

## บทที่ 5

### ผลการวิจัย

#### ข้อมูลของผู้ป่วยที่เข้าการศึกษา

##### ลักษณะทั่วไปของผู้ป่วย

การศึกษานี้มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษา 74 ราย เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการเจาะตรวจไขกระดูกที่คลินิกโรคเลือด 69 รายและผู้ป่วยใน 5 ราย โดยผู้ป่วยที่ได้รับการเจาะตรวจไขกระดูกที่ตึกผู้ป่วยนอกมารับการเจาะตรวจเพื่อติดตามการ รักษาภาวะโรคเลือดที่เป็นอยู่ แบ่งตามประเภทของโรคตามตารางที่ 5.1

ผู้ป่วยในการศึกษาที่ได้รับการเจาะไขกระดูกทุกรายได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจทาง serology ในวันที่มาตรวจครั้งแรกและภายใน 4-6 สัปดาห์หลังจากที่มีการเจาะตรวจครั้งแรก โดยมีผู้ป่วยมาตรวจเลือดครั้งที่สองทั้งหมด 26 ราย ดังนั้นจึงมีผลการตรวจทาง serology เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของ titer 26 ราย ดังแสดงในตารางที่ 5.3

#### ลักษณะของผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสเดงกีในไขกระดูกโดยวิธี RT-PCR

จำนวนของผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสเดงกีในไขกระดูกโดยวิธี RT-PCR ในช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษามีจำนวน 3 ราย โดยมีรายละเอียดดังนี้

#### ผู้ป่วยรายที่หนึ่ง

ผู้ป่วยชายอายุ 56 ปี ภูมิลำเนาอยู่ที่ กรุงเทพมหานคร ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น chronic myelogenous leukemia (CML) เมื่อปี 2539 มาตรวจด้วยอาการ ไข้, อ่อนเพลียและตับม้ามโต แพทย์ตรวจพบว่ามีเม็ดเลือดขาวในเลือดสูง ลักษณะของเม็ดเลือดขาวมีความผิดปกติ โดยพบเซลล์ myeloblast สูง ผู้ป่วยได้รับการเจาะไขกระดูกเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ผลของไขกระดูก มีลักษณะเข้าได้กับ ผู้ป่วยมีประวัติการรักษาวัณโรคเมื่อต้นปี 2539 โดยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น TB pleura ขณะนั้นมีอาการน้ำในเยื่อหุ้มปอด (pleural effusion) โดยผล pleural biopsy พบมี granulomas ผู้ป่วยได้รับยาวัณโรคนาน 18 เดือน ต่อมามีอาการปกติ

#### การรักษา

แพทย์ได้ให้การรักษาโดยใช้ยาที่ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งได้แก่ hydroxyurea โดยปรับขนาดยาตามการตอบสนองของการลดลงของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ผิดปกติ ร่วมกับยา allopurinol เพื่อลดกรด uric ในเลือดที่สูงเนื่องจากการสร้างและทำลาย เซลล์มากขึ้นจาก ภาวะมะเร็ง

การรักษาด้วยยา hydroxyurea ได้ผลอยู่ในช่วงแรกของการรักษา แต่ต่อมามี จำนวนของเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น ซึ่งบ่งถึงการที่ผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อ hydroxyurea ที่ผู้ป่วยกำลังได้รับอยู่ แพทย์จึงได้ปรับสูตรการรักษาโดย เพิ่มยา 6-MP (mercaptopurine) ซึ่งเป็นยา purine antagonist ยับยั้งการสร้าง DNA และ RNA ผู้ป่วยได้รับยา 6-MP นาน และต่อมามี leukocytosis เพิ่มขึ้น จึงได้ปรับเปลี่ยนการรักษาอีกครั้งโดยใช้ยา Imatinib ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม tyrosine kinase inhibitor ที่มีความจำเพาะต่อ tumor ที่สร้างจากยีน Bcr-Abl

ผู้ป่วยได้รับการเจาะไขกระดูกเพื่อติดตามการรักษา โดยไขกระดูกได้นำมาตรวจเพื่อติดตามประเมินติดตามการรักษา และส่วนของไขกระดูกได้ นำมาตรวจหา dengue genome โดยวิธี RT-PCR ได้มีการเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย 2 ครั้ง ห่างกันประมาณ 5 สัปดาห์ จากการตรวจ CBC ใน peripheral blood smear ไม่พบมี myeloblast cell

ผลการตรวจเซลล์ที่ได้จากการเจาะไขกระดูกของผู้ป่วยรายนี้ไม่พบมีลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติ

ผลทางพยาธิสภาพของไขกระดูก normocellular trilineage marrow with no histological evidence of ผลของการตรวจ HI และ ELISA ของผู้ป่วยรายนี้แสดงดังตาราง 5.3

จากการซักประวัติผู้ป่วยเรื่องการเจ็บป่วยภายในช่วง 4 สัปดาห์ก่อนที่จะมีการเจาะไขกระดูก ผู้ป่วยให้ประวัติว่าปกติไม่มีไข้มาก่อน และ ปฏิเสธการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสแดงก็ภายในอดีต

### ผู้ป่วยรายที่สอง

ผู้ป่วยหญิงอายุ 38 ปี อาชีพพยาบาล ภูมิลำเนาอยู่ที่จังหวัด พิษณุโลก ผู้ป่วยมาตรวจที่โรงพยาบาล ครั้งแรกเมื่อเดือน มีนาคม 2548 ด้วยอาการ ไข้, หน้า,คอและแขนขา มีอาการบวม มาประมาณ สัปดาห์ก่อนมาโรงพยาบาล ตรวจพบจากโรงพยาบาลที่ส่งตัวมาพบมี ต่อม้ำเหลืองในช่องอกโต ทำให้เกิด superior vena cava obstruction ผล complete blood count(CBC) มีจำนวนของ lymphoblast สูงมากกว่า 6 % การตรวจเพิ่มเติมที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ flow cytometry วินิจฉัยว่าเป็น precursor B-lymphoblastic leukemia(CLL) ผู้ป่วยได้รับการรักษาโดยให้ยาเคมีบำบัดแบบที่ใช้ในผู้ป่วยที่เป็นโรค acute lymphoblastic leukemia (ALL) ประกอบด้วย

viscristine, doxorubicin และ L-asparaginase หลังรับยาเคมีบำบัดครั้งแรกผู้ป่วยเกิด neutropenia และมี invasive pulmonary aspergillosis หลังจากได้รับเคมีบำบัดครั้งแรกผลการตรวจไขกระดูกไม่พบ เซลล์มะเร็งหลงเหลืออยู่ และจากนั้นก็เริ่มให้ยาครั้งที่สองเมื่อเดือนกันยายน 2548 ซึ่งหลังจากให้ยาครั้งนี้ครบ ผลการตรวจ CBC มี เม็ดเลือดขาวสูงผิดปกติและมีจำนวนของ lymphoblast cell สูงขึ้นอีก แพทย์ผู้ทำการรักษาจึงได้ปรึกษากับผู้ป่วยเพื่อที่จะทำการรักษาโดยการทำให้ peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) หลังจากผู้ป่วยได้ ยาเคมีบำบัดครั้งที่สามจึงได้รับการทำ PBSCT เมื่อปลายเดือน กันยายน 2548

หลังจากที่ทำการปลูกถ่ายไขกระดูก ผู้ป่วยยังคงได้รับยา methotrexate และ cyclosporine A เพื่อป้องกันภาวะ graft-versus-host disease (GVHD) ผู้ป่วยได้รับการเจาะไขกระดูกเพื่อประเมินติดตามการรักษาเมื่อเดือน พฤศจิกายน 2549 ผลการเซลล์ในไขกระดูก ไม่พบเซลล์ที่ผิดปกติและผลการตรวจทางพยาธิวิทยาปกติ

การตรวจเลือดเพื่อหา HI และ ELISA ของผู้ป่วยรายนี้ได้แสดงในตาราง 5.3 ผู้ป่วยปฏิเสธประวัติ การมีไข้ในช่วง 4 สัปดาห์ก่อนที่จะมีการตรวจไขกระดูก และผู้ป่วยรายนี้เคยได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์เมื่อตอนอายุประมาณ 16 ปี ว่าเป็นไข้เลือดออก

### ผู้ป่วยรายที่สาม

ผู้ป่วยหญิงอายุ 54 ปี ภูมิลำเนาอยู่ที่กรุงเทพมหานคร มารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2546 ด้วยอาการอาเจียนเป็นเลือดจากแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น พบในขณะนั้นว่าผู้ป่วยมีปัญหาเม็ดเลือดขาวในเลือดสูง ตรวจไขกระดูก พบว่ามี hypercellularity of bone marrow with myeloid cell proliferation ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น chronic myeloid leukemia ผู้ป่วยมารับการเจาะไขกระดูกเพื่อติดตามการรักษา ในช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษาผลการตรวจไขกระดูก การวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา คือ normocellular trilineage marrow with no histological evidence of leukemia ในช่วงเวลา 4 สัปดาห์ก่อนมาเจาะไขกระดูก ผู้ป่วยไม่มีอาการผิดปกติ

ผู้ป่วยสามรายที่ตรวจพบจากการทำ PILOT study ในช่วงก่อนหน้านี้นี้มีดังนี้

### ผู้ป่วยรายที่สี่

ผู้ป่วยหญิงอายุ 44 ปี ภูมิลำเนาอยู่ที่กรุงเทพมหานคร ผู้ป่วยมาตรวจครั้งแรกที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เมื่อเดือน กุมภาพันธ์ ปี พ.ศ. 2547 ด้วยอาการต่อม้ำเหลืองโตทั่วไป (generalized

lymphadenopathy) ผลการตรวจพยาธิวิทยาจากต่อมน้ำเหลืองเข้าได้กับ diffuse large B cell lymphoma ระยะของโรคตอนที่ได้รับการวินิจฉัยคือ stage IIIa

ผู้ป่วยได้รับการรักษาโดยยาเคมีบำบัดเพื่อรักษา lymphoma ดังนี้ M-CHOP จำนวน 7 ครั้ง ครั้งสุดท้ายคือเมื่อเดือนพฤศจิกายน 2549 โดยผลการตรวจ เอกซเรย์ทอมพิวเตอร์ในช่องท้องไม่พบว่ามี ต่อมน้ำเหลืองโตผิดปกติ

#### ผู้ป่วยรายที่ห้า

ผู้ป่วยชายอายุ 79 ปี ภูมิลำเนาภูมิลำเนาอยู่ที่กรุงเทพมหานคร ผู้ป่วยมาตรวจครั้งแรกที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เมื่อเมษายน พ.ศ. 2545 ด้วยอาการซีด หลังจากนั้นได้รับการตรวจเพิ่มเติมเพื่อหาสาเหตุของภาวะซีด ผลการตรวจเลือดมี globulin ในเลือดสูงและมี monoclonal gammopathy ตรวจไขกระดูกพบว่ามี plasma cell ในไขกระดูกสูงขึ้น ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น multiple myeloma

ผู้ป่วยได้รับการรักษาโดยยาเคมีบำบัดที่ประกอบด้วย MP regimen

ผู้ป่วยไม่มีอาการผิดปกติก่อนได้รับได้รับการเจาะไขกระดูก

#### ผู้ป่วยรายที่หก

ผู้ป่วยชายอายุ 45 ปี ภูมิลำเนาอยู่ที่ชลบุรี ผู้ป่วยมาตรวจครั้งแรกที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เมื่อ เดือนพฤศจิกายน 2545 ด้วยอาการซีด อ่อนเพลีย ได้รับการตรวจวินิจฉัยจากการเจาะไขกระดูก และการย้อมพิเศษทาง immunohistochemistry ว่าเป็น multiple myeloma ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดประกอบด้วย DCEP จำนวน 6 ครั้ง ต่อมาได้รับการรักษาโดยวิธีการปลูกถ่ายไขกระดูก autologous peripheral blood stem cell transplantation เมื่อเดือน เมษายน 2548

ผู้ป่วยไม่มีอาการผิดปกติก่อนได้รับได้รับการเจาะไขกระดูก

ตารางที่ 5.1 ลักษณะของผู้ป่วยที่เข้าในการศึกษา

<p>อายุอยู่ในช่วง 38-79 ปี ( เฉลี่ย 56 ปี)  เพศ: ชาย 44 คน หญิง 28 คน  ระยะเวลาของการป่วยเป็นโรคเลือด 4-8 ปี</p>	
Underlying diseases	Number of patients
<p>Hematologic malignancy</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Leukemia (Acute and Chronic) 41</li> <li>● Non-Hodgkin lymphoma 25</li> <li>● Multiple myeloma 6</li> </ul>	
<p>Non-hematologic malignancy</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● HIV infection with disseminated cryptococcosis 1</li> <li>● HIV infection with prolonged fever 1</li> </ul>	
Total	74

ตารางที่ 5.2 ลักษณะของผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสเดงกีในไขกระดูก

ตารางแสดงลักษณะของผู้ป่วยที่ตรวจพบไวรัสเดงกีในไขกระดูกโดยวิธี RT-PCR แสดงผลการตรวจ HAI และ ELISA ของผู้ป่วยแต่ละราย

ผู้ป่วยรายที่ และการวินิจฉัยโรค	อายุ (ปี)	เพศ	HAI		ELISA			
			ครั้งแรก	ครั้งที่ สอง	IgM		IgG	
					1 <sup>st</sup> IgM	2 <sup>nd</sup> IgM	1 <sup>st</sup> IgG	2 <sup>nd</sup> IgG
1. Chronic myelogenous leukemia (CML)	56	M	1:40	1:80	0	1	4	6
2. B cell lymphoma	38	F	1:40	1:40	0	0	2	2
3. Chronic myelogenous leukemia (CML)	54	F	<1:20	<1:20	0	0	10	5
4. B cell lymphoma	44	F	1:160	NA	2	NA	16	NA
5. Multiple myeloma	79	M	1:40	NA	24	NA	1	NA
6. Multiple myeloma	45	M	1:40	NA	4	NA	3	NA

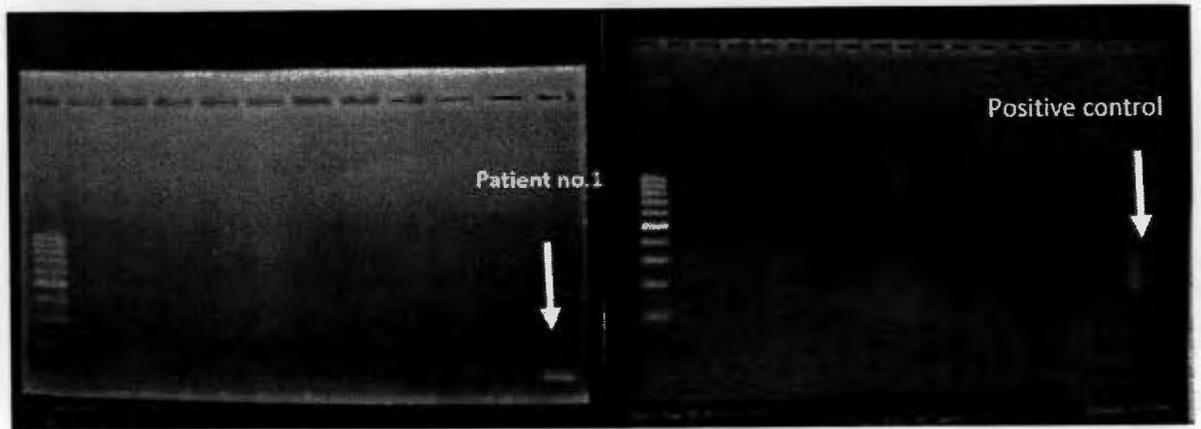
M=male, F=female, NA=data not available

ผู้ป่วยรายที่ 4-6 เป็นผู้ป่วยรายที่ทำการเจาะตรวจในช่วง PILOT study

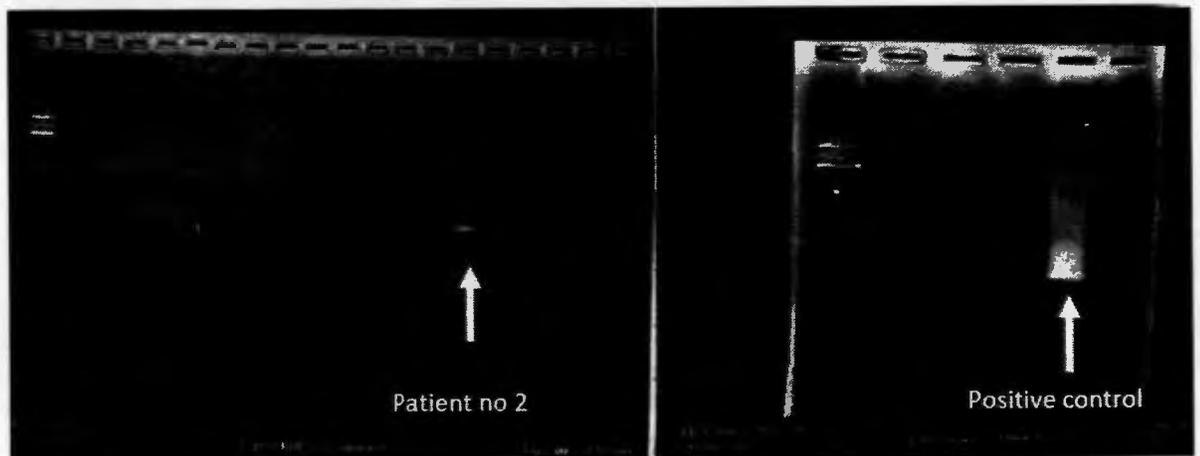
ตารางที่ 5.3 ผลการตรวจ HAI และ ELISA

ลำดับที่	อายุ/เพศ	HI										ELISA			
		DEN1/1	DEN1/2	DEN2/1	DEN2/2	DEN3/1	DEN3/2	DEN4/1	DEN4/2	CHIK/1	CHIK/2	IgM/1	IgM/2	IgG/1	IgG/2
1	42/F	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20	<1:20	0	NA	5	NA
2	55/M	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	<1:20	<1:20	4	3	13	14
3	65/F	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	<1:20	<1:20	0	0	13	10
4	47/M	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	0	0	1	1
5	39/F	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	<1:20	1	2	5	4
6	60/M	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:40	6	8	2	4
7	49/F	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	<1:20	0	0	1	1
8	52/M	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	<1:20	1:20	7	8	1	3
9	41/F	1:80	1:40	1:80	1:40	1:80	1:40	1:80	1:40	<1:20	<1:20	0	0	11	6
10	54/F	1:320	1:160	1:320	1:160	1:320	1:160	1:320	1:160	1:40	1:40	0	3	12	12
11		1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	0	1	4	6
12	39/M	1:20	1:20	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	<1:20	21	19	10	6
13	60/M	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	1	2	5	0
14	50/F	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	5	1	6	0
15		1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	0	0	2	2
16	48/F	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	4	0	13	2
17	42/F	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	3	3	3	5
18	69/M	1:80	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	1:160	<1:20	<1:20	5	4	23	17
19	32/F	1:80	1:80	1:160	1:80	1:160	1:80	1:160	1:80	<1:20	<1:20	1	0	7	8
20	58/M	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	0	2	1	5
21	36/M	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	5	3	1	0
22	44/F	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	0	6	1	7
23	39/M	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	0	0	7	2
24	50/M	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	1:40	<1:20	1	0	5	5
25	61/F	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80	<1:20	1:20	3	4	4	2
26		<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	<1:20	0	0	10	5

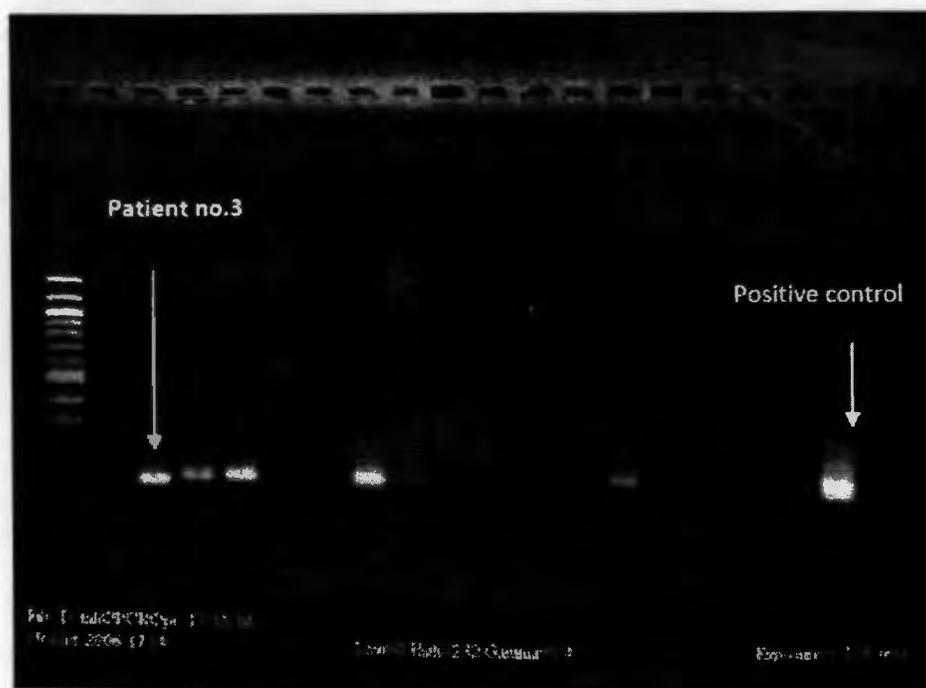
F= female, M= male ผู้ป่วยหมายเลขที่ 11, 15, 26 เป็นผู้ป่วยที่ตรวจพบเดกกีโนไซกระดุก



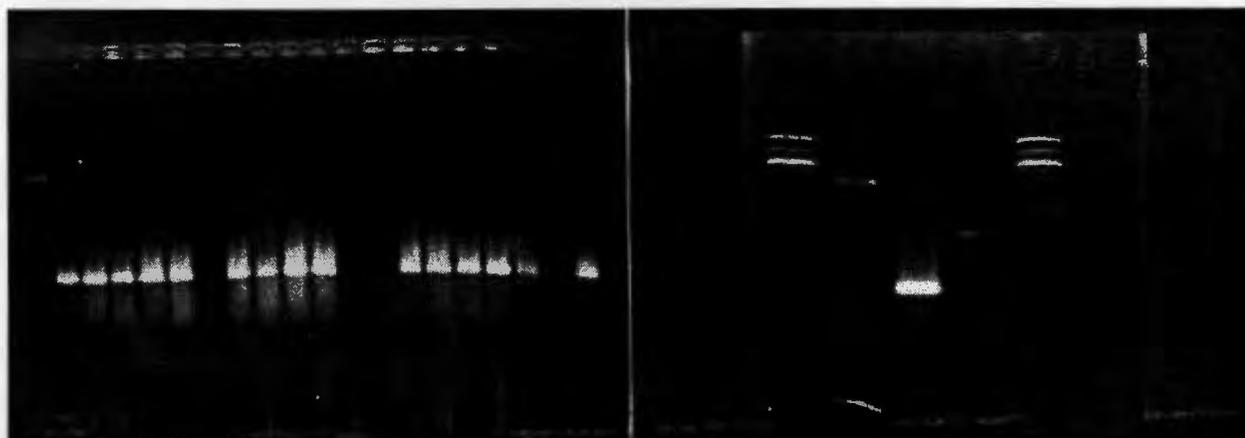
รูปที่ 5.1 แสดง RT-PCR ของผู้ป่วยรายที่หนึ่งเปรียบเทียบกับ positive control



รูปที่ 5.2 แสดง RT-PCR ของผู้ป่วยรายที่สองเปรียบเทียบกับ positive control



รูปที่ 5.3 แสดง RT-PCR ของผู้ป่วยรายที่สาม เปรียบเทียบกับ positive control และผลของผู้ป่วยรายอื่นที่ตรวจพบไวรัสแดงกึ่งโดยวิธี RT-PCR ใน PBMC จากในเลือด



รูปที่ 5.4 แสดง RT-PCR ของ Beta 2 globulin gene ที่ใช้แสดงถึงคุณภาพของ RNA ที่สกัดออกจากสิ่งส่งตรวจ