred twenty normal glucose tolerance participants with Beta thalassemia trait (n=60) and normal Hb typing (n=60) were enrolled by the oral glucose tolerance test (OGTT). HbA1c, fructosamine and red blood cell (RBC) parameters were compared between two groups. A multivariate linear regression analysis was used to explore the difference of adjusted HbA1c. A Pearson correlation was used to perform correlation analysis between HbA1c and corrected reticulocyte count.

Results: Plasma glucose levels after OGTT, globulin and RBC parameters were significant difference between two groups. We found slightly significant decrease on HbA1c levels in Beta thalassemia trait group. From the multivariable linear regression analysis, (adjusted mean HbA1c of Beta thalassemia trait: 5.07 ± 0.3% vs. normal Hb typing: 5.22 ± 0.3%, $p<0.001$) and the other significant independent predictors of HbA1c were Beta thalassemia trait and sex ($p < 0.05$). We found a significant negative correlation between HbA1c and corrected reticulocyte count in beta thalassemia trait group (R-squared =0.26, p value < 0.001).

Conclusion: In normal glucose tolerance individuals, there were slightly significant decrease on HbA1c levels in Beta thalassemia trait. We found a significant negative correlation between HbA1c and corrected reticulocyte count which reflects more severe form of Beta thalassemia trait may have greater effect on HbA1c levels. In Beta thalassemia trait individuals HA1c is slightly underestimating their average glycemia.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Field of Study:	Medicine	Student's Signature .....
Academic Year:	2021	Advisor's Signature .....
		Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากความเมตตากรุณา และความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ปฏิณัฐ บูรณะทรัพย์ขจรและผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงปราณี สุจริตจันทร์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ได้เสียสละเวลาในการให้คำปรึกษาอย่างดีเสมอมา ซึ่งผู้วิจัยกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล เก็บตัวอย่างเลือดและขอบพระคุณผู้ป่วยและผู้ดูแลทุกท่านที่เสียสละเวลาอันมีค่าในการเข้าร่วมโครงการครั้งนี้

ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมา ตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ ซึ่งมีส่วนให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดมา

ใจแก้ว อิฐรัตน์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

..... ค

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1

1.2 คำถามของการวิจัย 2

1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย 3

1.4 สมมติฐาน 3

1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น 3

1.6 กรอบความคิดแนววิจัย 4

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย 5

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย 5

1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรฐานการแก้ไข 6

บทที่ 2 7

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย 7
ฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A1c; HbA1c) 10
ฟรุกโตซามีน (Fructosamine) 19
Glycation Gap Hypothesis 20
บทที่ 3 23
วิธีดำเนินการวิจัย 23
3.1 รูปแบบการวิจัย 23
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย 23
3.3 ขนาดตัวอย่าง 25
3.4 ขั้นตอนการทำวิจัย 25
3.5 การรวบรวมข้อมูล 28
3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย 28
3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย 29
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล 29
บทที่ 4 31
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 31
1. ประชากรที่นำมาศึกษา 31
2. ข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง 32
3. ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ 33
4. ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา 35
บทที่ 5 43
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ 43
5.1 อภิปรายผล 43
5.2 สรุปผล 45

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.3 ข้อดีของการศึกษานี้ 45
5.4 ข้อด้อยของการศึกษานี้ 45
5.5 ข้อเสนอแนะ 46
ภาคผนวก 47
การตรวจ Hb typing ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย 47
การตรวจ HbA1c โดยเครื่อง Alinity c Hemoglobin A1c Reagent Kit 49
การตรวจวัดระดับ fructosamine โดยเครื่อง Alinity c Fructosamine Reagent Kit 50
แบบเก็บข้อมูลโครงการวิจัย 51
บรรณานุกรม 54
ประวัติผู้เขียน 59

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในประเทศไทย 7

ตารางที่ 2 แสดงการตรวจวัด HbA1c โดยวิธีต่าง ๆ 12

ตารางที่ 3 แสดงการแปลผลระดับพลาสมากลูโคสและ HbA1c เพื่อการวินิจฉัย 14

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบระดับพลาสมากลูโคส fructosamine และ HbA1c 21

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง 32

ตารางที่ 6 แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ 34

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ univariable และ multivariable linear regression analysis แสดงตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับระดับ HbA1c 36

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปภาพที่ 1 แสดงกรอบความคิดแนววิจัย 4

รูปภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างปกติของ ยีน β-globin ตำแหน่งและชนิดของการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดเบต้า 9

รูปภาพที่ 3 แสดงกระบวนการไกลเคชั่นของฮีโมโกลบินเอวันซี 10

รูปภาพที่ 4 แสดงกระบวนการไกลเคชั่นของ fructosamine 19

รูปภาพที่ 5 แสดงประชากรที่นำมาศึกษา 31

รูปภาพที่ 6 แสดงการกระจายตัวของระดับ HbA1c เป็นแบบการแจกแจงปกติทั้งสองกลุ่ม 37

รูปภาพที่ 7 แสดงการกระจายตัวของระดับ fructosamine เป็นแบบการแจกแจงปกติทั้งสองกลุ่ม 38

รูปภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c และ corrected reticulocyte count 39

รูปภาพที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับ RDW 40

รูปภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับ MCV 40

รูปภาพที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับ % HbF 41

รูปภาพที่ 12 แสดงความแตกต่างของระดับ fructosamine ที่ตรวจวันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือด .. 42

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่พบได้บ่อย อุบัติการณ์ของโรคสูงและมีภาวะแทรกซ้อน รวมไปถึงมีโรคร่วมมาก จึงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ โดยในประเทศไทยพบว่ามีความชุกของโรคเบาหวานร้อยละ 5 ในประชากรอายุ 30-60 ปี ดังนั้นการวินิจฉัยโรคตลอดจนการติดตามการรักษาและการให้ความรู้แก่ผู้ป่วยจึงมีความสำคัญในการลดความเสี่ยงต่อการภาวะแทรกซ้อนที่เกิดแบบเฉียบพลันและในระยะยาว [1]

การตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A1c; HbA1c) เป็นการทดสอบที่ใช้ในการวินิจฉัยและติดตามผลการรักษาโรคเบาหวานในทางเวชปฏิบัติโดยสัมพันธ์กับระดับน้ำตาลสะสมเฉลี่ยในช่วงประมาณ 120 วัน ซึ่งเป็นอายุขัยเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงปกติ แม้ว่าในปัจจุบันการตรวจวัดระดับ HbA1c ทางห้องปฏิบัติการจะได้รับการรับรองโดย NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) และเทียบมาตรฐานอ้างอิงกับวิธีการวัดของ DCCT (Diabetes Control and Complications Trial reference assay) แต่พบว่ายังมีการรบกวนจากปัจจัยทางกายภาพและปัจจัยทางชีวภาพที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c [2]

ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c พบได้ทั้งความผิดปกติแต่กำเนิดและความผิดปกติที่ได้รับภายหลังและมีผลต่ออายุขัยเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง ได้แก่ ภาวะเม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis), ภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติ (hemoglobinopathies), ภาวะเสียเลือด, การได้รับเลือด, โรคไตวายเรื้อรัง, อายุและเชื้อชาติซึ่งจะทำให้ได้ค่าที่สูงหรือต่ำกว่าปกติขึ้นอยู่กับวิธีที่ใช้ในการตรวจวัด [3, 4]

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย (Thalassemia) และภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติมีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย ประมาณร้อยละ 20-30 ของประชากร มียีนธาลัสซีเมียชนิดแอลฟา (α-thalassemia gene) ร้อยละ 3-9 มียีนธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (β-thalassemia gene) และพบยีนของฮีโมโกลบินชนิดอี (HbE) ประมาณร้อยละ 10-53 [5, 6] โดยพบว่าในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความทนต่อกลูโคสที่ผิดปกติ รวมถึงมีอุบัติการณ์ของการเกิดโรคเบาหวานสูงกว่าคนปกติ [7]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผู้ที่เป็นพาหะโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (β-thalassemia trait) มักไม่มีอาการโลหิตจาง แต่มีการสร้างเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีประสิทธิภาพ (ineffective erythropoiesis) และมีอายุขัยของเม็ดเลือดแดงสั้นลง ทำให้การตรวจวัดระดับ HbA1c มีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง ดังนั้นผลการตรวจวัดระดับ HbA1c ที่ได้ ในผู้ป่วยกลุ่มนี้อาจทำให้การวินิจฉัยและการปรับยาระหว่างการรักษาโรคเบาหวานมีความล่าช้าได้ และจากการศึกษาพบว่ามีการกลายพันธุ์ (mutation) และความหลากหลายของยีน β-globin ในแต่ละภูมิภาคทั่วโลก [8] ที่ส่งผลต่ออายุขัยของเม็ดเลือดแดงที่แตกต่างกันและ hemolysis ที่มีความรุนแรงแตกต่างกัน ซึ่งน่าจะมีผลต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c ด้วย จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ในการศึกษาความแตกต่างของระดับ HbA1c ในผู้ป่วยที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติชาวไทยที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน

1.2 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก :

(ภาษาไทย) ระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติในชาวไทยที่มีความทนต่อกลูโคสปกติมีความแตกต่างกันหรือไม่

(ภาษาอังกฤษ) Are there difference between HbA1c levels in Beta thalassemia trait and normal hemoglobin individuals with normal glucose tolerance?

คำถามรอง :

(ภาษาไทย) 1.ระดับฟรุกโตซามีน (fructosamine) ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ ในชาวไทยที่ความทนต่อกลูโคสปกติมีความแตกต่างกันหรือไม่

2. ความสัมพันธ์ของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับระดับ reticulocyte count ซึ่งบ่งบอกถึงระดับ hemolysis

(ภาษาอังกฤษ) 1. Are there difference between fructosamine levels in Beta thalassemia trait and normal hemoglobin individuals with normal glucose tolerance?

2. What is the correlation between HbA1c and corrected reticulocyte that reflects the severity of hemolysis?

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.3 วัตถุประสงค์งานวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาความแตกต่างของระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติชาวไทยที่ความทนต่อกลูโคสปกติ

วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาความแตกต่างของระดับ fructosamine ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติชาวไทยที่ความทนต่อกลูโคสปกติ

2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับระดับ reticulocyte count ซึ่งบ่งบอกถึงระดับ hemolysis

1.4 สมมติฐาน

1. ระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ามีความแตกต่างกับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่มีความทนต่อกลูโคสปกติโดยคาดว่าระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ามีค่าต่ำกว่าผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ

2. ระดับฟรุกโตซามีนในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าไม่มีความแตกต่างกับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่มีความทนต่อกลูโคสปกติ

3. ระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ามีความสัมพันธ์เชิงลบกับระดับ reticulocyte count

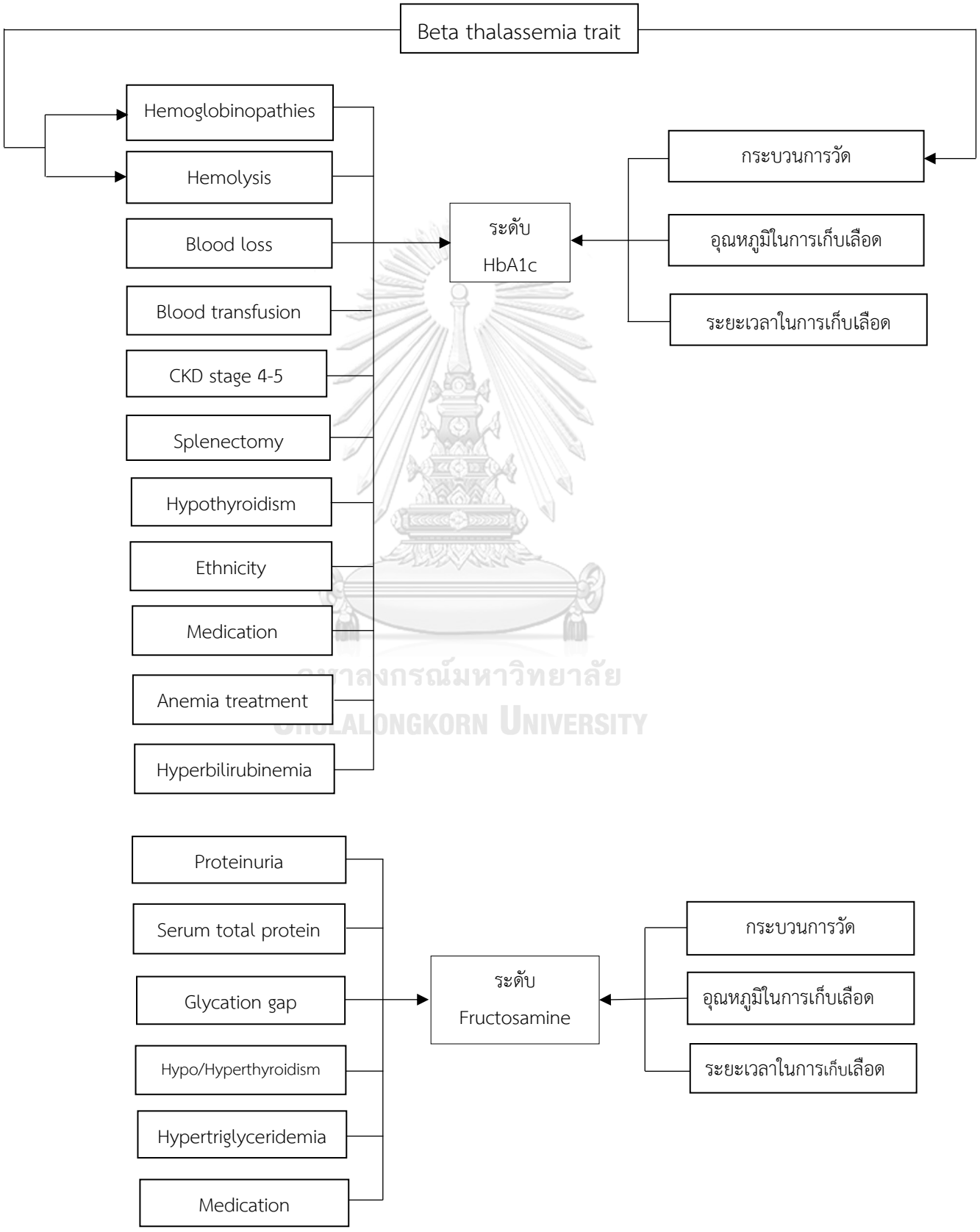
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.5 ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

1.6 กรอบความคิดแนววิจัย

รูปภาพที่ 1 แสดงกรอบความคิดแนววิจัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย

- **ผู้เข้าร่วมวิจัย** หมายถึง พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่มีความทนต่อกลูโคสปกติและให้ความยินยอมเข้าร่วมวิจัย
- **พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า** หมายถึง ผู้ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ β^0/β หรือ β^+/β โดยมีผลตรวจ Hb typing วินิจฉัยเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า โดยการวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าจากการตรวจ Hb typing ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทยใช้เกณฑ์ Hb typing เป็น A2A, A2 ≥ cut off (IEF A2 ≥ 5.5% และ HPLC A2 ≥ 4.0%) ร่วมกับมี MCV < 80 fL และ MCH < 27 pg
- **ผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ** หมายถึง ผู้ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ β/β โดยมีผลตรวจ Hb typing วินิจฉัยฮีโมโกลบินปกติ โดยการวินิจฉัยฮีโมโกลบินปกติจากการตรวจ Hb typing ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย ใช้เกณฑ์ Hb typing เป็น A2A, A2 < cut off (IEF A2 < 5.5%) ร่วมกับมี MCV ≥ 80 fL และ MCH ≥ 27 pg
- **การวินิจฉัยความทนต่อกลูโคสปกติ** ใช้เกณฑ์ของ American Diabetes Association (ADA) ปี ค.ศ.2021 [9]
  normal fasting glucose หมายถึง ระดับน้ำตาลในพลาสมาขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 8 ชั่วโมงมีค่าน้อยกว่า 100 มก./ดล. และ normal glucose tolerance หมายถึง ระดับน้ำตาลในพลาสมาหลังการทดสอบ 75 gm oral glucose tolerance test (75 gm OGTT) ที่ 2 ชั่วโมง มีค่าน้อยกว่า 140 มก./ดล.
- **ผู้ที่มีโรคไตวายเรื้อรังมากกว่าระยะที่ 3** หมายถึงผู้ที่มี eGFR < 30 ml/min per 1.73 m^2 โดยใช้ CKD-EPI creatinine equation [10]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

ทราบความแตกต่างระหว่างระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่ความทนต่อกลูโคสปกติ

ทราบความแตกต่างระหว่างระดับ fructosamine ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่ความทนต่อกลูโคสปกติ

ทราบความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับ corrected reticulocyte count ที่บอกถึงความรุนแรงของภาวะเม็ดเลือดแดงแตก

1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรฐานการแก้ไข

- ผู้เข้าร่วมวิจัยบางรายอาจไม่สะดวกเจาะเลือดหรือไม่สะดวกตรวจ 75 gm OGTT
  วิธีแก้ไข นัดผู้เข้าร่วมวิจัยในวันเดียวกับที่นัดตรวจผู้ป่วยนอกเดิมหรือวันที่ผู้เข้าร่วมวิจัยพาญาติมาตรวจที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย
- ตรวจเลือดพบระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล. หรือระดับน้ำตาลในเลือดที่ 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม มากกว่าหรือเท่ากับ 140 มก./ดล. ทำให้ผู้เข้าร่วมวิจัยถูกนำออกจากงานวิจัย
  วิธีการแก้ไข หากลุ่มตัวอย่างเพิ่ม
- หลอดเลือดของผู้เข้าร่วมวิจัยที่นัดมาวันเดียวกันสลับกัน
  วิธีการแก้ไข ติดสติกเกอร์ระบุตัวตนของผู้เข้าร่วมวิจัยที่หลอดเลือดทุกหลอดให้ชัดเจนและมีการตรวจสอบซ้ำ (double checking) ทุกครั้ง
- การตรวจระดับ HbA1c ในแต่ละครั้งจะมีค่าความคลาดเคลื่อนภายในชุดการทำนั้นๆ การตรวจต่างชุดกัน อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของการเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างผู้เข้าร่วมการศึกษา
  วิธีแก้ไข จัดหาทีมผู้ช่วยในการเจาะเลือด เก็บตัวอย่างเลือด เตรียมตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ และเก็บตัวอย่างเลือดแช่แข็ง โดยแต่ละหลอดเลือด ได้ทำเครื่องหมายจุดเวลาไว้ เมื่อได้จำนวนครบแล้วจึงนำมาตรวจพร้อมกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียเป็นโรคพันธุกรรมทางโลหิตวิทยาที่พบมากที่สุด โดยถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบยีนด้อย (autosomal recessive disorder) ผู้ที่มียีนธาลัสซีเมียจึงมีทั้งผู้ที่เป็นโรคเนื่องจากได้รับพันธุกรรมที่ผิดปกติจากทั้งพ่อและแม่ (homozygote หรือ compound heterozygote) หรือ เป็นพาหะ (heterozygote หรือ trait) เนื่องจากได้รับพันธุกรรมที่ผิดปกติจากพ่อหรือแม่ โดยความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์สายโกลบิน (globin chain) ทำให้เกิดการสังเคราะห์สายโกลบินที่ผิดปกติสายใดสายหนึ่งหรือหลายสายส่งผลให้การสังเคราะห์สายโกลบินที่ปกติลดลงหรือสังเคราะห์ไม่ได้ สายโกลบินเป็นองค์ประกอบของการสร้างฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญในเม็ดเลือดแดง ความผิดปกติดังกล่าวทำให้เม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดและความรุนแรงของธาลัสซีเมีย โดยมีอาการแตกต่างกันตั้งแต่มีโลหิตจางเล็กน้อยจนถึงมีภาวะโลหิตจางมากจนก่อให้เกิดพยาธิสภาพแทบทุกอวัยวะทั่วทั้งร่างกายและรุนแรงมากจนเสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์

ปัจจุบันทั่วโลกมีความชุกของพาหะธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาร้อยละ 20 พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและฮีโมโกลบินผิดปกติอื่นๆร้อยละ 5 ความชุกของพาหะของโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียพบมากในประเทศแถบเมดิเตอร์เนียน (Mediterranean), ภูมิภาคเอเชียตะวันออกกลาง, ประเทศอินเดีย, ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และประเทศจีนตอนใต้ จากรายงานในปัจจุบันประเทศไทยพบความชุกของพาหะธาลัสซีเมียดังแสดงในตารางที่ 1 [11]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 1 แสดงความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในประเทศไทย

ชนิดของพาหะธาลัสซีเมีย	**ความชุก (ร้อยละ)**
α thalassemia (**α**-thal 1 และ **α**-thal 2)	20-30
Hb Constant spring	1-8
β thalassemia	3-9
Hemoglobin E	10-53

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดเบต้า

โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (β-thalassemia) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับยีนของยีน β-globin บนโครโมโซมคู่ที่ 11 โดยมีรายงานการกลายพันธุ์ของยีน β-globin ที่แตกต่างกันมากกว่า 300 แบบ และการกลายพันธุ์ของยีน β-globin มีความหลากหลายแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคทั่วโลก โดยการกลายพันธุ์ที่หลากหลายนี้มีผลต่ออายุขัยของเม็ดเลือดแดงและ hemolysis ทั้งในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่ไม่มีอาการ [8] การกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการขาดหายไปของการสร้าง β-globin chain เรียกว่า β^0 ส่วนการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการลดลงของการสร้าง β-globin chain เรียกว่า β^+ และ β คือการสร้าง β-globin chain ที่ปกติ

ธาลัสซีเมียชนิดเบต้าแบ่งตามความรุนแรงได้ดังนี้

1. ธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดรุนแรง (β-thalassemia major) ได้แก่ homozygous β-thalassemia (β^0/β^0 และ β^0/β^+ บางราย) และ β^0-thalassemia /HbE (β^0/β^E) บางราย มักจะมีโลหิตจางภายในอายุ 2 ปี ม้ามโตมากและมีภาวะพึ่งพาเลือด
2. ธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดปานกลาง (β-thalassemia intermedia)ได้แก่ homozygous β-thalassemia (β^0/β^+ บางราย) และ β^0-thalassemia/HbE (β^0/β^E) บางราย มักมาด้วยภาวะโลหิตจาง ภาวะเหลือง ภาวะตับและม้ามโต
3. ธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดไม่รุนแรง (β-thalassemia minor ได้แก่ homozygous β-thalassemia (β^+/β^+) β^+-thalassemia/HbE (β^+/β^E) มีโลหิตจางและม้ามโตเล็กน้อยโดยไม่มีภาวะพึ่งพาเลือดพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (β-thalassemia trait) มักไม่มีอาการโลหิตจาง แต่จะตรวจพบว่ามีเม็ดเลือดแดงขนาดเล็ก (microcytosis) และเม็ดเลือดแดงติดสีจาง (hypochromia) โดยที่ไม่ได้มีภาวะขาดเหล็ก [11, 12]

จากการศึกษาความชุกของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าในผู้ที่บริจาคเลือดพบว่าความชุกของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าร้อยละ 1 และความชุกของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าร่วมกับพาหะธาลัสซีเมียแอลฟ่าร้อยละ 0.5 [5]

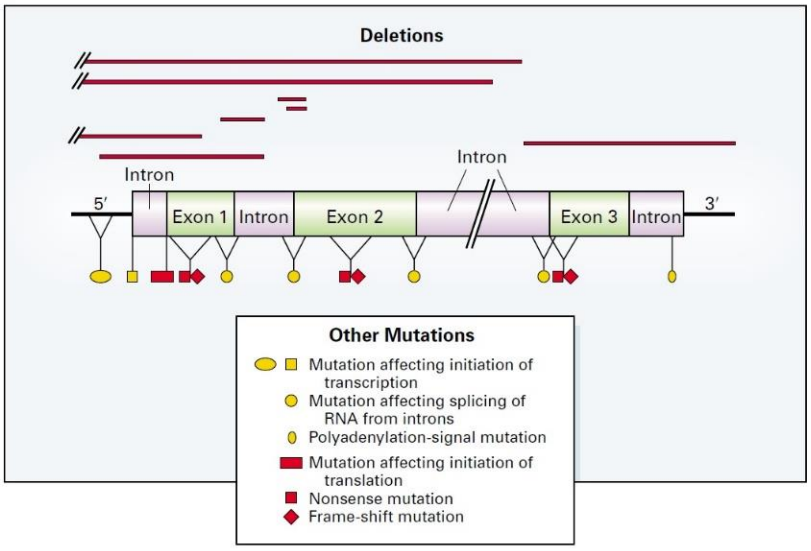
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การกลายพันธุ์ของยีน β-globin [13]

1. การกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการขาดหายไปของการสร้าง β-globin chain (β^0) ได้แก่ การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อการเริ่มต้นของกระบวนการถอดรหัสพันธุกรรม (mutation affecting initiation of transcription) การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อกระบวนการตัดและเชื่อมต่อสาย RNA (mutation affecting splicing of RNA from introns) และการกลายพันธุ์ที่มีผลต่อ polyadenylation-signal

2. การกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการลดลงของการสร้าง β-globin chain (β^+) ได้แก่ การกลายพันธุ์ที่มีผลต่อการเริ่มต้นของกระบวนการแปลรหัสพันธุกรรม (mutation affecting initiation of translation) การกลายพันธุ์จากการเปลี่ยนลำดับเบสเป็นรหัสหยุด (nonsense mutation) และการเปลี่ยนแปลงแบบเลื่อนกรอบรหัส (frameshift mutation)

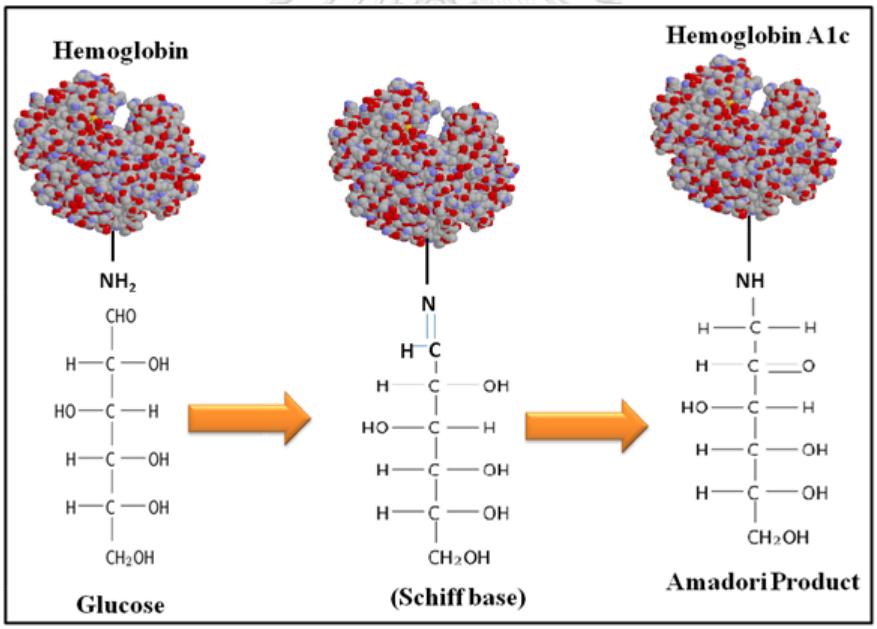
การกลายพันธุ์ของยีน β-globin ดังแสดงในรูปภาพที่ 2 [13]



รูปภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างปกติของ ยีน β-globin ตำแหน่งและชนิดของการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดเบต้า

ฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A1c; HbA1c)

HbA1c เกิดจากกระบวนการไกลเคชั่น (glycation) คือ การที่น้ำตาลกลูโคสในเลือดจับกับหมู่อะมิโนที่ปลายสายเบต้าโกลบินของฮีโมโกลบิน (N-terminal valine of the β-chain) ส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 97 ของฮีโมโกลบินคือฮีโมโกลบินเอ (HbA) แบ่งออกเป็น HbA1a, HbA1b และ HbA1c ซึ่งเป็นฮีโมโกลบินที่มีน้ำตาลกลูโคสจับมาก กระบวนการไกลเคชั่นที่เกิดขึ้นในระยะแรกจะจับแบบหลวม ไม่คงตัว สามารถเปลี่ยนแปลงกลับไปกลับมาได้เกิดเป็น HbA1c ที่ไม่คงตัว (labile HbA1c) ต่อมาจะมีการจัดเรียงโมเลกุลใหม่ที่เรียกว่ากระบวนการ Amadori rearrangement ทำให้ได้ HbA1c ที่เสถียร (stable HbA1c) โดยกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ขึ้นอยู่กับระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด HbA1c ที่เกิดขึ้นสามารถบอกถึงระดับน้ำตาลกลูโคสสะสมโดยเฉลี่ยในช่วง 2-3 เดือน เท่ากับอายุขัยของเม็ดเลือดแดง [2-4] กระบวนการไกลเคชั่นแสดงในรูปภาพที่ 3 [14]



รูปภาพที่ 3 แสดงกระบวนการไกลเคชั่นของฮีโมโกลบินเอวันซี

วิธีการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c [15, 16]

ในปัจจุบันมีการตรวจวัดระดับ HbA1c ได้หลายวิธี แบ่งตามหลักการตรวจวิเคราะห์หลักเป็นสองวิธีได้แก่

1. Separation methods เป็นวิธีที่ใช้หลักการแยกสารประกอบ เนื่องจาก HbA1c และฮีโมโกลบินที่ไม่ผ่านกระบวนการไกลเคชั่น (non-glycated Hb) มีคุณสมบัติทางเคมีและมีประจุไฟฟ้าที่แตกต่างกัน ทำให้การเคลื่อนที่ผ่านสารตัวกลางและการคงตัวในสารตัวกลางมีความแตกต่างกัน สามารถแยก HbA1c ออกจากฮีโมโกลบินที่ไม่ผ่านกระบวนการไกลเคชั่นและตรวจวัดระดับของ HbA1c ได้ โดยคำนวณร้อยละของ HbA1c ได้จาก area of the HbA1c peak/total hemoglobin การตรวจที่ใช้หลักการตรวจวิเคราะห์นี้ได้แก่ ion exchange chromatography (IEC), capillary electrophoresis (CE) และ affinity - chromatography (AC)
2. Chemical methods เป็นวิธีการตรวจวัดระดับ HbA1c โดยอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีแบบจำเพาะต่อหมู่อะมิโนที่ปลายสายเบต้าโกลบินของฮีโมโกลบิน (glycated N-terminal valine of the β-chain) ส่วนระดับฮีโมโกลบินทั้งหมดถูกวัดโดยการวัดระดับความเข้มของแสง (photometry) ระดับ HbA1c และระดับฮีโมโกลบินทั้งหมดนำมาคำนวณได้เป็นร้อยละของ HbA1c การตรวจที่ใช้หลักการนี้ได้แก่ immunochemical assays และ enzymatic assays

Immunoassays (IA): ใช้หลักการใส่แอนติบอดีของ HbA1c (anti-HbA1c antibodies) ในตัวอย่างเลือด แอนติบอดีจับกับ HbA1c เป็น immune complex ส่วนแอนติบอดีที่เหลือจะเกาะกลุ่มกัน จากนั้น turbidimeter จะวัดความขุ่นของ immune complex โดยใช้หลักการวัดระดับความเข้มของแสง ระดับ HbA1c จะนำมาหารด้วยระดับฮีโมโกลบินทั้งหมดที่วัดได้แล้วคำนวณเป็นร้อยละของ HbA1c ตัวอย่างเครื่องที่ใช้หลักการนี้ได้แก่ DCA 2000, Tina-quant II assays, Cobas Integra 400, Synchron CX7 analyzer และ Synchron LX20

Enzymatic assays: ใช้เอนไซม์ protease ตัดสายเบต้าออกเป็นไดเปปไทด์ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ fructosyl peptide oxidase เกิดเป็น hydrogen peroxide ซึ่งนำมาใช้ในการตรวจวัดระดับ HbA1c ตัวอย่างเครื่องที่ใช้หลักการนี้ ได้แก่ ARCHITECT c 8000 Analyzer, HbA1c ENZYM และ Alinity c Hemoglobin A1c Reagent Kit

การตรวจวัด HbA1c โดยวิธีต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2 [16]

ตารางที่ 2 แสดงการตรวจวัด HbA1c โดยวิธีต่าง ๆ

เทคนิคที่ใช้	**หลักการ**	**ข้อดี**	**ข้อเสีย**
Ion-exchange HPLC	แยก Hb ชนิดต่าง ๆ โดยใช้ความแตกต่างของประจุ	สามารถตรวจพบ Hb variants ที่พบบ่อยได้	ถูกรบกวนด้วย Hb variants
Boronate affinity	แยกโดยใช้ความแตกต่างของโครงสร้าง โดย glycated Hb จับกับ resin	การตรวจถูกรบกวนด้วย Hb variants น้อย	ไม่สามารถตรวจ Hb variants ได้
Capillary electrophoresis	แยก Hb ชนิดต่าง ๆ โดยใช้ความแตกต่างของประจุ	สามารถตรวจพบ Hb variants ที่พบบ่อยได้	ถูกรบกวนด้วย Hb variants
Immunoassay	ใช้ แอนติบอดีที่จำเพาะจับกับ HbA1c ที่ glycated N-terminal valine of the β-chain	ไม่ถูกรบกวนด้วย Hb variants ที่พบบ่อย	- ไม่สามารถตรวจ Hb variants ได้ - แอนติบอดีถูกรบกวนด้วย Hb variants ชนิดที่พบน้อยได้
Enzymatic	ใช้เอนไซม์ที่จำเพาะตัดที่ glycated N-terminal valine of the β-chain	ไม่ถูกรบกวนด้วย Hb variants ที่พบบ่อย	ไม่สามารถตรวจ Hb variants ได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

มาตรฐานในการตรวจวัดระดับ HbA1c [17, 18]

ในปัจจุบันการตรวจวัด HbA1c ที่ได้มาตรฐานจะใช้มาตรฐานเดียวกันทั่วโลกโดยต้องผ่านการรับรองจาก National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) สามารถสอบกลับไปยัง The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) reference assay โดยใช้ The IFCC reference system เป็นมาตรฐานในการวัด และรายงานค่า HbA1c เป็น 2 ระบบ ได้แก่ NGSP (%) และ IFCC (mmol/mol) โดยมีความสัมพันธ์กันตาม IFCC-NGSP master equation (DCCT units)

NGSP (%) = [0.09148 x IFCC (mmol/mol)] + 2.152

IFCC (mmol/mol) = 10.93*NGSP (%) – 23.5 mmol/mol

ประโยชน์ของการตรวจวัดระดับ HbA1c ในทางคลินิก [1, 9]

1. การวินิจฉัยโรคเบาหวานและกลุ่มเสี่ยงโรคเบาหวาน

   การตรวจวัดระดับ HbA1c มีประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคเบาหวานและกลุ่มเสี่ยงโรคเบาหวาน

   การวินิจฉัยโรคเบาหวานทำได้โดยวิธีใดวิธีหนึ่งใน 4 วิธี ดังต่อไปนี้

   1) ผู้ที่มีอาการของโรคเบาหวานชัดเจนคือ หิวน้ำบ่อย ปัสสาวะบ่อยและมาก น้ำหนักตัวลดลงโดยที่ไม่มีสาเหตุ ตรวจระดับพลาสมากลูโคสเวลาใดก็ได้ไม่จำเป็นต้องอดอาหาร ถ้ามีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 200 มก./ดล. ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน

   2) การตรวจระดับพลาสมากลูโคสตอนเช้าหลังอดอาหารข้ามคืนมากกว่า 8 ชั่วโมง (FPG) มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 126 มก./ดล

   3) การทนต่อกลูโคส (75 gm Oral Glucose Tolerance Test, OGTT) ถ้าระดับพลาสมากลูโคส 2 ชั่วโมง หลังดื่มน้ำตาลกลูโคส มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 200 มก./ดล. ให้วินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน

   4) การตรวจวัดระดับ HbA1c ถ้ามีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 6.5% ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน

   โดยการยืนยันการวินิจฉัยโรคเบาหวานในผู้ที่ไม่มีอาการจะต้องได้ผลตรวจที่เป็นบวกอย่างน้อยสองวิธีจากการตรวจเลือดในเวลาเดียวกันหรือได้ผลตรวจที่เป็นบวกอย่างน้อยสองครั้ง การแปลผลระดับพลาสมากลูโคสและ HbA1c เพื่อการวินิจฉัยแสดงในตารางที่ 3 [1]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3 แสดงการแปลผลระดับพลาสมากลูโคสและ HbA1c เพื่อการวินิจฉัย

	ระดับน้ำตาลในเลือดปกติ	**ระดับน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มความเสี่ยงการเป็นโรคเบาหวาน**		**ระดับน้ำตาลในเลือดสูงวินิจฉัยโรคเบาหวาน**
		Impaired fasting glucose (IFG)	**Impaired glucose tolerance (IGT)**	
พลาสมากลูโคสขณะอดอาหาร (FPG)	<100 มก./ดล.	100-125 มก./ดล.		≥ 126 มก./ดล.
พลาสมากลูโคสที่ 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม 2 h-PG (OGTT)	<140 มก./ดล.		140–199 มก./ดล.	≥ 200 มก./ดล.
พลาสมากลูโคสที่เวลาใดๆ ในผู้ที่มีอาการชัดเจน				≥ 200 มก./ดล.
ฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1c)	<5.7%	5.7-6.4%		≥ 6.5%

2. การติดตามการรักษาโรคเบาหวานและพยากรณ์โรค

ระดับ HbA1c สามารถใช้ในการติดตามการรักษาโรคเบาหวาน โดยบอกถึงระดับกลูโคสสะสมโดยเฉลี่ยในช่วง 2-3 เดือนที่ผ่านมา นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของระดับ HbA1c ยังมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ macrovascular events, microvascular events และการเพิ่มอัตราตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเพิ่มขึ้นของ HbA1c เพียง 1% ก็จะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิด macrovascular events ร้อยละ 38 เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด microvascular events ร้อยละ 40 และการเพิ่มอัตราตายร้อยละ 38 [19] มีการศึกษาพบว่า การลดลงของระดับ HbA1c 0.2% สามารถลดอัตราตายลงได้ร้อยละ 10 [20]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c [2-4, 21-28]

1. ภาวะโลหิตจางทั้งจากสาเหตุที่มีเม็ดเลือดแดงแตก การเสียเลือดและการได้รับเลือด

   ภาวะโลหิตจางจากสาเหตุต่างๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอายุขัยของเม็ดเลือดแดง โดยภาวะที่มีเม็ดเลือดแดงแตกจะทำให้อายุขัยของเม็ดเลือดแดงสั้นลง เกิดการกระตุ้นไขกระดูกสร้างเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน (reticulocytes) ออกมามากขึ้น เช่นเดียวกันกับการเสียเลือดซึ่งสามารถกระตุ้นกลไกดังกล่าว ส่งผลให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้มีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

2. ภาวะโลหิตจางจากภาวะขาดเหล็ก (iron deficiency)

   ภาวะขาดเหล็กทำให้ชะลออัตราการสร้างเม็ดเลือดแดง มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงตัวแก่ (mature red blood cells) อยู่ในกระแสเลือดนานขึ้น ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าสูงกว่าความเป็นจริง ในขณะเดียวกันการได้รับธาตุเหล็กเสริมก็จะทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

3. ภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติ

   ความผิดปกติของฮีโมโกลบินแบบต่างๆ เช่น HbS, HbC และ HbF ทำให้ ทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าสูงหรือต่ำกว่าความเป็นจริงขึ้นอยู่กับชนิดของฮีโมโกลบินและวิธีการตรวจวัด ส่วน HbD และ HbE มักจะไม่รบกวนการตรวจแบบ immunoassay methods เนื่องจากเป็นฮีโมโกลบินที่ตำแหน่งไกลจาก N-terminal valine of the β-chain [29] นอกจากนี้ยังพบว่าการมีฮีโมโกลบินผิดปกติยังทำให้อายุขัยของเม็ดเลือดแดงสั้นลงด้วย [8]

4. โรคไตวายเรื้อรัง

   ภาวะนี้รบกวนการตรวจวัดระดับ HbA1c ได้หลายกลไกขึ้นกับความรุนแรงของภาวะไตวายเรื้อรัง โดยภาวะไตวายเรื้อรังระยะที่ 4 และ 5 มีผลต่อระดับ HbA1c อย่างมีความสำคัญทางคลินิก ซึ่งอาจเกิดจากการมีภาวะโลหิตจางจากการขาด erythropoietin เม็ดเลือดแดงอายุสั้นลง หรือการขาดเหล็ก นอกจากนี้ภาวะยูรีเมีย (uremia) และฟอกเลือด (hemodialysis) ยังมีผลให้เกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตกง่าย

5. ภาวะไม่มีม้าม (Asplenism) ทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าสูงกว่าความเป็นจริง เนื่องจากการลดลงของการทำลายเม็ดเลือดแดง

6. ภาวะไทรอยด์ต่ำ (Hypothyroidism) ทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าสูงกว่าความเป็นจริง และระดับ HbA1c จะต่ำลงหลังการรักษาภาวะไทรอยด์ต่ำ

7. อายุ พบว่าในผู้ใหญ่ระดับ HbA1c เพิ่มขึ้นตามอายุจากกระบวนการไกลเคชั่นที่เพิ่มขึ้น แต่ในผู้ที่มีอายุมากกว่า 75 ปี พบว่ามีระดับ HbA1c ที่ต่ำลงจากปริมาณเม็ดเลือดแดงที่ลดลง

8. ยาหรือสารที่ได้รับ เกิดจากกลไกดังนี้

- ยาที่มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงแตกและทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง ได้แก่ dapsone, ribavirin, trimethoprim-sulfamethoxazole และ nucleoside analogue antiretroviral agents
- ยาที่มีผลรบกวนกระบวนการไกลเคชั่นทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง ได้แก่ vitamin C และ vitamin E
- ยาที่มีผลทำให้ระดับฮีโมโกลบินเอฟเพิ่มขึ้นทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะค่ามีต่ำกว่าความเป็นจริง ได้แก่ hydroxyurea
- ยาที่มีผลรบกวนกระบวนการตรวจระดับ HbA1c โดยวิธีต่างๆ เช่น การได้ยา aspirin ขนาดสูงเป็นเวลานาน ทำให้ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้จะมีต่ำกว่าความเป็นจริง

9. เชื้อชาติ

จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า เชื้อชาติ African American, Hispanic และ Asian มีระดับ HbA1c โดยเฉลี่ยสูงกว่าชาวคอเคเชียน (Caucasian)

ผลกระทบของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าต่อการตรวจวัด HbA1c

จากการศึกษาของ D.Tsilingirisa และคณะ [30] ในประเทศกรีซ ทำการศึกษาเปรียบเทียบการวัดระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติในชาวคอเคเชียนที่มีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดขณะอดอาหารน้อยกว่า 100 มก./ดล. โดยใช้เครื่อง Cobas Integra 800 Analyzer (Turbidimetric Inhibition Immunoassay; TINIA) พบว่าการวัดระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าให้ค่าที่ไม่แตกต่างกับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลกระทบของธาลัสซีเมียชนิดเบต้าต่อการตรวจวัด HbA1c แบบต่างๆ

- **Ion exchange chromatography (IEC)**

Xueqin Zhang และคณะ [22] ทำการศึกษาระดับ HbA1c ในหญิงที่มีเบาหวานขณะตั้งครรภ์ที่ได้รับการวินิจฉัยช่วงอายุครรภ์ 24-28 สัปดาห์จากการทำ 75 gm OGTT (FPG > 5.1 mmol/L; 1 h > 10.0 mmol/L; และ 2 h > 8.50 mmol/L) พบว่าหญิงที่มีเบาหวานขณะตั้งครรภ์ที่เป็นธาลัสซีเมียชนิดเบต้าไม่รุนแรงและไม่ได้รับเลือดมีระดับ HbA1c (5.23 ± 0.49%) ที่ตรวจเมื่ออายุครรภ์ 36-38 สัปดาห์ ต่ำกว่าหญิงที่มีเบาหวานขณะตั้งครรภ์ที่มีฮีโมโกลบินปกติ (5.42 ± 0.43%) ($P<0.05$) จากการตรวจวัดด้วยวิธี HPLC ด้วยเครื่อง Bio-Rad

Ling Ji และคณะ [31] ทำการศึกษาการวัดระดับ HbA1c ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่มีระดับกลูโคสในเลือดปกติ (ไม่ได้บอกเกณฑ์วินิจฉัยกลูโคสในเลือดปกติ) จำนวน 16 ราย โดยวิธีต่างๆ ได้แก่ ion-exchange HPLC (Variant II Turbo system, Arkray HA-8160), Boronate affinity HPLC (Trinity Biotech Ultra) และ CE (Capillarys 2 Flex Piercing, Sebia) พบว่าการวัดระดับ HbA1c ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าด้วยเครื่อง Variant II Turbo system ให้ผล HbA1c อยู่ในเกณฑ์วินิจฉัยโรคเบาหวาน 3 ราย ภาวะก่อนเบาหวาน 12 ราย และให้ผลปกติ 1 ราย แตกต่างต่างจากตรวจวัดด้วยเครื่อง Arkray HA-8160, Trinity Biotech Ultra และ Capillarys 2 Flex Piercing, Sebia ซึ่งให้ผลตรงกันทั้งสามวิธีคือ ให้ผล HbA1c อยู่ในเกณฑ์วินิจฉัยภาวะก่อนเบาหวาน 2 ราย และให้ผลปกติ 14 ราย

D. Aslan และคณะ [32] ทำการศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่ไม่รุนแรงที่ไม่ได้เป็นเบาหวานและตรวจพบความทนต่อกลูโคสปกติ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมสุขภาพดี โดยการวัดระดับ HbA1c ด้วยเครื่อง HPLC (AGILNT HP 1100, Germany) พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่ไม่รุนแรงตรวจพบระดับ HbA1c ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม โดยแสดงผลเป็นค่ามัธยฐาน HbA1c 4.8% (3.4-5.7%) และ 5.4% (4.6-6.2)

Hesna Ural Kayalik และคณะ [33] พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากลุ่มที่เป็นโรคเบาหวานและกลุ่มมีความทนต่อกลูโคสผิดปกติ การตรวจวัดระดับ HbA1c ด้วยวิธี HPLC (Chromosystem, Agilent 1100 series) ทั้งสองกลุ่มให้ผลที่ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นผู้ที่มีระดับน้ำตาลขณะอดอาหารปกติและมีฮีโมโกลบินปกติ ในขณะที่ระดับฟรุกโตซามีนและระดับกลูโคสขณะอดอาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้ามีระดับ HbA2 มากกว่า 3.5% ทำให้เกิดการสร้าง β-globin ที่ผิดปกติมีผลต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c ทำให้ค่าที่ตรวจวัดได้ต่ำกว่าความเป็นจริง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- **Immunoassays**

Suad M. Al-Fadhli และคณะ [34] ศึกษาการวัดระดับ HbA1c ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดไม่รุนแรงที่มีประวัติไม่ได้เป็นโรคเบาหวานและผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่มีประวัติเป็นโรคเบาหวานด้วยเครื่อง Synchron LX20 พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดไม่รุนแรงที่มีประวัติไม่ได้เป็นโรคเบาหวานมีระดับ HbA1c อยู่ในช่วง 6-15% ซึ่งใกล้เคียงกับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่มีประวัติเป็นโรคเบาหวานที่มีระดับ HbA1c อยู่ในช่วง 6-15%

Christopher Polage และคณะ [35] ศึกษาการวัดระดับ HbA1c ในผู้ที่ไม่ได้เป็นโรคเบาหวานโดยใช้เกณฑ์ fructosamine ≤ 285 μmol/L โดยวิธีต่างๆได้แก่ Ion exchange chromatography (The A1c 2.2+), Boronate affinity chromatography (CLC 330), Immunoassay methods (DCA 2000, Tina-quant II assays, Synchron CX7 analyzer และ Synchron LX20) พบว่าในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่ไม่รุนแรง (HbA2 ≥ 3.5% และ HbA2 ≤ 7%, HbF < 5% และ MCV ≤ 70 fL) มีค่า HbA1c สูงกว่าผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ (HbA2 < 3.5%, HbF < 5% และ MCV ≥ 80 fL) จากการตรวจวัดโดยวิธี Synchron CX7 analyze มีค่าเฉลี่ยของ HbA1c สูงกว่า 0.6 % และ Synchron LX20 มีค่าเฉลี่ยของ HbA1c สูงกว่า 0.3 %

ผลกระทบของการได้รับเลือดต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c

Mehrnoush Kosaryan และคณะ [36] ทำการศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียรุนแรงชนิดพึ่งพาเลือดและเป็นโรคเบาหวาน โดยการตรวจวัดระดับ HbA1c โดยวิธี immunoturbidimetry ด้วยเครื่อง Cobas Integra 400 พบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับฟรุกโตซามีน (fructosamine) และระดับกลูโคสในผู้ป่วยกลุ่มนี้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอธิบายได้จากการได้รับเลือดเป็นประจำ ทำให้มีระดับ HbF ลดลง ทำให้ค่า HbA1c ที่วัดได้ไม่ต่ำ โดยหากมี HbF มากกว่า 10% จะรบกวนการตรวจวัดระดับ HbA1c โดยวิธี immunoturbidimetry และ HPLC ทำให้ได้ค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

Sunil Gomber และคณะ [37] ทำการศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดรุนแรงชนิดพึ่งพาเลือด พบว่ามีระดับ HbA1c สูงกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งมีฮีโมโกลบินปกติ โดยวัดระดับ HbA1c ด้วยวิธี ion exchange high performance liquid chromatography แต่ระดับฟรุกโตซามีนไม่แตกต่างกันโดยในผู้ป่วยที่ได้รับเลือดเป็นประจำน่าจะได้รับเลือดใน dextrose solution ที่มี HbA1c สูง ทำให้ตรวจพบระดับ HbA1c สูงกว่าแต่ไม่มีผลต่อระดับฟรุกโตซามีน นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดรุนแรงชนิดพึ่งพาเลือดมีความทนต่อกลูโคสที่ผิดปกติ (abnormal glucose tolerance) มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งภาวะสมดุลของกลูโคสที่ผิดปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมียเกิดจากการที่มี islet cell deficiency และมีภาวะดื้อต่ออินซูลินจากการทำงานของตับที่ผิดปกติ

Mona Hafez และคณะ [38] พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าชนิดรุนแรงที่พึ่งพาเลือด มีระดับความทนต่อกลูโคสที่ผิดปกติเมื่อเทียบกับคนปกติในกลุ่มอายุเดียวกัน โดยมีความสัมพันธ์กับปริมาณเลือดที่ได้รับต่อปี

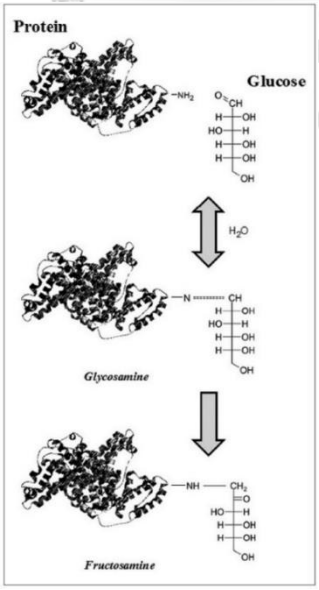
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ฟรุกโตซามีน (Fructosamine)

เกิดจากกระบวนการไกลเคชั่นแสดงในรูปภาพที่ 4 [39] โดยน้ำตาลกลูโคสในเลือดจับกับหมู่อะมิโน lysine และ arginine ที่ปลายสายของโปรตีนเกิดเป็น reversible Schiff base product เรียกว่า aldimine intermediate และเกิดการจัดเรียงโมเลกุลใหม่ที่เรียกว่ากระบวนการ Amadori rearrangement เกิดเป็น fructosamine ที่มีความเสถียร กระบวนการไกลเคชั่นนี้ขึ้นอยู่กับระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด fructosamine ที่เกิดขึ้นสามารถบอกถึงระดับน้ำตาลกลูโคสโดยเฉลี่ยในช่วง 14 วันโดยขึ้นกับค่าครึ่งชีวิตเฉลี่ยของโปรตีนในเลือด (total serum protein) ประมาณ 14-21 วัน โดยจากการศึกษาพบว่าระดับ fructosamine มีความสัมพันธ์กับระดับ HbA1c และระดับน้ำตาลในเลือด [40] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่า fructosamine ที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับการเกิด microvascular complication ในผู้ป่วยเบาหวาน และเพิ่มการเสียชีวิตจากทุกสาเหตุ (all-cause mortality) [41]

การตรวจวัด fructosamine [39]

การตรวจวัด fructosamine ในปัจจุบันวิธีการตรวจวัดที่มีความแม่นยำและใช้มากที่สุดคือการตรวจวัดด้วยวิธี colorimetric based assays โดยหลักการคือ fructosamine ซึ่งเป็น ketoamine มีคุณสมบัติในการเปลี่ยน nitroblue tetrazolium (NBT) ให้เป็น formazan ในตัวกลางที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง ซึ่งอัตราการเกิด formazan จะถูกวัดโดย spectrophotometric technique และแปรผันตรงกับปริมาณ fructosamine



รูปภาพที่ 4 แสดงกระบวนการไกลเคชั่นของ fructosamine

ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับ fructosamine [39, 42]

ภาวะที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนในเลือดจะมีผลต่อการตรวจวัดระดับ fructosamine โดยเฉพาะอย่างยิ่งอัลบูมิน (albumin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบมากที่สุดในเลือด คือ ประมาณร้อยละ 60

ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับ fructosamine ได้แก่

- ภาวะอัลบูมินในเลือดต่ำ (Hypoalbuminemia) จากภาวะตับวาย (liver failure), การเสียโปรตีนทางลำไส้ และการเสียโปรตีนทางไต
- ภาวะที่มีความผิดปกติของระดับโปรตีนในเลือด เช่น paraproteinemia และ gammopathies
- ภาวะขาดสารอาหาร (Malnutrition)
- ภาวะตับแข็ง (Cirrhosis)
- ภาวะฮอร์โมนไทรอยด์ต่ำ (Hypothyroidism) และภาวะฮอร์โมนไทรอยด์สูง (hyperthyroidism)
- ภาวะไตรกลีเซอร์ไรด์สูง (Hypertriglyceridemia)
- ภาวะกรดยูริกในเลือดสูง (Hyperuricemia)
- การตั้งครรภ์
- ยาที่มีผลรบกวนการตรวจวัด ได้แก่ N-Acetyl-L-Cysteine, hydroxyurea, 2,5 hydroxybenzoic acid, methyldopa, levodopa และ L-glutathione

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Glycation Gap Hypothesis

The glycation gap หมายถึง ความแตกต่างระหว่างระดับ HbA1c จากการตรวจวัดและระดับ HbA1c ที่ได้จากการคาดคะเนจากระดับ fructosamine โดยกระบวนการไกลเคชั่นของ HbA1c เกิดภายในเม็ดเลือดแดงซึ่งมีฮีโมโกลบิน ส่วนกระบวนการไกลเคชั่นของ fructosamine เกิดภายนอกเม็ดเลือดแดง

- Glycation gap ที่เป็นลบ หมายถึงการที่ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้มีค่าต่ำกว่าระดับ HbA1c ที่ได้จากการคาดคะเนจากระดับ fructosamine
- Glycation gap ที่เป็นบวก หมายถึงการที่ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้มีค่าสูงกว่าระดับ HbA1c ที่ได้จากการคาดคะเน

- Glycation gap ที่เป็นศูนย์ หมายถึงการที่ระดับ HbA1c ที่ตรวจวัดได้มีเท่ากับระดับ HbA1c ที่ได้จากการคาดคะเน

มีข้อมูลจากการศึกษาบางการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า glycation gap ที่เป็นบวก สัมพันธ์กับการเสื่อมลงของไต (progressive nephropathy) และ เพิ่มการเกิดเบาหวานเข้าจอประสาทตา (diabetic retinopathy) อย่างไรก็ตามยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกที่ความแตกต่างของกระบวนการไกลเคชั่นทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานที่แตกต่างกัน การเปรียบเทียบระดับพลาสมากลูโคส fructosamine และ HbA1c ดังแสดงในตารางที่ 4 [3]

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบระดับพลาสมากลูโคส fructosamine และ HbA1c

Mean glucose (mg/dL)	Fructosamine (μmol/L)	HbA1c (%)
90	212.5	5.0
120	250	6.0
150	287.5	7.0
180	325	8.0
210	362.5	9.0
240	400	10.0
270	437.5	11.0
300	475	12.0
330	512.5	13.0
360	550	14.0
390	587.5	15.0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c โดยเฉพาะอย่างยิ่งความผิดปกติที่พบในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า ได้แก่ ภาวะฮีโมโกลบิน อายุขัยของเม็ดเลือดแดง และ hemolysis โดยมีรายงานการกลายพันธุ์ของยีน β-globin ที่หลากหลายแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคทั่วโลก ซึ่งความหลากหลายนี้ส่งผลต่ออายุขัยของเม็ดเลือดแดงที่แตกต่างกันและ hemolysis ที่มีความรุนแรงแตกต่างกัน และน่าจะมีผลต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c ที่แตกต่างกันด้วย

โดยจากการศึกษาของ D.Tsilingirisa และคณะ [30] ในประเทศกรีซ ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบการวัดระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ ที่มีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดขณะอดอาหารน้อยกว่า 100 มก./ดล. โดยใช้เทคนิค Immunoassay พบว่าการวัดระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าให้ค่าที่ไม่แตกต่างกับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ อย่างไรก็ตามการใช้ระดับ HbA1c ในการติดตามการรักษาผู้ป่วยที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ามักมีค่าที่ต่ำกว่าความเป็นจริง จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ในการศึกษาความแตกต่างของระดับ HbA1c ในผู้ป่วยที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติชาวไทยที่มีความทนต่อกลูโคสปกติ โดยการวินิจฉัยจะใช้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดขณะอดอาหารและการทำ 75 gm oral glucose tolerance test ด้วย โดยตั้งสมมติฐานว่าระดับ HbA1c ในชาวไทยที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าน่าจะมีค่าต่ำกว่าผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ และจะทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับระดับ reticulocyte count ซึ่งแสดงถึงระดับความรุนแรงของ hemolysis

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้ เป็นแบบชนิด Cross-sectional study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากร (Population) และตัวอย่าง (Sample)

ประชากรเป้าหมาย (Target population)

1. ผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและความทนต่อกลูโคสปกติชาวไทย

2. ผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติและความทนต่อกลูโคสปกติชาวไทยที่มีอายุ เพศ และดัชนีมวลกาย (BMI) ใกล้เคียงกัน

ประชากรตัวอย่าง (Sample population)

1. ผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า คัดเลือกประชากรจากผู้ที่มีผล Hb typing วินิจฉัยเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าหรืออาสาสมัครที่สนใจเข้าร่วมโครงการวิจัยที่มีผล Hb typing เข้าเกณฑ์วินิจฉัยเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า

2. ผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ คัดเลือกประชากรจากผู้ที่มีผล Hb typing วินิจฉัยฮีโมโกลบินปกติหรืออาสาสมัครที่สนใจเข้าร่วมโครงการวิจัยที่ตรวจ Hb typing เข้าเกณฑ์วินิจฉัยฮีโมโกลบินปกติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ที่มีอายุมากกว่า 18 ปี และไม่เกิน 65 ปี

2. ผู้ที่มีผล Hb typing

    1) Normal Hb typing

    2) Beta thalassemia trait

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล.
2. ผู้ที่มีระดับน้ำตาลในเลือดที่ 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม มากกว่าหรือเท่ากับ 140 มก./ดล.

3. ผู้ที่มีโรคเม็ดเลือดแดงแตกจากเหตุอื่นๆ
4. ผู้ที่ได้รับเลือดหรือบริจาคเลือดในช่วง 3 เดือนก่อนทำการศึกษา
5. ผู้ที่เข้ารับการผ่าตัดและเสียเลือดจากการผ่าตัดในช่วง 3 เดือนก่อนทำการศึกษา
6. ผู้ที่มีภาวะโลหิตจางจากสาเหตุอื่น
7. ผู้ที่มีโรคไตวายเรื้อรังมากกว่าระยะที่ 3
8. ผู้ที่อยู่ระหว่างการรักษาโรคเรื้อรังอื่นๆ ได้แก่ โรคตับ โรคหัวใจ โรคปอด โรคมะเร็ง และโรคเอดส์
9. ผู้ที่มีอาการของภาวะไทรอยด์สูงและไทรอยด์ต่ำ
10. ผู้ที่ตั้งครรภ์
11. ผู้ที่ตรวจร่างกายพบว่ามีภาวะเหลือง (Jaundice)
12. ผู้ป่วยที่ถูกตัดม้าม
13. มีประวัติได้รับยาหรือสารที่มีผลต่อระดับ HbA1c ได้แก่ iron supplement , erythropoietin stimulating agents, dapsone, ribavirin, trimethoprim-sulfamethoxazole , nucleoside analogue antiretroviral agents, vitamin C, vitamin E , steroid และ aspirin high dose ภายในระยะเวลา 3 เดือน
14. มีประวัติได้รับยาหรือสารที่มีผลต่อระดับ fructosamine ได้แก่ N-Acetyl-L-Cysteine, hydroxyurea, 2,5 hydroxybenzoic acid, methyldopa, levodopa และ L-glutathione ภายในระยะเวลา 3 เดือน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.3 ขนาดตัวอย่าง

คำนวณขนาดตัวอย่าง comparing two independent means โดยใช้โปรแกรม STATA

- โดยกำหนดค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ย HbA1c ที่มีความสำคัญทางคลินิก = 0.3
- กำหนดค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 0.5
- ณ ระดับนัยสำคัญ 0.05
- กำหนดค่ากำลังของการทดสอบ (Power of the test) 90%
- คำนวณ n = 120
- คิด screen failure rate ร้อยละ 20 จึงกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างในการศึกษานี้ จำนวน 150 ราย แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 75 ราย

3.4 ขั้นตอนการทำวิจัย

1. คัดเลือกผู้ที่ทราบผล Hb typing วินิจฉัยเป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า, ฮีโมโกลบินปกติ และอาสาสมัครที่ยังไม่ทราบผล Hb typing

2. ผู้ทำการวิจัยให้รายละเอียดเกี่ยวกับขั้นตอนและวิธีการทำวิจัย หากผู้ป่วยยินยอม ให้ลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (informed consent)

3. ซักประวัติ และทบทวนเวชระเบียนของผู้ป่วยหลังจากได้รับความยินยอม รวบรวมข้อมูลต่างๆ ลงในแบบบันทึกข้อมูล สิ่งที่จะทบทวนจากเวชระเบียน ได้แก่ เพศ อายุ โรคประจำตัวอื่น ยาประจำที่ใช้ ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4. คัดเลือกตามเกณฑ์การคัดเข้าการวิจัย และเกณฑ์การคัดออก

5. นัดผู้เข้าร่วมวิจัยวันละ 5-10 ราย

6. การเตรียมตัวของผู้เข้าร่วมวิจัยก่อนการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

- งดอาหารเป็นเวลา 8 ชั่วโมง (สามารถรับประทานน้ำเปล่าได้)
- ผู้ถูกทดสอบทำกิจกรรมประจำวันและกินอาหารตามปกติ ซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าวันละ 150 กรัม เป็นเวลาอย่างน้อย 3 วันก่อนการทดสอบ

7. การเก็บข้อมูลใช้เวลา 1-2 วันที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม อาคารภูมิสิริมังคลานุสรณ์ ชั้น 4 โซนซี ดังนี้

ช่วงเวลาทำการทดสอบ 7.00-12.00 น.

1) ซักประวัติ ได้แก่ เพศ อายุ เชื้อชาติ ประจำเดือนครั้งล่าสุด ประวัติการรับเลือด การเสียเลือดและการบริจาคเลือด ประวัติธาลัสซีเมียในครอบครัว ประวัติโรคเบาหวานในครอบครัว โรคประจำตัว ยาประจำที่ใช้

2) ตรวจร่างกาย ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง วัดความดันและชีพจร

3) เก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำครั้งแรกเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

• เก็บตัวอย่างเลือดครั้งแรกในช่วงเวลา 8.00-10.00 น. ปริมาตรทั้งหมด 15 มล. (ในผู้ที่ทราบผล Hb typing) และ18 มล.(ในผู้ที่ไม่ทราบผล Hb typing) ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ complete blood count, Hb typing, reticulocyte count, fasting plasma glucose, HbA1c, fructosamine, albumin, globulin และ creatinine โดยผู้ที่ทราบผล Hb typing แล้วใช้ผล Hb typing เดิม

• Fasting plasma glucose, complete blood count, Hb typing, reticulocyte count, albumin, globulin และ creatinine ให้ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการในวันที่มาตรวจ ดังนี้

- Fasting plasma glucose เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือดชนิด NaF ครั้งละ 3 มล.

- Complete blood count และ reticulocyte count เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือดชนิด EDTA 3 มล.

- Albumin, globulin และ creatinine เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือดชนิด heparin 3 มล.

- Fructosamine เก็บตัวอย่างเลือด ในหลอดเก็บเลือดชนิด heparin 3 มล.

- Hb typing เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือดชนิด EDTA 3 มล.

• HbA1c ให้เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อส่งตรวจพร้อมกันเพื่อลดอคติจากการวัด (measurement bias) โดยเก็บเป็น whole blood ในหลอดเก็บเลือดชนิด EDTA 3 มล.ที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4) หลังจากเก็บตัวอย่างเลือดครั้งแรกให้ผู้เข้าร่วมวิจัยดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม ในน้ำ 250-300 มล. ดื่มให้หมดในเวลา 5 นาที หลังจากนั้น 2 ชั่วโมงจะเก็บตัวอย่างเลือดครั้งที่สอง ปริมาตร 3 มล. เพื่อส่งตรวจ plasma glucose ในหลอดเก็บเลือดชนิด NaF

5) หลังจากดื่มสารละลายกลูโคสและเก็บตัวอย่างเลือดครั้งที่สองให้ผู้เข้าร่วมวิจัยรับประทานอาหารได้

8. ขั้นตอนการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการแบ่งเป็นสองกลุ่มดังนี้

1) ผู้ที่ทราบผล Hb typing วินิจฉัยเป็น normal Hb typing และ Beta thalassemia trait ใช้ผล Hb typing เดิมและส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการดังนี้

• ส่งตรวจ fasting plasma glucose, complete blood count, reticulocyte และ ระดับ plasma glucose ที่ 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม

• หากผล fasting plasma glucose มากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล. หรือระดับ plasma glucose ที่ 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม มากกว่าหรือเท่ากับ 140 มก./ดล. คัดออกจากการศึกษา

• ส่งตรวจ albumin, globulin, creatinine และ fructosamine ในผู้ที่ถูกคัดเข้าการศึกษา

• ส่งตรวจ HbA1c ในผู้ที่ถูกคัดเข้าการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อส่งตรวจพร้อมกันเพื่อลด measurement bias

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2) ผู้เข้าร่วมวิจัยที่ยังไม่ทราบผล Hb typing ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการดังนี้

2.1 ผู้ที่สะดวกมาเก็บตัวอย่างเลือดสองครั้ง นัดผู้เข้าร่วมวิจัยเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดส่ง Hb typing ก่อน หากผลการตรวจเข้าได้กับ normal Hb typing หรือ Beta thalassemia trait จึงนัดผู้เข้าร่วมวิจัยเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดส่งขั้นตอนเดียวกับผู้ที่ทราบผล Hb typing

2.2 ผู้ที่สะดวกมาเก็บตัวอย่างเลือดครั้งเดียว นัดผู้เข้าร่วมวิจัยเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดพร้อมกันและส่งตรวจดังนี้

• ส่งตรวจ fasting plasma glucose, complete blood count, reticulocyte count และ ระดับ plasma glucose ที่ 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม

• หากผล fasting plasma glucose มากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล. หรือระดับ plasma glucose ที่ 2 ชั่วโมงหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม มากกว่าหรือเท่ากับ 140 มก./ดล. คัดออกจากการศึกษา

• ส่งตรวจ Hb typing, albumin, globulin, creatinine และ fructosamine ในผู้ที่ถูกคัดเข้าการศึกษา

• ผู้ที่มีผล Hb typing เป็น normal Hb typing และ Beta thalassemia trait จะถูกคัดเข้าการศึกษาและส่งตรวจ HbA1c โดยเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อส่งตรวจพร้อมกันเพื่อลด measurement bias

3.5 การรวบรวมข้อมูล

1) ซักประวัติและเก็บข้อมูลตามแบบบันทึกข้อมูล

2) ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ ของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกรายจะถูกเก็บข้อมูลลงในระบบคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

3.6 ข้อจำกัดในการวิจัย

การตรวจวัดระดับ HbA1c วัดโดย Enzymatic method ด้วยเครื่อง Alinity c Hemoglobin A1c Reagent Kit ยี่ห้อ Abbott GmbH & Co. KG, Germany สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับโรงพยาบาลอื่นๆ ที่ใช้เครื่องแบบเดียวกัน แต่ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับเครื่องแบบอื่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การตรวจวัดระดับ fructosamine วัดโดย NBT/Formazan colorimetric method ด้วยเครื่อง Alinity c Fructosamine Reagent Kit ยี่ห้อ Abbott GmbH & Co. KG, Germany สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับโรงพยาบาลอื่นๆ ที่ใช้เครื่องแบบเดียวกัน แต่ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับเครื่องแบบอื่น

3.7 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ จะไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด สำหรับการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ จะใช้รหัสแทนตัวผู้ป่วยแต่ละราย ในการตีพิมพ์ผลงานการวิจัยหรือนำเสนอผลงานวิชาการจะเสนอในภาพรวมของผลการวิจัย จะไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด หากมีความจำเป็นต้องแสดงข้อมูลที่เป็นตัวตนของผู้ป่วย จะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ป่วยเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ เพศ เชื้อชาติ ประวัติธาลัสซีเมียในครอบครัว ประวัติโรคเบาหวานในครอบครัว โรคประจำตัว ยาประจำที่ใช้ ประวัติสูบบุหรี่ หรือดื่มสุรา โดยการแจงแจกความถี่เป็นข้อมูลดิบ และร้อยละ

ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ อายุ (ปี), ดัชนีมวลกาย ; BMI (kg/m2), HbA1c (%), fasting plasma glucose (mg/dL), plasma glucose หลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม (mg/dL), fructosamine (μmol/L), albumin (g/dL), globulin (mg/dL), creatinine (mg/dL), creatinine clearance; eGFR (mL/min/1.73m2), ฮีโมโกลบิน ; hemoglobin concentration (g/L), ค่าระดับความเข้มข้นเลือด ; hematocrit (%), ค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง ; RBC count ($x10^6$ /μL), ค่าการกระจายตัวของขนาดเม็ดเลือดแดง ; RDW (%), ค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดง ; MCV (fL), ค่าเฉลี่ยระดับฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ; MCH (pg), ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ; MCHC (g/dL), ระดับฮีโมโกลบินชนิดเอ ; HbA (% of total Hb), ระดับฮีโมโกลบินชนิดเอทู ; HbA2 (% of total Hb), ระดับฮีโมโกลบินชนิดเอฟ ; HbF (% of total Hb), reticulocyte count (%), corrected reticulocyte count (%)

ข้อมูลที่มีการแจกแจงปกติจะแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และ standard deviation (SD)

ข้อมูลต่อเนื่องที่ไม่ได้กระจายตัวแบบการแจกแจงปกติจะแสดงผลเป็นค่ามัธยฐาน (median) และ ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์ (interquartile range, IQR)

ประเมินความแตกต่างของข้อมูลระหว่างกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติที่มีความทนต่อกลูโคสปกติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ

- เปรียบเทียบข้อมูลที่มีการแจกแจงปกติโดยใช้สถิติ Independent T Test

- เปรียบเทียบข้อมูลต่อเนื่องที่ไม่ได้กระจายตัวแบบการแจกแจงปกติโดยใช้สถิติ Wilcoxon rank sum test

- เปรียบเทียบข้อมูลของคนเดียวกันโดยใช้สถิติ Paired T Test

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ

ใช้สถิติ Chi-Square Test หรือ Fisher's exact test

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงความสัมพันธ์

วิเคราะห์ตัวแปรที่มีผลต่อระดับฮีโมโกลบินเอวันซีโดยปรับอิทธิพลของตัวแปร ได้แก่ อายุ เพศ BMI ประวัติโรคเบาหวานในครอบครัว และระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของ HbA1c ที่ปรับแล้ว (adjusted HbA1c) โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ (multivariable linear regression analysis)

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า กับระดับ corrected reticulocyte count โดยใช้การวิเคราะห์ Pearson correlation

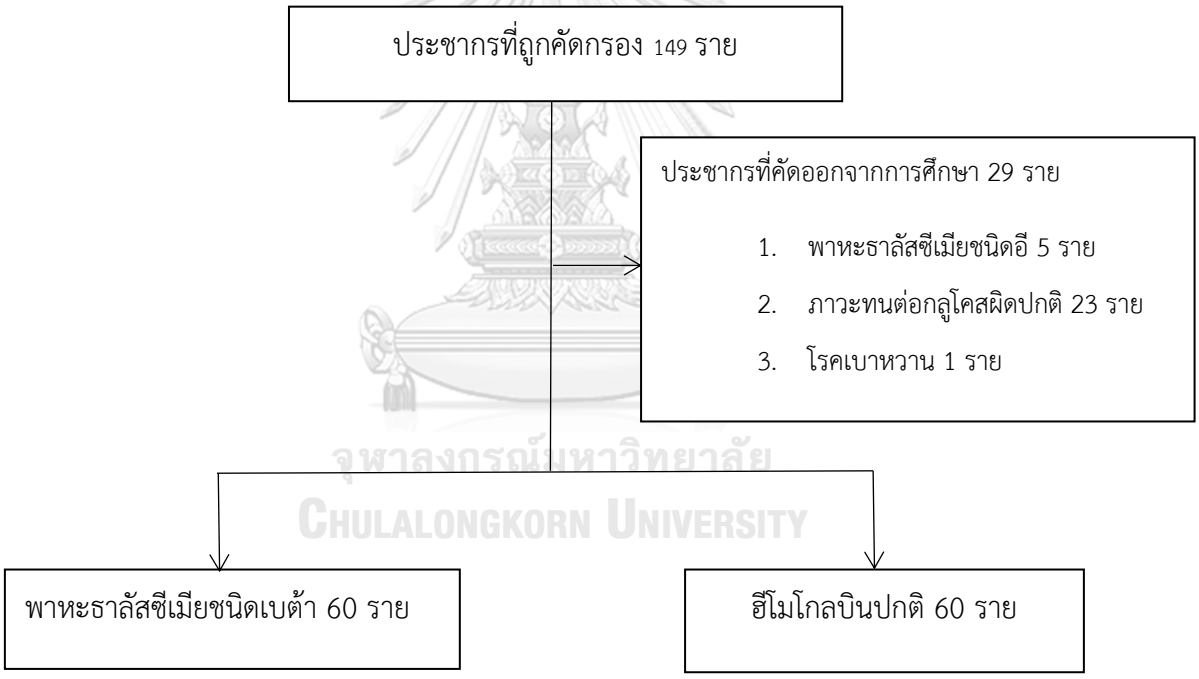
ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการใช้โปรแกรม STATA

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ประชากรที่นำมาศึกษา

ประชากรที่นำมาศึกษาอยู่ในช่วงระหว่างเดือนกรกฎาคม 2564 ถึง มกราคม 2565 มีประชากรที่ถูกคัดกรอง 149 รายโดยมีผู้ที่ถูกคัดออกจากการศึกษา 29 ราย เนื่องเป็นจากพาหะธาลัสซีเมียชนิดอี 5 ราย วินิจฉัยภาวะทนต่อกลูโคสผิดปกติ 23 ราย และวินิจฉัยโรคเบาหวาน 1 ราย โดยมีผู้ที่อยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมการศึกษาและยินยอมเข้าร่วมการรักษา จำนวนทั้งหมด 120 ราย แบ่งเป็นกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า 60 ราย และกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 60 ราย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปภาพที่ 5 แสดงประชากรที่นำมาศึกษา

2. ข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง

ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเปรียบเทียบกับกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ (ตารางที่ 5) พบว่า ค่ามัธยฐานอายุของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า 34 ปี (IQR = 29-38.5) ค่ามัธยฐานอายุของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 32 ปี (IQR = 28-35) กลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเป็นเพศหญิง 53 ราย (คิดเป็นร้อยละ 88.3) กลุ่มฮีโมโกลบินปกติเป็นเพศหญิง 52 ราย (คิดเป็นร้อยละ 86.7) ค่ามัธยฐานดัชนีมวลกายของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า 21.9 กิโลกรัมต่อตารางเมตร (IQR = 19.4-23.9) ค่ามัธยฐานดัชนีมวลกายของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ 21.6 (IQR = 19.4-24) กลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่มีประวัติครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน 9 ราย (คิดเป็นร้อยละ 15) กลุ่มฮีโมโกลบินปกติที่มีประวัติครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน 11 ราย (คิดเป็นร้อยละ 18.3)

โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของอายุ (p = 0.06) เพศ (p = 0.78) ดัชนีมวลกาย (p = 0.87) และประวัติครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน (p = 0.62) ระหว่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลพื้นฐานของประชากรตัวอย่าง

ข้อมูลทั่วไป	กลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (N = 60)	กลุ่มฮีโมโกลบินปกติ (N = 60)	P-value
อายุ (ปี)	34 (29-38.5)	32 (28-35)	0.06
เพศ: หญิง, จำนวน (ร้อยละ)	53 (88.3)	52 (86.7)	0.78
ดัชนีมวลกาย (kg/m2)	21.9 (19.4-23.9)	21.6 (19.4-24)	0.87
ประวัติครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน, จำนวน (ร้อยละ)	9 (15)	11 (18.3)	0.62
ประวัติครอบครัวเป็นโรคธาลัสซีเมีย, จำนวน (ร้อยละ)	4 (6.7)	0	0.12

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3. ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเปรียบเทียบกับกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ (ตารางที่ 6) พบว่าค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับ 90.6 mg/dL (SD = 5.5) ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับ 90.3 (SD = 5.5) โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร ($p = 0.80$) ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม ของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับ 104 mg/dL (SD = 19.5) ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม ของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับ 91.2 mg/dL (SD = 19.3) โดยพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม และ globulin ($p \leq 0.05$) ส่วนผลตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ได้แก่ creatinine, creatinine clearance; eGFR และalbumin พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลตรวจค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง และ Hb typing ของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเปรียบเทียบกับกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ ค่าระดับฮีโมโกลบิน ค่าระดับความเข้มข้นเลือด ค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง ค่าการกระจายตัวของขนาดเม็ดเลือดแดง ค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดง ค่าเฉลี่ยระดับฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ระดับฮีโมโกลบินชนิดเอ ระดับฮีโมโกลบินชนิดเอทู และระดับฮีโมโกลบินชนิดเอฟ แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ reticulocyte count และ corrected reticulocyte count (ตารางที่ 6)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 6 แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	**กลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (N=60)**	**กลุ่มผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ (N=60)**	**P-value**
HbA1c (%)	5.1 (0.3)	5.2 (0.3)	0.06
FPG (mg/dL)	90.6 (5.5)	90.3 (5.5)	0.80
OGTT (mg/dL)	104 (19.5)	91.2 (19.3)	<0.001*
Fructosamine (μmol/L)	275 (24.9)	267.7 (18.4)	0.08
Creatinine (mg/dL) [a]	0.66 (0.55-0.71)	0.64 (0.58-0.72)	0.70
eGFR (mL/min/1.73 m^2) [a]	118.6 (110.5-124.9)	116.9 (111.1-124.7)	0.76
Albumin (g/dL)	4.4 (0.2)	4.3 (0.3)	0.08
Globulin (mg/dL)	3.4 (0.4)	3.3 (0.3)	0.02*
Hemoglobin (g/L) [a]	11.5 (11-12)	12.8 (12.2-13.6)	<0.001*
Hematocrit (%)	36.1 (2.9)	38.7 (3)	<0.001*
RBC count (x10^6 /μL)	5.6 (0.5)	4.5 (0.4)	<0.001*
RDW (%)	16.3 (1.6)	12.9 (0.8)	<0.001*
MCV (fL) [a]	64.1 (61.3-69.1)	86.2 (83.1-89.1)	<0.001*
MCH (pg) [a]	20.4 (19.4-22.1)	29.3 (27.7-29.9)	<0.001*
MCHC (g/dL) [a]	33.5 (32.6-34.2)	31.8 (31.3-32.4)	<0.001*
Reticulocyte count (%) [a]	1.4 (1.2-1.8)	1.4 (1.2-1.6)	0.61
Corrected reticulocyte count (%) [a]	1.1 (0.9-1.4)	1.2 (1-1.4)	0.52
HbA (% of total Hb) [a]	88.7 (85.6-91.2)	95.7 (95.2-96.2)	<0.001*
HbA2 (% of total Hb) [a]	8.9 (7.1-9.7)	4.3 (3.8-4.8)	<0.001*
HbF (% of total Hb) [a]	3.2 (0-4.8)	0 (0-0)	<0.001*

แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน), [a] แสดงข้อมูลเป็นค่ามัธยฐาน (ค่าเปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 ถึง 75)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

* ข้อมูลที่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤ 0.05)

4. ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา

1) ผลการศึกษาวิจัยหลัก

ความแตกต่างระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ

ค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ของทั้งสองกลุ่มกระจายเป็นแบบการแจกแจงปกติ โดยค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับร้อยละ 5.1 (SD = 0.3) ค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับร้อยละ 5.2 (SD = 0.3) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c (p = 0.06) ความแตกต่างระหว่างระดับ HbA1c แสดงในตารางที่ 6 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของระดับ HbA1c (Intra-assay coefficients of variability of HbA1c) ที่วัดจากเครื่อง Alinity c Hemoglobin A1c Reagent Kit เท่ากับร้อยละ 0.4

ความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c และ ตัวแปรต่างๆ

จากการวิเคราะห์โดย multivariable linear regression analysis พบว่าตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับระดับ HbA1c ได้แก่ พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า และเพศ (p ≤ 0.05) โดยไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง อายุ ดัชนีมวลกาย ระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม และประวัติโรคเบาหวานในครอบครัวกับระดับ HbA1c และจากการวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของ adjusted HbA1c พบว่า ค่าเฉลี่ยของระดับ adjusted HbA1c ของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับร้อยละ 5.07 (SD = 0.3) ค่าเฉลี่ยของระดับ adjusted HbA1c ของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับร้อยละ 5.22 (SD = 0.3) โดยพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ adjusted HbA1c (p < 0.001) (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ univariable และ multivariable linear regression analysis แสดงตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กับระดับ HbA1c

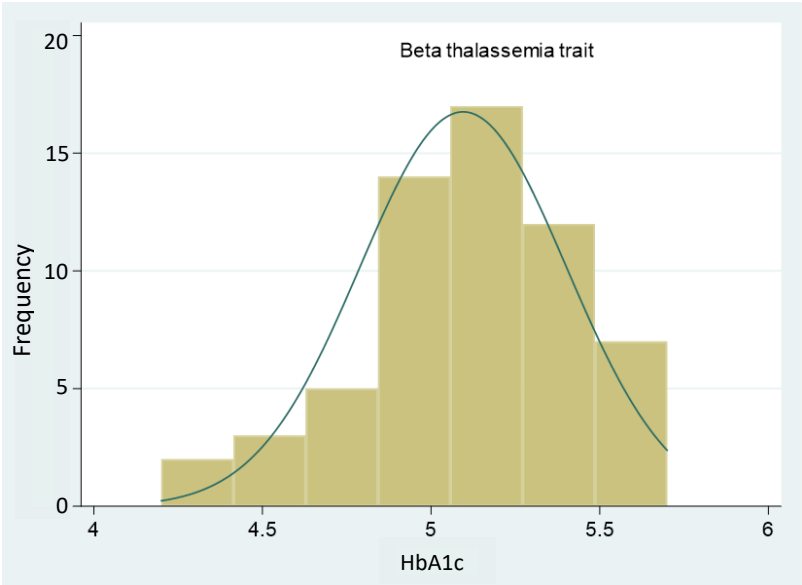
Independent Predictors	Unstandardized B Coefficient (95% CI)	P-value	Standardized B Coefficient (95% CI)	P-value
พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า vs. ผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ	-0.11 (-0.22 to 0)	0.06	-0.15 (-0.26 to -0.04)	0.01
อายุ (ปี)	0.01 (0 to 0.02)	0.06	0.01 (-0.003 to 0.01)	0.19
เพศ (หญิง vs ชาย)	0.18 (0.02 to 0.35)	0.03	0.18 (0.02 to 0.34)	0.03
ดัชนีมวลกาย (kg/m^2)	0.01 (0 to 0.03)	0.07	0.01 (-0.005 to 0.02)	0.19
ประวัติครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน	0.15 (0 to 0.3)	0.05	0.1 (-0.05 to 0.24)	0.18
2-hr OGTT (mg/dL)	0 (0 to 0.01)	0.09	0.003 (-0.0001 to 0.006)	0.05

2) ผลการศึกษาวิจัยรอง

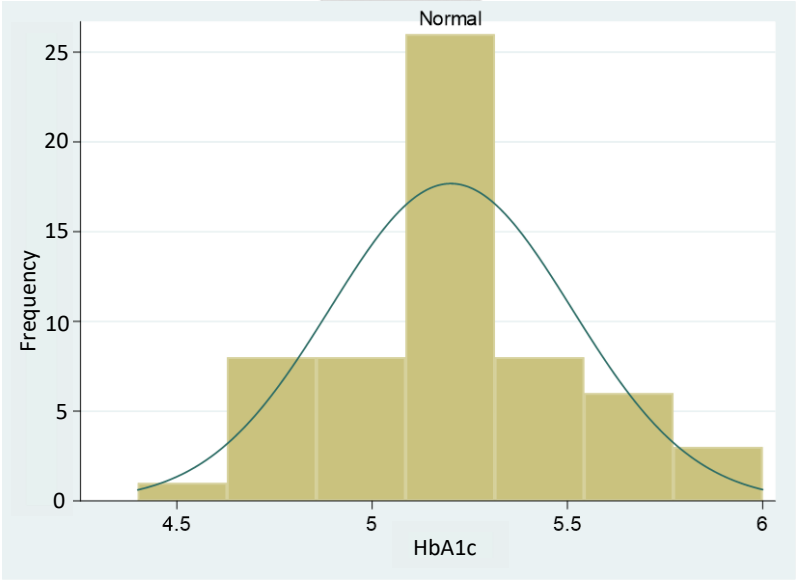
ความแตกต่างระหว่างระดับ fructosamine ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ

ค่าเฉลี่ยของระดับ fructosamine ของทั้งสองกลุ่มกระจายเป็นแบบการแจกแจงปกติ โดยค่าเฉลี่ยของระดับ fructosamine ของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับ 275 μmol/L (SD = 24.9) ค่าเฉลี่ยของระดับ fructosamine ของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับ 267.7 μmol/L (SD = 18.4) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ fructosamine ($p = 0.08$) ความแตกต่างระหว่างระดับ fructosamine แสดงในตารางที่ 6

(ก) พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า

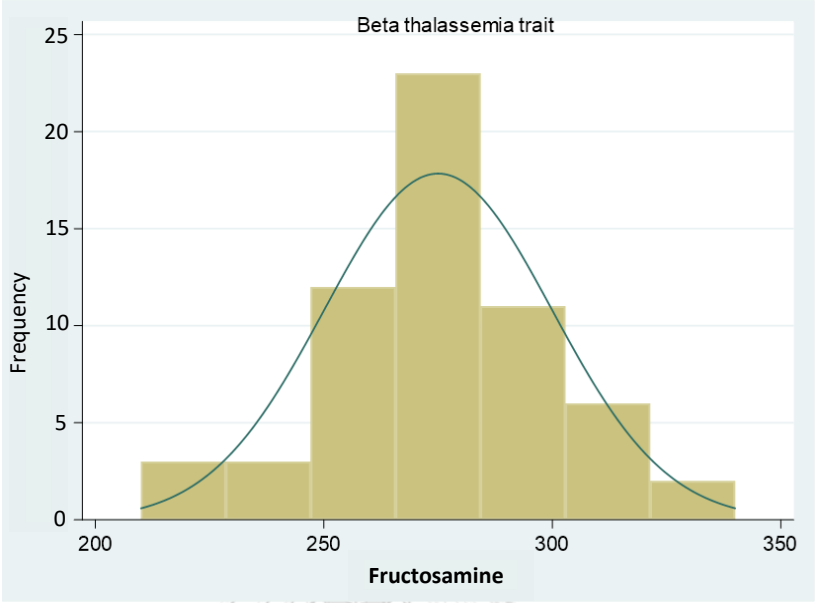


(ข) ฮีโมโกลบินปกติ

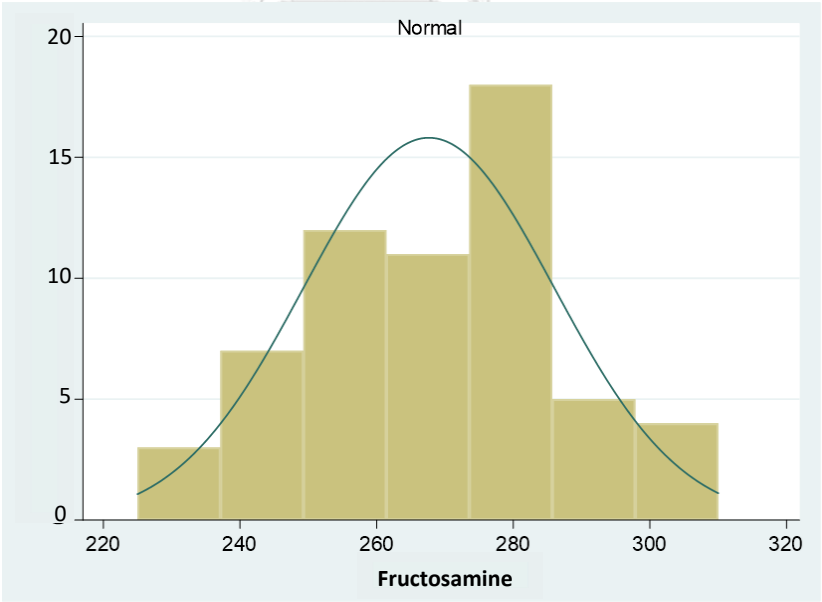


รูปภาพที่ 6 แสดงการกระจายตัวของระดับ HbA1c เป็นแบบการแจกแจงปกติทั้งสองกลุ่ม

(ก) พาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า



(ข) ฮีโมโกลบินปกติ



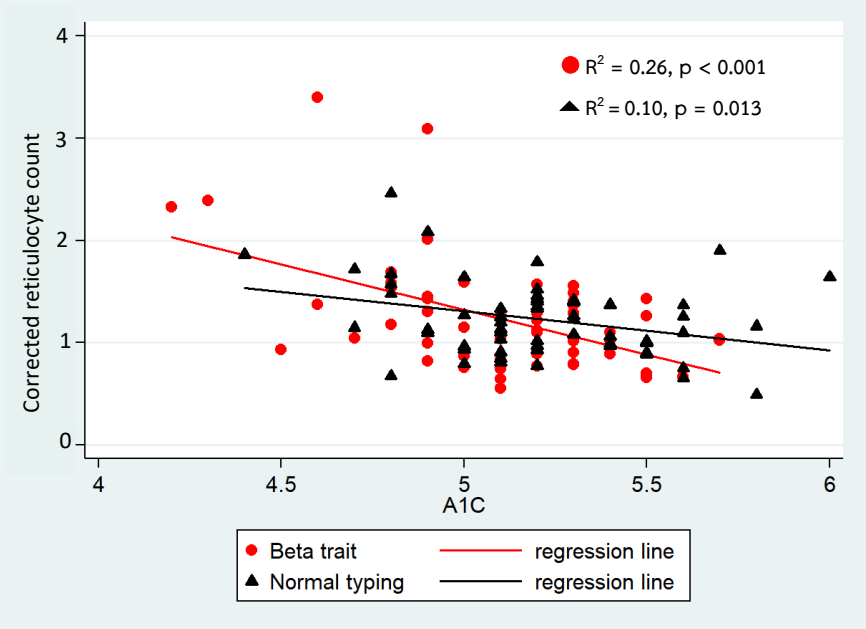
รูปภาพที่ 7 แสดงการกระจายตัวของระดับ fructosamine เป็นแบบการแจกแจงปกติทั้งสองกลุ่ม

ความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c และ corrected reticulocyte count

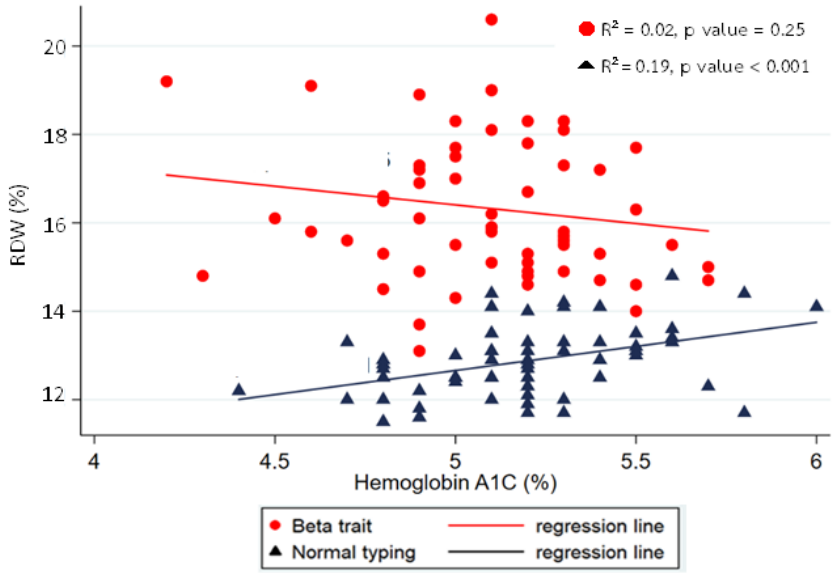
จากการวิเคราะห์โดย Pearson correlation พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างระดับ HbA1c และ corrected reticulocyte count ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า (R-squared = 0.26, p < 0.001) และในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ (R-squared = 0.10, p 0.013) (รูปภาพที่ 8)

ความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c และ ค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง

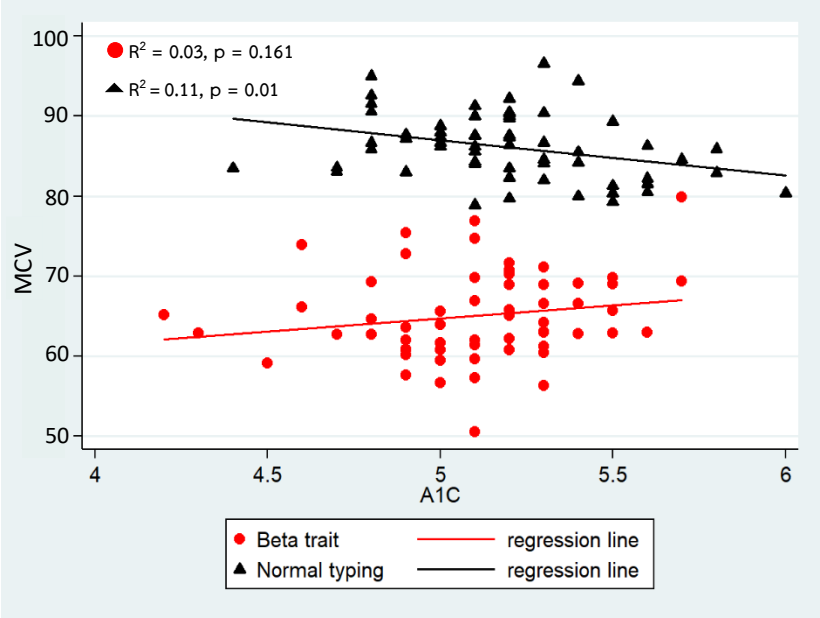
จากการวิเคราะห์โดย Pearson correlation พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างระดับ HbA1c กับ RDW ในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติแต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c กับ RDW ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า พบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างระดับ HbA1c กับ MCV ในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติแต่ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c กับ MCV ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HbA1c กับ ร้อยละของฮีโมโกลบินชนิดเอฟ ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าและในกลุ่มฮีโมโกลบินปกติ (รูปภาพที่ 9-11)



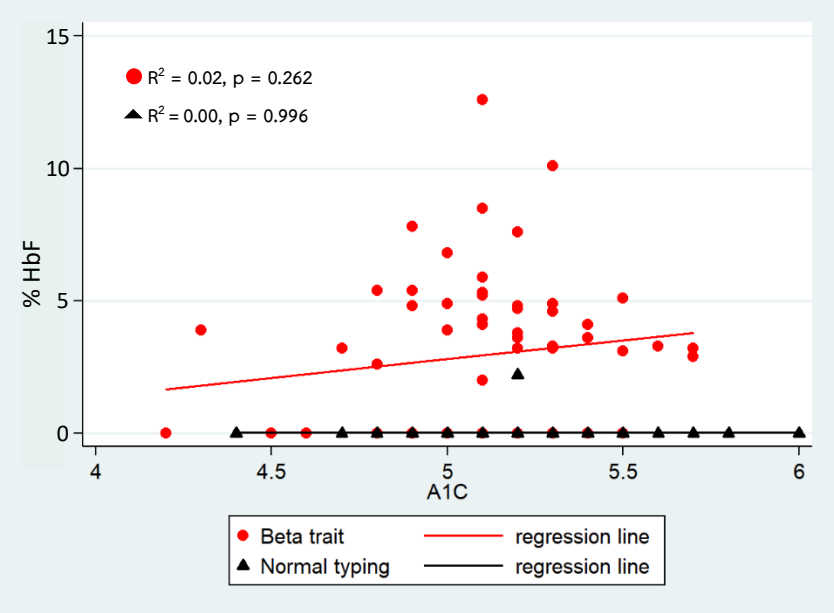
รูปภาพที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c และ corrected reticulocyte count



รูปภาพที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับ RDW



รูปภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับ MCV

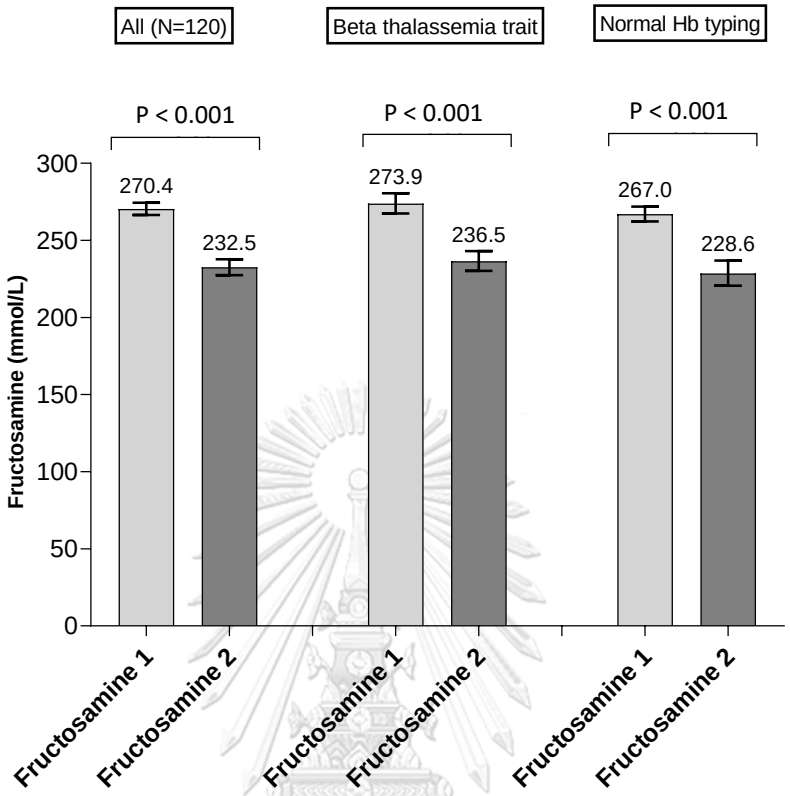


รูปภาพที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ของระดับ HbA1c กับ % HbF

การวิเคราะห์เพิ่มเติม

จากการศึกษาพบความแตกต่างของระดับ fructosamine ที่ตรวจวันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือด และตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยคนเดียวกันที่เก็บแช่แข็งด้วยอุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือน โดยระดับ fructosamine ที่ตรวจวันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือดมีค่าเฉลี่ย 270.4 µmol/L (SD = 22.1) ส่วนระดับ fructosamine ในตัวอย่างเลือดที่เก็บแช่งแข็งไว้มีค่าเฉลี่ย 232.5 µmol/L (SD = 27.8), $p < 0.001$ โดยค่าเฉลี่ยของระดับ fructosamine ที่นำมาใช้วิเคราะห์ในงานวิจัยนี้คือระดับ fructosamine ที่ตรวจวันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



Fructosamine 1 = ระดับ fructosamine ที่ตรวจวันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือด

Fructosamine 2 = ระดับ fructosamine จากตัวอย่างเลือดที่เก็บแช่แข็งด้วยอุณหภูมิ -80°c

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปภาพที่ 12 แสดงความแตกต่างของระดับ fructosamine ที่ตรวจวันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือด และเก็บแช่แข็งด้วยอุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส

บทที่ 5
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ cross-sectional analytical study ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความแตกต่างของระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติชาวไทยที่ความทนต่อกลูโคสปกติ โดยผู้เข้าร่วมวิจัยทุกรายได้รับการคัดกรองโดยการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม เพื่อวินิจฉัยความทนต่อกลูโคสปกติ และพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งสองกลุ่มได้แก่ อายุ (p = 0.06) เพศ (p = 0.78) ดัชนีมวลกาย (p = 0.87) และประวัติครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน (p = 0.62)

การตรวจวัดระดับ HbA1c ในงานวิจัยนี้ ตรวจวัดโดยการเก็บตัวอย่างเลือดไว้ที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวัดพร้อมกัน และ Intra-assay coefficients of variability of HbA1c ที่วัดจากเครื่องที่ใช้ในงานวิจัยนี้เท่ากับร้อยละ 0.4 ค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ที่ได้จึงมีความน่าเชื่อถือ

จากผลการศึกษาของผู้วิจัยไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเปรียบเทียบกับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการวิเคราะห์โดย multivariable linear regression analysis พบว่า ค่าเฉลี่ยของระดับ adjusted HbA1c ของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับร้อยละ 5.07 (SD = 0.3) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของระดับ adjusted HbA1c ของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติซึ่งเท่ากับร้อยละ 5.22 (SD = 0.3) (p < 0.001)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อมูลจากการศึกษาเกี่ยวกับผลของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าต่อระดับ HbA1c ก่อนหน้านี้ยังมีค่อนข้างจำกัด จากการศึกษาของ D.Tsilingirisa และคณะ ที่ทำในผู้ป่วยชาวคอเคเซียนพบว่าในผู้ป่วยพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่ไม่ได้เป็นโรคเบาหวาน มีค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ที่ไม่แตกต่างจากผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ โดยค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ในผู้ป่วยพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับร้อยละ 5.23 (SD = 0.3) ส่วนค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ในผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติเท่ากับร้อยละ 5.24 (SD = 0.3), p = 0.587 ผู้เข้าร่วมวิจัยของการศึกษานี้มีระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหารไม่แตกต่างกัน ตามการคัดกรองผู้เข้าร่วมวิจัยของการศึกษานี้ไม่ได้ทดสอบความทนต่อกลูโคสซึ่งเพื่อคัดกรองภาวะความทนต่อกลูโคสที่ผิดปกติซึ่งอาจมีผลต่อระดับ HbA1c [30] โดยจากผลการศึกษาของผู้วิจัยพบความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่มากกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้เมื่อวิเคราะห์ adjusted HbA1c ด้วยตัวแปรต่างๆ

ผู้วิจัยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร และระดับ fructosamine ของทั้งสองกลุ่ม แต่พบว่าค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม ของกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าเท่ากับ 104 mg/dL (SD = 19.5) ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัม ของกลุ่มฮีโมโกลบินปกติเท่ากับ 91.2 mg/dL (SD = 19.3) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่ากลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าในการศึกษานี้อาจจะมีความใกล้เคียงกับความทนต่อกลูโคสที่ผิดปกติมากกว่ากลุ่มฮีโมโกลบินปกติและอาจส่งผลให้ไม่เห็นความแตกต่างของระดับ HbA1c ระหว่างทั้งสองกลุ่ม

จากผลการศึกษาของผู้วิจัยพบว่าค่าพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดงในผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ ได้แก่ ฮีโมโกลบิน ค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง ค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดง ค่าเฉลี่ยระดับฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง สูงกว่าในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า และพบว่าระดับฮีโมโกลบินชนิดเอฟในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าสูงกว่าในผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติ สอดคล้องกับผลการศึกษาของวิจัยก่อนหน้านี้ [22, 31-33, 35] ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าต่อระดับ HbA1c ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในประชากรที่มีความหลากหลายและมีการตรวจวัดระดับ HbA1c ที่แตกต่างกัน

ระดับความผิดปกติของสายโกลบินของฮีโกลบินถูกกำหนดโดยการกลายพันธุ์ของยีน β-globin ที่มีความหลากหลายแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคทั่วโลก การกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการขาดหายไปของการสร้าง β-globin chain เรียกว่า β^0 ส่วนการกลายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการลดลงของการสร้าง β-globin chain เรียกว่า β^+ ความหลากหลายของการกลายพันธุ์นี้ทำให้เกิดลักษณะทางคลินิกที่แตกต่างกัน โดยมีการศึกษาที่พบว่าพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ามีผลต่ออายุขัยของเม็ดเลือดแดงและภาวะเม็ดเลือดแดงแตก [8] ซึ่งน่าจะส่งผลต่อระดับ HbA1c ด้วย ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาระดับ corrected reticulocyte count ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความรุนแรงของภาวะเม็ดเลือดแดงแตก พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างระดับ HbA1c และ corrected reticulocyte count ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า จากผลการศึกษานี้อาจสรุปได้ว่าระดับความรุนแรงของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่มากกว่าในผู้ที่มีการกลายพันธ์ของยีนแบบ β^0 อาจจะมีผลลดระดับ HbA1c มากกว่าผู้ที่มีการกลายพันธ์ของยีนแบบ β^+ ซึ่งมีความรุนแรงน้อยกว่า

จากการศึกษาเพิ่มเติมผู้วิจัยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างระดับ fructosamine ที่ตรวจวันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือด และตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยคนเดียวกันที่เก็บแช่แข็งด้วยอุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือน ซึ่งความแตกต่างนี้น่าจะเป็นผลมาจากการเก็บตัวอย่างเลือดไว้เป็นเวลานาน 6 เดือน เนื่องจากช่วงที่ทำการเก็บข้อมูลเป็นช่วงที่มีการแพร่ระบาดของโรคไวรัสโคโรนา 2019 ที่ทำให้เป็นอุปสรรคในเดินทางมาโรงพยาบาลของผู้เข้าร่วมวิจัย

5.2 สรุปผล

ในผู้ที่มีความทนต่อกลูโคสปกติค่าเฉลี่ยของระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าต่ำว่าผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติร้อยละ 0.15 และมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างระดับ HbA1c และ corrected reticulocyte count ในกลุ่มพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้า ซึ่ง corrected reticulocyte count อาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงระดับความรุนแรงของพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าซึ่งมีผลต่อระดับ HbA1c ที่แตกต่างกัน การแปลผลระดับ HbA1c ในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าจะให้ค่าที่ต่ำกว่าที่ควรจะเป็น

5.3 ข้อดีของการศึกษานี้

1) จำนวนประชากรที่เข้าร่วมในการศึกษานี้เป็นขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมสามารถบอกความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่มีความสำคัญทางคลินิก

2) ผู้เข้าร่วมวิจัยของการศึกษานี้ได้ทดสอบความทนต่อกลูโคสเพื่อคัดกรองภาวะความทนต่อกลูโคสที่ผิดปกติซึ่งอาจมีผลต่อระดับ HbA1c

3) ได้ทำการศึกษาระดับ corrected reticulocyte count ซึ่งบอกถึงความรุนแรงของภาวะเม็ดเลือดแดงแตกและอาจจะมีผลลดระดับ HbA1c

5.4 ข้อด้อยของการศึกษานี้

1) การตรวจวัดระดับ HbA1c วัดโดย Enzymatic method ด้วยเครื่อง Alinity c Hemoglobin A1c Reagent Kit ยี่ห้อ Abbott GmbH & Co. KG, Germany และ การตรวจวัดระดับ fructosamine วัดโดย NBT/Formazan colorimetric method ด้วยเครื่อง Alinity c Fructosamine Reagent Kit ยี่ห้อ Abbott GmbH & Co. KG, Germany ซึ่งเป็นวิธีการตรวจที่ใช้ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย ความแตกต่างของระดับ HbA1c จากงานวิจัยนี้อาจจะนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดระดับ HbA1c และ fructosamine โดยวิธีอื่นไม่ได้

2) เนื่องจากในประเทศไทย มีรายงานความชุกของพาหะธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาร้อยละ 20-30 โดยในผู้ที่เป็นพาหะธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาแบบที่ 2 (α-thal 2 trait) จะมีเม็ดเลือดแดงขนาดปกติ และมีผล Hb typing เหมือนคนปกติ จะต้องทำ DNA analysis จึงจะสามารถวินิจฉัยได้ ซึ่งไม่ได้ทำการตรวจในการศึกษานี้ เพราะต้องการเปรียบเทียบความแตกต่างของฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับคนปกติในประเทศไทยซึ่งจะมีพาหะธาลัสซีเมียชนิดแอลฟาแบบที่ 2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ร่วมด้วยได้ และทำผลการศึกษาไปใช้กับเวชปฏิบัติทั่วไป เพราะการตรวจรักษาผู้ป่วยเบาหวานโดยปกติก็ไม่ได้ทำการตรวจ DNA analysis ในผู้ป่วยที่มีขนาดเม็ดเลือดแดง (MCV) ปกติ

5.5 ข้อเสนอแนะ

ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความแตกต่างระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติโดยใช้การตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีแบบอื่น

ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความแตกต่างระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้าโดยเพิ่มขนาดตัวอย่าง เพื่อให้ได้ผู้ที่มีระดับน้ำตาลกลูโคสหลังอดอาหารและระดับน้ำตาลในเลือดหลังดื่มสารละลายกลูโคส 75 กรัมไม่แตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม

ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความแตกต่างระหว่างระดับฮีโมโกลบินเอวันซีในพาหะธาลัสซีเมียชนิดเบต้ากับผู้ที่มีฮีโมโกลบินปกติโดยใช้ Continuous Glucose Monitoring (CGM) ซึ่งเป็นระบบที่สามารถตรวจวัดระดับน้ำตาลในร่างกายและรายงานผลอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง

ควรตรวจวัด fructosamine วันเดียวกับวันที่มาเจาะเลือดเนื่องจากให้ผลที่น่าเชื่อถือมากกว่าการเก็บไว้ตรวจพร้อมกันขณะจบการศึกษา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

การตรวจ Hb typing ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย

มีการตรวจ 2 วิธี ได้แก่

1. Isoelectric focusing (IEF) electrophoresis โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป RESOLVE neonatal hemoglobin Kit ร่วมกับ Isoscan software

2. High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้เครื่อง BIO-RAD VARIANT II Hemoglobin Testing System (Beta Thalassemia Short Program)

ขั้นตอนการตรวจ Hb typing

1. RBC parameters (RBC count, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW) โดยใช้เครื่อง ABX Pentra XL 80

2. Hb typing หลักการ isoelectric focusing (IEF) electrophoresis

3. Hb typing หลักการ high performance liquid chromatography (HPLC)

โดยเบื้องต้นจะทำการตรวจ RBC parameters และ Hb typing วิธี IEF และพิจารณาตรวจ Hb typing หลักการ HPLC เฉพาะในกรณีต่อไปนี้

1. MCV < 80 fL และผล Hb typing หลักการ IEF เป็น A2A
2. MCV ≤ 75 fL และผล Hb typing หลักการ IEF เป็น EA
3. Hb typing หลักการ IEF พบ band HbH และ/หรือ Hb Bart's
4. Hb typing หลักการ IEF พบ band HbCS
5. Hb typing หลักการ IEF พบ band abnormal Hb variant
6. Hb typing หลักการ IEF พบ HbF สูงกว่าปกติ
7. คู่สามี-ภรรยาที่ทั้งสองคนมี HbE
8. สิ่งส่งตรวจเป็น cord blood
9. กรณีที่อาจารย์แพทย์เห็นสมควร

เกณฑ์การวินิจฉัย

เกณฑ์การวินิจฉัย normal Hb typing : MCV ≥ 80 fL, MCH ≥ 27 pg และผล Hb typing เป็น A2A, HbA2 < cutoff (IEF HbA2 < 5.5%)

เกณฑ์การวินิจฉัย Beta thalassemia trait : MCV < 80 fL, MCH < 27 pg และผล Hb typing เป็น A2A, HbA2 ≥ cutoff (IEF HbA2 ≥ 5.5% และ HPLC HbA2 ≥ 4.0%)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การตรวจ HbA1c โดยเครื่อง Alinity c Hemoglobin A1c Reagent Kit

ประกอบด้วยการตรวจวัด HbA1c และปริมาณฮีโมโกลบินทั้งหมด (total hemoglobin; THb)

1. HbA1c

เมื่อเม็ดเลือดแดงแตกทำให้ฮีโมโกลบินเปลี่ยนเป็นเมธฮีโมโกลบิน (methemoglobin)

น้ำยาชนิดที่ 1 ทำให้เอนไซม์ protease ตัดที่บริเวณ Glycosylated N terminal dipeptide (Fructosyl-VH) ของสาย β-globin

น้ำยาชนิดที่ 2 ทำให้เกิดปฏิกิริยาของ fructosyl peptide oxidase (FPOX) กับ (Fructosyl-VH) เกิดเป็น hydrogen peroxide ซึ่งนำมาใช้ในการตรวจวัดระดับ HbA1c

2. THb

ฮีโมโกลบินถูกออกซิไดซ์เกิดเป็นเมธฮีโมโกลบินที่มีความคงตัว และวัดค่าความกลืนแสงได้ออกมาเป็นปริมาณฮีโมโกลบินทั้งหมด

โดยระดับ HbA1c และระดับฮีโมโกลบินทั้งหมดที่วัดได้นำมาคำนวณได้เป็นร้อยละของ HbA1c ตามระบบ NGSP ดังสมการ

HbA1c (mmol/mol) = HbA1c / total hemoglobin x 1000

% HbA1c DCCT/NGSP ; HbA1c (%) = 0.09148 x HbA1c (mmol/mol) + 2.152

การเก็บตัวอย่างเลือด เก็บเป็น whole blood ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 8 ชั่วโมง เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ได้นาน 7 วัน และหากต้องการเก็บตัวอย่างเลือดนานกว่า 7 วัน ต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ -80 องศาเซลเซียส

ข้อจำกัดของการตรวจวัดระดับ HbA1c โดยเครื่อง Alinity c Hemoglobin A1c Reagent Kit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- HbF รบกวนการแปลผลได้ โดยการที่มี HbF > 5% โดยที่ glycated HbF จะไม่ถูกตรวจวัดโดยเครื่องเนื่องจากไม่มี β-globin chain แบบที่ตรวจพบใน HbA1c แต่การที่มี HbF > 5% จะถูกตรวจวัดรวมเป็น total hemoglobin ทำให้ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดได้มีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง
- ภาวะฮีโมโกลบินผิดปกติ ความผิดปกติของฮีโมโกลบินแบบต่างๆ ได้แก่ HbS, HbC, HbE, HbS และ HbA2 รบกวนการแปลผลได้
- Hyperbilirubinemia รบกวนการแปลผลได้ โดยการที่ conjugated bilirubin มากกว่า 15 มก./ดล. และมี unconjugated bilirubin มากกว่า 10 มก./ดล. ทำให้ค่า HbA1c ที่ตรวจวัดได้มีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

การตรวจวัดระดับ fructosamine โดยเครื่อง Alinity c Fructosamine Reagent Kit

เป็นการตรวจโดยอาศัยหลักการ NBT/Formazan calorimetric method ดังนี้

Fructosamine เป็น ketoamine สามารถเปลี่ยน nitroblue tetrazolium (NBT) ให้เป็น formazan ในตัวกลางที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง หลังจากนั้นอัตราการเกิด formazan จะถูกวัดโดย spectrophotometric technique ที่ความยาวคลื่น 548 นาโนเมตรและแปรผันตรงกับปริมาณ fructosamine

การเก็บตัวอย่างเลือดสำหรับส่งตรวจ fructosamine เก็บเป็น plasma ใน หลอดเก็บเลือดชนิด heparin ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 3 วัน เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ได้นาน 14 วัน และหากต้องการเก็บตัวอย่างเลือดนานกว่า 7 วัน ต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ -80 องศาเซลเซียส โดยสามารถเก็บได้นานสองเดือน

การตรวจวัดระดับ reticulocyte count โดยเครื่อง Fluorocell™ RET Hematology Reticulocyte

หลักการการตรวจวัดระดับ reticulocyte count มีรายละเอียดดังนี้

เจือจางตัวอย่างเลือด ให้ได้อัตราส่วน 1:200 โดย CELLPACK DFL หลังจากนั้นเติม Flurocell RET ในตัวอย่างเลือดที่เจือจางแล้ว ตัวอย่างเลือดที่ถูกติดฉลากแล้วจะถูกนำไปวัดค่าการกระจายแสง และคำนวณให้ได้ค่าออกมาเป็น reticulocyte count, % reticulocyte count, RBC count และ platelet count

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การเก็บตัวอย่างเลือดสำหรับส่งตรวจ reticulocyte count เก็บเป็น whole blood ในหลอดเก็บเลือดชนิด EDTA

Corrected reticulocyte = Reticulocyte count x (Hct ของผู้ป่วย/Hct ปกติ)

โดยค่า Hct ปกติในผู้ชายคือ ร้อยละ 45 และในผู้หญิงคือร้อยละ 40

แบบเก็บข้อมูลโครงการวิจัย

แบบฟอร์มลำดับที่ ..... วันที่เก็บข้อมูล.....

คำชี้แจง เติมข้อมูลในช่องว่าง หรือ โปรดทำเครื่องหมาย ☑ ลงใน ☐ หรือเติมข้อความลงในช่องว่างตามความเป็นจริง

ส่วนที่ 1 ประวัติ

1. Baseline characteristic
   1) Gender ☐ Male ☐ Female
   2) อายุ _____ปี
2. ประวัติโรคโลหิตจาง ☐ ไม่มี ☐ มี
3. ประวัติโรคเม็ดเลือดแดงแตก ☐ ไม่มี ☐ มี
4. กำลังตั้งครรภ์ (สำหรับเพศหญิง) ☐ ไม่ใช่ ☐ ใช่
   LMP _____
5. โรคประจำตัวอื่นๆ
   ☐ ไม่มี
   ☐ มี ระบุ _____
6. ประวัติการรับเลือดและการเสียเลือดในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา
   1) ได้รับเลือด ☐ ไม่มี ☐ มี
   2) บริจาคเลือด ☐ ไม่มี ☐ มี
   3) เสียเลือดปริมาณมาก ☐ ไม่มี ☐ มี
   4) เข้ารับการผ่าตัดและเสียเลือดจากการผ่าตัด ☐ ไม่มี ☐ มี
7. ประวัติการผ่าตัดม้ามในอดีต ☐ ไม่มี ☐ มี
8. อาการของภาวะไทรอยด์สูงหรือต่ำ ได้แก่
   1) เหนื่อยง่าย เหงื่อออกง่าย หงุดหงิดง่าย หรือ น้ำหนักลด ☐ ไม่มี ☐ มี
   2) ท้องผูก ขี้หนาว บวม หรือ น้ำหนักขึ้น ☐ ไม่มี ☐ มี
9. ยาที่ใช้ประจำ
   ☐ ไม่มี
   ☐ มี ระบุ _____

   * ยาหรือสารที่มีผลต่อระดับ HbA1c ได้แก่ iron supplement , erythropoietin stimulating agents, dapsone, ribavirin, trimethoprim-sulfamethoxazole , nucleoside analogue antiretroviral agents, vitamin C, vitamin E , steroid และ aspirin high dose

   ** ยาหรือสารที่มีผลต่อระดับ fructosamine ได้แก่ N-Acetyl-L-Cysteine, hydroxyurea, 2,5 hydroxybenzoic acid, methyldopa, levodopa และ L-glutathione

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

10. ประวัติครอบครัว

1) โรคธาลัสซีเมีย ☐ ไม่มี ☐ มี

2) โรคเบาหวาน ☐ ไม่มี ☐ มี

ส่วนที่ 2 ผลตรวจร่างกาย

1. Body weight (kg) _____
2. Height (cm) _____
3. BMI (kg/m2) _____
4. ภาวะเหลือง (Jaundice) ☐ ไม่มี ☐ มี

ส่วนที่ 2 ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ (Labaratory results)

1. Hb Typing

☐ KCMH ☐ Outsource

Hb Typing result _____

HbA2 (%) _____

HbF (%) _____

2. Other lab results

FPG (mg/dl)	
RPG after 75 gm OGTT (mg/dl)	
HbA1c (%)	
Fructosamine (μmol/L)	
Creatinine (mg/dl)	
eGFR by CKD-EPI (ml/min/1.73m2)	
Albumin (g/dl))	
Globulin (mg/dl))	
Hb (g/dl)	
MCV (g/dl)	
MCH (pg)	
MCHC (g/dl)	
Reticulocyte count (%)	
Corrected reticulocyte count (%)	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

1. สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย. แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน 2560. กรุงเทพฯ: ร่มเย็นมีเดีย; 2560.

2. Maja K, L MV. Update on biomarkers of glycemic control. World J Diabetes 201;10:1-15.

3. Wright L.A., Hirsch I.B. The Challenge of the Use of Glycemic Biomarkers in Diabetes: Reflecting on Hemoglobin A1C, 1,5-Anhydroglucitol, and the Glycated Proteins Fructosamine and Glycated Albumin. Diabetes Spectr 2012;25:141-8.

4. Cohen RM, Franco RS, Smith EP, Higgins JM. When HbA1c and Blood Glucose Do Not Match: How Much Is Determined by Race, by Genetics, by Differences in Mean Red Blood Cell Age? J Clin Endocrinol Metab 2019;104:707-10.

5. Kittisares K, Palasuwan D, Noulsri E, Palasuwan A. Thalassemia trait and G6PD deficiency in Thai blood donors. Transfus Apher Sci 2019;58:201-6.

6. V V. Comprehensive Management for Thalassemia. J Hematol Transfus Med 2013;23:303-20.

7. Warncke K, Konrad K, Kohne E, Hammer E, Ohlenschlager U, Herrlinger S, et al. Diabetes in Patients with ss-thalassemia or other Hemoglobinopathies - Analysis from the DPV Database. Klin Padiatr 2016;228:307-12.

8. Kumar R, Sagar C, Sharma D, Kishor P. beta-globin genes: mutation hot-spots in the global thalassemia belt. Hemoglobin 2015;39:1-8.

9. Association. AD. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care 2021 2021;44:S15-S33.

10. Boer IH, Caramori ML, Chan JC, Heerspink HJ, Hurst C, Khunti K, et al. KDIGO 2020 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease. Kidney Int 2020;98:839-48.

11. สำนักวิชาการแพทย์ กก. แนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียในเวชปฏิบัติทั่วไป. กรุงเทพฯ: สำนักงานจัดการโรงพิมพ์ องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมป์; 2560.

12. Li CK. New trend in the epidemiology of thalassaemia. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2017;39:16-26.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

13. Oliveri FN. The β-thalassemias. N Engl J Med 1999;341:99-109.

14. Gupta S JU, Chauhan N. Laboratory Diagnosis of HbA1c: A Review. J Nanomed Res 2017;5.

15. Cas Weykamp PD. HbA1c: A Review of Analytical and Clinical Aspects. Annals of Laboratory Medicine 2013;33:393-400.

16. Campbell MR, M S. Comparison of HbA1c and Glycated Protein Methodologies. Clin Lab Sci 2016;29:114-21.

17. Randie R. L, Curt R, David B. S. The National Glycohemoglobin Standardization Program:

Over 20 Years of Improving Hemoglobin A1c Measurement. Clinical Chemistry 2019;65:839-48.

18. Hanas R, G J. Consensus Statement on the Worldwide Standardization of the Hemoglobin A1C Measurement. Diabetes Care 2010;33:1903-4.

19. Zoungas S, Chalmers J, Ninomiya T, Li Q, Cooper ME, Colagiuri S, et al. Association of HbA1c levels with vascular complications and death in patients with type 2 diabetes: evidence of glycaemic thresholds. Diabetologia 2012;55:636-43.

20. Sherwani SI, Khan HA, Ekhzaimy A, Masood A, Sakharkar MK. Significance of HbA1c Test in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Patients. Biomark Insights 2016;11:95-104.

21. Piehler AP, Grimholt RM, Bjerner J, Buchmann MS. Interference of common haemoglobin variants with the Tosoh G7 standard mode HbA1c method. Scand J Clin Lab Invest 2015;75:362-6.

22. Zhang X, Xiao Y, Fan Y. Investigating the Reliability of HbA1c Monitoring for Blood Glucose Control During Late Pregnancy in Patients with Gestational Diabetes Mellitus (GDM) with and without beta-Thalassemia Minor. Diabetes Ther 2018;9:2305-13.

23. Werawan Prasertwatanakorn, Phantip Vattanaviboon, 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;44:5844-53.

24. Unnikrishnan R, Anjana RM, Mohan V. Drugs affecting HbA1c levels. Indian J

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Endocrinol Metab 2012;16:528-31.

25. Shah AD, Fox RK, Rushakoff RJ. Falsely Decreased HbA1c in a Type 2 Diabetic Patient Treated with Dapsone. Endocr Pract 2014;20:e229-32.

26. Son JI, Rhee SY, Woo JT, Hwang JK, Chin SO, Chon S, et al. Hemoglobin a1c may be an inadequate diagnostic tool for diabetes mellitus in anemic subjects. Diabetes Metab J 2013;37:343-8.

27. Cefalu WT. Are There Clinical Implications of Racial Differences in HbA1c? A Difference, to Be a Difference, Must Make a Difference. Diabetes Care 2016;39:1462-7.

28. Campbell L, Pepper T, Shipman K. HbA1c: a review of non-glycaemic variables. J Clin Pathol 2019;72:12-9.

29. Diseases NIoDaDaK. Factors that Interfere with HbA1c Test Results 2019 [updated 21 Aug 2019. Available from: http://www.ngsp.org/factors.asp.

30. Tsilingiris D, Makrilakis K, Voskaridou E, Pagkrati S, Dalamaga M, Liatis S. Effect of heterozygous beta thalassemia on HbA1c levels in individuals without diabetes mellitus: A cross sectional study. Clin Chim Acta 2019;494:132-7.

31. Ji L, Yu J, Zhou Y, Xia Y, Xu A, Li W, et al. Erroneous HbA1c measurements in the presence of beta-thalassemia and common Chinese hemoglobin variants. Clin Chem Lab Med 2015;53:1451-8.

32. Aslan D, Gursel T. The usefulness of glycosylated hemoglobin (HbA1C) in discriminating between iron deficiency and thalassemia. Pediatr Hematol Oncol 2006;23:307-15.

33. Ural Kayalik H. Comparıson of the Diagnostıc Value of HbA1c with Fructosamıne in Dıabetes Mellitus. Int J Pure App 2016;4:17-26.

34. Suad M. Al-Fadhli, AbdulHadi A. Ahmad, Hassan A. Al-Jafer. Effect of sickle cell trait and ß-Thalassemia minor on determinations of HbA1c by an immunoassay method. Saudi Med J 2001;22:686-9.

35. Polage C, Little RR, Rohlfing CL, Cole TG, Roberts WL. Effects of beta thalassemia minor on results of six glycated hemoglobin methods. Clin Chim Acta 2004;350:123-8.

36. Kosaryan M, Mahdavi MR, Aliasgharian A, Mousavi M, Roshan P. Credibility of measurement of fructosamine and hemoglobin A1C in estimating blood glucose level

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

of diabetic patients with thalassemia major. Open Journal of Hematology 2012;3.

37. Sunil Gomber, Anjali Bagaria, Sri V. Madhu, Pooja Dewan. Glucose Homeostasis Markers in Beta-Thalassemia. J Pediatr Hematol Oncol 2018;40:508-10.

38. Hafez M, Youssry I, El-Hamed FA, Ibrahim A. Abnormal glucose tolerance in beta-thalassemia: assessment of risk factors. Hemoglobin 2009;33:101-8.

39. Danese E, Montagnana M, Nouvenne A, Lippi G. Advantages and pitfalls of fructosamine and glycated albumin in the diagnosis and treatment of diabetes. J Diabetes Sci Technol 2015;9:169-76.

40. Malmstro¨m Hk WG, Grill V, Jungner I, Rnsdottir SG, Hammar N. Fructosamine Is a Useful Indicator of Hyperglycaemia and Glucose Control in Clinical and Epidemiological Studies – Cross-Sectional and Longitudinal Experience from the AMORIS Cohort. PLoS ONE 2014;9:1-9.

41. Selvin E, Rawlings AM, Grams M, Klein R, Sharrett AR, Steffes M, et al. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. The Lancet Diabetes & Endocrinology 2014;2:279-88.

42. Ribeiro RT, Macedo MP, JF R. HbA1c, Fructosamine, and Glycated Albumin in the Detection of Dysglycaemic Conditions. Current Diabetes Reviews 2016;12:14-9.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวใจแก้ว อิฐรัตน์
วัน เดือน ปี เกิด	9 มกราคม 2534
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	ประวัติการศึกษาและการทำงาน - พ.ศ.2552-2558 นักศึกษาคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น - พ.ศ.2558-2559 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ ณ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ จ.ขอนแก่น - พ.ศ.2559-2562 แพทย์ใช้ทุนชั้นปีที่ 2-4 ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น - พ.ศ.2562-2563 อายุรแพทย์ ศูนย์บริการทางการแพทย์ชั้นเลิศ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ - พ.ศ.2563-ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาอายุรศาสตร์โรคต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปริญญาและประกาศนียบัตร - พ.ศ.2558 แพทยศาสตร์บัณฑิต - พ.ศ. 2562 วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์
ที่อยู่ปัจจุบัน	588/207 หมู่บ้านชลพฤกษ์พาร์ควิลล์ ต.เมืองเก่า อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000
รางวัลที่ได้รับ	รางวัลรองชนะเลิศอันดับหนึ่งการประกวด Poster presentation เรื่อง “Early post -transplantation intrarenal resistive index by doppler ultrasonography could predict renal graft function in adults.” ณ งานประชุมวิชาการคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี พ.ศ.2562

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University