วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

29 มิ.ย. 2513

BULLETIN OF CHIANGMAI MEDICAL TECHNOLOGY

VOLUME 1 SEPTEMBER 1968 NUMBER 3

ด้วยอภินันทนาการ

จาก

บริษัท เบอร์ลี่ยุคเกอร์(โฮลดิ้ง) จำกัด

542/1 ถนนเพลินจิต พระนคร

โทร. 58051 – 3, 55378

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

BULLETIN OF CHIANG MAI MEDICAL TECHNOLOGY

Volume 1 **September 1968** **Number 3**

CONTENTS

Tuberculosis in Nakorn Chiang Mai Hospital	43	Tuberculosis in Nakorn Chiang Mai. Hospital	43
เนตร สุวรรณคฤหาสน์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) กัมพล พนัศอำพล พ.บ.		Natre Suwankrughasna B.Sc. (Med.Tech) Kampol Panas-Ampol M.D.	
การตรวจสอบหน้าที่ต่อมธัยรอยด์ด้วยธาตุกัมมันตภาพรังสีไอโอดีน (I^{131})	49	Detecting of Thyroid Function by Radioiodine (I^{131})	49
ลำไพ ศรีสัจจัง วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) ดุษฎี ประภาสวัต พ.บ., C.R. (Rochester) Dip. Am. Board of Radiology and Nuclear Med., F.I.C.S., F.A.C.R.		Lumpai Sreesujjung B.S. (M.T.) Dusdee Prapasawat M.D., C.R.(Rocher) Dip. Am. Board of Radiology and Nuclear Med.,F.I.C.S., F.A.C.R.	
Hemoglobin Electrophoresis on Cellulose Acetate in Chiang Mai Medical Students and Patients	63	Hemoglobin Electrophoresis on Cellulose Acetate in Chiang Mai Medical Students and Patients	63
จำรัสศรี เกษมสวัสดิ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) พูนศรี ธรรมาสถิตย์ พ.บ., M.Sc. Med (pen.)		Jumrussri Kasemsawatdi B.S. (M.T.) Poonsri Thammasatit M.D., M.Sc. Med (Pen.)	
ย่อและรีวิวเอกสาร	83	Abstracts	83
ข่าว	84	News	84
บรรณาธิการแถลง	86	Editorial	86

สำนักงาน : โรงเรียนเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Office : School of Medical Technology The Faculty of Medicine Ciang Mai University.

กำหนดออก : ราย 4 เดือนฉบับ (ปีละ 3 ฉบับ)

Published : Tertailly.

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

บรรณาธิการ

น.พ. ชัยโรจน์ แสงอุจม, พ.บ.

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ผาสุก ชมเชิงแพทย์, อ.ทกพ.

กองบรรณาธิการ

เนตร สุวรรณคฤหาสน์, ว.ทบ. (เทคนิคการแพทย์)
สนอง ไชยารัศมี, ว.ทบ. (เทคนิคการแพทย์)
สนิท มกรแก้วเกยูร, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), วท.ม.
พัตราภรณ์ ชมเชิงแพทย์, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
ยุคนธร สุวรรณยอด, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
วิฑูรย์ ไวยนันท์, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
ทวี กันเอม วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

เหรัญญิก

เพ็ญศรี วรรณฤมล, อ.ทกพ.

ที่ปรึกษาฝ่ายวิชาการ

น.พ. ตะวัน วิริยกุล, พ.บ., D.T.M. & H. (Liverpool)
น.พ. กัมพล พนัศอำพล, พ.บ.
น.พ. ประยุทธ ฐิตะสุต, พ.บ., M.Sc.
น.พ. มุนี แก้วปลั่ง, พ.บ.
น.พ. มนตรี กันตะบุตร, พ.บ., Cert. in Physio., Biochem., and Neuro-Anatomy.
น.พ. สนาน สิมารักษ์, พ.บ., C.R. (Yale), Dip. Am. Board of Radiology.
พ.ญ.พูนศรี ธรรมาสถิตย์, พ.บ., M.Sc. Med. (Penn.)
Miss Thelma Garvin, M.S. (Chemistry)

BULLETIN OF CHIANG MAI MEDICAL TECHNOLOGY

EDITOR

Chairojana Saeng-Udom, M.D.

ASSOCIATED EDITOR

Pasook Chomcherngpat, Dip. Med. Tech.

BOARD OF EDITORS

Natre Suwankrughasna, B.Sc. (Med. Tech.)
Snong Chaiyarusmee, B.S. (M.T.)
Sanit Makonkawkeyoon, B.Sc. (Med. Tech.), M.Sc.
Patraporn Chomcherngpat, B.Sc. (Med. Tech.)
Yukonthorn Suwanyod, B.Sc. (Med. Tech.)
Vithoon Viyanant, B.Sc. (Med Tech.)
Tavee Kan-Ame, B.Sc. (Med. Tech.)

TREASURER

Pensri Vannaruemol, Dip. Med. Tech.

BOARD OF ADVISORS

Tawan Viriyakul; M.D., D.T.M. & H. (Liverpool)
Kampol Panas-Ampol, M.D.
Prayuth Thitaaut, M.D., M.Sc.
Muni Keoplung, M.D.
Montri Kantaputra, M.D., Cert. in Physio., Biochem., and Neuro-Anatomy.
Sanan Simarak, M.D., C.R. (Yale), Dip. Am. Board of Radiology.
Poonsri Thammasstit, M.D., M.Sc. Med. (Penn.)
Thelma Garvin, M.S. (Chemistry)

คำชี้แจงเกี่ยวกับเรื่องที่จะลงพิมพ์

△

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ ยินดีรับเรื่องเกี่ยวกับวิชาการทางเทคนิคการแพทย์ หรือทางการแพทย์จากสมาชิกทุกท่าน โดยมีระเบียบการดังต่อไปนี้

๑. ต้นฉบับต้องพิมพ์บนกระดาษพิมพ์สั้น และต้องตรวจให้เรียบร้อย

๒. ส่งต้นฉบับไปที่คณะบรรณาธิการ โรงเรียนเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

๓. ต้นฉบับที่ได้รับการพิจารณาลงพิมพ์ คณะบรรณาธิการจะส่ง Reprints จำนวน ๒๐ ฉบับ ให้แก่เจ้าของเรื่อง

๔. การเขียนเรื่องจะใช้ภาษาไทย หรือภาษาอังกฤษก็ได้ ถ้าเขียนเป็นภาษาไทย ต้องมีย่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ ถ้าเขียนเป็นภาษาอังกฤษ ต้องมีย่อเรื่องเป็นภาษาไทย และเรียงอันดับเรื่องดังนี้

ก. การกล่าวนำเรื่อง

ข. วิธีการและการทดสอบ

ค. ผลที่ได้จากการทดสอบ

ง. การวิจารณ์ผล

จ. เอกสารอ้างอิง (ให้เขียนตามแบบสากลนิยม)

ใบบอกรับเป็นสมาชิก

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ที่.....

วันที่ .....

ถึง บรรณาธิการ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ข้าพเจ้ายินบอกรับเป็นสมาชิก วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ ขอได้ส่งวารสารถึงข้าพเจ้าดังนี้

นาม.....

สำนักงาน .....

บ้านเลขที่..... ถนน..... ตำบล.....

อำเภอ..... จังหวัด.....

ข้าพเจ้าได้ส่งค่าบำรุงเป็นเงิน ๒๐.๐๐ บาท มาพร้อมแบบฟอร์มนี้แล้ว.

ลงชื่อ.....

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai Medical Technology
Vol. 1. No. 3.
September 1968

Tuberculosis In Nakorn Chiangmai Hospital

Natre Suwankrughasna, B Sc. (Med. Tech. *
*Kampol Panas-ampol, M.D.**

Tubercle bacilli or mycobacteria can be demonastrated readily by microscopic and culture procedures. The only sure method of determining the virulence of these microorganisms has been by use of appropriate animal inoculation. From time to time workers have suggested new techniqes for rapid determination of the virulence of mycobacteria. The most interesting of the newer tests have been the growth pattern (cord formation) the description of microscopic morphology of colonies in certain specific media and reaction of tubercle bacilli with a specific chemical agent (the cytochemical reaction.)

It was the purpose of this investigation to study the correlation between these tests of virulence and the classical determination of Mycobacteria, in Nakorn Chiang Mai Hospital

Materials and Methods.

A. Culture :-

Urine, spinal fluid and other material not contaminated with other bacteria may be concentrated by centrifuging and cultered directly. Sputum and stool are first treated with sodium hydroxide which is toxic contaminating microorganism but less so for tubercle bacilli. The liquefied specimen is then neutralized with hydrochloric acid and centrifuged and sediment inoculated into Lowenstein Medium (Difco). Incubation of the inoculated media is continued for 8 weeks.

B. The virulence and the classification

1. Cord formation (The growthy pattern, 3, 9.). It was noted that virulent strains of human and eugonic bovine tubercle bacilli form microscopic serpentine cords of varying length and thickness, which are made up of individual organisms lying side by side and end to end in parallel alignment. It was also noted that those eugonic variants which failed to form cords were avirulent. The most saprophytic strains are negative.

This cord formation is best observed by making smears of the condensation water from positive TB culture on Lowenstein Media.

2. Auramine test. Erlich (2) observed that when Mycobacterium tuberculosis was rubbed

* Department of Microbiology, Faculty of Medicine Chiang Mai University.

on to the filter paper impregnated which auramine, a bright yellow dye, the color of the dye persisted for more than 2 minutes after the addition of 0.5% NaOH. Auramine papers containing nonpathogenic mycobacteria were completely decolorized. The unclassified mycobacteria gave positive reactions, but the color produced varied from yellow to brick-red.

3. Catalase activity test studied by Kubica and others (6,7) demonstrated acid fast bacilli produce the enzyme catalase, which is detected by the breakdown of hydrogen peroxide and the active evolution of gas(O_2) bubbles. Detection of catalase activity has proved useful in two ways; (a) tubercle bacilli that become resistant to isoniazide will lose or show a lessened catalase activity: (b) the catalase activity of human or bovine strains may be selectively inhibited by heat.

Catalase activity may be determined in two ways;

1. At room temperature, 0.5 ml. of a 1:1 mixture of 10 % Tween 80 and 30 % hydrogen peroxide is added directly to a culture slant of Lowenstein medium. A positive catalase test is indicated by an active evolution of grossly visible gas bubbles within 2 minutes.

2. To determine the effect of pH and temperature on catalase activity several spadefuls of growth are scraped from the culture slant and suspended in 0.5 ml. phosphate buffer, pH 7, in a screw-capped tube and place in a 68°C. water bath for 20 minutes. After cooling to room temperature, 0.5 ml of the tween 80-peroxide mixture is added, and the reaction is observed as before.

4. Neutral Red test. (5) Dubos and Middlebrook (1) were the first to show that virulent strains of Mycobacterium tuberculosis were able to bine the dye, neutral red, in an alkaline aqueous medium, while the noncord forming variants of tubercle bacilli and nearly all saprophytes would not take up the dye.

5. Niacin test (1) Strong niacin production by an acid fast bacillus from a clinical specimen is strong evidence of its identity as a human tubercle bacillus. Conversely, an accurately performed test resulting in a negative reaction indicates another species of mycobacterium. The niacin test is done by adding a few drops of water or saline solution to the Lowensteinmedia and placing the tube so that the liquid remains on and around the colonies for over night, one or two drops of extract are then transferred to a white porcelain spot plate, and two drops each of the following reagents are added (1) 4 % aniline in 95 % ethanol, which should be nearly colorless, and (2) 10% aqueoue cyanogenbromide. (Both reagents are stored in the refrigerator in brown dropping bottles, and made up fresh each month.) Positive reaction gives a yellow color.

6. Thioglycollate test. (8,10.) This useful test, depends on observation of growth or its absence in fluid thioglycollate medium when inoculated with a mycobacterium. All virulent eugonic strains of mycobacterium fail to grow in this medium; bovine and avine strains require 4 weeks incubation to appear, Many strains of unclassified mycobacteria will grow in thioglycollate medium, but development is slow, and dysgonic, requiring 2 to 4 weeks for initial growth. All saprophytic strains give positive results; growth is rapid (1 to 2 days) and luxuriant, with pellicle formation.

Results.

During the years 2507 to 2510, the clinical laboratory examined 2516 specimens for tubercle bacilli from patients who were admitted to the hospital for a condition other than tuberculosis. More than 9% of the specimens were poitive. (see table 1)

The ages of the patients with positive cultures ranged from 1 to 79 years. A comparison of the number of cases for different age groups is given in table 2.

The 82 positive cultures which grew more than 10 colonies were tested for virulence by cord formation, auramine test, catalase activity test, neutral red test, niacin test, of these 81 strains were positive by the niacin test, and only one strain grew in the thioglycollate media. (see table 3)

Table 1. The clinical laboratory examination

Year	Cultures	Culture positive for TB.	
2507	456 cases	50 cases	10.98 %
2508	606 ,,	84 ,,	13.86 %
2509	760 ,,	54 ,,	7.10 %
2510	694 ,,	38 ,,	5.48 %

Table 2. Number of positive TB cultures in various age groups

Age between	Cases
1—16 years	1
11—20 ,,	6
21—39 ,,	19
31—40 ,,	14
41—50 ,,	14
51—60 ,,	14
61—70 ,,	12
71—	2

Table 3. Results of the tests

Strains	Cord	Catalase test		neutral red	niacin	auramine	thio-glyco.
		direct	heat				
81 strains	+ ve	+ ve	neg	+ ve	+ ve	+ ve	neg
1 ,,	+ ve	+ ve	neg	+ ve	neg	+ ve	+ ve 1 week
saprophytic strain	neg	+ ve	+ ve	neg	neg	neg	+ ve / 4 days

Discussion.

Of the 82 strains are virulents, 81 gave a positive niacin test, and only one strain grew on thioglycollate media. The saprophytic strain used as a negative control was obtained from Dr. Leon J Le Beau.* We found that only one strain is atypical strain (Unclassified mycobacterium) which gave an orange color colony. In those specimens digested with 4% sodium hydroxide, the atypical tuberculosis organisms may have been killed. More over, although the significance of "atypical mycobacteria" isolates is still unclear, (Ellner and Elbogen), (4) there is an increasing appreciation of disease in man caused by atypical tubercle bacilli.

The clinical laboratory examined 2516 specimens for tubercle bacilli from patients who were admitted to the hospital for a condition other than tuberculosis. More than 9% of specimens were positive. We can assume from the results of the cultures at this hospital that this may represent only a small proportion of the actual TB. carriers among the population of Chiang Mai who enter this hospital for treatment and management of some disease other than tuberculosis.

*Department of Microbiology College of Medicine, Illinois University, Chicago

References

1. Bailey and Scott. : Diagnostic Microbiology, C.V. Mosby Company, Second Edition. 1969, p. 174-195.

2. Erlich, H. : Rapid Identification of Mycobacterial Colonies, 1 The auramine test, Am. Rev. of Resp. Dis. 81:218, 1960.

3. Egian, D. and Kurung, J. : Growth pattern and Virulence of Tubercle Bacilli, Am. Rev. of Tuberc. 651:181-186, 1952.

4. Ellner, P.D. and Elbogen, S. : Modern Methods in Tuberculosis Bacteriology for the general Hospital, Tech. Bul. Regist. Med. Technol. 37:231-236, 1967,

5. Hughes, D.E., Moss, E.S., Hood, M. and Henson, M. : Virulence of Mycobacterium Tuberculosis Evaluation of a test, using neutral red indicator, Am. J. Clin. Path. 24: 621, 1954.

6. Kubica, G.P. and Pool, G.L. : Studies on the catalase activity of Acid fast bacilli, Am. Rev. of Resp. Dis. 81:387-391, 1960.

7. Kubica, G.P., Jone, Jr. W.D., Abbott, W.D., Beam, R.E., Kilburn, J.O., and Cater, Jr. J.C. : Differential Identification of Mycobacteria. 1 test on Catalase activity, Am. Rev. of Resp. Dis. 94:405, 1966.

8. Kock, M.L., Giffin, V.L. and Agostini, E.E. : The Selective Activity of Fluid Thioglycollate Medium for Group Differentiation of Atypical Chromogenic Mycobacterium, Mycobacterium Tuberculosis and Saprophytic Mycobacterium, Am. Rev. of Tuberc. 77:356-358, 1957.

9. Richmond, E. and Cumming, M.M.: An Evaluation of Methods of Testing the Virulence of Acid fast bacilli, Am. Rev. of Tuberc. 62:632, 1950.

10. Tarshis, M.S. : Further investication on the Selective Activity of Fluid Thioglycollate Medium for Group Differentiation of Mycobacterium Tuberculosis, Anonymous (atypical) Acid fast Bacilli and Saprophytic Mycobacteria, J. Lab. & Clin. Med. 54:630-633, 1959.

ย่อจากต้นฉบับ

วัณโรคในโรงพยาบาลนครเชียงใหม่

โดย

เนตร สุวรรณคฤหาสน์ วท.บ (เทคนิคการแพทย์)*

กัมพล พนัศอำพล พบ.*

ในระหว่างปี ๒๕๐๗ ถึง ๒๕๑๐ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลีนิค ได้เพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อหาเชื้อวัณโรคจากตัวอย่างตรวจต่างๆ จากคนไข้จำนวน ๒๕๑๖ ราย ซึ่งคนไข้ทั้งหมดเข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ด้วยโรคอื่นๆ ปรากฏพบเชื้อวัณโรคมากกว่าร้อยละ ๙ และเราได้เอาเชื้อวัณโรคที่เจริญขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีมากกว่า ๑๐ โคโลนี เลือกมา ๘๒ ราย เอามาทดสอบหาไวรูเลนซ์และแยก พวก พบว่าทั้ง ๘๒ ราย เป็นไวรูเลนซ์สเตรน ปรากฏว่าเป็นอทิบีคอลสเตรน ๑ ราย

จากผลการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคของห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลีนิค เราพอจะสรุปได้ว่าจำนวนของคนไข้ที่ตรวจพบเชื้อวัณโรค ซึ่งเป็นคนไข้ที่ไม่ทราบว่าตนเป็นวัณโรคมาก่อน และคนไข้เหล่านี้ย่อมจะเป็นแหล่งแพร่เชื้อวัณโรคได้เป็นอย่างดี

* แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai Medical Technology

Vol. 1 No. 3
September 1968

การตรวจสอบหน้าที่ของต่อมธัยรอยด์ ด้วยธาตุกัมมันตภาพรังษีไอโอดีน (I^{131})*

ลำไพ ศรีสัจจัง วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)**

Consultant:- ดุษฎี ประภาสวัต พ.บ.*** C.R. (Rochester)., Dip. Am. Board of Radiology and Nuclear Med. F.I.C.S., F.A.C.R.

I^{131} คือ ธาตุชนิดเดียวกันกับไอโอดีนธรรมดาที่เราต้องการไปสร้างเป็น thyroid hormone ซึ่งมี Atomic number เดียวกัน แต่มี mass number ต่างกันหรือพูดอย่างง่ายๆว่ามีคุณสมบัติทางเคมีเหมือนกัน แต่ทาง physics ผิดกัน

อะตอมของธาตุไอโอดีน ประกอบ 53 protons (Atomic number 53 ซึ่งเป็นจำนวน Free Protons ที่มีใน Nucleus ซึ่งเท่ากับจำนวน Electron รอบๆ Nucleus นั่นเอง) และมี 74 neutron ฉนั้นมี Mass number เท่ากับผลบวกของจำนวน free Proton กับจำนวน Neutrons ในอะตอมนั้นคือ 53+74 = 127 ดังนั้น Symbol of Iodine ชนิดนี้คือ $_{53}I^{127}$ แต่อะตอมของรังสีไอโอดีนมี 78 neutron (ฉนั้น mass number 53+78=131) หรือ $_{53}I^{131}$ ไอโอดีนทั้งสองชนิดนี้เรียกว่า Isotope

เพราะฉนั้น Isotope คือ อะตอมของธาตุชนิดเดียวกันมี atomic number เดียวกัน แต่มี atomic weights ต่างกัน แต่ I^{131} เป็นธาตุที่แตกต่างไป จากไอโอดีน ธรรมดา อีกอย่างหนึ่งคือ I^{131} เป็นธาตุกัมมันตภาพรังสีที่มีลักษณะพิเศษเพิ่มขึ้น คือมีการแผ่รังสี เพราะว่า I^{131} เป็นธาตุที่คงอยู่ไม่ได้ มีการสลายตัวของ Nucleus (decay) ให้พลังงานในรูปของรังสี (beta, gamma ray) ทำให้หมดสภาพเดิมไป แล้วกลายเป็นธาตุอื่น ถ้า

---

* The Term Paper For The Degree of B.S. (M.T.)

** ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*** ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ธาตุที่เกิดขึ้นใหม่ยังเป็นธาตุกัมมันตภาพรังสีก็จะสลายต่อไป แล้วสุดท้ายจะไปหยุดอยู่ที่ธาตุหนึ่ง ซึ่งไม่เป็นกัมมันตภาพรังสี

ธาตุกัมมันตรังสีไอโอดีน (I^{131}) มีประโยชน์ในทางการแพทย์อย่างมาก มายในการวิจัยและรักษาโรคคอพอก ซึ่งเราสามารถจะติดตามดูได้ว่าธาตุนั้นไปอยู่ที่ไหน, จำนวนเท่าใด โดยใช้เครื่องมือวัดรังสี ถึงแม้จะมีจำนวนน้อยเพียงใดก็ตาม ดังนั้นเราสามารถจะติด (label) ธาตุกัมมันตรังสีจำนวนเล็กน้อยเข้ากับธาตุธรรมดา แล้วใส่สารพิเศษนี้เข้าไปในตัวคนโดยการ กิน หรือสวนทางลำไส้ก็ตาม เราก็อาจติดตามดูการเปลี่ยนแปลงของธาตุนั้นในคนได้ วิธีศึกษาเช่นนี้เรียกว่า Tracer technique ซึ่งมีประโยชน์มาก ช่วยให้เรารู้กลไกของการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในสิ่งที่มีชีวิตได้กว้างขวางขึ้น

วิธีการและการทดสอบ

ความมุ่งหมายในการวัด radiation หรือ radioiodine เพื่อต้องการวัดจำนวนของ Isotope ที่กระจายอยู่ทั่วไปภายในร่างกาย หรือในตัวอย่างตรวจเครื่องมือชนิดต่างๆ ที่ใช้วัดมีหลักทั่วๆ ไปในการออกแบบ และใช้เครื่องมีวิธีเหมือนๆ กัน หลักในการวัด radioactive isotope เพื่อจะสืบหาและวัดจำนวนการเกิด ionization ของรังสีที่ถูกปล่อยออกมาใน Suitable medium เครื่องมือที่ใช้ตรวจมีส่วนประกอบที่สำคัญที่สุด 2 ส่วนคือ

1. ส่วนที่ทำให้เกิด Ionized
2. ส่วนที่บอกจำนวน Ionized

เครื่องมือที่ใช้วัด ionizing radiation นี้เรียกว่า ionization chamber โดยใช้อากาศเป็น ionizer

มีการวัด Radiation อีกแบบหนึ่งคือวัดได้เป็นครั้งๆ เครื่องมือนี้เรียกว่า Scintillation Counter มีหลักดังนี้ เมื่อมี gamma ray ที่ถูกปล่อยออกมาจากธาตุมาถูกกับ Crystal ก็จะเกิด Fluorescent สว่างขึ้น และมีเครื่องรับและขยายแสง Fluorescent เรียกว่า photomultiplier แล้วส่งเข้าเครื่องนับ เรียกว่า Scaller อีกครั้งหนึ่ง Well-type Scintillation counter ใช้ในเมื่อมี Crystal volume ขนาด 1 ถึง 5 C.C. คือเหมาะกับ Sample volume ไม่มากเกินไป ฉนั้นเหมาะกับการหาจำนวน I^{131} ในเลือด

วิธีตรวจหา Thyroid function **ด้วยสารกัมมันตรังสี** I^{131} มีวิธีตรวจหาได้หลายอย่างคือ

ตรวจข้อบกพร่องในการ ดัก จับ I^{131} ว่าถูกขัดขวางหรือไม่ ซึ่งปฏิกริยานี้เกี่ยว

ข้องกับ enzyme หลายอย่าง ถ้าปฏิกริยานี้เสียจะทำให้ต่อมธัยรอยด์ไม่สามารถดูด หรือจับ I^{131} ไว้ได้ และย่อมทำให้เกิดผลตามขั้น 2 ประการคือ

1. I^{131} ที่ควรจะถูกดักจับ โดยต่อมธัยรอยด์ ก็จะถูกขับออกมาทางบั้สสาวะโดยสั้นเชิง

2. เนื่องจากการสังเคราะห์ ฮอร์โมนของต่อมธัยรอยด์ถูกขัดขวาง ต่อม Pituitary ก็จะสนองตอบ โดยหลั่ง Thyrotropic hormone ออกมามาก ทำให้ต่อมธัยรอยด์โตขึ้น

เหตุผลอันนี้ได้รายงานโดย Stanbury และ Chapman (1960) ในผู้บ่วยชายอายุ 14 ปี คนหนึ่งมีอาการ hypothyroidism มาแต่กำเหนิด มีต่อมธัยรอยด์โตมาก การดักจับ I^{131} เกือบไม่มีเลย ถ้าวัด I^{131} uptake ใน 6 ชั่วโมงจะได้ค่าต่ำกว่าปรกติ

แต่ถ้าปฏิกริยานี้ดี แต่ร่างกายขาดธาตุไอโอดีนเท่านั้น จะวัด I^{131} uptake ได้ค่าสูงภายใน 6 ชั่วโมง เพราะว่าภายใน 1 ชั่วโมง I^{131} จะถูกดูดซึมทาง gastrointestinal tract หมด ทำให้ระดับของ I^{131} in Plasma มีความเข้มข้นสูงภายใน 1 ชั่วโมง

2. ตรวจข้อบกพร่องในการสังเคราะห์ไอโอดีนอินทรีย์ เมื่อได้รับ Radioiodine ขนาดน้อย ต่อมธัยรอยด์จะจับไอโอไดด์ไว้ได้มาก และได้เร็ว (Stanbury and Hedge 1950) เนื่องจากการขัดขวาง Oxidation ของไอโอไดด์เป็นไอโอดีน เพราะขาด enzyme peroxidase (Haddad and Sidbery 1959) เพราะฉนั้น iodotyrosine และ iodothyronine จะเกิดขึ้นน้อยหรือไม่มีเลย

3. ข้อบกพร่องในการ Coupling iodotyrosyl ให้เป็น iodothyronine เมื่อต่อมธัยรอยด์กระหายไอโอดีนมาก ดูดจับ I^{131} ไว้ได้เร็วและได้เกือบ 100 % การวิเคราะห์ต่อมธัยรอยด์ที่ตัดออกมา พบว่ามี iodotyrosyl มากและมี iodothyronine น้อย

4. ข้อบกพร่องของ Iodotyrosine dehalogenase (คือเอ็นซัยม์ที่ดึง Iodine ออกจาก Thyroglobulin เพื่อสังเคราะห์เป็น mono และ diiodotyrosine) ผู้บ่วยที่มี Hypothyroidism และต่อมธัยรอยด์โต เพราะไม่สามารถจะ deiodinate mono และ diiodotyrosine เพราะการขาดเอ็นซัยม์ dehalogenase mono และ diiodotyrosine จะไม่วนกลับเป็นไอโอไดด์ และ tyrosine, mono และ diiodotyrosine ก็จะเข้าสู่กระแสเลือดและเมื่อไม่ถูกไอโอดิเนท ก็จะถูกขับออกทางบั้สสาวะ

ในสภาพของ mono และ diiodotyrosine ไอโอไดด์จึงหมดโอกาสที่ จะวนกลับ มาถูก ใช้ใหม่ได้อีก

การ test หาข้อบกพร่อง ของต่อม ธัยรอยด์ดังกล่าวมาแล้ว เรียกว่า Radioiodine uptake test คือการวัดจำนวน I^{131} ทั้งหมดที่ถูกจับไว้โดยต่อมธัยรอยด์ โดยให้ fasting patient กิน I^{131} จำนวนหนึ่ง และจำนวน I^{131} ที่จะให้คนไข้กินนั้นต้อง Count หา activity เสียก่อน เมื่อครบ 6 ชั่วโมงใช้Crystal of the Scintillation counter ตรวจคนไข้ในท่านอนให้ระยะจาก Detector ถึง ต่อมธัยรอยด์ 25 ซ.ม.และเมื่อครบ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงก็ count หาจำนวน I^{131} ที่ต่อมธัยรอยด์และที่ขาอีกครั้งหนึ่ง แล้วเอา actual number of counts over the gland per minute **ลบด้วย** background count per minute (thigh counts) ของแต่ละครั้งแล้ว converted to percentage of the diagnostic dose of I^{131} administered and a correction is made for the 24 hour decay.

Dose of I^{131} ขนาดของ I^{131} ที่ใช้สำหรับการตรวจหา 24 ชั่วโมง uptake มีขนาดตั้งแต่ 1–40 microcuries ถ้าใช้ dose จำนวนน้อย เครื่องมือที่จะใช้วัดต้องเป็นชนิดที่มีความไวมาก และให้ uptake is measured in infants and dhildren ในเด็กอายุ 5 ปีขึ้นไป ให้ 1–3 Mc, 13–15 ปี ให้ 3–8 Mc, ถ้าอายุ 15 ปีขึ้นไปให้ dose เท่ากับผู้ใหญ่

ถ้ามีความจำเป็นในการทำ uptake ร่วมกับหาค่า PBI ^{131} ต้องใช้ dose อย่างน้อยที่สุด 15 microcuries ขึ้นไป

ถ้าทำ thyroid Scanning ต้องใช้ dose ไม่น้อยกว่า 40 microcuries

สาเหตุที่ทำให้ค่า I^{131} uptake ต่ำ

1. Inorganic and Organic Iodine เช่น

(1) Iodized salt ที่มีไอโอดีนประกอบอยู่ตัวยาไม่ต่ำกว่า 0.01%

(2) ยาต่างๆ ที่มีไอโอดีนเป็นส่วนประกอบเช่น Cough medicines, Cough drops, Asthma remedies,

(3) Iodine ที่ถูกดูดซึมเข้าทางผิวหนัง เช่น tincture of iodine ที่ใช้ใส่แผลหรือใช้ในการผ่าตัด

(4) Barium ที่ใช้ใน gastrointestinal and barium enema roentgenography contains iodine ถึงแม้ว่ามันจะไม่มีผลเท่าใด ถ้าเว้นไม่ได้ก็ควรจะทำ radioiodine test เสียก่อน

(5) ในการทำ roentgen Studies เช่น ใช้สารพวก organic iodinated compounds for contrast purposes ในราย gallbladder series, intravenous or retrograde Pyelography, cystography, arteriography, and lipiodol instillations into the bronchial tree or spinal canal.

Mechanism of iodine inhibition of the Thyroid.

ภายหลังเมื่อหยุดกินหรือ ทาสาร ที่ เป็น inorganic iodide แล้วก็ตามแต่ inhibition ก็ยังคงอยู่ได้นาน ซึ่งขึ้นอยู่กับระดับของ thyroid's secretory activity and the length of the treatment. ฉนั้นในการทำ uptake หลังจาก hyperthyroid patient ซึ่งได้รับการรักษาด้วยยาที่มีส่วนประกอบ เป็นไอโอไดด์ ก็ควรจะทำ uptake ให้เวลาห่างออกไป ซึ่งเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 เดือน

ใน Euthyroid subjects ยิ่งต้องใช้เวลานานกว่า คือไม่น้อยกว่า 4-6 อาทิตย์ จึงทำการตรวจได้

ใน Euthyroid patient ที่ให้ iodide เป็นเวลานานต้องทำ uptake ไม่น้อยกว่า 12 อาทิตย์หรือมากกว่านั้น

Organic iodinated compounds จะมีผล inhibit เป็นเวลานานกว่า inorganic iodide

2. Antithyroid drug เช่น iodothiouracil ทำให้ค่า PBI ขึ้น และ inactivates uptake of I^{131} ฉะนั้นผลของยาที่ใช้รักษา hyperthyroidism ไม่สามารถที่จะตรวจโดยวิธี radioiodine or PBI ได้ ซึ่งมันทำให้ค่า PBI สูง อาจจะถึง 1 เดือน หลังจากการรักษา

3. Thyroid therapy เช่น Thyroid Extract, thyroxine and triiodothyronine มีผลทำให้ Pituitary ปล่อย thyrotropin ออกมามาก ทำให้ค่าของ Uptake of I^{131} ผิดไป ฉะนั้นต้องทำ uptake หลังจากการให้ Thyroid or thyroxine therapy ไม่น้อยกว่า 4-6 อาทิตย์ ถ้ารักษาด้วยยานี้เป็นเวลานานมาก ต้องใช้เวลาอย่างน้อย 12 อาทิตย์

ถ้าให้พวก Triiodothyronine therapy เวลาอาจจะสั้นกว่า เนื่องจากมันถูก metabolized ได้รวดเร็ว

4. Estrogens, Cortisone and other steroids ทำให้ค่า uptake of I^{131} ต่ำที่อยู่ในระหว่างการ รักษาด้วย Steroids, Progesterone, desoxycorticosterone, adrenocortical compound E,F, and their their analogenes, Estrogen, แต่ testosterone ไม่มีผลต่อ uptake. ฉะนั้น ในการทำ Uptake of I^{131} ต้องทำหลังจากการรักษาไม่น้อยกว่า 6 อาทิตย์

5. Acute and chronic thyroiditis, Panhypopituitarism ซึ่งจะทำให้ค่า 24 hour uptake of I^{131} ต่ำกว่าปรกติ เนื่องจากต่อมธัยรอยด์ไม่สามารถจะจับ I^{131} ไว้ได้เลย ในราย Acute thyroiditis ที่มีต่อมธัยรอยด์เสียทั้งสองข้าง ถ้าต่อมธัยรอยด์เสียข้างเดียว ค่าของ uptake อาจจะปรกติ

ใน chronic thyroiditis ค่า uptake อาจจะสูงกว่าปกติ และค่า PBI ^{131} จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เพราะ marked hyperplasia or of associated hyperthyroidism ถ้า chronic thyroiditis เนื่องจาก destruction of sufficient gland parenchyma to abolish function ค่า uptake จะต่ำ

ใน Panhypopituitarism ค่า uptake จะต่ำกว่าปรกติ เพราะว่าการดักจับไอโอไดด์ช้า

สาเหตุที่ทำให้ค่า I^{131} uptake สูงขึ้น

1. มีจำนวนไอโอดีน ที่เก็บไว้ใน ต่อมธัยรอยด์และในร่างกายน้อยมาก หรือ I^{131} ถูกขับออกทางไตช้ากว่าปรกติ เนื่องจาก renal or circulatory failure

2. เนื่องจากการกินอาหาร ที่มีธาตุไอโอดีนไม่พอเพียง ทำให้ต่อมธัยรอยด์กระหายไอโอดีนมาก และเมื่อให้ I^{131} เข้าไปมันจะจับไอโอดีน ^{131} ไว้ได้เร็ว และได้เกือบ 100 % ทำให้ค่า I^{131} uptake ในราย euthyroid individual ซึ่งอาจจะเข้าใจว่าเป็นพวก hyperthyroidism ก็ได้ ถ้าดูแต่ I^{131} uptake อย่างเดียว

3. ภายในต่อมธัยรอยด์ถูกขัดขวางในการใช้ไอโอดีนให้เป็นไปตามธรรมชาติหรือถูกขัดเนื่องจากการให้พวกantithyroid agent เช่นพวก thiocyanate, Perchlorate ทำให้ I^{131} uptake ใน euthyroid individual อาจจะสูงเท่ากันกับใน hyperthyroidism

4. Uptake of I^{131} ที่ยังคงเหลืออยู่ในต่อมธัยรอยด์ ในสองสามเดือนแรก หลังจากการผ่าตัดหรือ radioiodine therapy for toxic goiter อาจทำให้ค่า I^{131} uptake ในการตรวจครั้งสุดท้ายก็ยังสูงอยู่ ถึงแม้ว่าผู้ป่วยนั้นหายเป็นปรกติแล้ว

5, อัตราการปล่อย thyriod hormone เข้าสู่กระแสโลหิตได้ไม่รวดเร็วเท่าที่กำหนดก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่า I^{131} uptake สูงได้

6. ในรายเป็น chronic thyroiditis

7. [14] ใน Renal failure ทำให้ค่า I^{131} uptake เพิ่มขึ้น ถ้า Renal ปรกติจะมี 3 % ของ Plasma iodide ^{131} จะถูกขับออก

ทาง renal glomerulus ซึ่งจำนวนนี้จะไม่ถูกดูดกลับโดย tubular และออกมาในปัสสาวะที่เหลืออีก 97 % ยังคงหมุนเวียนอยู่ในกระแสโลหิต Hlad and Bricker พบว่า renal clearence of Plasma iodide (normally 30 to 40 ml per minute) is a function of the rate glomerular filtration ซึ่งจะมีค่าสูงใน hyperthyroidism และมีค่าต่ำใน myxedema เขาได้ทำการทดลองเกี่ยวกับ renal clearance of the halides is curious ในสุนัขพบว่า clearance of fluoride ประมาณ 3 ml per minute, chloride 0.16 ml และ Bromide 0.1 ml. per minute.

ฉะนั้นในการตรวจหา thyroidal fnnction ในทางภาคปฏิบัติโดยใช้ radioiodine จะมีผล effect เกี่ยวกับการกินเกลือและน้ำ ซึ่งจะถูกขับออกไปทางปัสสาวะ

Leblond and Colleagues พบว่าขนาดของ goiter developing in mice on iodine deficient diets varied directly กับจำนวน Sodinm chloride ที่ใส่ลงไปในอาหาร เพราะฉะนั้นใน renal disease or congestive heart failure จะพบว่า thyroidal uptake of I^{131} สูง

ในการตรวจหา secretory activity of the thyroid ยังไม่มีวิธีใดทาง laboratory จะสมบูรณ์หรือดีที่สุดในการทำสักวิธีเดียว ถึงแม้ว่าจะทำร่วมกันหลายวิธีก็ตาม ก็ยังคงมีข้อผิดพลาดอยู่เสมอ แต่ที่ใช้กันอยู่ทั่วๆ ไปและมากที่สุดทุกวันนี้มี 4 วิธีคือ

1. การวัด basal metabolic rate คือเป็นการวัดจำนวนความร้อนที่เกิดขึ้นในร่างกาย ซึ่งอยู่ภายใน Specified conditions ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในโรงพยาบาลส่วนกลาง และส่วนภูมิภาค ซึ่งเป็นวิธีการวัดผลทางอ้อมคือวัด Metabolic rate ที่เกิดจากผลของ thyroxin ที่ผลิตโดยต่อมธัยรอยด์ และผลที่ได้ยังไม่ค่อยแน่นอนนัก แต่ก็สามารถจะทราบค่าของ hyperthyroid และ hypothyroid function ได้อย่างพอประมาณ และการวัดนี้ ถ้าเราขจัดปัญหาข้อผิดพลาดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นทาง technic การตรวจและจากคนไข้แล้ว ผลที่ออกมาก็เป็นที่น่าพอใจ เพราะการตรวจแบบนี้เป็น การตรวจที่ง่ายมาก และรวดเร็วใช้เวลาเพียง 6 นาที เราก็สามารถจะ diagnosis ได้ และการตรวจแบบนี้ก็ไม่ต้องสิ้นเปลืองเงินมากในการซื้อ chemical และเครื่องมือมาทำ เพียงแต่หา Oxygen มาเพียงถังเดียวก็สามารถจะตรวจคนไข้ได้ตั้งหลายสิบคน ในเวลาอันรวดเร็ว ตลอดจนวิธีการก็ไม่ยุ่งยากจนเกินไป แต่ผลของ

การทำและปฏิบัติ error มาก และค่าที่ได้เราทราบแต่เพียงว่ามี thyorxin function มากน้อยแค่ไหน และยังมีโรคอื่น ๆ อีก ซึ่งไม่เกี่ยวกับ thyroid function แต่ทำให้ค่า BMR เปลี่ยนแปลงได้

2. การตรวจทาง Biochemistry เพื่อหาจำนวน Organic iodine ที่มัน Combine อยู่กับ Protien in plasma เป็นวิธีตรวจ thyroid function โดยตรง ซึ่งเป็นวิธีค่อนข้างจะแน่นอน และมีผลเชื่อถือได้มากกว่าวิธี B.M.R. แต่ก็ยังมี error และ factor อื่น ๆ อีกมากทั้งในทาง technic และคนไข้ ตลอดจนวิธีการทำก็ยุ่งยาก และต้องเวลาอย่างน้อย ๒ วัน จึงจะทราบผล และค่าใช้จ่ายในการทำก็ค่อนข้างสูง ไม่ค่อยเหมาะใน งาน Routine เท่าใดนัก

3. เป็นการตรวจทาง Biochemistry อีกวิธีหนึ่ง ที่นิยมใช้กัน คือ หาจำนวน Cholesterol ใน serum ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับความจริงถึง 75 % (12) P. 127 แต่ก็ยังไม่เป็นวิธีที่ Specific เพราะให้ค่าเชื่อถือได้ใน ราย hypothyroid function กว่านั้น แต่ในการตรวจใน ราย hyperthyroid ไม่ค่อยได้ผล ส่วนวิธีการและค่าใช้จ่ายมากพอๆกับวิธีที่ 2

4. เป็นวิธีตรวจทาง Radioiodine คือ I^{131} uptake ดังได้กล่าวมาแล้วใน เรื่องนี้ วิธีนี้ถ้าเทียบกับ 3 วิธีข้างต้น ให้ผลดีและแน่นอนที่สุด ข้อผิดพลาดต่าง ๆ ก็เกือบจะไม่มีเลย แต่ค่าใช้จ่ายในการตรวจ และเครื่องมือตรวจ และสารกัมมันตรังสีไอโอดีนแพงมาก ไม่เหมาะกับโรงพยาบาลเล็กๆ และไม่เหมาะกับการใช้ตรวจเป็น Routine แต่ถ้าหา I^{131} uptake อย่างเดียวก็ไม่ค่อยสมบูรณ์นัก ต้องหาร่วมไปกับวิธีอื่น โดยการใช้ I^{131} เหมือนเช่นกัน

(1.) Conversion Ratio เป็นการเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างจำนวน radioiodine ทั้งหมดที่อยู่ใน Plasma กับจำนวน ที่มัน fixed อยู่ใน Plasma protien 24 ชั่วโมง หลังจากการกิน I^{131} ค่าอัตราส่วนนี้เทียบเป็น Percentage. การ test นี้สามารถที่จะแยก hyperthyroidism ออกจาก euthyroidism ได้ แต่ไม่สามารถจะแยก euthyroidism ออกจาก hypothyroidism เพราะว่าในคนที่มีต่อมธัยรอยด์ปรกติ ส่วนมากมีค่า conversion ratio ต่ำ ในการหา Conversion ratio เอา blood sample 24 ชั่วโมง หลังจากให้กิน I^{131} มาแยกเอา Plasma ออกแล้ว นำ Plasma นี้มาวัดหา radioactivity ด้วย Scintillation Counter แล้วนำ Plasma นี้มาทำโปรทีน ตกตะกอน

ด้วย Trichloracetic acid และล้างตะกอน radioactivity อีกครั้งหนึ่ง

เพื่อเอาส่วนที่เป็น Plasma ออกเสียให้หมด แล้วนำตะกอน ซึ่งเป็นโปรตีน ที่มี I^{131} จับอยู่ เรียกว่า Protien-bound I^{131} มาวัดหา

ผลที่ออกมาเป็น ratio of radioactivity in protien fraction, in counts per second กับ total plasma radioactivity, in counts per second.

$$\text{Conversion ratio} = \frac{\text{Protien-bount } I^{131} \text{ in c./s, x 100}}{\text{Total plasma } I^{131} \text{ in c./s.}}$$

(2.) Butanol Extractable of I^{131} เพื่อหาจำนวน Thyroxin จริงๆ ที่อยู่ใน serum ซึ่งเป็นวิธีดีกว่าหา PBI^{131} เพราะ PBI^{131} มีทั้งไอโอดีนที่เกิดจาก Thyroxin และไอโอดีนที่กินเข้าไปเป็น free Iodine in plasma.

(3.) Scan Diagnotic เพื่อดูรูปร่างของ thyroid gland ภายหลังจากกิน I^{131} 24 ชั่วโมง

ความแม่นยำของทั้ง 3 วิธีนี้มี Werner and Colleagues ได้ทำเปรียบเทียบไว้จากของคนอื่นที่ทำไว้อีกทีหนึ่ง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 Percentage of Cases without Overlap Between Euthyroidal and Hyperthyroidal States.

Authors	Test		
	BMR	PBI	I^{131} uptake
Jaffe and Ottoman	67	80	90
Perlmutter and Slater	65–70	80–85	90
Zieve, Skanse and Schultz	69	82	91

ตารางที่ 2 Common Extrathyroidal Causes of Altered Results in Laboratory Test of Thyroid Function.

Causes	Test*			
	BMR	I^{131}	PBI	Cholesterol
Endocrine				
Pituitary				
Eosinophile adenoma (acromegaly)	+,O,–	+,O,–	+,O,–	+,O,–
Atrophy or destruction (panhypopituitarism)	–	O,–	O,–	+,O
Adrenal				
Cortical hyperplasia a adenoma	+,O,–	O	O,–	+,O
Cortical destruction or atrophy	–	O	O	O
Medullary tumor (pheochromocytoma)	–	O	O	O
Gonads				
Eunuchoidism, castration, menopanse	–	O	O	O
Blood and lymphopid tissue				
Severe anemia	+	O	O	O
Leukemia and other lymphoblastomas.	+	+,O	O	O
Pulmonary				
Failure frome emphysema, etc.	+	O	O	O
Obstruction	+	O	O	O
Cardiovascular				
Heart failure	+	+,O	O	O
Hypertensive disease	+	O	O	O

Causes	Test*			
	BMR	I^{131}	PBI	Cholesterol
Gastrointestinal				
Cirrhosis		+,O	−	−
Infectious hepatitis	O	O	+	−
Genitourinary				
Nephrosis	−	+,O	−	+
Nephritis	O	−	O	O
Neuromuscular				
Emotional influences	+,O,−	O	O	O
Paralysis	−	O	O	O
Exercise	+	O	O	O
Atrophies	−	O	O	O
Miscellaneous				
Pregnancy	+	O	+	+
Nutrition				
Obesity	+,O,−	O	O	+,O
Constitutional thinness	−	O	O	O
Anorexia nervosa and stavation	−	O,−	O	−
Fever		O	O	O
Stress	+	O,−	−	O
Drugs				
Iodine (organic and inorganic)	O	−	+	O
Thyroid	+	−	+ −	−
Antithyroid drugs	−	−	−	+

Cause	Test*			
	BMR	I^{131}	PBI	Cholesterol
Fpinephrine	+	O	O	O
Cortisone (long term)	–	–	–	+
Dinitrophenol	+	O	O	O
Caffeine	+	O	O	O
Benzedrine and Dexedrine	+	O	O	O
Salicylates, Dilantin	+	O,–	O,–	O
Cobalt	O,–	–	–	+,O
P–amino salicylic acide	O,–	–	–	+,O

* +, increased value ; O, normal value ; –,decreased value.

สรุปผลการทดสอบ

ในการตรวจ Thyroid function นั้น ถ้าไม่คำนึงถึงรายจ่ายที่ใช้ใน การ ตรวจแล้ว วิธีทาง I^{131} uptake เป็นวิธีที่ดีที่สุด แต่ต้องใช้วิธีอื่นๆ ทาง Radioiodine ร่วมไปด้วย จึงจะให้ผลแม่นยำยิ่งขึ้น เช่นในคนไข้ที่ขาดไอโอดีน เพื่อมาทำ I^{131} uptake อย่างเดียวก็จะได้ค่า uptake สูง ทำให้คิดไปว่าคนไข้นั้นเป็น hyperthyroidism ได้ ทั้งๆที่เป็น euthyroidism ถึงแม้ว่าจะไม่ตรวจทาง Radioiodine ทุกอย่างไปก็ได้แต่ก็ควรตรวจทาง BMR หรือ PBI เป็นการเปรียบเทียบไปด้วยดีกว่า จะ ใช้ วิธี ตรวจ วิธีเดียว ผลผิดพลาดอันนี้ดังเห็นในตารางของการตรวจในคนไข้บางรายดังตารางข้างต้น ตารางที่ 2

เอกสารอ้างอิง

1. Harold A. Horper: Review of physiological Chemistry 20: 374 (1965)
2. Edward J. Reith: Text book of anatomy and Physiology. 26: 317 (1964)
3. Eward E. Selkurt: Physiology. 35: 667, (1963)
4. Solomon Silver: Radioactive isotopes in medicine and biology. PP 16-19 (1963)
5. Stanley W, Jacob and Clarice Ashworth Francone. PP 442 (1965)
6. Arthur C. Guyton: Text book of Medicial Physiology 75: 1014 (1956)
7. คณะอนุกรรมการสาขาโภชนศาสตร์ ในคณะกรรมการโภชนาการแห่งชาติ ตำราโภชาการ ปี 2510 หน้า 127
8. Kelly, F.C. and Suedden, W.W.: Prevalence and geographical distribution of endemic goitre. Bull. World Hlth. Org. 44, 27 (1967)
9. Amorn Nondasuta, Anong Nondasuta, Nivat Tepmani, and Porn Tepsuporn: Survey of goitre in school Children in Prae. Tobe publlshed.
10. Amorn Nondasuta, Romsai Suwandik, and Anong Nondasuta: Report on endemic goitre research and and surveys, Prae, Thailand. J.M.A.T. 43, 609 (1960)
11. Romsai Suwanik, Direk Pongspipat, Somborn Noi-Snga and Uthai Bisolyabutra,: Iodine Content in Various materials and Thai relations and goitre to be published.
12. Sidney C. Werner: The thyroid. Hoeber Medical Division Harper & Row, Publishers. PP 197 (1962)
13. Hazara Beach I and David E. Smith: the Thyroid. Williams & Wilkins Co, Baltimaxe U.S.A. Published. PP183(1964)
14. Charles A. Owen: Diagnostic Radioisotope. Charles C Thomas Springfield Illinois, U.S.A. Published. PP 57 (1959)
15. Sidney C. Werner: The Thyroid. P-223. Cited by Quimby, E.H.; Werner, S.C., and Schmidt, C: Influence of age sex and season upon radioiodine uptake by the human Thyroid. Proc. Soc, Exper. Biol. I Med. 75:537, 1950.
16. Sidney C. Werner: The thyroid P 223 Cited by Talbott, J. Personal Communication.
17. Romsai Suwanik and Rudee Plechachinda: Goiter and Iodine Metabolic Errors, Thailand. J.M.A.T. 49, 534 (1966). Cited by Stanbury, J.B., and Chapman, E.M.: Congenital hypothyroidism with goitre Absence of an iodideconcentrating mechanism Lancet 1, 1162, (1960)

18. Cited by Stanbury J.B. and Hedge, A study of a family of goitrous cretins. J. Clin. Endocr. 10, 1471. (1950)

19. Cited by Hadded, H.M., and Sidbury., J.B.: Defect of the iodinating System in Congenital goitrous Cretinism; report of a case with biochemiscal studies. J. Clin. Endocr. 19, 1446, (1959)

20. Cited by Stanbury, J.B. Ohela, K., and Pitt-Rivers, R.: The metabolism of iodine in 2 goitrous Cretius Compared with that in 2 patients receiving methimaszole. J. Clin. Endocr. 15, 54, (1955):

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ Vol. 1 No. 3
Bulletin of Chiang Mai Medical Technology September 1968

HEMOGLOBIN ELECTROPHORESIS ON CELLULOSE ACETATE IN CHIANG MAI MEDICAL STUDENTS AND PATIENTS *

จำรัสศรี เกษมสวัสดิ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) **

Consultant: พูนศรี ธรรมาสถิตย์ พ.บ., M.Sc. Med. (Pen). ***

Eelectrophoresis เป็นที่รู้จักกันมานานราว 150 ปีแล้ว ในปี ค.ศ. 1807 Alexander Reuss นักฟิสิคส์ชาวรัสเซีย ได้พบว่าถ้าผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปในหลอดแก้วที่มีดินเหนียวละลายอยู่ในน้ำ พวก colloidal clay จะเดินไปหาขั้วบวก ซึ่งปรากฏการณ์อันนี้ Faraday ชาวอังกฤษ และ E.H. Dubois Reymond แห่งเยอรมันนี ก็ได้ค้นพบว่าเป็นความจริง นอกจากนี้ยังได้พบอีกว่า Negative charged particles ใน solution หรือ suspension จะเดินไปสู่ขั้วบวก ส่วน Positive charged particles จะเดินไปสู่ขั้วลบ Particles เหล่านี้จะเดินไปได้เร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับ Excess charge ที่มีอยู่ หากยิ่งมี charge มาก จะ migrate ได้เร็วขึ้น หลักอันนี้ได้นำมาใช้แยก Particles หลายชนิดออกจาก mixture โดยใช้ Electical properties ของมันเป็นหลักในการทำ Electrophoresis.

สิ่งจำเป็นในการแยกโดย Electrophoresis คือ

1. ต้องมี electrically active particle คือหมายความว่าต้องมี positive charge มากกว่า negative charge บน surface ของ particle นั้น ๆ, หรือตรงกันข้าม, หรือจะเรียกว่ามี ionized particle ก็ได้ แต่สารบางอย่าง เช่น polysaccharides ไม่มี excess charge, particle ก็แยกไม่ได้ เพราะสารพวกนี้จะไม่ migrate ไปทางไหนเลย แต่พวก Protien ทุกชนิดมี excess charge อยู่เสมอ เพราะฉะนั้นก็เหมาะสำหรับใช้แยก

---

* The Term Paper for the Degree of B.S. (M.T.)

** โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

*** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โดย electrophoresis

2. Solution ที่จะเป็นสื่อกระแสไฟฟ้า เช่นน้ำเป็นสื่อที่เลว ฉะนั้น จึง จำเป็น ต้อง เติมกรด หรือด่าง หรือเกลือ บางชนิด สุด แต่ กรณี เพื่อให้เป็นสื่อที่ดีขึ้น

ทั้งสองอย่างนี้ จำ เป็น สำหรับ electrophoresis แต่ยังมีส่วนประกอบอีกดังจะได้อธิบายเป็นตอนๆ ไป

Electrophoresis มี 3 วิธีด้วยกัน.–

1. Microscopic electrophoresis
2. Moving boundary electrophoresis
3. Zone electrophoresis

ทั้งสามชนิดใช้หลักอันเดียวกัน แต่วิธีและเครื่องมือผิดกันเท่านั้น

Microscopic Electrophoresis

โดยสังเกตและวัด migration ของ particle ใน solution หรือ suspension ที่อยู่ใน หลอดแก้ววางตามยาวบน stage ของกล้องจุลทัศน์ ในวิธีนี้ particle ใหญ่ ๆ เท่านั้น จึงเห็นได้ชัด เช่น colloid particle, bacteria etc. ในวิธีนี้ใช้กับ molecule ไม่ได้ เพราะเล็กเกินไปที่จะเห็นได้ด้วยกล้องจุลทัศน์ ก็ได้มีวิธีดัดแปลงคือใส่ quartz sphere เข้าไปใน solution, molecule จะติดอยู่บน quartz shere นั้นหนาประมาณ 1 molecule, เพราะฉะนั้น sphere ที่ถูกเคลือบด้วย protein ก็จะแสดงกริยาต่อกระแสไฟฟ้าเช่นเดียวกับ molecule ของ protein เหมือนกัน

วิธีนี้ใช้ศึกษา immune bodies ใน liquids แต่ขณะนี้ไม่ได้ใช้กันแพร่หลายเสียแล้ว เพราะมีวิธีใหม่ที่แยก particle เล็ก ๆ ดีกว่า และแยกของจำนวนมากๆ ได้ และไม่จำเป็นจะต้องเป็น particle ที่ขนาดพอเห็นได้ด้วยวิธีนี้คือ Moving Boundory Electrophroesis.

Moving Boundory Electrophoresis

ในวิธีนี้แทนที่จะสังเกตและวัด porticle ใด particle หนึ่ง วิธีนี้วัด movement ของ boundary ของกลุ่มของ particle โดยใส่สิ่งที่ต้องการศึกษาในก้นของ U–tube และค่อยๆใส่ electrolyte หรือ buffer ลงข้างบนทั้งสองข้าง

การใส่ buffer ต้องใส่อย่างระมัดระวัง เพื่อให้แยกกันเป็น boundary ชัดเจน แล้วผ่านกระแสไฟฟ้าลงไปโดยใส่ electrode ข้างบน buffer ทั้งสองข้าง จุดประสงค์ก็คือดูว่า boundary จะ move ไปช้าหรือเร็ว หรือไปทางใด

ถ้าเป็น protein, ซึ่งมี excess positive charges อยู่บน molecular surface, boundary จะ move ไปทางขั้วลบ ประจุอันหนึ่ง ๆ จะลาก molecule อันใหญ่ของ protien ไปตามทางที่ประจุบวกเดินไป ยิ่งมีประจุมากก็ยิ่งเคลื่อนไปเร็วขึ้น

ถ้าเปลี่ยน pH เช่นทำให้ pH สูงขึ้นเรื่อย boundary จะเคลื่อนช้าลงทุกที จนกระทั่งไม่เคลื่อนเลย แต่ถ้า pH เป็นในด้าน ที่เป็น ด่าง, negative charge ของ protoin จะแสดงออกมาโดยดึง melecule ไปในด้านตรงกันข้าม boundary จะเคลื่อนไปในด้านขั้วบวก

เพราะฉนั้นใน electrophoresis, electrolyte solution เป็นของสำคัญที่สุด และ pH จะต้องจัดให้แน่นอนที่สุด จึงได้แก้ไขโดยใช้ buffer solution แทน (pH ของ buffer ที่ Substance มี electrical equilibrium คือไม่เคลื่อนไปในทิศ ทาง ใดเป็น isoelectric point ของ substance นั้นๆ)

สารทุกอย่างมี isoelectric point เป็น characteristic ของตนเอง เพราะการใช้ moving boundary method นี้ก็ใช้หา isoelectric point ของสารแต่ละชนิดได้ วิธีที่ใช้แพร่หลายทุกวันนี้คือวิธีของ Tiselius

Moving Boundary Method ค้นพบโดย Arne Wilhelm Kaurin Tiselius เพราะฉนั้นโดยมากเครื่อง electrophoresis นี้มักจะได้ชื่อว่า Tiselius apparatus, Tiselius ศึกษาภายใต้ Syedcerg ซึ่งขณะนั้น กำลัง ทำ ultracentrifuge อยู่และได้แนะนำ ลูก ศิษย์ของเขาถึง electrophoresis ว่าอาจจะใช้ประโยชน์ได้ Tiselius ได้เริ่มทดลองและในปี 1930 ได้เสนอวิทยานิพนธ์ เพื่อดุษฎีบัณฑิต ว่าด้วย electrophoresis

ในปี 1937, Tiselius ได้ตีพิมพ์ใน Transaction ของ Faraday society of London ถึงเครื่องมือใหม่ใน electrophoresis และ Tiselius ได้แสดงให้เห็นว่า Blood fraction globulin นั้น ที่แท้จริงมีถึง 3 อย่างไม่ใช่อย่างเดียว และให้ชื่อว่า alpha, beta, และ gamma globulin

ตั้งแต่ Tiselius ได้แสดงให้เห็นถึงคุณค่าของเครื่องมือของเขาแล้ว ทุกคนก็อยากได้ไว้ทดลองบ้าง ในอเมริกา Longsworth และ Mac Innes ได้สร้าง ขึ้น ตาม แบบ Tiselius และได้ผลดีมาก จึงเป็นเครื่องกระตุ้นทำให้การค้นคว้าทางชีวเคมีเจริญไปอย่างรวดเร็วทั่วในอเมริกาและยุโรป

ก่อนหน้าที่ Tiselius จะตีพิมพ์งานของ

เขาให้โลกรู้ก็ปรากฏว่า boundary layer ที่ได้ไม่ชัดเจน และทุกๆ คนก็รู้แล้วว่าถ้าผ่าน current ลงไปใน solution ย่อมเกิดความร้อน ทำให้ resolving power เสียไป Tiselius แก้ปัญหานี้ตกโดยใช้หลอดแก้วเป็นเหลี่ยมแทนที่จะกลมๆ และแช่หลอดแก้วในน้ำที่มีอุณหภูมิ 38° F

น้ำเย็นทำให้ resolving power ดีขึ้น Tiselius ใช้ Schlieven Method เพื่อทำให้เห็น Boundary layer

Schlieren Method นี้ ชาวฝรั่งเศส J.B. L. Eoucault ทำไว้เมื่อ 100 ปีก่อนแล้ว นอกจากนี้ Tiseliua ยังดัดแปลง U-tube ให้เป็นส่วนๆ แต่ละส่วน เคลื่อน ออก จาก กัน ได้ เพราะฉนั้นก็ทำให้แยกส่วนใด ส่วน หนึ่งของ Protcin ที่กำลังศึกษาออกได้

ในปี 1939 Harry Svensson แห่ง Uppsala, ได้ใช้ cylindrical lens แทน Schlieren systen ทำให้เห็นเป็น curve แทนที่จะเห็นเป็น peak and valley สดำอย่างใน Schlieren Method

Peak แรกที่สุดคือเงาของ Albumin boundary ส่วน peak ที่ตามมาคือพวก globulins เรียงตามลำดับความเร็วที่มันเคลื่อนที่ไป คือ alpha, beta, และ gamma

Longsworth ได้ ทดลองใช้ buffer barbiturate (vetonal buffer) ก็พบว่ามี peak อีก peak หนึ่งระหว่าง albumin และ alpha globulin แต่คุณสมบัติเมื่อเอาไปทดลองแล้วเป็น globulin จึงเรียกเสียใหม่ว่าเป็น alpha-I globulin ส่วน alpha globulin เดิมก็เรียกว่า alpha-2 globuiin

Zone Electrophoresis

ภายใน 10 กว่าปีที่แล้วมานี้ ก็ได้มีการค้นพบการทำ Electrophoresis วิธีที่สามในสองวิธีที่แล้วมานั้น particle จะเคลื่อนที่ใน fluid medium แต่วิธีใหม่นี้ particle จะผ่าน solid medium, particle จะเข้ามารวมกันอยู่เป็น Zone ใน solid medium แทนที่จะเป็น boundary อย่างสองวิธีแรก

Tiselius, Svensson และ Ingra Brattsten แห่ง Uppsala, Sweden, ในเยอรมันนี Theodore Wieland และ Fritz Turba, ในอเมริกาก็มี Emmett L. Durrum, ทั้งสามฝ่ายต่างค้นพบได้ในเวลาไล่เรี่ยกัน

solid medium ที่ใช้มากที่สุดในขณะนั้นก็ได้แก่กระดาษกรอง บางทีจึงเรียก Zone electrophoresis ว่า paper electrophoresis โดยใช้กระดาษกรองสี่เหลี่ยมวาง ตาม แนวนอน และ ปลาย จุ่ม ลง ไป ใน ภาชนะ 2 ข้าง

ภาชนะน้ำใส่ buffer solution และมีขั้วไฟฟ้าทั้งสองข้าง แล้วหยดสิ่งที่ต้องการศึกษาลงบนกระดาษกรองก็จะเป็นจุดซึมอยู่ในกระดาษกรองนั้น เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้า, Components ต่างๆ ของ mixture นั้นจะเคลื่อนไปเห็นระยะต่างๆ กัน สุดแต่ chatges ที่อยู่บน surface ของมัน สุดท้ายก็จะกลายเป็นจุดหลายจุดหรือโซนหลายโซน ซึ่งแต่ละอันก็เป็น fraction ของ mixture นั้นๆ ความเข้มทึบและความกว้างของจุดหนึ่งๆ ก็แสดงถึงจำนวนของมัน ส่วนระยะที่เคลื่อนไปจากจุดต่างกันก็เป็น mobility ของสิ่งนั้นในบางกรณี เราก็ไม่อาจเห็นจุดหรือโซนเหล่านี้ได้ ก็จำเป็นต้องย้อมสีเพื่อให้เห็น หลักอันนี้ก็คล้ายคลึงกับ paper chromatography เว้นแต่ใช้ไฟฟ้าเป็นเครื่องแยกแทนที่ใช้ solubility

มีผู้เปลี่ยน Solid medium ไปต่างๆกัน เช่น asbestos (Butler,1947), Glass wool (Coolidge 1939), Silica Gel (Consden, Gordon และ Martin 1946) Agar (Gordon, Kiel, Sebasta, Knessel และ Sorm ในปี1950)

วิธี paper electrophoresis นิยมใช้กันมากเหมือนกันเพราะ

1. เครื่องมือง่ายและ ทน ทาน ไม่แพง อย่าง Tiselius apqaratus และกินเนื้อที่น้อย

2; ใช้จำนวนของสิ่งที่ต้องการศึกษาน้อยเช่น serum ใช้ประมาณ 0.015-0.16 c.c. ก็พอ

3. สามารถทำได้ทีหลายๆ ตัวอย่าง (Sample)

4. สามารถทำได้ในอุณหภูมิปกติ

ข้อเสียของ paper electrophoresis

1. ใช้เวลานานประมาณ 18-20 ซ.ม.

2. Fraction ที่ได้ไม่ชัด

3. มักมี Tailing ออกมาให้เห็น เวลาอ่านผลดูลำบาก

ในปี 1957 Owen และ Got ได้ใช้ Starch gel. แยก Foetal hemoglobin และ Adult hemoglobin แต่มี hemoglobin บางชนิดเช่น Lepore ไม่สามารถจะแยกจาก A และ A_2 ได้ ต้องใช้ Buffer ซึ่งต้องใช้ Borate มีความเข้มข้นมากๆ ในปี 1959 Cradock Watson, Fenton และ Lechmann ได้ใช้ Tris-E.D.T.A. buffer เวลาใช้ก็ dilute 1 ใน 3

ปี 1961 Lechmann และ Sharih ได้แยก Lepore hemoglobin ออกมาได้โดยใช้ Tris- E.D.T.A buffer บน paper Electrophoresis

Kunkel และ Wrllenius ได้ใช้ Starch

block electrophoresis และสามารถแยก A_2 ออกมาได้ และพบค่า mean จากคน normal ได้ประมาณ 2.5% และสามารถแยก Normal group และ Abnormal group ได้ และพบว่า A_2 จะสูงขึ้นใน Thalassemia minor ซึ่งมี Microcytosis ร่วมด้วย

ในระหว่างปี 1958-1960 J-kohn ได้ลองใช้และแนะนำให้ใช้ Cellulose acetate membrane เป็น supporting medium เพราะทำง่าย และใช้เวลาสั้นกว่าวิธี Filter paper และ Starch block method ซึ่งต้องใช้เวลานาน

ต่อมาปี 1962 petrakis, Doherty, Grunbaum และ Atchley ก็ได้ทดลองใช้และได้ผลดี ในปีเดียวกันนี้ Friedman, Afonso ก็ได้ทดลองใช้บ้าง

ในปี 1963 Graham และ Grunbaum ก็ได้แก้ไขอีกครั้งหนึ่งและได้ดัดแปลงเครื่องมือและวิธีการย้อมสี เพื่อดู fraction ของ A_2 ได้ดีและชัดขึ้น

ในปี 1963 นั้นเอง Bartlett ได้หาค่าของ Hemoglobin A_2 ในคนปกติ โดยใช้ elute fraction ซึ่งไม่ต้องย้อมสีก็เห็น และทราบผลภายใน 90 นาที หลังจากที่ได้รับ specimen มา โดยใช้หาแบบ Electrophoresis โดยใช้ cellulose acetate membrane เป็น supporting medium และใช้ Tris buffer ซึ่งมี pH 8.9, power supply ใช้กระแสไฟ 10 mA ที่ 200 Volts ใน Horizontal plane และใช้ Spectrophotometer wavelength 413 m และแยกได้ดีที่สุดในเวลา 45 นาที ที่ 20-25 Volt/cm. กระแสไฟ 0.3-0.5 mA/cm.

Method of electrophoresis

1. Horizontal Method. คือ cellulose membrane วางตามแนวนอน

2. Vertical Method. คือ cellulose membrane ห้อยลงมาจากข้างบน ประกอบด้วย

1. Chamber หรือ Electrophoresis cell
2. เครื่องกำเนิดไฟฟ้า(Power Supply)
3. Buffer เป็นตัวทำให้ชื้น และทำให้ pH เหมาะแก่การ ที่จะ แยก ตัวของ สาร และเป็นตัวที่จะละลายสารที่จะแยกได้
4. Wick มีหน้าที่ดูดความชื้นออกจาก Buffer
5. Bridge สำหรับเป็นตัว นำ ไฟฟ้า และไม่ให้ pH เปลี่ยนไป
6. Electrode คือ platinum wire
7. Supporting medium คือวัตถุที่ทำให้กระแสไฟฟ้า หรือสารที่จะแยกวิ่งผ่านได้เช่น

1. Filter paper No. 1,3 mm. ซึ่งค่อนข้างจะหนามากจะให้น้ำเกาะดีกว่า No.1 วิธีนี้จะทำได้ง่าย แต่จะมี Tailing เกิดขึ้นดูลำบาก

2. Agar gel โดยเอา Agar ทำให้เป็นวุ้นแล้วราดลงบน Slide แล้วเอาสิ่งที่ต้องการจะแยก หยดลงแล้วปล่อยกระแสไฟฟ้าก็จะ move ได้

3. Starch gel. จะแยกได้ดีแต่ราคาแพง

4. Starch Block ทำยากต้องใช้เวลานาน

5. Membrane or Cellulose acetate เนื้อละเอียดและไม่มี tailing เกิดขึ้น seperation ดี แต่ราคาแพงมาก และใช้เวลาเพียง 45 นาที ก็อ่านผลได้ ซึ่งขณะนี้กำลังนิยมใช้กัน

Hemoglobin Electorphoresis on cellulose acetate

Principle of Electrophoresis.

สารที่เอามาแยก เรียกว่ามี electrical charge เช่น protein จะมี Amino acid หลายตัวต่อกันเป็น chain ยาว Amino acid แต่ละตัวจะมี electrical charge ที่ pH หนึ่ง Total protein จะมี electrical charge เป็น + หรือ − Iso-electric point อยู่ที่ pH 6 หมายถึง Electrical charge=0 เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไปสารนี้โดยมี Buffer หนึ่ง ที่มี pH 6 ถ้าเปลี่ยน pH สารนี้ก็จะมีการ move ได้ อาจจะ move ไปทางขั้ว + หรือขั้ว − จากจุดที่ตั้งต้นของมัน ถ้าสารใดมี electrical charge 2^+ จะ move ออกมาได้เป็น 2 เท่า ซึ่งขึ้นอยู่กับ

1. Electrical charge ของสารแต่ละชนิด

2. ขึ้นอยู่กับกระแสไฟที่ผ่านสารนั้น

Hemoglobin electrophoresis

Hemoglobin ประกอบด้วย Heme+ globin, เป็น protein molecule ซึ่งประกอบด้วย Amino acid ต่อกันเป็น chain ยาว 4 chains แต่ละตัวจะมี electrical charge แต่มีบาง chain จะมี Electrical charge ไม่เหมือนกัน เราเรียกว่ามี Abnormal hemoglobin เกิดขึ้น

ในคนปกติ (Normal) ผู้ใหญ่จะมี Hemoglobin ส่วนใหญ่เป็น Hb.A และมี Hb. A_2 อยู่ประมาณ 3–3.5% และมี Hb. F ไม่เกิน 2% ฉนั้นมี Hb. A ประมาณ 95%

Hb. F กับ Hb. A จะแยกกันไม่ออก เราจึงแยกโดยวิธี Alkaline resistance Hb.F จะมีคุณสมบัติไม่ละลายในด่าง

ส่วน Hb. A_2 จะเห็นเป็นเงานิดหน่อย

Individual hemoglobin

Henoglobin A ปกติใน Adult จะมี Hb.A เป็นส่วนใหญ่ และมี Hb. A_2 เป็นส่วนน้อย Kunkel ได้ใช้วิธี starch block electrophoresis และพบว่าในคนปกติ Adult จะมี A_2 ไม่เกิน 3% ของ Hemoglobin ทั้งหมดใน Thalassemia พบว่ามี A_2 มาก บางทีอาจจะมากกว่า 27%

Henoglobin F ปี 1866 Korber ได้พบ Hb.F I929 Hauorwitz ได้ศึกษาเกี่ยวกับ denaturation reaction ซึ่งจะแยก Hb.F ออกจาก Hb.A โดยที่ Hb.A ละลายใน Aikaline solution ส่วน Hb.F ไม่ละลายใน Alkaline solution ปกติใน Adult จะพบ Hb.F ประมาณ 2% หรือต่ำกว่านั้น ปกติ Hb.F นี้จะพบในเด็กเกิดใหม่ ประมาณ 50-70% หลังคลอดออกมาแล้ว Hb.F จะลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งอายุ 1-2 ปี จะมี Hb.F ปกติ คือ ไม่เกิน 2% ถ้าพบ Hb.F สูงในเด็กหรือในผู้ใหญ่ถึง 20% ก็เป็น Homozygous Thalassemia ถ้าสูงกว่า 20% ขึ้นไปก็เป็น Heterozygous Thalassemia และ Hp.F จะสูงใน Sickle cell anemia.

Hemoglobin S จะพบใน Sickle cell anemia ซึ่งจะพบมากที่สุดใน Negroes แถวทะเลเมดิเตอร์เรเนียน จะพบว่ามี Hb.S มากกว่า 45% ส่วน American Negro จะพบประมาณ 9%

Hemoglobin C พบในปี 1950 โดยวิธี paper electrophoresis ที่ pH 8.6 และพบบ่อยๆ ในพวก Negroes Hb.C คล้าย Hb.S ซึ่งจะรวมกันไปใน Thalassemia

Hemoglobin D พบในปี 1951 ในหลายประเทศ เช่นในพวก American Negro พบ 0.4% ในอินเดียประมาณ 2% ในการทำ electrophoresis motility ของ Hb.D จะเหมือนกับ Hb.S ที่ pH 8.6

Hemgolobin E จะพบในแถบอาเซียตะวันออกเฉียงใต้ เช่นพม่า, ซีลอน, ประเทศไทย ในไทยจะพบว่ามี Hb.E ประมาณ 12% ลักษณะของเม็ดเลือดแดงมี Target cell เรียกว่า Hb.E Thalassemia, Hb.E move เหมือนกับ Hb. A_2

Hemoglobin G จะรวมไปกับ Hb.S, S-C และ S-D ซึ่งพบใน Severe anemia

Hemoglobin H เป็น Fast hemoglobin พบครั้งแรกในครอบครัวของชาวจีน และพบใน Thalassemia

Hemoglobin I พบในครอบครัวของ

American Negro Hb. I นี้จะ move คล้ายกับ Hb.H

Hemogolobin J พบในปี 1956 ในพวก American Negro, Indonesians และ Canadian แต่ Hb.J ไม่ทำให้เกิดโรค

Hemoglobin K Hb.K นี้บางคนก็เรียกว่า Hb.I หรือ Ab.J ตอนหลัง Robinson ได้ตกลงเรียกว่า Hb.K Hb.K นี้จะพบแถวอาฟริกาเหนือ, สิงปโปร์ และอินเดียตะวันออก

Hemoglobin L Agar และ Lechmann ได้รายงานว่า Hb.L นี้ พบในรัฐบันจาบ ฮินดูในประเทศอินเดีย

Hemoglobin M พบในพวกกรรมพันธุ์ Singer ได้แยก Hb.M โดยใช้ Filter paper electrophroesis พบว่า Hb.M move คล้ายกับ Hb.A ทั้งสองสามารถแยกออกจากกันได้โดยวิธี Starch Block method.

Hemoglobin N ในปี 1959 Trincao ได้รายงานการพบ Hb.N ในประเทศโปรตุเกสและเกาะนิวกินี

Hemoglobin O พบในประเทศอินโดนีเซีย Eng. เป็นคนพบคนแรก

Homoglobin P ส่วนมากพบในพวก Negroes

Hemoglobin Q พบรวมไปกับ Hb.A จะพบมากในชาวจีนและสิงค์โปร์ Hb.Q นี้จะ move คล้ายกับ Hb.L

และยังมี Hemoglobin อื่นๆ ที่ได้รายงานเอาไว้ เช่น Norfolk, Hopkin I, Hopkin II, Bart's, Alexandra, Sount Vietnam, Lepore และ Durham I

Hemoglobin ที่ทำให้เกิด Thalassemia คือ Hb. E, Hb. s ส่วน Hemoglobin ที่ทำให้เกิด Anemia ได้แก่ Hb.F, Hb.S, Hb.C, Hb.D, และ Hb.E

Ref. Nomenclature of Abnormal Hemoglobin (J.A.M.A.174:1845,1960)

Identification of Abnormal Hemoglbin.

Group 1 Hemoglobin moving slowly than S:- C, E, A_2. etc.

Hb.C และ E สามารถจะแยกออกจาก A ได้โดยใช้ Buffer pH.6.5 แต่ AE รวมกันจะ move ช้าลง และ AC รวมกันจะ move เร็วขึ้นกว่า AS รวมกันซึ่งสามารถจะแยกได้โดย ion exchange chromatography.

E และ A_2 A_2 ปกติจะมีไม่เกิน 4% ถ้าสูงกว่านี้ก็เป็น Thalassemia และจะไม่สูงกว่า 15% มักจะต่ำกว่า 10% ส่วน Hb.E จะมีค่าไม่ต่ำกว่า 20%

Group 2. Hemoglobin moving like S:- D

Hb. S และ Hb.D จะ move ไปเท่าๆ กัน และสามารถแยกออกจากกันได้โดยใช้ Itano's solubility test

Group 3. Hemoglobin moving between Sand A:- F, G, L, P.

เราสามารถจะแยกออกจากกันได้โดยวิธี ion exchange chromatography ส่วน Hb.F เมื่อรวมกับ A หรือ S ไม่สามารถแยกออกออกมาได้ แต่ถ้า F รวมกับ A จะ move ช้ากว่า A อย่างเดียว และ F รวมกับ S จะวิ่งได้เร็วกว่า S อย่างเดียว ถ้าเอา A, S, F รวมกัน A กับ F จะ move รวมกันไป ส่วน S จะแยกไปต่างหาก

Group 4 Hemoglobin moving like A:-M,F เมื่อรวมกับ A

ทั้ง M และ F จะแยกออกจาก A โดยใช้ Spectrum, m จะมองเห็นด้วยตาเปล่า ส่วน F จะมองไม่เห็นเพราะอยู่ใน Ultraviolet range.

Group 5 Hemoglobin moving faster than A:- J,K.H.

ที่ pH. 6.5 J จะ move คล้าย A, move คล้าย A, Novfolk จะแยกออกจาก A และ N ก็จะแยกออกจาก A ส่วน H จะ move เร็วกว่า A ไปทาง Anode ส่วน Bart'S จะรวมไปกับ F จะแยกออกจากกันได้โดยใช้ Alkaline Resistant

Cellulose acetate Electrophoresis.

J-kohn ได้แนะนำให้ใช้ตั้งแต่ปี I958-1960 Principle ของวิธีนี้ก็เหมือนกับ paper electrophoresis เราใช้ cellulose acetate เป็น supporting medium แทนกระดาษกรอง ซึ่งวิธีนี้ก็ได้รู้จักกันทั่วไปแล้ว

ข้อแตกต่างใน เทคนิค และ เครื่องมือ ขนาดและชนิดของ supporting medium ละเอียดบางและใช้ส่วนน้อย ซึ่งดีกว่า Filter paper และจะเห็น Zone Electrophoresis ชัดมากเพราะ

1. มีการดูดซึมน้อย จากผลอันนี้จะไม่ยุ่งยากสำหรับ tailing คือจะไม่มี tailing เกิดขึ้น จะเห็น band ชัด ซึ่งแยกจาก band อื่นๆ ชัดเจน ดูง่าย

2. จะเห็นเนื้อ cell เป็นเนื้อเดียวกัน จะไม่มี hemicellulose และ lignins ซึ่งเป็นเหตุผลอันดีในการแยก

3. Alpha I จะแยกออกจาก Albumin ได้อย่างดี

4. การแยกก็เร็ว และช่วยประหยัดเวลาและวัตถุ

5. ใช้จำนวนของ protein เพียงเล็กน้อยก็จะสามารถแยกได้อย่างดี

6. เห็นเส้นชัด

7. สามารถใช้ในตัวเองหรือรวมกับวิธี Immuno-diffusion technique

8. เป็นวิธีที่เหมาะ มาก ใน การ ศึกษา Electrophoretic และ immuno-diffusion ใน Isotope labelled protein.

9. ง่ายต่อการจะตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ภายหลังจาก protein ได้แยกแล้ว

10. protein จำนวนน้อยๆ ก็สามารถแยกออกมาเห็น pattern ชัดเจน

11. การย้อมGlyco-protein จะแยกจาก globulin fraction.

12. Protein ที่ไม่อาจแยกได้ดีบนกระดาษกรองจะสามารถแยกได้ บน cellulose acetate เช่น Insulin และ lysozyme

จากเหตุผลทั้งหมดนี้ เราพูดได้ว่าเป็นเครื่องมือที่เหมาะสำหรับ Biochemist มากที่สุด

แบบ small scale Electrophoresis ความมุ่งหมายส่วนใหญ่สำหรับทำ Routine เพราะรวดเร็ว, ชัด และประหยัด

วิธี Large scale เหมาะในทาง Reserch เพราะทำได้หลายๆ Strip ซึ่งเหมาะแก่การศึกษาจำนวนมากๆ ของสารที่เราจะมาแยก

Apparatus for Cellulose Acetate Electrophoresis.

1. Horizontal electrophoretic tank ประกอบด้วย cathode และ anode, buffer ซึ่งจะแยกออกจากกันได้ เป็นพวก glass หรือ Perspex plane ไว้สำหรับวาง Strip. Strip นี้ทำให้ร้อนโดยผ่านกระแสไฟเข้าไป ซึ่งสามารถจะเปลี่ยนอุณหภูมิต่างๆ ได้ อุณหภูมิจะเริ่มอุ่นตั้งแต่ บริเวณ จุด กึ่ง กลาง ของ Strip และค่อยๆ เย็นออกไปถึง Buffer ข้าง tank จะมีปุ่มสำหรับปรับกระแสไฟได้ ซึ่งจะเป็นผลให้เกิดการแยกของสารขึ้น โดยอาศัย cellulose acetate membrane เป็น supporting medium.

เครื่องมือทั่วๆ ไปมี ขนาด ต่างๆ กัน เครื่องมือบางอัน สามารถ จะ ใช้ กับ filter paper electrophoresis ได้ด้วย เครื่องมือนี้เป็นแบบ horizontal ซึ่งส่วนมากทำจาก Perspex มีส่วนประกอบ 4 ส่วน คือ 2 ส่วนด้านในสำหรับใส่ electrode และ มี ที่ใส่ Buffer 2 อัน ข้างนอกจุดกึ่งกลางจะแยก Anode จาก Cathode สองอันหลังจะแยก electrode ออกจากส่วนประกอบข้อง Buffer ซึ่งBuffer นี้จะต้องใส่เข้าไปให้เต็ม compart-

ment เพื่อจะเชื่อมโยงระหว่าง electrode และ buffer โดย Cotton-wool wick.

นอกจากนี้จากจุดบนสุดจะมี ช่อง ซึ่งจะมีน้ำเต็ม และมีฟองน้ำสำหรับกันหยดน้ำที่จะตกลงไป และป้องกันการระเหยด้วย

2. Fitments หรือเรียกว่า Frame or Bridge ประกอบด้วย Strip support 2 ชิ้น ซึ่งเชื่อมมดย Perspex มี gab ขนาด 8–10 cm. สำหรับใช้กับ strip ที่มีขนาด 10–12 x 5 cm.

3. Strip holders ทำง่ายๆ จากการบีดท่อ perspex แล้วตัดให้เป็นท่อนๆ Strip holder นี้ต้องอยู่ข้างในผิว

4. Electrode ทำจาก platinum wire แต่อย่างอื่นก็ทำได้มี Carbon eleotrode แต่ไม่นิยมใช้ electrode นี้จะวิ่งผ่านไปตลอดความยาวของ compartment นั้น

5. การ Setting เครื่องมือ

1. ใส่ buffer ลง combartment ลึก 2 cm.

2. เบีด buffer ไปยัง Tank และปล่อยให้ไหลกลับไปอีก

3. ใส่สำลีอุดรูไว้

4. ใส่ Bridge

5. วาง Strip holder ใน buffer ให้เบียก แล้วไปวางบน bridge แล้วเปลี่ยนบ่อยๆ

6. ต่อไปยัง Power supply

7. เบีด Switch เพื่อให้กระแสไฟผ่านและตรวจดูไฟบ่อยๆ

8. ระวังฟองน้ำต้องเบียกและปล่อยให้แห้งได้เป็นบางครั้ง

เครื่องมือต้องล้างด้วยน้ำ สำลีที่อุดเปลี่ยนทุกครั้ง และตรวจดู electrode เสมอ

6. Cellulose Acetate Membrane Filter Strip มีคุณสมบัติทาง physical

1. สีขาว, เรียบ

2. มีความหนาประมาณ 130 microns

3. มีรูขนาด 0.5–3.0 micron

4. มีความทนทนต่อความแห้ง

5. สะท้อนแสงได้

6. สามารถ absorp เอาแสง Ultraviolet ไว้ได้

7. ระหว่างเบียกถึงแห้ง ใช้ratio 2.3:1 และมีความต้านทานต่อกระแสไฟฟ้า เมื่อ pH 8.6

Chemical composition.

1. มีส่วนประกอบของธาตุอื่น รวมอยู่บ้างเล็กน้อย เช่น Na, K, Ca, Fe, Cu, Pb,

Mn, Ni, Co, Zn Cr, Tin, Ag, molybdenum.

2. มี Nitrogen content ไม่มี affect ต่อ Alcohol, ether benzene และกรดที่เจือจาง

3. ละลายได้ใน phenol, acetone และ mixture ของ

1. Methylene chloride 90%, ethanol 10%
2. Chloroform 90%, ethanol 10%
3. Methylene chloride 50%, acetone 50%.

ขณะนี้ในห้อง Lab. ใช้ Sepraphore III Cellulose Polyacetate ของบริษัท Gelman มีขนาด 5×17 cm. Sepraphore III จะใช้ได้หลาย band แต่ละ band จะ clear และ sharp และไม่มี Tailing ของแต่ละ fraction เกิดขึ้น วิธีการทำง่าย, เร็ว, ผลก็อ่านง่าย การ Scaning ก็ง่าย เพราะแต่ละ band จะแยกกันชัดเจนดีมาก ผลที่ได้ก็ accurate ที่สุด

7. Buffer Solution

T.E.B. Buffer for cellulose acetate.

Tris crystat 242 gm.
Disodium E.D.T.A. 3.13 gms.
Boric acid 1.84 gms.
Distilled water 2,000 c.c.

มี pH 8.6

8. Hemoglobin solution.

1. Centrifuge 5 ml. ของ Oxalate Blood เพื่อเอา blasma ออก แล้วล้างเม็ดเลือดแดงออกด้วย saline 3 ครั้ง เพื่อ remove protein ออก หลังจาก centrifuge ครั้งสุดท้ายแล้วเท supernatant ออก จะเหลือแต่เม็ดเลือดแดง

2. เติมน้ำกลั่นลงไปเท่ากับจำนวนเม็ดเลือดแดง แล้วเติม 0.4 ml. ของ Toluene เพื่อ remove cell membrane ออกให้เหลือแต่น้ำเลือดจริง ๆ แล้วเขย่าอย่างแรง นำไป Centrifuge อีกครั้งหนึ่ง ใช้เวลา 15นาที

3. Remove cell membrane ซึ่งจับกับ Toluene ข้างบน โดยใช้สำลีพันปลายไม้ Swab

4. แล้วกรอง Solution ด้วย Whatman No. 44 filter paper ส่วน filtrate จะใส่เป็น Hemolysate

9. การเตรียม Strip ใช้ Strip ขนาด 5×17 cm.

10. Marking Strip วัดจากปลายข้างหนึ่งของ Strip มา 5 cm. ขีดเส้น strat line โดยใช้ดินสอดำ แล้ว Lebelled ชื่อหรือ No.

ให้ชัดเจน

11. Current Supply กระแสไฟที่ผ่านต้องคงที่ตลอดเวลา ประมาณ 500 V. หรือ 20 mA. ปกติใช้ 0.4-0.5 m A/cm.

12. Electrophoretic run. เวลาที่run จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ Buffer และกระแสไฟที่ผ่าน ปกติถ้าใช้ Buffer pH 8.6 ไฟที่ผ่าน 0.4 mA/cm. ใช้เวลา 2 ชั่วโมง แต่ที่ทำอยู่ห้อง Lab. ใช้กระแสไฟ 0.4 mA/cm. width (ของความกว้าง) หรือ 20-50 mA/5-7 cm. length โดยให้ Voltage คงที่ ประมาณ 300-500 Volt. ใช้เวลา 45 นาที (Beckman Duostat.)

13. Sprectrophotometer (Beckman D.U.) ใช้ wavelength 410 mu. เพื่อหาปริมาณของ Pattern และคิดเป็น Percentage ออกมา

Procedure.

1. เอา Sepraphore strip ใช้ดินสอดำขีดเส้น starting line ให้ห่างจากปลาย 5 cm. เป็นเส้นตั้งฉาก และ Lebelled ให้ชัดเจน

2. จุ่ม Sepraphore strip ลงใน Buffer ให้ทั่ว แล้ววางบน Plate.

3. ใช้ Micropipette ดูด Hemolysate solution ใส่ Applicator 2-4 microliters.

4. แตะ Applicator ลงบน Starting line

5. วาง Sephraphore strip ใน Electrophoretic chamer และตรึงด้วย Magna-Grip อย่าให้ Strip จุ่มใน Buffer

6. ปิดฝา แล้วปล่อยให้กระแสไฟผ่าน จะมีการ move ของแต่ละ fraction เกิดขึ้น ใช้เวลาในการ run. 30-40 นาที ก็จะเห็น fraction complete.

7. นำเอา Strip ออกจาก chamber ดู Fraction ออกแต่ละชนิดจะ migrate ไปได้เร็วต่างกัน แล้วอ่านผลออกมาว่าเป็นชนิดไหน โดยให้ fraction ของ Hp. A เป็น Standard.

8. วาง Strip ลงบน Pad. ใช้มีดที่คมตัดส่วนที่เป็น Fraction มากๆ ก็เป็น major ส่วนที่น้อยก็เป็น minor ส่วนที่เป็น major ใส่ใน tube ที่มี Dist. water 10 ml. ส่วน minor ใช้ Dist. water 2 ml.

9. เขย่าให้ fraction ที่ติดอยู่ที่ Strip clear ด้วยเครื่อง Vortex-Genie.

10. นำไปอ่าน ค่า Optical density ด้วย Spectrophotometer (Beckman D.U.) ใช้ Wave length 410 mu. เพื่อหาปริมาณ

ของแต่ละ fraction ทั้ง major และ Minor อ่านค่า O.D. ของ Major แล้วคูณค่าที่อ่านได้นี้ด้วย 5 อีกครั้งหนึ่ง โดยใช้ Distilled water เป็น standard

11. คิดหา Percentage ของ Minor ออกมา

Percentage of abnormal Hemoglobin in 170 samples

Kind of Hemoglobin	Total number	Percentage of Total
Hb. A,A	133	78.23
Hb. A, E	20	11.76
Hb. A, F	1	0.59
Hb. A, H	5	2.94
Hb. F & Bart's	9	5.29
Hb. E+F	2	1.18

Result and Discussion.

จากการใช้ Hemolysate แยกชนิดของ Hemoglobin โดยใช้ cellulose acetate strip เป็น supporting medium จะเห็นได้ว่าการ migrate ของแต่ละ fraction แตกต่างกันแล้วแต่ Electrical charge และกระแสไฟฟ้าที่ผ่าน เช่น Hb. A จะ migrate ไปทางขั้วบวก ส่วน Hemoglobin อื่นๆ ที่เหลือจะ migrate มาทางขั้วลบ เราเรียกว่า Slow moving เช่น Hb. A_2 D และ E พวกนี้จะ move ช้ากว่า Hb. A โดยเอา Hb. A เป็นหลัก ส่วน Hb. F, Bart's, H จะ move ได้เร็วกว่า Hb. A ไปทางขั้วบวก เรียกว่า Fast moving แต่ละ fraction จะเห็น Zone แยกกันชัด เมื่อ run บน Cellulose acetate และ pH ของ Buffer ที่ใช้คือ 8.6 ซึ่งเราสามารถจะแยก Hemoglobin อื่น ๆ ได้เช่น A, C, D, H, S และ A_2 นอกจากนี้เรายังสามารถจะทราบความแตกต่างของ Hemoglobin ซึ่งมี mobilities คล้ายกับที่ pH 8.6 เช่น Hb. E, A_2 หรือ S และ D ได้

จากการแยกชนิด Hemoglobin ทั้งหมด

170 คน จะพบว่ามี Hemoglobin AA 133คน และหาค่า Range ของ A_2 ได้ 0.5–4.5% ของ Hemoglobin ทั้งหมด หา Mean Percentage ได้ 1.36% และ Standard deviation $\pm$ 0.73, Standard error 0.063 ซึ่งแสดงว่า ค่า mean percentage ของ Hemoglobin A_2 น้อยกว่าค่า mean percentage ของ Hemoglobin ในรายงานที่ คนอื่น ที่ได้ศึกษามาก่อนเล็กน้อย ความแตกต่าง หรือ ความผิดพลาดนี้ อาจ จะเนื่องจาก

1. การแยกของ Hemoglobin A และ A_2 ไม่ Complete

2. การตัด Band ของ Hemoglobin แต่ละชนิดไม่หมด

3. Hemoglobin fraction ละลายในน้ำกลั่นไม่หมด จึงทำให้ค่าผิดไปบ้าง

4. ความสัมพันธ์ ระหว่าง ปริมาณของ Hemoglobin concentration กับค่า Optical density ปกติจะเป็นเส้นตรง จะโค้งและบ่ายเบนจาก Beer-Lambert's law จึงทำให้ค่าที่ได้ผิดไป

Percentage of Hemoglobin A_2 in normal persons.

Authors	Date	Techniques	No.	Mean	% Range
Kunkel and Wallenius	1955	Starch Block	26	2.6	1.8–3.5
Masri Josephson & Singer	1958	Starch Block	200	2.6	1.2–3.5
Gerald & Diamond	1958	Starch Block	20	2.4	1.7–3.1
Ibbotson & Crompton	1961	Filter paper	86	3.2	1.4–4.3
Hilgartner, Erlandson, Walden	1961	Filter paper	22	9.9	5.0–14.3
Afonso	1962	Cellulose acetate	40	2.6	1.4–3.8
Petrakis et al.	1962	Cellulose acetate	28	3.5	1.5–6.1
Bartlett	1963	Cellulose acetate	17	2.5	1.8–3.2
Graham & Grunboum	1963	Cellulose acetate	64	2.8	1.1–4.5
A.J. Marengo–Rowe	1965	Cellulose acetate	67	2.0	1.0–3.0
Present investigation	1967	Cellulose acetate	133	1.36	0.5–4.5

Conclussion

จากการทำ Hemoglobin Electrophoresis on cellulose acetate method ในคน 170 ราย ตรวจพบดังนี้

Hemoglobin AA 133 ราย คิดเป็น Percentage ได้ 78.23% ของ Hemoglobin ทั้งหมด

Hemoglobin AE 20 ราย คิดเป็น Percentage ได้ 11.76% ของ Hemoglobin ทั้งหมด

Hemoglobin AF 1 ราย คิดเป็น Percentage ได้ 0.5% ของ Hemoglobin ทั้งหมด

Hemoglobin AH 5 ราย คิดเป็น Percentage ได้ 2.94% ของ Hemoglobin ทั้งหมด

Hemoglobin F& Bart's 9 ราย คิดเป็น Percentage ได้ 5.29% ของ Hemoglobin ทั้งหมด

Hemoglobin E. F 2 ราย คิดเป็น Percentage ได้ 1.18% ของ Hemoglobin ทั้งหมด

Hemoglobin AA_2 (Fig. 1) Hemoglobin จะ move ไปทางขั้วบวก ส่วน Hemoglobin A_2 จะ move ช้า มาทางขั้วลบ ปกติจะมี Hb. A 95% และ A_2 ประมาณไม่เกิน 3.5% ถ้า Hemoglobin A_2 สูงกว่านี้ก็แสดงว่าเป็น Thalassemia Trait ซึ่งจะพบมากใน Negroes.

Hemoglobin AE (Fig.2) Hemoglobin E จะ move ช้ากว่า A มาทางขั้วลบ และจะ move คล้ายกับ A_2 ซึ่งจะแยกออกจากกันได้ โดยดู fraction ของ Hb. E จะมี Percentage สูงกว่า A_2 ประมาณ 20% ขึ้นไป ส่วน A_2 จะไม่มีเกิน 10% Hb. AE นี้เรียกว่า Hb. E trait หรือ Heterozygous AE ซึ่งพบในคนไทยประมาณ 12% และพบแถวอาเซียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น พม่า, ซีลอน

Hemoglobin AF (Fig. 4) Hemoglobin F จะ move คล้าย Hb. A หรือเร็วกว่าเล็กน้อย จะเห็น fraction ติดกับ Hb. A เราจะแยกออกจากกันได้ โดยใช้ Alkaline Resistant โดยที่ Hb. F จะไม่ละลายในด่าง ส่วน Hb. A จะละลายในด่าง ปกติในคน Adult จะพบ Hb. F ประมาณต่ำกว่า 2% แต่จะพบในเด็กเกิดใหม่ประมาณ 50–70% หลังคลอดออกมาแล้ว Hb. F จะลดลงเรื่อยๆ จนอายุ 1–2 ปี จะมี Hb. F ปกติคือไม่เกิน 2% ถ้าพบ Hb. F สูงในเด็กหรือในผู้ใหญ่ถึง 20% ก็เป็น Homozygous Thalassemia ถ้าสูงกว่า 20% ขึ้นไปก็เป็น Heterozygous Thalassemia และ Hb. F นี้จะสูงใน Sickle cell

Anemia ด้วย

Hemgolobin F & Bart's Hemoglobin Bart's เป็น fast moving จะ move ไปเร็วกว่า Hb.F และจะ move คล้ายกับ Hb.H หรือช้ากว่าเล็กน้อย ซึ่งจะแยกออกจากกันได้โดยวิธี Alkaline Resistant ส่วนมากมักพบในเด็กๆ Hb. Bart's พบได้ในเปอร์เซ็นต์สูงกว่า Hb.F จะทำให้เด็กตายก่อนกำหนด มีอาการซีด ท้องโต แต่ผู้ใหญ่บางคนก็อาจพบ Hb. Bart's ด้วย และอาจจะมีชีวิตอยู่ได้

Hemoglobin AH Hemoglobin H. move เร็วกว่า Hb.A ไปทางขั้วบวก เรียกว่าเป็น Fast moinng พบในคนไทยมากกว่าชาติอื่นๆ(6%) และพบร่วมกับ Thalassemia gene เรียกว่า Thalassemia Hb. H

Hemoglobin E+F Hemoglobin F จะ move เร็วกว่า Hb.E ไปทางขั้วบวก ซึ่งจะ move คล้ายกับ Hb.A แต่เรามักจะพบเปอร์เซ็นต์ของ Hb.E มากกว่า 50% ขึ้นไป และมี Hb.F อยู่ข้างหลังซึ่งมีเปอร์เซ็นต์น้อยกว่า เรียกว่า Hb.E Thalassemia มักจะพบในเด็กๆ

และยังมี Hemoglobin อื่นๆ อีก เช่น S, D, C, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, Norfolk, Hopkip I Hopkin II, Alexandra, Sount. Vietnam, Lepore และ Durham I.

Hemoglobin ที่ทำให้เกิด Anemia คือ พวก Hb.E, Hb.F, Hb.S, Hb.C, Hb.D.

Hemoglobin ที่ทำให้เกิด Thalassemia คือ Hb.E, Hb.S, Hb.A_2

Hemoglobin ที่พบในเมืองไทยคือ Hb. E, Hb.F, Hb.H, Hb.Bart's, J,D และ Q

Electrrphoresis on cellulose acetate method เป็นวิธีง่าย สดวก และรวดเร็ว และได้ zone electrophoresis ชัด ในการแยกชนิดของ Hemoglobin จะเห็น fraction ชัดเจน ไม่มี Tailing เกิดขึ้น ผลที่ได้ก็ Accurate มาก และความผิดพลาดน้อยมาก จากการหา Normal Values ของ Hb.A_2 ของคน Normal 133 คน จะได้ค่า Normal Range 0.5 – 4.5 % และค่า Mean Percentage ได้ 1.36, Standard deviation $\pm$ 0.073 เมื่อเทียบกับ Normal range ของคนอื่นที่ได้ศึกษามาก่อน ก็มีค่าใกล้เคียง และ Range กว้างกว่า คือตั้งแต่ 0.5–4.5% วิธีนี้จึงเหมาะที่สุดที่จะใช้ศึกษาและค้นคว้าในการแยกสารต่างๆ ถึงแม้จะมีจำนวนน้อยๆ ก็สามารถแยกได้ และใช้เวลาสั้นประมาณ 45 นาที ก็อ่านผล ซึ่ง

เมื่อเทียบวิธี Paper electrophoresis ซึ่งกินเวลานาน และมักมี Tailing ผลที่ได้ไม่ accurate ซึ่งผิดกับวิธีนี้ ในการหาปริมาณของสารก็ทำได้ง่ายและสดวกในการ Scan. ไม่ต้องย้อมสีก็เห็นชัด เพราะไม่มี Tailing ผลที่ได้ก็ Accurate มาก จึงเป็นวิธีที่เหมาะที่สุดสำหรับ Biochemist. ทั้งหลาย ที่จะใช้ทั้ง Routine Lab. และด้าน Research

Refference

1. Itano., H.A. Arch. Biochem. 47:148, 1953.

2. Kunkel, H.G. and Wallenius G. 122, 288, 1955.

3. Masri, M.S. Josephson, A.M. and Singer, K 1958. Blood 13, 533

4. Gerald, P.S. Blood, 936, 1958

5. Lechman, H, and Agar. J. A M. (1961)

6. Kohn J. (1958). Trans. roy Soc. Trop. Med. Hyg. 52, 304

7. Kohn J "A Micro-electrophoretic Method" Nature 1958, 181, 839

8. Afonso. E. Clinical chem. Acta 7, 545, 1962

9. Graham. J.L. and G rumbaum, B. W. Amer. J. clin. Path., 39, 567 (1963)

10. Cellulose acetate membrane electrophoresis. Kimura J. clin. Path. 12. 477-82 Sep. 64

11. Scand. J. clin., Lab. Invert. 15:98-101, 1663

12. Nomenclature of Abnormal Hemoglobin (J.A.M.A. 174: 1845, 1960)

Abstract

HEMOGLOBIN ELECTROPHORESIS ON CELLULOSE ACETATE IN CHIANG MAI MEDICAL STUDENTS AND PATIENTS.

Jumrussri Kasemsawatdi, B.S. (M.T.) *

The Hemoglobin Electrophoresis by the cellulose acetate method of 170 cases of Chiang Mai Medical Students and Patients, Chiang Mai Hospital have been determined. The percentage of hemoglobin detected by this method is 78.23 (133 cases) for hemoglobin AA, 11.76 (20 cases) for hemoglobin AE, 0.5 (1 case) for hemoglobin AF, 2.94 (5 cases) for hemoglobin AH, 5.29 (9 cases) for hemoglobin F & Bart's and 1.18 (2 cases) for hemoglobin EF.

Electrophoresis by the cellulose acetate method is simple, accurate and can be done in a short time. The fraction on hemoglobin cellulose electrophoresis is clear and no tailing appears. Detected normal values of hemoglobin A_2 of 133 cases ranged from 0 5 to 4.5 %, Mean Percentage is 2.36 and Standard Deviation 0.073.

This method is appropriate for study and research in electrophoresis. Although the sample to be tested is small in amount, the fraction of hemoglobin is detectable and the result can be read in 45 minutes.

In comparing this method with the Paper Electrophoresis method, the latter is more time consuming and tailing and more errors appeared in the fraction.

* Central Lab., Khon Khan Hospital.

ย่อและรีวิวเอกสาร

Modified D M S O-Trichrome Technic for Staining Intestinal Protozoa in Fresh Fecal Smear.

วิธีย้อมสี

1 เอาอุจจาระมาสเมียบางๆ บนแผ่นกระจกทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วเอาจุ่มน้ำยา 100% D M S O (Dimethyl sulfoxide) ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 นาที

2 จุ่มลง 7% เอธิลแอลกอฮอลนาน 1 นาที

3 ย้อมด้วยสี Triehrome นาน 3 นาที

4 ล้างสีออกด้วย แอซิด แอลกอฮอล (1 หยดอาซีทิคแอซิด เข้มข้นลงใน 10 มล. ของ 95% เอธิลแอลกอฮอล) จนสีหมดจากกระจก (ประมาณ 10-30 วินาที)

5 ล้างด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอลนาน 1 นาที

6 จุ่มลงใน 100% เอธิลแอลกอฮอลนาน 1 นาที

7 จุ่มลงใน Xylol จนเกิดการสท้อนแสงบนแผ่นสเมีย

8 เม้านท์ด้วยน้ำยาเม้านท์และนำไปดูด้วยกล้องจุลทัศน์

Protozoa ติดสี blue green, Karyosome จะติดสี Deeper bluegreen ถึงม่วง Chromatoid ติดสีแดง

Reference

Rampey, Jr. J.H. : Modified D M S O Trichrome Technic for Staining Intestinal Protozoa in Fresh Fecal Smear. Tech. Bull. Reg. Med. Techn. 38:79,1968.

เนตร สุวรรณคฤหาสน์ วท.บ.
(เทคนิคการแพทย์)

Human Isospora belli Infraction in New York City.

Cahill และ Tsai ได้รายงานผู้ป่วยหนึ่งรายซึ่งเป็นผู้สาวชาวอเมริกันผิวขาวอายุ 38ปี ได้ป่วยเป็นโรคท้องเดินหลังจากกลับจากการเดินทางไปอาร์เจนตินามาได้หนึ่งเดือน เขาได้ตรวจอุจจาระพบ Immature Oocystsของ Isospora belli มากมาย

Reference

Cahill, K.M. and Tsai, Y.H. : Human Isospora belli Infraction in New York City. J. Trop. Med. Hyg. 71: 131-133, 1968.

เนตร สุวรรณคฤหาสน์ วท.บ.
(เทคนิคการแพทย์)

ข่าววารสารเทคนิคการแพทย์

สมาชิกใหม่

เป็นที่น่ายินดีที่ ขณะนี้ สมาชิก วาร สาร เทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ มีจำนวนทั้งสิ้น ๑๐๘ รายแล้ว สมาชิกที่สมัครเป็นกลุ่มก้อน ในระยะหลังนี้ คือนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ บีที่ ๓ ซึ่งพร้อมใจกันเซ็นใบสมัครเป็นสมาชิก รวมด้วยกัน ๒๐ ราย คณะผู้จัดทำขอขอบคุณในการแสดงออกถึงสปิริต และความสามัคคีของพวกเราชาวเทคนิคการ แพทย์ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ทัศนาจร-เทคนิคการแพทย์สังสรรค์

นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ บีที่ ๒ และ บีที่ ๓ ได้ร่วมกันจัดทัศนาจรและงานเทคนิคการแพทย์สังสรรค์ สำหรับ น้อง ใหม่บี นี้ ขึ้น เมื่อ ๗ กรกฎาคม ๒๕๑๑ โดยได้จัดแปลกไปกว่าทุกบี คือจัดทัศนาจรออบหลวงโดยรถบัสของคณะแพทยศาสตร์ มีอาหารและเครื่องดื่มบริการพร้อม และมีพิธีรับน้องใหม่แบบกระจุ๋มกระจิ๋ม บริ เวณ ออบ หลวง ด้วย ออกเดินทางจากคณะแพทยศาสตร์ เวลา ๐๘.๐๐ น. เดินทางกลับเวลา ๑๗.๐๐ น. งานเป็นไปด้วยความเรียบร้อย, สนุกครึกครื้น และเป็นที่พอใจของน้องใหม่ทั่วหน้ากัน

งานเลี้ยงรับน้องบีที่ ๓

พี่ ๆ ชาวเทคนิคการแพทย์ที่สำเร็จการศึกษารุ่นแรก - และที่รับราชการอยู่ในเชียงใหม่ได้ร่วมกันเป็นเจ้าภาพ จัดงานเลี้ยงรับน้องๆ เทคนิคการแพทย์บีที่ ๓ เมื่อเย็นวันที่ ๖ กรกฎาคม ๒๕๑๑ ณ บริเวณสนามหน้าบ้านพี่สนอง-อรพินธ์ ไชยารัศมี งานเลี้ยงเป็นไป ด้วยความ อิ่ม หน่ำ สำราญ ครื้น เครง และสนิทสนมยิ่งระหว่าง พี่ๆ น้องๆ ชาวเทคนิคการแพทย์

งานนี้ต่อไปจะได้จัด ให้มีเป็น ประเพณีทุกบี โดยพี่ๆ ที่จบการศึกษาและนักศึกษาเทคนิคการแพทย์บีที่ ๔ ร่วมกันเป็นเจ้าภาพเลี้ยงรับน้องบีที่ ๓ ที่ข้ามทุ่งจาก ม.ช. มาเรียนที่ ร.ร. เทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ เพื่อทำความสนิทสนมและแสดงออก ถึงน้ำใจ ของพี่ ๆ ต่อ นัก ศึกษา รุ่นน้อง

งานวันกล้วยไม้ประจำปี เนื่องในวันเฉลิมพระชนม์พรรษา

เมื่อวันที่ ๑๒ สิงหาคม ๒๕๑๑ อันเป็นวันเฉลิมพระชนม์พรรษาของสมเด็จพระบรมราชินีนาถ ครบสามรอบ ทางสมาคมกล้วยไม้เชียงใหม่ ได้จัดให้มีการประกวดการจัดสวนกล้วยไม้และกล้วยไม้ทุกประเภท ณ บริเวณอาคารพุทธสถาน ในงานนี้ ร.ร. เทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้เข้าร่วมจัดสวนกล้วยไม้ประกวดด้วย ซึ่งปรากฏว่าได้รับรางวัลที่ ๓ ได้ถ้วยรางวัลเบ็ดเกียรติแก่โรงเรียน เป็นที่ชื่นชมแก่ บรรดานักศึกษาผู้ร่วมจัดสวนกล้วยไม้ทั่วหน้ากัน

ไปนอกเพื่อศึกษาต่อ

คุณพัตราภรณ์ ชมเชิงแพทย์ ได้รับทุน เอ.ไอ.ดี. เพื่อไปศึกษาต่อที่สหรัฐอเมริกาเป็นเวลา ๒ ปี และได้เดินทางจากกรุงเทพฯ วันที่ ๑๗ สิงหาคม นี้แล้ว

บทบรรณาธิการ

ก่อนอื่นผมต้องขออภัยต่อท่านสมาชิกทุกท่าน ที่หนังสือวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ได้ออกไปสู่สายตาของท่านรวม ๒ ฉบับแล้ว แต่มิได้มีบทบรรณาธิการที่จะแถลงบางสิ่งบางอย่างให้ท่านสมาชิกได้ทราบเกี่ยวกับวารสารนี้เลย ดูๆ แล้วจะเป็นการเอาเปรียบท่านสมาชิกไปหน่อย แต่ผมก็คิดว่าทุกท่านคงจะให้อภัย

กำเนิดของหนังสือวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่นั้น มาจากแรงใจของกลุ่มเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ร่วมกับนักศึกษาเทคนิคการแพทย์รุ่นพิเศษ ที่จะสร้างสรรค์สถาบันเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ให้ได้เป็นที่รู้จักของสถาบันการศึกษา ทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของการศึกษาเทคนิคการแพทย์ การแลกเปลี่ยนความรู้ระหว่างสมาชิกเทคนิค การแพทย์หรือทุก แขนง ของ วิทยา ศาสตร์การแพทย์ นอกจากนั้นผมมีความปรารถนาอย่างยิ่งที่จะให้นักเทคนิคการแพทย์ ทุกคนไม่ว่าจะจบการศึกษาทางด้านนี้มาจากสถาบันใด ได้มีโอกาสแสดงความคิดเห็น แสดงผลงานการวิจัยทางด้านนี้ อันจะเป็นประโยชน์แก่หมู่เพื่อนเทคนิคการแพทย์และสมาชิกในสาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์

ท่านสมาชิกคงจะทราบดีแล้วว่าพวกเราปฏิบัติงานในด้านการใช้เทคนิคต่าง ๆ ในห้องทดลองในการที่ขบปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับคนเจ็บป่วย ซึ่งทุกท่านก็คงจะต้องยอมรับว่า บางรายก็ง่าย บางรายก็ยาก แพทย์กับเทคนิคการแพทย์ต้องทำงานประสานกันอย่างดี แพทย์ทำหน้าที่แพทย์ที่ดี เทคนิคการแพทย์ก็ต้องทำหน้าที่เทคนิคการแพทย์ที่ดี เมื่อเป็นเช่นนี้คนกลางคือคนเจ็บไข้ก็จะได้รับผลดีไปด้วยอย่างแน่นอน จะเห็นได้ว่าการปฏิบัติงานของพวกเรานั้น แพทย์ปฏิบัติงานร่วมกับพวกเราอย่างใกล้ชิดทีเดียว เหมือนพี่เหมือนน้อง ฉะนั้นท่านก็คงจะไม่ประหลาดใจที่ วารสาร นี้คณะ กรรม การ ที่ปรึกษาจึงมีแพทย์ร่วมอยู่ด้วย ท่านนายแพทย์เหล่านี้ก็ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีโดยมิได้รังเกียจเดียดฉันท์

ข้าพเจ้าในฐานะบรรณาธิการใคร่ขอชี้แจงในขั้นต้นแค่นี้ และขอให้สมาชิกทุกท่านได้โปรดให้ความสนับสนุนแก่วารสารนี้ด้วย สิ่งใดที่ท่านเห็นว่าน่าจะได้ปรับปรุงแก้ไข ข้าพเจ้าก็ยินดีที่จะรับฟังและปฏิบัติตามด้วยเหตุผล

อนึ่งใคร่ขอเชิญชวนให้ท่านทั้งหลายได้ช่วยเผยแพร่ ความรู้ของท่าน ให้แก่ เพื่อน เทคนิคการ แพทย์ และสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์อื่นๆ ในหนังสือวารสารเทคนิคการแพทย์นี้ด้วยเถิด.

บรรณาธิการ