

การศึกษาระดับผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยเด็กธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาด้วย
วิตามินซีและวิตามินอี



นายแพทย์รัฐสิทธิ์ ดิษยบุตร

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชากุมารเวชศาสตร์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-5161-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**THE STUDY OF OXIDATIVE PRODUCTS AND ANTIOXIDANT STATUS IN
BETA-THALASSEMIA CHILDREN WITH
VITAMIN C AND VITAMIN E SUPPLEMENT**



Mr. Thasinas Dissayabutra

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Pediatrics in Pediatrics

Department of Pediatrics

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-5161-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาระดับผลึกภัณฑ์อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วย
เด็กธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาด้วยวิตามินซีและวิตามินอี

โดย

นายจุฬินัส ดิษยบุตร

ภาควิชา

กุมารเวชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ปัญญา เสกสรรค์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์นายแพทย์ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



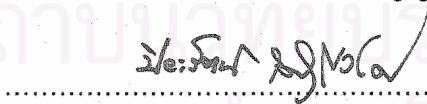
..... ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์นายแพทย์อิศรางค์ นุชประยูร



..... อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ปัญญา เสกสรรค์



..... กรรมการ

ศาสตราจารย์ปิยะรัตน์ ไตสุโขวงศ์

บทคัดย่อวิทยานิพนธ์

ฐิติณัฐ ดิษยบุตร : การศึกษาระดับผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยเด็กธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาด้วยวิตามินซีและวิตามินอี (THE STUDY OF OXIDATIVE PRODUCTS AND ANTIOXIDANT STATUS IN BETA-THALASSEMIA CHILDREN WITH VITAMIN C AND VITAMIN E SUPPLEMENT) อ. ที่ปรึกษา : รศ.นพ.ปัญญา เสกสรรค์,
จำนวนหน้า : 56 หน้า ISBN 974-17-5161-3

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาระดับของสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยเด็กโรคเบต้าธาลัสซีเมียที่มีภาวะเหล็กเกิน ทั้งก่อนและหลังให้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 3 เดือน

วิธีดำเนินการ เป็นการศึกษาแบบ Pre- and Post-treatment comparison clinical trial ในผู้ป่วยเด็กที่เป็นโรคเบต้าธาลัสซีเมียและต้องได้รับเลือดเป็นระยะๆ โดยไม่ได้รับยาขับเหล็ก จำนวน 20 คน ทำการตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระ (วิตามินซี,วิตามินอี, TAS, GSH) ผลิตภัณฑ์ของอนุมูลอิสระ (Plasma MDA, erythrocyte MDA) บิลิรูบิน ฮีโมโกลบินทั้งหมดและฮีโมโกลบินในพลาสมามาก่อนและหลังให้ยาที่ 1 และ 3 เดือนตามลำดับ

ผลการศึกษา ผู้ป่วยเด็กธาลัสซีเมียชนิดเบต้าจำนวน 20 คนมีระดับวิตามินซีและวิตามินอีในเลือดต่ำ (1.27 mg/L และ 9.69 μ M/L ตามลำดับ) มีระดับ TAS และ GSH ต่ำ (GSH 7.76 mM/gHb) ระดับของ plasma และ erythrocyte MDA, บิลิรูบินและฮีโมโกลบินในพลาสมาสูง ฮีโมโกลบินทั้งหมดต่ำ เมื่อรับประทานวิตามินซีขนาด 100 มิลลิกรัมต่อวัน และวิตามินอีขนาด 400-600 มิลลิกรัมต่อวัน พบว่าระดับวิตามินซีและวิตามินอีสูงขึ้น (2.60 mg/L และ 11.15 μ M/L ตามลำดับ) และ GSH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (8.75 mM/gHb) ค่า TAS เพิ่มขึ้น plasma และ erythrocyte MDA และบิลิรูบินลดลงโดยไม่มีนัยสำคัญ ค่าต่างๆ นี้ยังไม่กลับเป็นปกติที่ 3 เดือนหลังได้รับประทานยา ฮีโมโกลบินไม่มีการเปลี่ยนแปลง ขณะที่ค่าฮีโมโกลบินในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ ระหว่างที่รับประทานยาผู้เข้าร่วมโครงการไม่มีภาวะแทรกซ้อนจากยา

สรุป การให้ผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียที่มีภาวะเหล็กเกินรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเสริมช่วยเพิ่มระดับวิตามินซี วิตามินอีและ glutathione ได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ระดับ TAS, plasma MDA, erythrocyte MDA และบิลิรูบินมีค่าใกล้เคียงปกติมากขึ้น แต่ค่าฮีโมโกลบินไม่เปลี่ยนแปลง

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์
สาขาวิชากุมารเวชศาสตร์
ปีการศึกษา 2546

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

MAJOR : PEDIATRICS

KEYWORDS : BETA-THALASSEMIA, OXIDATIVE STRESS, VITAMIN C, VITAMIN E,
ANTIOXIDANTS

THASINAS DISSAYABUTRA : THE STUDY OF OXIDATIVE PRODUCTS AND
ANTIOXIDANT STATUS IN BETA-THALASSEMIA CHILDREN WITH VITAMIN C AND
VITAMIN E SUPPLEMENT. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PANYA SEKSAN, M.D.
PAGES : 56 pages. ISBN 974-17-5161-3

Objectives : To study about the oxidative products and antioxidant status in beta-Thalassemia major children with iron overload before and after supplement with vitamin C and vitamin E for 3 months

Methods : A pre- and post-treatment comparison clinical trial was conducted in 20 beta-Thalassemia major children with regular red cell transfusion without iron chelating therapy. Each children was investigated for antioxidant status (Vitamin C, Vitamin E, TAS, GSH) oxidative products (plasma MDA, erythrocyte MDA) and plasma hemoglobin, total hemoglobin and bilirubin before and after supplement with vitamin C and vitamin E

Results : We found low serum vitamin C and vitamin E in most of the cases(1.27 mg/L and 9.69 μ M/L respectively). They had low TAS and GSH (GSH 7.76 mM/gHb), high plasma and erythrocyte MDA, bilirubin, plasma hemoglobin and low total hemoglobin. After supplement with 100 mg of vitamin C and 400-600 mg of vitamin E daily, serum vitamin C and vitamin E were increased(2.60 mg/L and 11.15 μ M/L respectively). We also found Glutathione level was also increased significantly (8.75 mM/gHb). TAS level was increased, plasma and erythrocyte MDA and total bilirubin were decreased but still be abnormal at 3 month after supplement. Plasma hemoglobin was higher and total hemoglobin was not changed. No adverse effect was observed.

Conclusion : Supplement of vitamin C and vitamin E in beta-Thalassemia children with iron overload increased vitamin C, vitamin E and glutathione level significantly. TAS, plasma and erythrocyte MDA and total bilirubin were improved. Hemoglobin was not changed.

Department of Pediatrics

Student's

Field of study :Pediatric

Advisor's

Academic year 2003

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้จะไม่สำเร็จลงได้หากปราศจากบุคคลดังต่อไปนี้

ศ.พญ.พิมลรัตน์ ไทยธรรมทานนท์ และศ.นพ.ภิรมย์ กมลรัตนกุล ที่อนุญาติให้มีการวิจัยและเผยแพร่งานวิจัยชิ้นนี้

รศ.นพ.ปัญญา เสกสรรค์ หัวหน้าหน่วยโลหิตวิทยา แผนกกุมารเวชศาสตร์ และอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้ให้คำแนะนำและช่วยแก้ไขความผิดพลาดต่างๆเสมอมา

ศ.ปิยะรัตน์ โตสุขโขวงศ์ หัวหน้าภาควิชาชีวเคมี ผู้ให้ข้อมูลการทำวิจัย รวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ผล pilot study และช่วยเหลือทั้งในด้านห้องปฏิบัติการและให้คำแนะนำในการทำรายงานการวิจัย

ผศ.พญ.ศรีสกล จตุพร อาจารย์ภาควิชาชีวเคมี ผู้ช่วยคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการเบื้องต้น

รศ.นพ.อิสรางค์ นุชประยูร อาจารย์ประจำหน่วยโลหิตวิทยา แผนกกุมารเวช ผู้ช่วยชี้แนะแนวทางการทำวิจัยและการคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการ

นอกจากนี้ ยังขาดไม่ได้ที่จะขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ที่ช่วยเหลือเรื่องของการเก็บส่งตัวอย่างเลือด การวิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการ และช่วยดูแลผู้เข้าร่วมโครงการเป็นอย่างดี ดังมีรายนามดังต่อไปนี้

1. คุณยุวดี วัชรพงศ์พิจิตร เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีวเคมี
2. คุณจรัส มณี เจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีวเคมี
3. คุณสนาน ละมาตร เจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาชีวเคมี
4. คุณถาวร ร่วมศักดิ์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยโลหิตวิทยา กุมารเวชศาสตร์
5. คุณเสาวลักษณ์ วรรณวิทย์สุทธิกุล เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยโลหิตวิทยา กุมารเวชศาสตร์

รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องตรวจผู้ป่วยนอก แผนกกุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทุกท่าน จึงขอแสดงความขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาไทย_____	ง
บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาอังกฤษ_____	จ
กิตติกรรมประกาศ_____	ฉ
สารบัญ_____	ช
สารบัญตาราง _____	ซ
สารบัญภาพ_____	ฅ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ_____	ฉ
เนื้อหา	
บทที่ 1 : บทนำ_____	1
บทที่ 2 : เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง_____	8
บทที่ 3 : วิธีดำเนินการวิจัย_____	16
บทที่ 4 : ผลการวิเคราะห์ข้อมูล_____	21
บทที่ 5 : สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะอื่นๆ_____	46
รายการอ้างอิง_____	53
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์_____	56

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณเหล็กในส่วนต่างๆ ของร่างกาย	8
ตารางที่ 4.1 แสดงอายุเฉลี่ยของผู้เข้าร่วมโครงการ	21
ตารางที่ 4.2 แสดงการกระจายของภูมิลำเนาของผู้เข้าร่วมโครงการ	22
ตารางที่ 4.3 แสดง Phenotype โรคธาลัสซีเมียของผู้เข้าร่วมโครงการ	22
ตารางที่ 4.4 แสดงระดับวิตามินซีของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและ หลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน	28
ตารางที่ 4.5 แสดงระดับวิตามินอีของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและ หลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน	30
ตารางที่ 4.6 แสดงระดับ Total antioxidant status ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วม โครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน	32
ตารางที่ 4.7 แสดงระดับ Glutathione ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและ หลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน	34
ตารางที่ 4.8 แสดงระดับ Plasma malondialdehyde (P-MDA) ของผู้เข้าร่วมโครงการ ก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน	36
ตารางที่ 4.9 แสดงระดับ Erythrocyte malondialdehyde (R-MDA) ของผู้เข้าร่วมโครงการ ก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน	38
ตารางที่ 4.10 แสดงระดับ Plasma Hemoglobin (P-HB) ของผู้เข้าร่วมโครงการ ก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน	40
ตารางที่ 4.11 แสดงระดับฮีโมโกลบิน (Hb) ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการ และหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน	42
ตารางที่ 4.12 แสดงระดับ Total bilirubin (TB) ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วม โครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน	44

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพประกอบ

ภาพที่ 1 แสดงกลไกการเกิดภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคโลหิตจาง	2
ภาพที่ 2 แสดงการทำงานของเอนไซม์ที่เรียกว่าเมทิลทรานสเฟอเรสโดยอาศัยอนุโมลิสระ	3
ภาพที่ 3 แสดงปฏิกิริยาการกำจัดสารอนุมูลอิสระโดยอาศัยเอนไซม์ต่างๆ ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ	4
ภาพที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารอนุมูลอิสระ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน	5
ภาพที่ 5 แสดงการทำงานของ Glutathione	11
ภาพที่ 6 แสดงชนิดต่างๆ ของวิตามินอี	11
ภาพที่ 7 แสดงการกำจัดสารอนุมูลอิสระโดยวิตามินซีและ Glutathione	14
ภาพที่ 8 แสดงการจำแนกอายุของผู้เข้าร่วมโครงการ	21
ภาพที่ 9 แสดงระยะเวลาการเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลฉุกเฉินของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย	23
ภาพที่ 10 แสดงจำนวนครั้งที่ผู้เข้าร่วมโครงการได้รับเลือดที่โรงพยาบาลฉุกเฉินแต่ละราย	24
ภาพที่ 11 แสดงสัดส่วนจำนวนผู้เข้าร่วมโครงการที่ได้รับผ่าตัดม้ามและไม่ได้ตัดม้าม	25
ภาพที่ 12 แสดงค่า ferritin ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการแต่ละราย (n = 18 คน)	26
ภาพที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ferritin และ total antioxidant status ก่อนเข้าร่วมโครงการ	27
ภาพที่ 14ก แสดงระดับวิตามินซีของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการ และหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน	29
ภาพที่ 14ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับวิตามินซีของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน	29
ภาพที่ 15ก แสดงระดับวิตามินอีของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการ และหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน	31
ภาพที่ 15ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับวิตามินอีของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน	31
ภาพที่ 16ก แสดงระดับ Total antioxidant status (TAS) ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละรายทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน	33

ภาพที่ 22ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับ Total bilirubin (TB) ของผู้เข้าร่วม
โครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอี
เป็นเวลา 1 และ 3 เดือน

45



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

DNA	=	deoxyribonucleic acid
GSH	=	glutathione
Hb	=	hemoglobin
MDA	=	malondialdehyde
OH	=	hydroxyl group
P-MDA	=	plasma malondialdehyde
R-MDA	=	erythrocyte malondialdehyde
RNA	=	ribonucleic acid
TAS	=	total antioxidant status
mg/dL	=	milligram per decilitre
mg/L	=	milligram per litre
mM	=	millimolar or millimole
μ M/L	=	micromolar or micromole per liter
mM/gHb	=	millimolar or millimole per gram of hemoglobin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

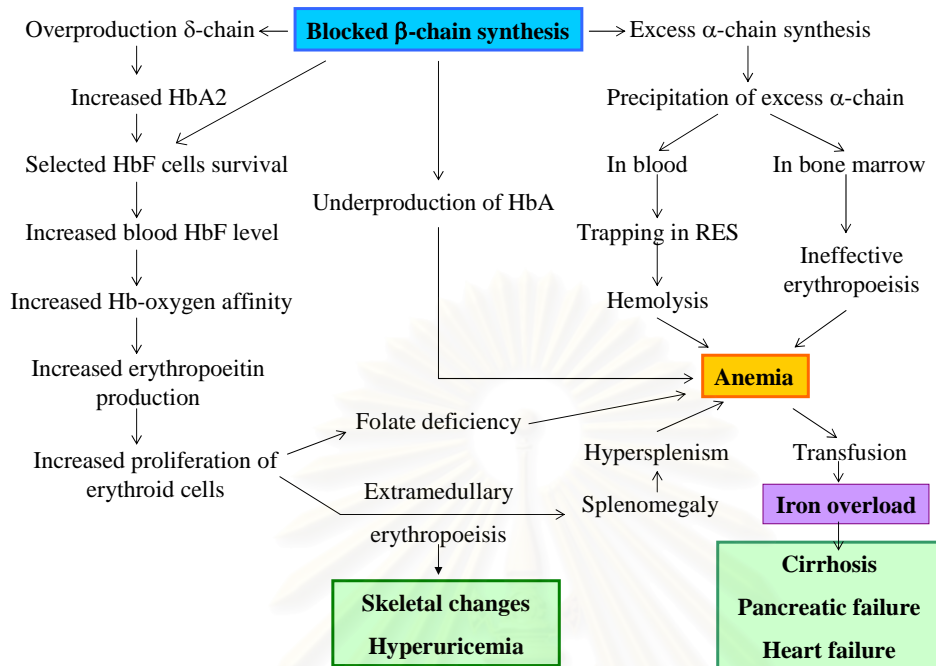
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคธาลัสซีเมียเป็นโรคเลือดชนิดถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่พบมากที่สุดทั่วโลก เกิดจากความผิดปกติของการสร้างโปรตีนโกลบินซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเม็ดเลือดแดง ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกง่ายกว่าปกติ โดยที่ความผิดปกติของการสร้างโปรตีนนั้นแบ่งได้เป็น ความผิดปกติในด้านปริมาณที่สร้าง (Thalassemia) เช่น α -Thalassemia (HbH, Hb Bart) หรือ β -Thalassemia และคุณภาพของโปรตีนที่สร้าง (hemoglobinopathy) เช่น HbCS, HbE เป็นต้น

โรคเบต้าธาลัสซีเมีย (β -Thalassemia) คือ โรคธาลัสซีเมียชนิดที่มีการสร้างโปรตีนโกลบินชนิดเบต้าลดลง (β^+ -Thalassemia) หรือไม่มีการสร้างเลย (β^0 -Thalassemia) เป็นโรคธาลัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพบร่วมกับภาวะ Hemoglobin E ซึ่งมีความผิดปกติของโกลบินชนิดเบต้าโดยมีการแทนที่ของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 26 จากกลูตามีนเป็นไลซีน ความผิดปกติของลำดับกรดอะมิโนทำให้โกลบินมีความผิดปกติ เป็นผลให้เซลล์เม็ดเลือดแดงอายุสั้น โดยเกิดภาวะเซลล์แตกในไขกระดูก ในกระแสเลือด หรือถูกทำลายโดยม้ามมากขึ้น ผู้ป่วยจะมีอาการโลหิตจาง ม้ามโต ทำให้การทำงานของเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่สร้างเม็ดเลือดแดงทั้งในและนอกไขสันหลังเพิ่มขึ้น เป็นผลให้กระดูกมีรูปร่างหนาขึ้น โดยเฉพาะบริเวณกระดูกใบหน้า ทำให้มีลักษณะใบหน้าจำเพาะในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (Thalassemic facies)

ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะซีดมาก เพื่อให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ จำเป็นต้องได้รับเลือดเป็นระยะ โดยเลือดที่ได้รับจะมีเหล็กอยู่ด้วย ทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้ได้รับเหล็กปริมาณมากเข้าสู่ร่างกาย นอกจากนี้ เม็ดเลือดแดงที่แตก จะปลดปล่อยโกลบินและเหล็กสู่กระแสเลือด ทำให้ระดับเหล็กในร่างกายสูงขึ้นกว่าภาวะปกติ เหล็กส่วนหนึ่งจะถูกนำกลับไปใช้ใหม่เพื่อสร้างเม็ดเลือดแดงที่ไขกระดูก เหล็กส่วนเกินจะไปสะสมอยู่ตามอวัยวะต่างๆ เช่น ตับ ไต หัวใจ ปอด ผิวหนัง คอมน้ำไขต่อต่างๆ ในร่างกาย เป็นต้น ซึ่งไม่สามารถกำจัดออกได้ด้วยกระบวนการต่างๆ ของร่างกายตามธรรมชาติ ทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้มีระดับเหล็กเกินสะสมในเนื้อเยื่อต่างๆ อันจะก่อให้เกิดความผิดปกติตามมาได้ (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 แสดงกลไกการเกิดภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมีย



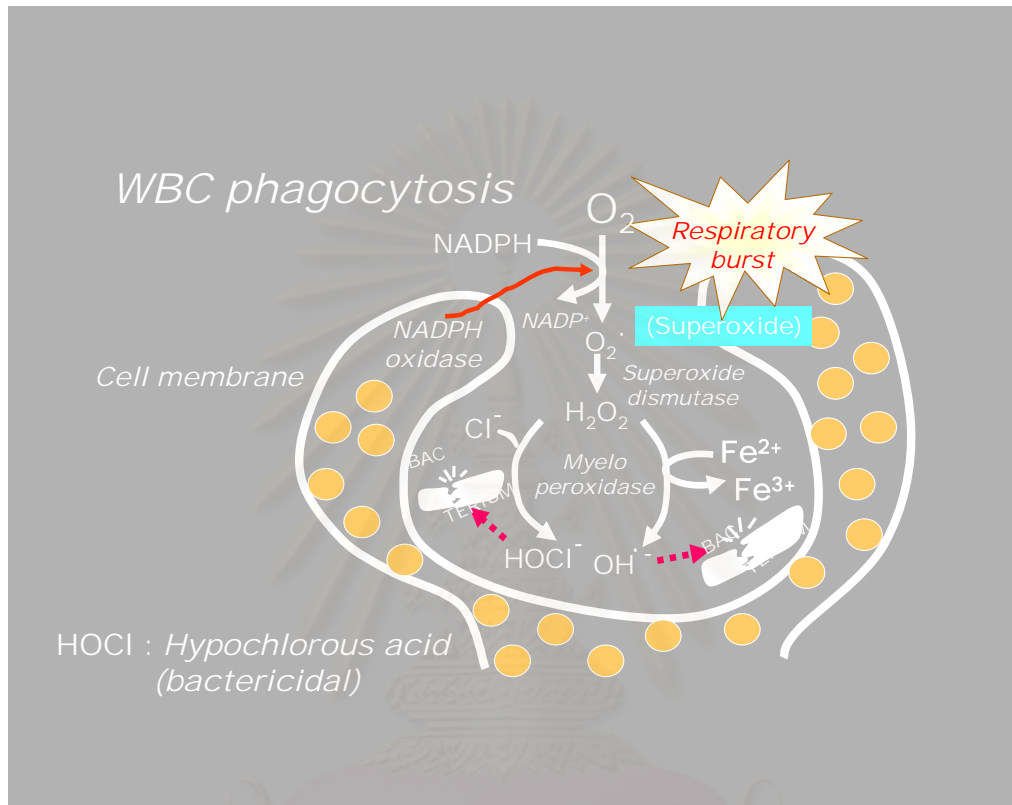
ธาตุเหล็กมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการ oxidation-reduction ในร่างกาย จากการศึกษาพบว่าธาตุเหล็กอิสระในพลาสมาเป็นสารก่ออนุมูลอิสระ (prooxidant) ที่สำคัญ ดังที่แสดงโดยปฏิกิริยาเฟนตัน (Superoxide-driven Fenton's reaction)



สารอนุมูลอิสระ (Free radicals) คือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนอิสระอยู่วงโคจรรอบนอกสุด (unpaired electron) ทำให้มีความสามารถในการออกซิไดส์โมเลกุลอื่น ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย ได้แก่ อนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (Reactive oxygen species : ROS) เช่น H_2O_2 , O_2^- , $\text{OH}\cdot$, OH^- และอนุพันธ์ไนโตรเจนที่ว่องไว (Reactive nitrogen species : RNS) เช่น peroxy nitrite, nitric oxide เป็นต้น ในภาวะปกติ ร่างกายมีการสร้างสารอนุมูลอิสระเหล่านี้ในกระบวนการต่างๆ อาทิเช่น mitochondrial respiratory chain, cyclooxygenase และ lipooxygenase pathway, NADPH oxidase pathway และ cytochrome P450 system เป็นต้น โดยร่างกายจะใช้อนุมูลอิสระเหล่านี้ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยเฉพาะเชื้อโรคต่างๆ (ภาพที่ 2)

จากการศึกษา พบความสัมพันธ์ของธาตุเหล็กกับสารอนุมูลอิสระ กล่าวคือ เหล็กจะเปลี่ยน peroxide ที่มีความสามารถในการออกซิไดส์ทำให้เกิดเป็น hydroxyl radical ที่มีความสามารถในการออกซิไดส์สูง นอกจากนี้ เหล็กยังเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่อการเกิด lipid peroxidation ดังสมการ

ภาพที่ 2 แสดงการทำงานทำลายเชื้อแบคทีเรียของเม็ดเลือดขาว โดยเม็ดเลือดขาวจะสร้างอนุมูลอิสระไอออนลบไฮเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ NADPH oxidase จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ Superoxide dismutase จากนั้นจะสร้างไอออนลบไฮดรอกซิลโดยอาศัยธาตุเหล็ก หรือไอออนลบของกรดไฮโปคลอรัสโดยอาศัยคลอไรด์ ซึ่งไอออนลบทั้งสองมีความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal)



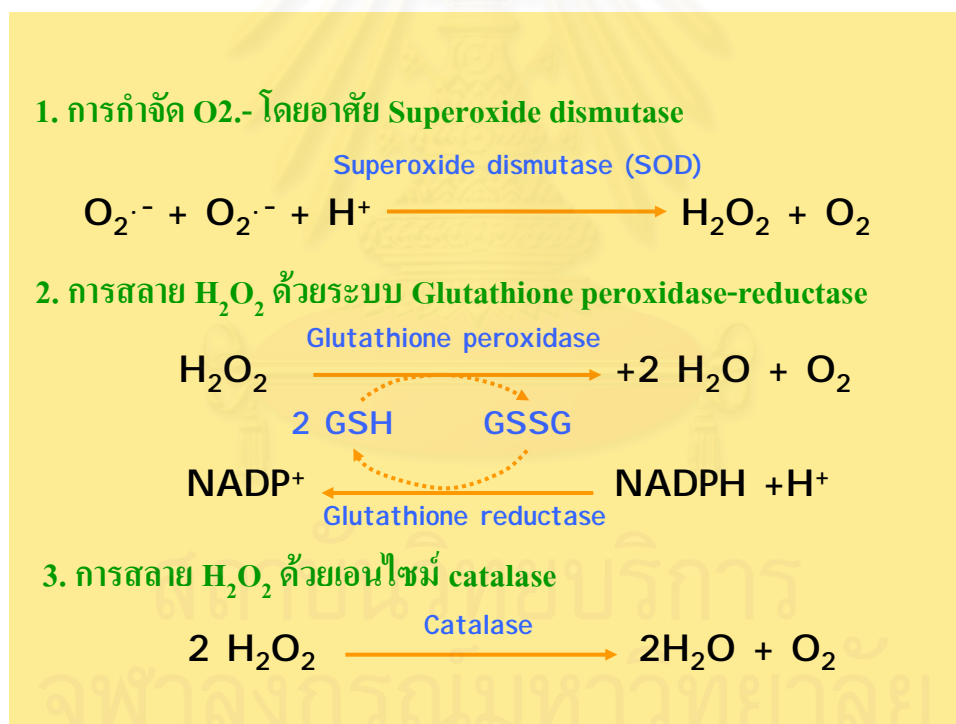
สารอนุมูลอิสระเหล่านี้ หากมีปริมาณมากเกินไป จะสามารถก่อปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุชีวโมเลกุลขนาดใหญ่จำพวกไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของ DNA, RNA, ไมโทคอนเดรีย, เยื่อหุ้มเซลล์ เป็นผลให้เซลล์ต่างๆ สูญเสียสมดุลและแตกสลายเป็นสาเหตุของการเกิดความผิดปกติของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ อาทิเช่น มะเร็ง ภาวะหลอดเลือดแข็ง โรคเบาหวาน การบาดเจ็บที่เกิดจากภาวะขาดเลือดและเมื่อเนื้อเยื่อมีเลือดกลับไปเลี้ยงอีกครั้ง (ischemia and reperfusion damage) ต้อกระจก และโรคระบบประสาทเสื่อม เช่น Parkinson หรือ Alzheimer เป็นต้น

สารผิดปกติที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระ เรียกว่า ผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระ (oxidative products) เป็นตัวชี้วัดระดับความรุนแรงของภาวะอนุมูลอิสระเกินที่สำคัญ ตัวอย่างของสารเหล่านี้ ได้แก่

malondialdehyde (MDA) และ conjugated diene (CD) ซึ่งเกิดจากการทำลายสารในกลุ่มไขมัน พบว่าระดับของ MDA มีความสัมพันธ์กับโอกาสการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดและโรคที่มีภาวะสารอนุมูลอิสระเกินในเชิงบวก

ในสภาวะปกติ ร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) หลายชนิด ทั้งในรูปแบบของ เอนไซม์ เช่น เอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase), เอนไซม์คะทาเลส (catalase), เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase:SOD) และสารโมเลกุลใหญ่ เช่น กลูตาไธโอน (glutathione), วิตามินซี วิตามินอี ฟลาโวนอยด์ โคอเอนไซม์คิวเทน แครอทินอยด์ ฟีนอล เป็นต้น สารเหล่านี้จะทำหน้าที่จับกับสารอนุมูลอิสระและเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ทำให้สารอนุมูลอิสระสูญเสียความสามารถในการออกซิไดส์ และไม่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ในร่างกายได้ (ภาพที่ 3)

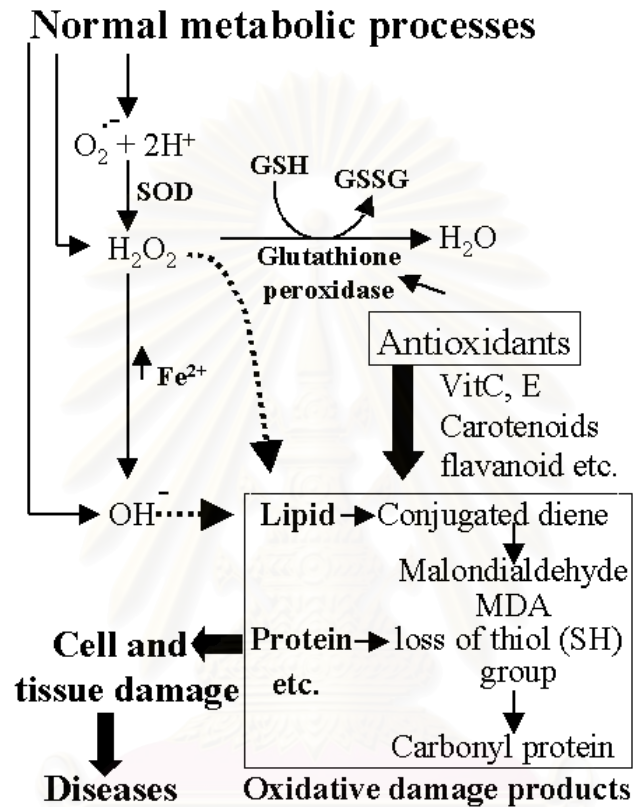
ภาพที่ 3 แสดงปฏิกิริยาการกำจัดสารอนุมูลอิสระโดยอาศัยเอนไซม์ต่างๆ ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ



เมื่อร่างกายมีระดับสารต้านอนุมูลอิสระลดลง หรือมีสารอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นจนไม่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จะพบว่าสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นจากการทำลายของชีวโมเลกุลต่างๆ เรียกภาวะนี้ว่า ภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน (oxidative stress) (ภาพที่ 4) การวัดระดับอนุมูลอิสระเกิน ทำได้โดยการวัดระดับสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระ เนื่องจากเป็นสารที่มีความเสถียรมากกว่าอนุมูลอิสระ สารผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้ในการวัด ได้แก่ malondialdehyde

(MDA), conjugated diene (CD) เป็นต้น หรืออาศัยการวัดสารที่หลั่งออกมาจากเซลล์เมื่อเซลล์มีการแตกสลาย เช่น เอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์ต่างๆ อาทิเช่น NAG

ภาพที่ 4 แสดงความกลไกการเกิดสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระ ที่พบได้ในภาวะอนุมูลอิสระเกิน รวมถึงการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระในการยับยั้งการทำลายชีวโมเลกุล



ผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (Thalassemia major) ที่มีภาวะซีด ต้องได้รับเลือดเป็นประจำ และไม่ได้รับยาขับธาตุเหล็ก (iron chelating agents) จะพบภาวะเหล็กเกินในร่างกาย และภาวะแทรกซ้อนจากภาวะเหล็กเกิน อันได้แก่ liver fibrosis, restrictive pulmonary disease, myocardial fibrosis, constrictive pericarditis, insulin insufficiency และ hemolysis ซึ่งความผิดปกติเหล่านี้ เชื่อว่าเป็นผลมาจากการทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ โดยภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน

การศึกษานี้ ผู้วิจัยต้องการศึกษาระดับของสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระ ระดับสารต้านอนุมูลอิสระ บิลิรูบินเพื่อบ่งชี้การทำงานของตับ ซีโมโกลบินในพลาสมาเพื่อบ่งชี้ระดับการแตกของเม็ดเลือดแดง และซีโมโกลบินทั้งหมดเพื่อบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของคลินิก ในผู้ป่วยเด็กธาลัสซีเมียชนิดเบต้า โดยทำการศึกษาก่อนและหลังให้วิตามินซีและวิตามินอี เพื่อสามารถบ่งชี้ประโยชน์

ของการให้วิตามินซีและอีในด้านการลดระดับสารอนุมูลอิสระ และลดภาวะแทรกซ้อนจากการได้รับเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย อันจะเป็นประโยชน์ในการให้การบำบัดรักษาผู้ป่วยต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาระดับสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และประเมินภาวะอนุมูลอิสระเกินในผู้ป่วยเด็กโรคเบต้าธาลัสซีเมีย
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับอนุมูลอิสระเกิน ในผู้ป่วยเด็กโรคเบต้าธาลัสซีเมีย เปรียบเทียบก่อนและหลังการให้วิตามินซีและวิตามินอี

ข้อตกลงเบื้องต้น

ผู้เข้าร่วมโครงการและผู้ปกครองทุกรายต้องได้รับการอธิบายถึงประโยชน์และโทษที่อาจเกิดขึ้นได้จากการรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีจนเข้าใจเป็นอย่างดี และภายหลังหากผู้เข้าร่วมโครงการหรือผู้ปกครองต้องการหยุดรับประทานยาโดยสาเหตุใดๆ ผู้เข้าร่วมโครงการสามารถออกจากโครงการวิจัยได้โดยไม่มีผลต่อการรับการรักษาต่อไป

หากผู้เข้าร่วมโครงการมีภาวะเจ็บป่วยรุนแรงในช่วงที่ต้องได้รับการเก็บตัวอย่างเลือด จะงดเว้นการเก็บตัวอย่างเลือดในครั้งนั้นไป เพื่อลดภาวะแทรกซ้อนอันอาจเกิดขึ้นจากการเจาะเลือดและลดความผิดพลาดของข้อมูล

คำจำกัดความเบื้องต้น

- โรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง หมายถึง เบต้าธาลัสซีเมียชนิด β -Thalassemia/Hb E หรือ homozygous β^0 -Thalassemia ที่มีระดับฮีโมโกลบินในเลือดปกติน้อยกว่า 7 กรัมต่อเดซิลิตร และต้องได้รับการรักษาโดยการให้เลือดเพื่อแก้ไขภาวะโลหิตจางเป็นระยะๆ
- Oxidative stress หรือ ภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน หมายถึง ภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระในร่างกายสูงเกินกว่าปกติ ทำให้ระดับของสารต้านอนุมูลอิสระลดต่ำลง สารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระสูงขึ้น และมีผลให้เกิดความผิดปกติต่อเซลล์และอวัยวะในร่างกาย
- ภาวะเหล็กเกิน หมายถึง ภาวะที่ร่างกายได้รับธาตุเหล็กปริมาณมากโดยที่ร่างกายไม่สามารถขับเหล็กออกมา หรือขับออกมาได้แต่ไม่เพียงพอ ทำให้มีการสะสมของเหล็กในเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ในที่นี้ หมายถึง ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับเลือดเป็นประจำ โดยไม่ได้รับยาขับเหล็กอย่างสม่ำเสมอ

รูปแบบการวิจัย

Pre- and Post-treatment Comparison Clinical Trial

ปัญหาวิจัย

1. ผู้ป่วยในการศึกษานี้เป็นเด็ก และตัวอย่างที่ใช้ทดสอบได้จากเลือดมีปริมาณมาก คณะผู้วิจัยจึงพิจารณาเลือกใช้วิธีการตรวจที่ใช้ปริมาณเลือดน้อยกว่าปกติ และทำการตรวจเลือดในวันเดียวกับที่ผู้ป่วยได้รับเลือดทดแทน จึงไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อผู้ป่วย
2. การให้วิตามินซีปริมาณมากในผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะเหล็กเกินโดยไม่ให้ยาขับเหล็ก มีรายงานถึงความเสี่ยงต่อการเกิด myocardial dysfunction เพิ่มขึ้นได้ จึงพิจารณาให้ในปริมาณที่ต่ำ และให้คำแนะนำผู้ปกครองถึงความเสี่ยงและสังเกตอาการผิดปกติที่เกิดจาก myocardial dysfunction

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้

1. สามารถประเมินความรุนแรงของภาวะอนุมูลิอิสระเกิน และการขาดสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยเด็กโรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง
2. สามารถบอกถึงประโยชน์ของวิตามินอีร่วมกับวิตามินซี ในการรักษาผู้ป่วยเด็กโรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง เพื่อเป็นแนวทางในการใช้วิตามินอีและวิตามินซีร่วมกับการรักษาโรคธาลัสซีเมียอย่างมีหลักฐาน (evidence-base medicine)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

1. ผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียจะมีระดับสารผลิตภัณฑ์อนุโมลิธรีนในเลือดสูง สารต้านอนุมูลอิสระต่ำโดยมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค
2. ระดับของภาวะอนุโมลิธรีนเกิน มีความสัมพันธ์กับภาวะแทรกซ้อนที่พบในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

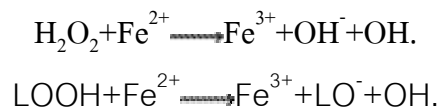
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เหล็กเป็นธาตุจำเป็นสำหรับการทำงานตามปกติของเซลล์ในร่างกาย ในผู้ใหญ่ปกติจะมีธาตุเหล็กอยู่ประมาณ 4.5 g ซึ่งจะจับอยู่กับโครงสร้างต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเม็ดเลือดแดงซึ่งเหล็กเป็นองค์ประกอบสำคัญของโปรตีนฮีโมโกลินที่ทำหน้าที่จับออกซิเจนจะมีเหล็กเป็นส่วนประกอบถึง 65% นอกจากนั้นยังเป็นส่วนประกอบของ myoglobin และ iron containing enzymes เช่น cytochrome ประมาณ 10% และจับกับโปรตีน ferritin, hemosiderin ประมาณ 25% (ตารางที่ 3.1) จะพบว่า เม็ดเลือดแดงเป็นแหล่งสะสมของธาตุเหล็กที่มีปริมาณสูงสุดในร่างกาย เหล็กจะเข้าสู่ร่างกายทางลำไส้โดยดูดซึมในรูปแบบของ heme iron และ non heme iron เพียง 10% ของปริมาณเหล็กที่รับประทานในแต่ละวัน ร่างกายปกติไม่สามารถขับเหล็กได้ แต่จะสูญเสียเหล็กได้โดยการเสียเลือดโดยวิธีต่างๆ เช่น การมีประจำเดือน การหลุดลอกของเซลล์บุผิวในระบบทางเดินอาหารและผิวหนัง เป็นต้น

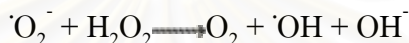
ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณเหล็กในส่วนต่างๆ ของร่างกาย

Compartment	Iron content (mg)	Total body iron (%)
Hemoglobin iron	2,000	67
Storage iron (Ferritin, Hemosiderin)	1,000	27
Myoglobin iron	130	3.5
Labile pool	80	2.2
Other tissue iron	8	0.2
Transport iron	3	0.08

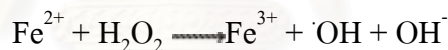
ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียซึ่งมีภาวะซีดและได้รับเลือดหลายครั้ง โดยไม่ได้รับยาขับเหล็ก จะมีภาวะเหล็กเกินในร่างกาย ซึ่งสามารถก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ได้ โดยเหล็กสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยากระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ดังสมการ



พบว่า ferrous ion สามารถเปลี่ยน hydrogen peroxide ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำให้กลายเป็น hydroxyl ion ที่มีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาสูง โดยเป็นตัวกระตุ้นใน Haber-Weiss reaction ดังสมการ



นอกจากนี้ เหล็กยังสามารถกระตุ้นการสร้าง hydroxyl ion จากสารประกอบจำพวกกรดด้วย และสารในกลุ่ม superoxide เองยังสามารถกระตุ้น ferritin และโปรตีนที่จับกับเหล็กอื่นๆ ให้ปลดปล่อยเหล็กที่จับอยู่ให้กลายเป็นเหล็กอิสระในเลือดได้ ดังสมการ



hydrogen peroxide ยังสามารถทำลายโปรตีนฮีโมโกลบิน ทำให้เหล็กหลุดออกมาสู่กระแสเลือดได้ด้วย ดังนั้น เหล็ก จึงเป็นธาตุสำคัญที่ทำให้เกิดวัฏจักรการสร้างสารอนุมูลอิสระอย่างมากในร่างกาย ร่างกายจึงมีกระบวนการต่างๆ ในการควบคุมระดับเหล็กอิสระในเลือดให้อยู่ในระดับต่ำที่สุด โดยอาศัยโปรตีน transferrin และ haemopexin ในการจับเหล็กเพื่อขนส่งไปยังอวัยวะเป้าหมาย และโปรตีน ferritin กับ hemosiderin ที่ทำหน้าที่จับกับเหล็กเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ก่อให้เกิดภาวะออกซิเดชัน เพื่อเก็บสะสมธาตุเหล็กในเซลล์หรือในไขกระดูก กระบวนการเหล่านี้มีผลให้ร่างกายสามารถควบคุมเหล็กอิสระในเลือดและลดปริมาณอนุมูลอิสระที่เกินความจำเป็นได้

เมื่อสารอนุมูลอิสระมากขึ้นจนเกิดภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน จะเกิดการทำลายสารประกอบจำพวกไขมัน โปรตีน กรดนิวคลีอิก และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เซลล์เสียหายที่และเสถียรภาพ^(1,2) โดยเฉพาะการทำลาย phospholipids ที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยการรวมเข้ากับ polyunsaturated fatty acid ทำให้ไขมันดังกล่าวสูญเสีย hydrogen atom เกิดพันธะคู่ของ carbon atom (-C=C-) เรียกว่า conjugated diene จากนั้นจะรวมตัวกับ peroxy radicals เกิดเป็น lipid hydroperoxides ทำให้เกิดความผิดปกติของโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ จากรั่ว

ของอนุภาคประจุ (อ็อน) ต่างๆ เข้าสู่เซลล์ การเปลี่ยนแปลงของ receptor หรือเอนไซม์ต่างๆ นอกจากนี้ lipid hydroperoxides ยังสามารถรวมกับ aldehyde เปลี่ยนเป็นสารจำพวก malondialdehyde และ hydroxynonenol ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์ โดยก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนหรือ DNA ในเซลล์

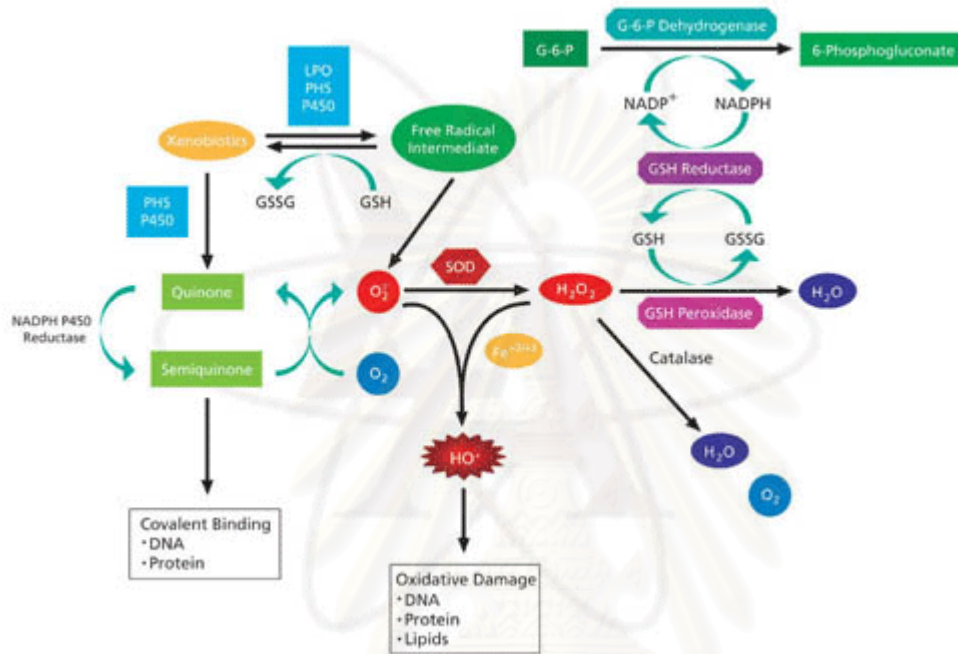
นอกจากนี้ สารอนุมูลอิสระยังสามารถก่อให้เกิดความผิดปกติต่างๆ ขึ้นกับเซลล์เป้าหมายอื่นๆ ได้ เช่น ในเซลล์ตับ จะทำให้ไมโทคอนเดรียและไลโซโซมสูญเสียการทำงานที่เกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้มเซลล์ และลดประสิทธิภาพในการทำงานของ cytochrome C oxidase ของไมโทคอนเดรีย นอกจากนี้ยังรบกวนระบบควบคุมระดับแคลเซียมในเซลล์⁽¹⁾ ความผิดปกติของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เชื่อว่าเป็นผลมาจากการยับยั้งเอนไซม์ของไมโทคอนเดรียและเยื่อหุ้มเซลล์⁽¹⁾ นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถทำให้เกิดความเสียหายแก่ดีเอ็นเอ รบกวนการควบคุมระดับแคลเซียมในเซลล์ และทำให้ระดับ ATP ในเซลล์ลดลง เป็นผลให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ต่างๆ ทั่วร่างกาย อวัยวะอื่นที่มีผลกระทบจากภาวะเหล่านี้ ได้แก่ ตับอ่อน ปอด ไต ต่อมไร้ท่อ เส้นประสาท เม็ดเลือดแดง เป็นต้น^(3,4) จากการศึกษาหลายฉบับ พบความสัมพันธ์ระหว่างภาวะเหล่านี้และการเพิ่มขึ้นของระดับสารอนุมูลอิสระ รวมถึงการเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมันและโปรตีน^(1,5) และยังพบการกลายพันธุ์ของ tumor suppressor gene p53 ร่วมด้วย

ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย นอกจากจะพบภาวะสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นแล้ว ยังพบภาวะสารต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าคนปกติ^(6,7) สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งออกเป็นหลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆ ที่ทำหน้าที่ในกระบวนการกำจัดสารอนุมูลอิสระ เช่น superoxide dismutase, catalase, และ glutathione peroxidase โปรตีนที่ทำหน้าที่จับกับธาตุโลหะ (เหล็กและทองแดง) ที่ส่งเสริมการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ transferrin, hemosiderin เป็นต้น สารชนิดที่ไม่ใช่เอนไซม์ซึ่งร่างกายสร้างขึ้น เช่น GSH, ubiquinol, uric acid หรือสารที่ได้รับจากภายนอก ร่างกาย เช่น วิตามินซี วิตามินอี, lipoic acid, selenium, riboflavin, zinc และ carotenoids⁽⁸⁾ โดยเฉพาะในกลุ่มสารที่ไม่ใช่เอนไซม์ มีความสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากสามารถเข้าสู่ภายในเซลล์และระหว่างเซลล์ได้ และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ เช่น วิตามินอีที่ถูกออกซิไดส์แล้ว (tocopheroxy radical) จะเปลี่ยนกลับเป็นวิตามินอีได้โดยวิตามินซี หรือ วิตามินซีที่ถูกออกซิไดส์ (ascorbate radical) ที่ต้องผ่านวิถีทางเอนไซม์ร่วมกับ dehydroascorbate เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ และ GSSH ที่เปลี่ยนกลับเป็น GSH โดยอาศัยเอนไซม์ GSSH reductase ซึ่งเป็น riboflavin dependent enzyme⁽⁸⁾ เป็นต้น (ภาพที่ 5)

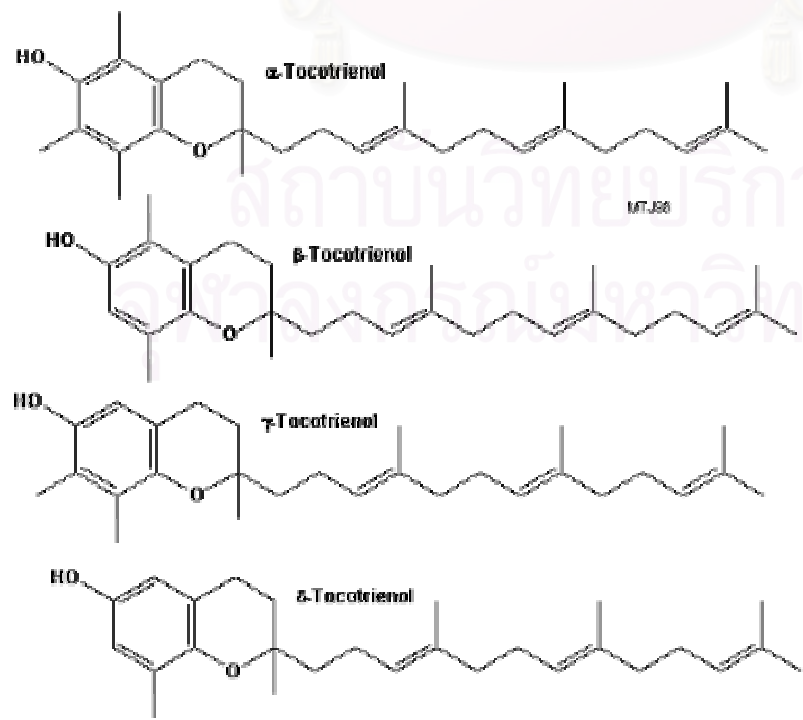
วิตามินอี ($C_{29}H_{50}O_2$) เป็นวิตามินชนิดละลายในไขมันที่พบในอาหารทั่วไป อาทิเช่น ข้าว น้ำมันปลา ถั่วเปลือกแข็งและเมล็ดพืช มี 4 ชนิด ได้แก่ α , β , γ และ δ (ภาพที่ 6) แต่ชนิดที่พบบ่อยและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ได้แก่ α -tocopherol ซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดที่พบในเยื่อหุ้มเซลล์ วิตามินอีถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กประมาณ 40% ของปริมาณที่รับประทาน จากนั้นจะขนส่งไปที่ตับและถูกจับโดย lipoprotein เพื่อส่งไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ จะพบ

ระดับของวิตามินอีสูงในเนื้อเยื่อที่มีระดับออกซิเจนสูง เช่น เม็ดเลือดแดง ไมโทคอนเดรีย และ endoplasmic reticulum นอกจากนี้วิตามินอียังถูกสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไขมันทั่วไป

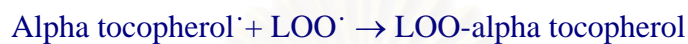
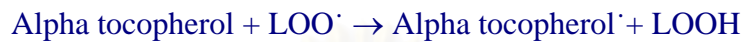
ภาพที่ 5 แสดงการทำงานของ Glutathione



ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างของวิตามินอีชนิดต่างๆ



มีหลักฐานว่าบ่งชี้ว่าวิตามินอีทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญพันธุ์ในสัตว์ทดลอง จึงได้รับการเรียกว่า tocopherol (โดย Evans : tokos หมายถึง offspring และ phero หมายถึง to bear, tocopeherol หมายถึง to bear child โดยที่ -ol : alcohol compound) หน้าที่หลักของวิตามินอี คือการป้องกันการเกิด lipid peroxidation ของฟอสโฟลิปิดที่เยื่อหุ้มเซลล์และป้องกันอันตรายที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระ โดยส่ง H จากหมู่แอลกอฮอล์ไปให้อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระสูญเสียความสามารถในการเกิดออกซิเดชัน ดังสมการ



LOO-alpha tocopherol จัดเป็น free radical อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งต่อมาจะถูกวิตามินอีเปลี่ยนให้เป็น free radical ที่มีความสามารถออกซิเดชันต่ำเพื่อให้เกิด alpha tocopherol-OH กลับมาใช้ใหม่

นอกจากนี้ วิตามินอียังมีความสำคัญในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ มีหลักฐานแสดงถึงอุบัติการณ์การติดเชื้อลดลงในบุคคลที่มีระดับวิตามินอีสูง เชื่อว่าเป็นผลมาจากวิตามินอีช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นกับเม็ดเลือดขาวในภาวะอนุมูลอิสระเกิน และการติดเชื้อไวรัสชนิดเรื้อรัง เช่น ตับอักเสบบี เอชวี เป็นต้น ทำให้เม็ดเลือดขาวถูกทำลายลดลง และยังพบว่าในผู้ที่มีระดับวิตามินอีสูงจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลดลง โดยเชื่อว่าเป็นผลมาจากการมีภูมิคุ้มกันสูง (immunocompetence) รวมถึงการยับยั้งการเปลี่ยนสาร nitrosamine ให้เป็น nitrite ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่สำคัญ ในผู้ป่วยที่มีภาวะเหล็กสูงในร่างกาย วิตามินอีจะ reduce ferric ion ให้เป็น ferrous ion เช่นกัน

ความต้องการวิตามินอีในเด็กช่วงขวบปีแรก คือ 4.5-6.0 มิลลิกรัมต่อวัน เด็กอายุ 1-10 ปี คือ 9-10.5 มิลลิกรัมต่อวัน และผู้ใหญ่ 10-18 มิลลิกรัมต่อวัน ค่าปกติของวิตามินอีในเลือดประมาณ 0.5-0.7 mg/dl ภาวะขาดวิตามินอีพบน้อยในบุคคลทั่วไป อาการที่สามารถพบได้ ได้แก่ กล้ามเนื้ออ่อนแรง การเคลื่อนที่ของตาผิดปกติรวมถึง retrolental dysplasia และเซลล์เม็ดเลือดแดงแตกง่าย ซึ่งพบได้ในผู้ป่วยที่มีภาวะคอเลสเตอรอลสูง ไ้มนผิดปกติ ทารกคลอดก่อนกำหนด ความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงชนิดถ่ายทอดทางพันธุกรรม ผู้ป่วยที่ทำการล้างไต และผู้ป่วยที่ได้รับสารอาหารทางเส้นเลือดเป็นระยะเวลานาน

ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย พบว่าระดับของวิตามินอีในร่างกายลดต่ำกว่าในคนปกติทั้งในเลือดและในเซลล์ที่มีการสร้างสารอนุมูลอิสระมากกว่าเซลล์ทั่วไป เช่น LDL เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง^{10,11,12,13,14,15} นอกจากนี้ เมื่อผู้ป่วยได้รับวิตามินอีเป็นระยะเวลาหนึ่ง จะพบว่าระดับวิตามินอีในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น และระดับสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระลดลงแต่ไม่กลับเป็นปกติ^(10,11,12) โดย Tesoriere L และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาโดยให้วิตามินอี 600 มิลลิกรัมต่อวันในผู้ป่วยธาลัสซีเมียเบต้าชนิดปานกลาง พบว่าระดับ MDA ในเลือดกลับสู่ปกติหลังได้รับการรักษาแล้ว 6 เดือน

ในขณะที่ LDL-conjugated diene (LDL-CD) ยังคงสูงกว่าปกติแม้ได้รับการรักษาแล้ว 9 เดือน และค่า Hemoglobin (Hb) ไม่เปลี่ยนแปลง⁽¹⁰⁾ Suthutvoravut U และคณะ (1993) ให้ผู้ป่วยธาลัสซีเมียรับประทานวิตามินอี 200 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าระดับ glutathione peroxidase activity ลดลง แต่ไม่พบความเปลี่ยนแปลงของ hematocrit⁽¹⁶⁾ เช่นกัน จากผลการศึกษาดังกล่าวเป็นหลักฐานว่าการรักษาผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียโดยให้วิตามินอีร่วมกับการรักษาตามปกติ สามารถช่วยลดระดับสารผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระและเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย แต่ยังไม่สามารถแก้ไขให้กลับเป็นปกติได้ ทั้งนี้เป็นผลมาจากผู้ป่วยยังคงมีภาวะเหล็กเกินในร่างกายที่ไม่ได้รับการรักษาอยู่

ในปัจจุบันนักวิชาการหลายท่านเชื่อว่า การให้วิตามินอีในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียจะลดภาวะเม็ดเลือดแดงแตกได้⁽¹⁷⁾ แต่ยังไม่หลักฐานยืนยันชัดเจนว่า การให้วิตามินอีแก่ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับเลือดเป็นประจำ หรือมีภาวะเหล็กเกินในร่างกายจะสามารถเปลี่ยนแปลงอาการทางคลินิกได้ Das N. และคณะ (2004) ได้รายงานผลการศึกษาการให้วิตามินอีในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย พบว่าหลังได้รับวิตามินอีขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวันเพียง 4 สัปดาห์ ผู้ป่วยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่ามีสุขภาพดีขึ้น⁽¹⁸⁾ อย่างไรก็ตาม การที่ผู้ป่วยน้ำหนักเพิ่มอาจไม่สามารถแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยมีสุขภาพดีขึ้นโดยไม่มีข้อกังขา Unchern S. และคณะ (2003)⁽¹⁹⁾ ทดลองให้วิตามินอีในผู้ป่วยธาลัสซีเมียเป็นเวลา 3 เดือนและพบว่าปฏิกิริยาตอบสนองของเกล็ดเลือดในผู้ป่วยที่ได้รับการตัดม้ามกลับเป็นปกติเหมือนผู้ป่วยที่ไม่ได้ตัดม้าม และไม่ได้รายงานถึงความเปลี่ยนแปลงทางคลินิกแต่อย่างใด การศึกษาของ Jamshidi และคณะ (1997-1998) พบว่าเมื่อให้ผู้ป่วยเด็กเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงรับประทานวิตามินอีขนาด 500 ยูนิตต่อวัน นาน 7 เดือน พบว่าค่า osmotic fragility กลับมาเป็นปกติ แต่ค่าฮีโมโกลบินในเลือดและบิลิรูบินไม่มีการเปลี่ยนแปลง⁽²⁰⁾

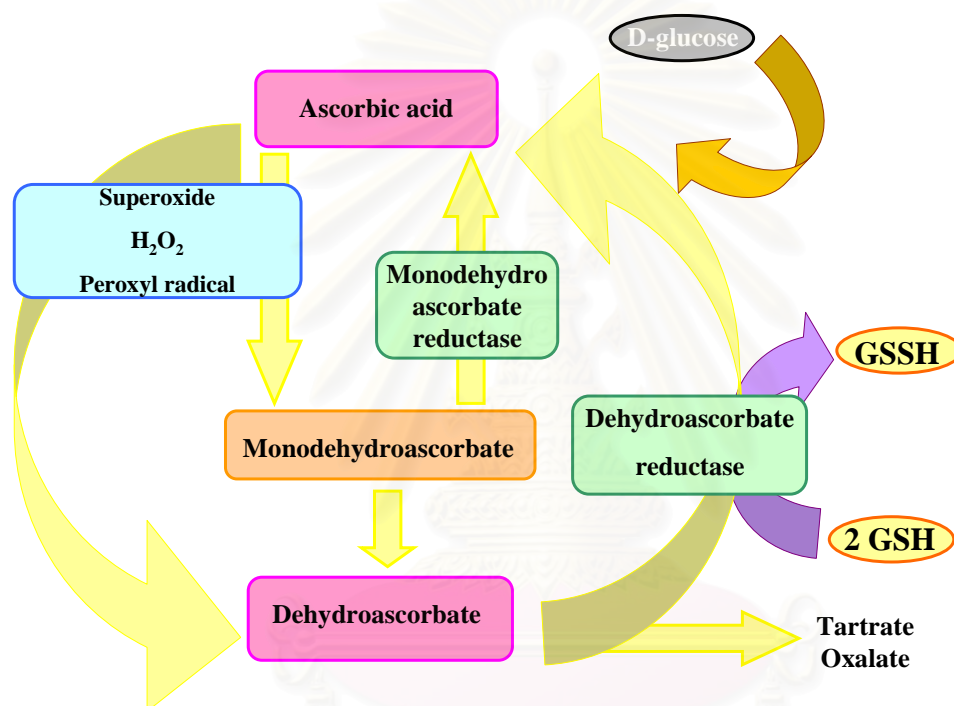
วิตามินซี ($C_6H_8O_6$) เป็นวิตามินละลายน้ำที่พบได้ในผักและผลไม้ เช่น ส้ม องุ่น มะนาว มะละกอ เป็นต้น ทำหน้าที่สำคัญในการกำจัดสารอนุมูลอิสระและเปลี่ยนวิตามินอีให้กลับมาเป็น active form วิตามินซีเป็นองค์ประกอบสำคัญของคอลลาเจนซึ่งทำหน้าที่ยึดเซลล์ต่างๆ เข้าด้วยกัน เพื่อให้เกิดเป็นเนื้อเยื่อ หน้าที่สำคัญอื่นๆ ได้แก่ การเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอมและเนื้องอก สามารถลดอุบัติการณ์การเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจ โดยเชื่อวิตามินซีทำหน้าที่ยับยั้งสารอนุมูลอิสระในกระบวนการเมตาบอลิซึมไขมัน และเปลี่ยนกรดอะมิโนบางชนิดให้กลายเป็นสารสื่อประสาท

การดูดซึมวิตามินซี จะมีการดูดซึมที่ลำไส้โดยอาศัยพลังงาน และมีจุดอิ่มตัว วิตามินซีขับออกทางไตโดยจะมีบางส่วนถูกดูดกลับเข้าสู่ร่างกาย วิตามินซีจะถูกยับยั้งโดยสารในบุหรี่

วิตามินซีจะทำงานร่วมกับวิตามินอีและเอนไซม์ glutathione peroxidase ในการกำจัดอนุมูลอิสระ (ภาพที่ 7) และช่วยป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับอวัยวะต่างๆ เช่น ตับ ปอด สมองและเอนไซม์ cytochrome เป็นต้น โดยการเติม H ให้แก่อนุมูลอิสระต่างๆ ทำให้อนุมูลอิสระ

เหล่านี้นั้นไม่สามารถก่อกิจกรรมได้ นอกจากนี้ วิตามินซีกับ glutathione peroxidase มีส่วนสำคัญในการเปลี่ยนวิตามินอีให้กลับมาใช้งานได้ อีก อย่างไรก็ดี แม้วิตามินซีจะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการลดภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน แต่ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะเหล็กเกิน วิตามินซีจะมีผลเสียด้วยเช่นกัน กล่าวคือ วิตามินซีสามารถเพิ่มการดูดซึมเหล็กชนิด non-heme (เหล็กที่อยู่ในอาหารอื่นนอกเหนือจากเนื้อสัตว์) ที่ลำไส้ได้ จากการศึกษาพบว่าการรับประทานวิตามินซีเพียงเล็กน้อยสามารถเพิ่มการดูดซึมเหล็กจากน้ำหรือผักผลไม้ได้ถึง 2-3 เท่า

ภาพที่ 7 แสดงการกำจัดสารอนุมูลอิสระโดยวิตามินซีและ Glutathione



นอกจากนี้ วิตามินซีมีความสามารถในการเปลี่ยน ferric ion อีสารให้กลับมาเป็น ferrous ion และสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระได้อีก จึงจัดว่าวิตามินซีเป็นสาร prooxidant ชนิดหนึ่ง และการให้วิตามินซีปริมาณมาก จะกระตุ้นให้มีการจับเหล็กที่สะสมอยู่ในม้ามกลับเข้าสู่กระแสเลือดในรูปของเหล็กอิสระ และเชื่อว่าเหล็กอิสระเหล่านี้จะจับเข้ากับเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เนื่องจากในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจมี ferritin อยู่ไม่มากนัก ทำให้เกิดภาวะ cardiomyopathy และ myocardial dysfunction ได้ เป็นสาเหตุให้ไม่แนะนำผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะเหล็กเกินรับประทานวิตามินซีขนาดสูง (500 มิลลิกรัมต่อวัน หรือมากกว่า)⁽⁹⁾ ถึงแม้ว่าเมื่อหยุดให้วิตามินซีแล้ว หัวใจสามารถกลับมาทำงานได้เหมือนปกติก็ตาม

ค่าปกติของวิตามินซีในเลือด คือ 1 mg/dl ภาวะขาดวิตามินซีทำให้เกิดโรคลักปิดลักเปิด (scurvy) โดยมีความผิดปกติของการซ่อมแซมเยื่อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเนื้อเยื่อต่างๆ (ascorbic

หมายถึง without scurvy) ความต้องการพื้นฐานในแต่ละวัน คือ 60 มิลลิกรัมต่อวัน และระดับสูงสุดไม่เกิน 1,800 มิลลิกรัมต่อวัน

จากการศึกษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าที่ได้รับเลือด พบว่ามีระดับสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ รวมถึงระดับวิตามินซีต่ำกว่าบุคคลทั่วไป^(10,11,12) เชื่อว่าการรับประทานวิตามินซีจะส่งเสริมภาวะเหล็กเกินในร่างกายเนื่องจากการดูดซึมเหล็กจากลำไส้ และเป็นสารกระตุ้นอนุมูลอิสระ (prooxidant) เมื่อมีเหล็กเกินอยู่ อย่างไรก็ตาม Gerster⁽²¹⁾ ทำศึกษาในผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะขาดเหล็กโดยให้วิตามินซีและพบว่าวิตามินซีไม่เพิ่มระดับเหล็กในเลือด ดังนั้น ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่มีเหล็กเกิน รวมถึงยังมีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่า ภาวะเหล็กเกินเป็นสาเหตุหลักของการขาดวิตามินซี การให้วิตามินซีจะไม่เพิ่มภาวะเหล็กเกินมากเมื่อเทียบกับการได้รับเลือด แต่เมื่อเปรียบเทียบกับประโยชน์ที่ได้รับ เช่น จากผลการศึกษาของ Hamilton และคณะ (2000) ที่พบว่า การให้วิตามินซีร่วมกับวิตามินอีจะสามารถช่วยเพิ่มระดับวิตามินอีในเลือด รวมถึงเพิ่มระดับ glutathione peroxidase และลดระดับโคเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์และยูเรท⁽²²⁾ คณะผู้จัดทำเชื่อว่าการให้วิตามินซีระดับต่ำ (ประมาณ 2-5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน หรือ 50-100 มิลลิกรัมต่อวัน) ร่วมกับวิตามินอี อาจมีประโยชน์ในผู้ป่วยที่มีภาวะอนุมูลอิสระเกินมากกว่าการให้วิตามินอีเพียงอย่างเดียว

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรตัวอย่าง

เด็กที่ป่วยด้วยโรคเบาธาคัดสซีเมียชนิดรุนแรง ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ซึ่งมีภาวะเหล็กเกิน หรือมีความจำเป็น โดยได้รับเลือดเพื่อรักษาระดับฮีโมโกลบินให้สูงกว่า 7 กรัม ต่อเดซิลิตร

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. แบบสอบถามข้อมูลเบื้องต้นของผู้เข้าร่วมโครงการ
2. หนังสือแนะนำรายละเอียดโครงการ
3. ใบขอความยินยอมจากผู้ปกครอง
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเลือด
5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติการชีวเคมี

การเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บข้อมูลแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่

1. ข้อมูลทั่วไปของผู้เข้าร่วมโครงการ ตามแบบสอบถามชุดที่ 1 โดยการสอบถามจากผู้ปกครองของผู้เข้าร่วมโครงการ และประวัติการรักษาเดิมจากแฟ้มประวัติผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. ข้อมูลตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา ทำการเก็บตัวอย่างเลือดของผู้เข้าร่วมการทดลอง 3 ครั้ง ได้แก่ เมื่อเข้าร่วมโครงการ และหลังจากเข้าร่วมโครงการแล้ว 1 เดือนและ 3 เดือน ตามลำดับ ตัวแปรทั้งหมดแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ
 - a. Antioxidants
 - i. Total antioxidant status (TAS)
 - ii. Erythrocyte glutathione level (GSH)
 - iii. Vitamin C level (Vit C)
 - iv. Vitamin E level (Vit E)
 - b. Oxidative products
 - i. Plasma malondialdehyde level (P-MDA)
 - ii. Erythrocytic malondialdehyde level (R-MDA)

c. ตัวบ่งชี้ระดับการทำลายของอวัยวะเป้าหมาย

- i. Plasma hemoglobin level (P-HB)
- ii. Total hemoglobin level (Hb)
- iii. Total bilirubin level (TB)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. แสดงผลด้วยค่าเฉลี่ย ผลต่างของค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าตัวแปรแต่ละชนิด
2. เปรียบเทียบความแตกต่างของตัวแปร ที่ 0, 1 และ 3 เดือน โดยอาศัย pair t-test โดยอาศัยโปรแกรม SPSS version 12

วิธีดำเนินการวิจัย

1. คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างและกลุ่มควบคุม

1.1 Target population : ผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่มีภาวะเหล็กเกิน หรือไม่เคยได้รับยาขับเหล็กเพื่อรักษาภาวะเหล็กเกิน

1.2 Sample population : ผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงซึ่งได้รับการตรวจรักษาที่ รพ. จุฬาลงกรณ์ ที่มีภาวะเหล็กเกิน หรือ มีอาการที่เข้าได้กับภาวะเหล็กเกิน หรือไม่เคยได้รับยาขับเหล็กเพื่อรักษาภาวะเหล็กเกิน หรือ ได้รับยาขับเหล็กไม่สม่ำเสมอ และไม่ได้รับยาขับเหล็กติดต่อกันเป็นเวลานานกว่า 6 เดือนก่อนเข้าร่วมโครงการ

1.3 จำนวนประชากรตัวอย่าง

คำนวณจำนวนตัวอย่างประชากรจากการทำ pilot study ผู้ป่วย 12 ราย โดยวัดค่า erythrocytic MDA (R-MDA) และคำนวณจากสูตร

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \delta^2}{d^2}$$

กำหนดให้

$$\alpha = 0.05 \quad \text{ดังนั้น } Z_{\alpha/2} = Z_{0.05/2} = 1.96 \text{ (two tail)}$$

$$\beta = 0.10 \quad \text{ดังนั้น } Z_{\beta} = Z_{0.10} = 1.28$$

$$\delta^2 = \text{Variance of difference}$$

$$= \delta_1^2 + \delta_2^2 - 2r\delta_1\delta_2 \quad \text{กำหนดให้ } r = 0$$

$$= 453.9$$

$$d^2 = 284.85$$

แทนสูตร

$$n = \frac{(1.96 + 1.28)^2 (453.9)}{284.85} = 16.32$$

284.85

พิจารณาเพิ่มผู้เข้าร่วมอีกร้อยละ 20 เพื่อป้องกันความผิดพลาดจากจำนวนผู้ป่วยที่ถอนตัว
จากโครงการ

ดังนั้น จำนวนประชากรที่ร่วมโครงการทดสอบครั้งนี้ไม่ต่ำกว่า 20 คน

1.4 การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยเด็กโรคธาลัสซีเมีย จำนวน 25 คน อายุระหว่าง 5-15 ปี

1.4.1 ผู้ป่วยนอก แผนกกุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ป่วยเป็นโรค
เบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง และมีประวัติได้รับเลือดไม่น้อยกว่า 6 ครั้ง
ในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา

1.4.2 ผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาโดยได้รับความเห็นชอบจากผู้ปกครอง

1.5 ข้อบ่งชี้ในการคัดกรองผู้ป่วยเข้าโครงการศึกษา

1.5.1 ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบต้าธาลัสซีเมีย ซึ่งทราบผลการศึกษา Hb
typing แล้ว

1.5.2 ผู้ป่วยมีประวัติได้รับเลือดหรือผลิตภัณฑ์จากเลือดสม่ำเสมอไม่น้อยกว่า 6 ครั้ง
เพื่อรักษาระดับ Hb ในเลือดไม่น้อยกว่า 6-7 กรัมต่อเดซิลิตร

1.6 ข้อบ่งชี้ในการคัดกรองผู้ป่วยออกจากโครงการ

1.6.1 ผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อโรคทั้งชนิดเฉียบพลันและชนิดเรื้อรัง

1.6.2 ผู้ป่วยที่มีโรคเลือดผิดปกติชนิดอื่นร่วมด้วย เช่น hemolytic anemia อื่นๆ

1.6.3 ผู้ป่วยที่มีโรคไตเรื้อรัง

1.6.4 ผู้ป่วยที่มีอาการแสดงของภาวะขาดสารอาหารชัดเจน

1.6.5 ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดย deferoxamine

1.6.6 ผู้ป่วยที่มีประวัติแพ้วิตามินซีหรือวิตามินอี

2. เก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย ณ วันที่เข้าร่วมโครงการ ประมาณ 10 มิลลิลิตร โดยเก็บในภาชนะแก้ว
หล่อเฮปาริน และนำส่งห้องปฏิบัติการชีวเคมีภายใน 2 ชั่วโมงโดยภาชนะบรรจุที่มีความเย็น
3. ให้ผู้ป่วยรับประทานวิตามินซีปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อวัน และวิตามินอีปริมาณ 400-600
มิลลิกรัมต่อวัน สม่ำเสมอติดต่อกันประมาณ 3 เดือน ระหว่างนี้ผู้ป่วยต้องมารับการตรวจ
ติดตามโดยแพทย์ดังเช่นปกติ
4. เก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วยที่ 1 และ 3 เดือน รวม 2 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 ml โดยเก็บในภาชนะ
พลาสติกหล่อเฮปาริน และนำส่งห้องปฏิบัติการชีวเคมีภายใน 2 ชั่วโมงโดยภาชนะบรรจุที่มี
ความเย็น
5. นำผลเลือดทั้งสองครั้งของผู้ป่วยมาเปรียบเทียบผลความเปลี่ยนแปลง โดยอาศัยค่า Paired t-test
ที่ P value < 0.05 เป็นค่าดัชนี

6. หลักเกณฑ์การให้วิตามินซีและวิตามินอี คัดตามน้ำหนักผู้เข้าร่วมโครงการ ณ วันที่เข้าร่วมโครงการ กล่าวคือ
- หากผู้เข้าร่วมโครงการน้ำหนักน้อยกว่า 20 กิโลกรัม พิจารณาให้วิตามินซี 100 มิลลิกรัมต่อวัน และวิตามินอี 400 มิลลิกรัมต่อวัน
- หากผู้เข้าร่วมโครงการน้ำหนักตั้งแต่ 20 กิโลกรัมขึ้นไป พิจารณาให้วิตามินซี 100 มิลลิกรัมต่อวัน และ วิตามินอี 600 มิลลิกรัมต่อวัน

การทดสอบ

1. Lipid hydroperoxides

หลักการพื้นฐาน : เป็นวิธีการวัด malondialdehyde โดยวิธี thiobarbiturate ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของ oxygen กับ unsaturated fatty acids จะวิเคราะห์โดย malondialdehyde จะทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid จะเกิดเป็นสีชมพู และเติม butylated hydroxytoluene (BHT) เพื่อป้องกันการเกิด auto-oxidation และจะวัดปริมาณ MDA จากความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 nm (Analytical biochemistry 1985;145:192-9)

2. Vitamin C

หลักการพื้นฐาน : ใช้วิธี specific enzymatic spectrophotometric method ซึ่งจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของ reaction product เป็น complex ของ ferrous ion และ 2,4,6-tris(2-pyridyl)-5-triazine (Fe^{2+} -TPTZ) ที่ 593 nm (Clinical chemistry 1982;28(11):2225-8)

3. Vitamin E

หลักการพื้นฐาน : Vitamin E เป็นสาร antioxidant ซึ่งจะใช้ xylene เป็นตัวสกัด tocopherol ใน plasma sample และ tocopherol จะ reduce ferric ion เปลี่ยนเป็น ferrous ions และ ferrous ion จะเกิดเป็น complex สีแดงเมื่อทำปฏิกิริยากับ bathophenanthroline และเติม orthophosphoric acid เพื่อให้สีที่เกิดขึ้นคงตัวได้นาน และสามารถวัดปริมาณของ tocopherol จากสีที่เกิดขึ้นที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 536 nm (Analytical methodology; vitamin E. Indrajit D. Desai and Lawrence j. Machlin. P255-280)

4. Glutathione in erythrocytes

หลักการพื้นฐาน : Glutathione เป็น tripeptide กับ free sulfhydryl group ทำหน้าที่เป็น antioxidant ใน cell โดยจะใช้ 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) ทำปฏิกิริยากับ GSH และผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาคือ sulfhydryl compounds ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดเป็นสีเหลือง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 412 nm (J. Lab&Clin.Med: May;1963:882-888)

5. Total antioxidant

หลักการพื้นฐาน : metmyoglobin เป็น peroxidase ชนิดหนึ่งที่ทำปฏิกิริยากับ 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) และ hydrogen peroxide เกิดเป็น radical cation ($ABTS^{\bullet+}$) ซึ่งมีสีฟ้าอมเขียว โดยจะวัดการดูดกลืนแสงที่ 734 nm (Clinical Science 1993;84:407-12)

6. Total bilirubin

หลักการพื้นฐาน : บิลิรูบินดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนกับกับความเข้มข้นในน้ำเลือด การวัดกระทำได้โดยนำน้ำเลือดมาทำปฏิกิริยากับ phosphate buffer ที่ pH 7.4 (7.65 กรัมของ $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ผสมกับ 1.74 กรัมของ KH_2PO_4 ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450, 415 และ 700 นาโนเมตร และนำมาคำนวณจากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นบิลิรูบิน (C}_B\text{)} = 15.05 A_{450} - 2.91 A_{415} - 21.28 A_{700} \text{ (mg/dL)}$$

(Clinical Chemistry 2nd edition 1994:2024)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ข้อมูลทั่วไปของประชากรตัวอย่าง

1.1 เพศและอายุของประชากร

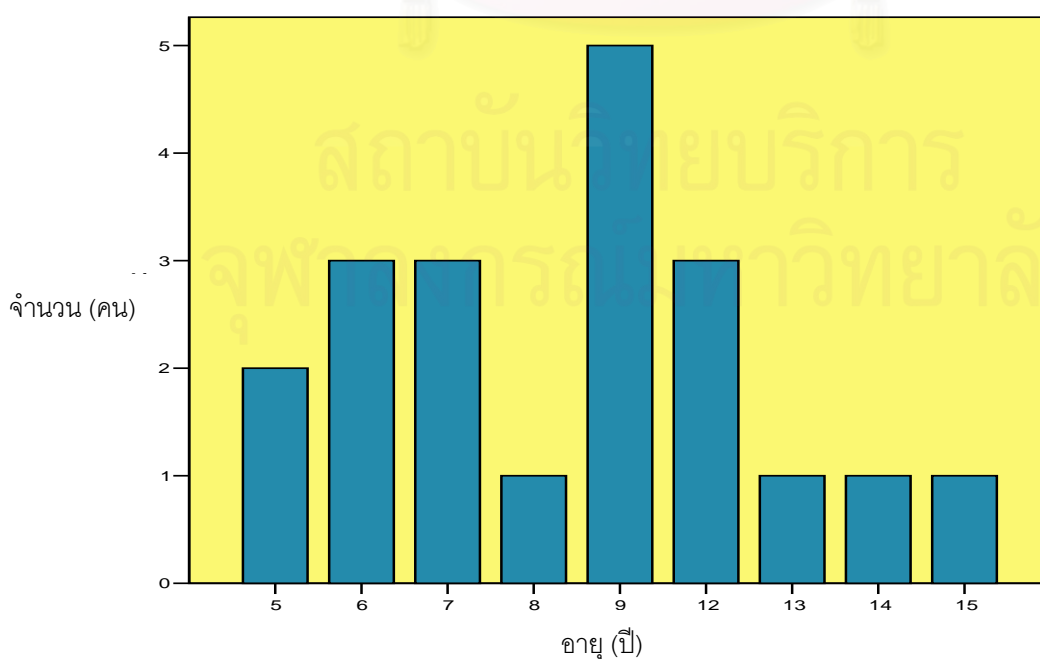
ผู้เข้าร่วมโครงการทั้งสิ้น 20 คน แบ่งออกเป็นชาย 9 คน และหญิง 11 คน ทั้งหมดอายุระหว่าง 5-15 ปีนับถึงวันที่เข้าร่วมโครงการ อายุเฉลี่ยเป็น 8.22 และ 9.64 ปีตามลำดับ(ตารางที่ 4.1) โดยที่อายุเฉลี่ยของประชากรตัวอย่างทั้งหมดคือ 9 ปี จากข้อมูล ไม่พบความแตกต่างของอายุระหว่างเพศทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 8)

ตารางที่ 4.1 แสดงอายุเฉลี่ยของผู้เข้าร่วมโครงการ

เพศ	จำนวน (คน)	อายุเฉลี่ย (ปี)	ช่วงอายุ (ปี)
เด็กชาย	9	8.22*	5-13
เด็กหญิง	11	9.64*	5-15
รวม	20	9.00	5-13

* $p = 0.457$

ภาพที่ 8 แสดงการจำแนกอายุของผู้เข้าร่วมโครงการ



1.2 ภูมิภานาของประชากร

ผู้เข้าร่วมโครงการส่วนใหญ่ ร้อยละ 50 มีภูมิภานาอยู่ในเขตกรุงเทพมหานคร นอกจากนี้ มีภูมิภานาอยู่ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ไม่พบผู้เข้าร่วมโครงการรายใดมีภูมิภานาอยู่ในเขตภาคตะวันออก ภาคตะวันตกและภาคใต้ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 แสดงการกระจายของภูมิภานาของผู้เข้าร่วมโครงการ

ภูมิภานา	จำนวน (คน)	คิดเป็นร้อยละ
กรุงเทพมหานคร	10	50
ภาคกลาง	4	20
ภาคเหนือ	3	15
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	3	15

1.3 ชนิดของเบต้าธาลัสซีเมีย (genotype)

ผู้เข้าร่วมโครงการส่วนใหญ่มีชนิดของโรคเป็นแบบ heterozygous β -Thalassemia/Hb E ถึงร้อยละ 90 ส่วนที่เหลือเป็นชนิด homozygous β^0 -Thalassemia (ตารางที่ 4.3)

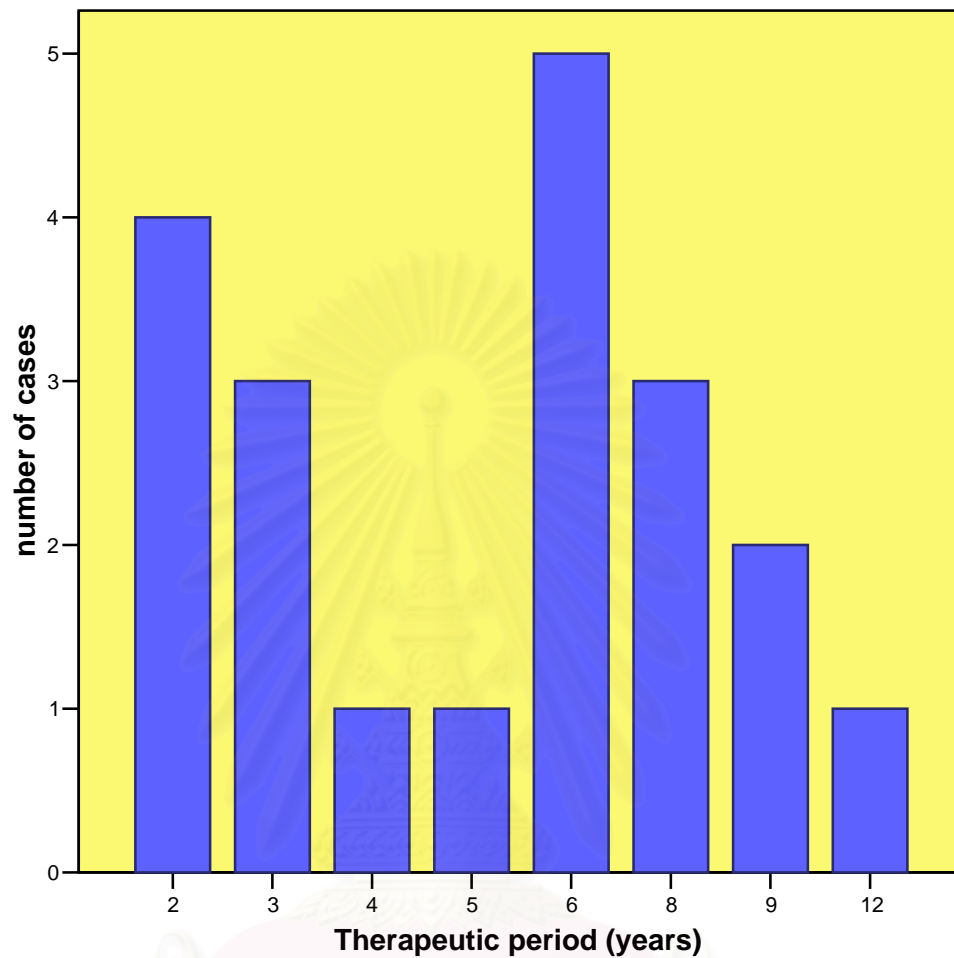
ตารางที่ 4.3 แสดง phenotype โรคธาลัสซีเมียของผู้เข้าร่วมโครงการ

Phenotype	จำนวน (คน)	คิดเป็นร้อยละ
Heterozygous β -Thalassemia/Hb E	18	90
Homozygous β^0 -Thalassemia	2	10

1.4 ระยะเวลาที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ผู้เข้าร่วมโครงการเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ด้วยโรคเบต้าธาลัสซีเมียเป็นระยะเวลาตั้งแต่ 2-12 ปี เฉลี่ยประมาณ 5.5 ปี (ภาพที่ 9)

ภาพที่ 9 แสดงระยะเวลาการเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลฉุกเฉินของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย

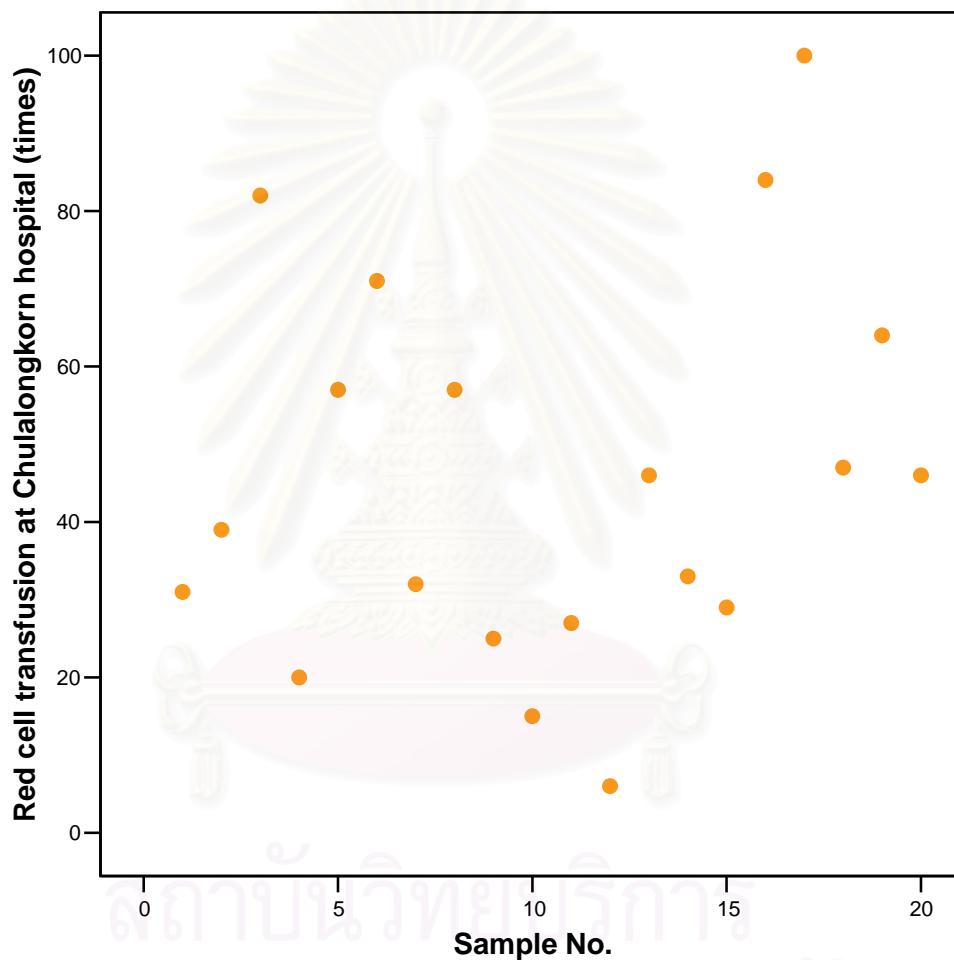


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.5 จำนวนครั้งที่ได้รับเลือดที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ผู้เข้าร่วมโครงการได้รับเลือดจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เป็นจำนวนตั้งแต่ 6-100 ครั้ง เฉลี่ยประมาณ 45.5 ครั้งต่อคน พบว่า ผู้เข้าร่วมโครงการรายหนึ่งเคยย้ายไปรับการรักษาที่โรงพยาบาลต่างจังหวัด ก่อนจะย้ายกลับมารักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์อีกครั้ง ทำให้จำนวนการได้รับเลือดน้อยกว่าความเป็นจริง (ภาพที่ 10)

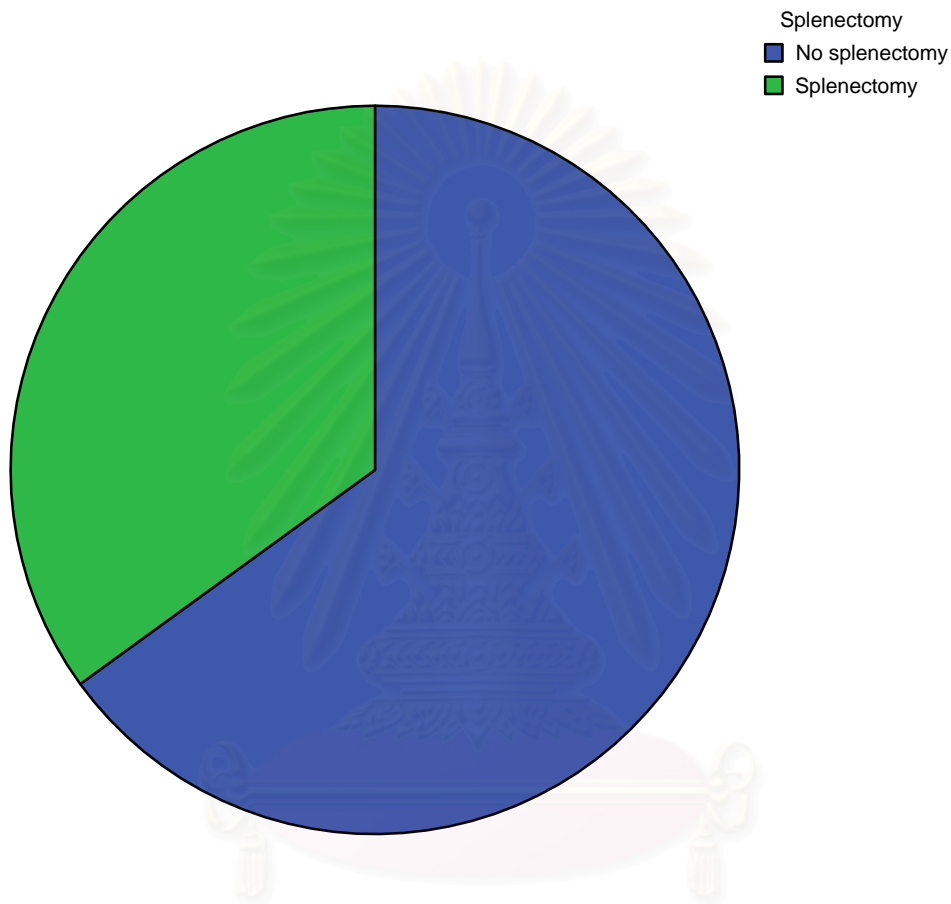
ภาพที่ 10 แสดงจำนวนครั้งที่ผู้เข้าร่วมโครงการได้รับเลือดที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์แต่ละราย



1.6 จำนวนประชากรที่ได้รับการรักษาโดยการผ่าตัดม้าม

ผู้เข้าร่วมโครงการ 7 คน ได้รับการรักษาโดยการผ่าตัดม้าม เพื่อลดความรุนแรงของภาวะโลหิตจาง และลดความถี่ในการรับเลือด (ภาพที่ 11)

ภาพที่ 11 แสดงสัดส่วนจำนวนผู้เข้าร่วมโครงการที่ได้รับผ่าตัดม้ามและไม่ได้ตัดม้าม

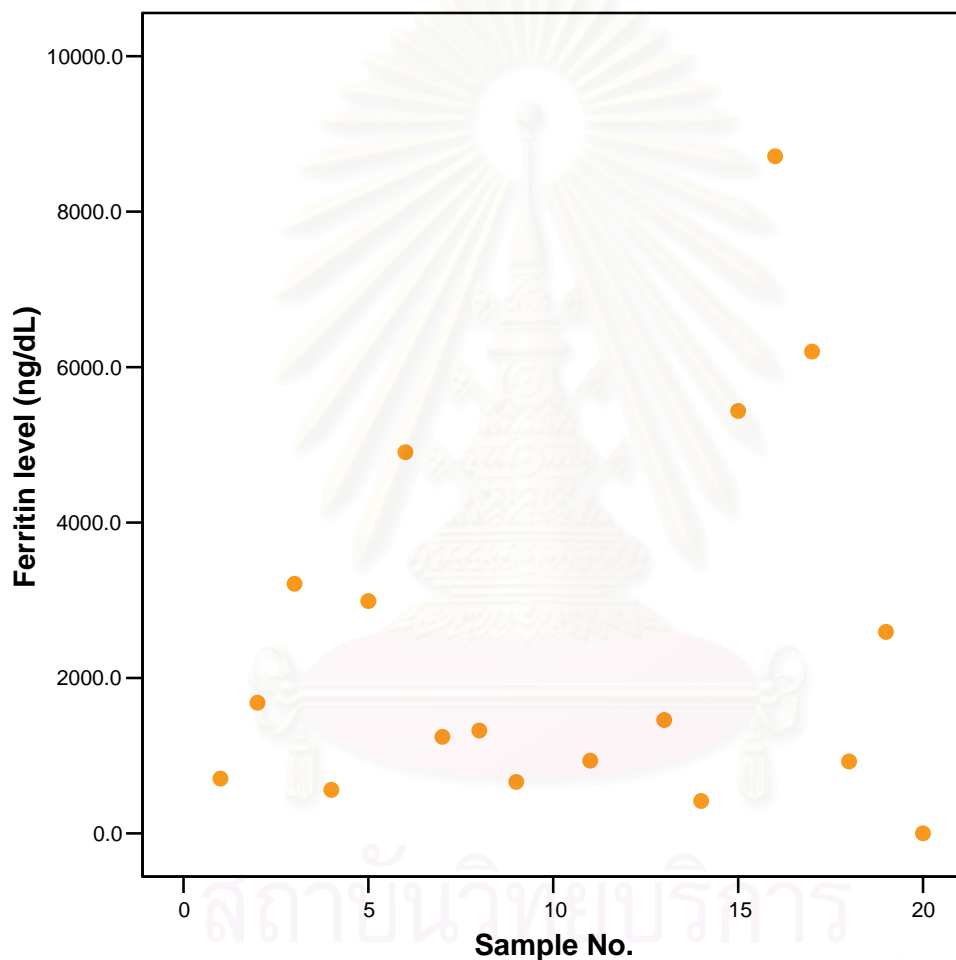


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.7 ระดับ ferritin ในเลือดก่อนเข้าร่วมโครงการ

ผู้เข้าร่วมโครงการจำนวน 18 คน ได้รับการตรวจหาระดับ ferritin ในเลือดก่อนเข้าร่วมโครงการ โดยที่ 17 คนได้รับการตรวจระดับ ferritin ภายในระยะเวลา 1 ปี ก่อนเข้าร่วมโครงการ พบว่า ระดับ ferritin สูงตั้งแต่ 0.5-8,712 ng/dL (ค่าปกติ 7-140 ng/mL ในเด็กอายุ 6 เดือน – 15 ปี) โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ระดับ 2,442.2 ng/dL (ภาพที่ 12)

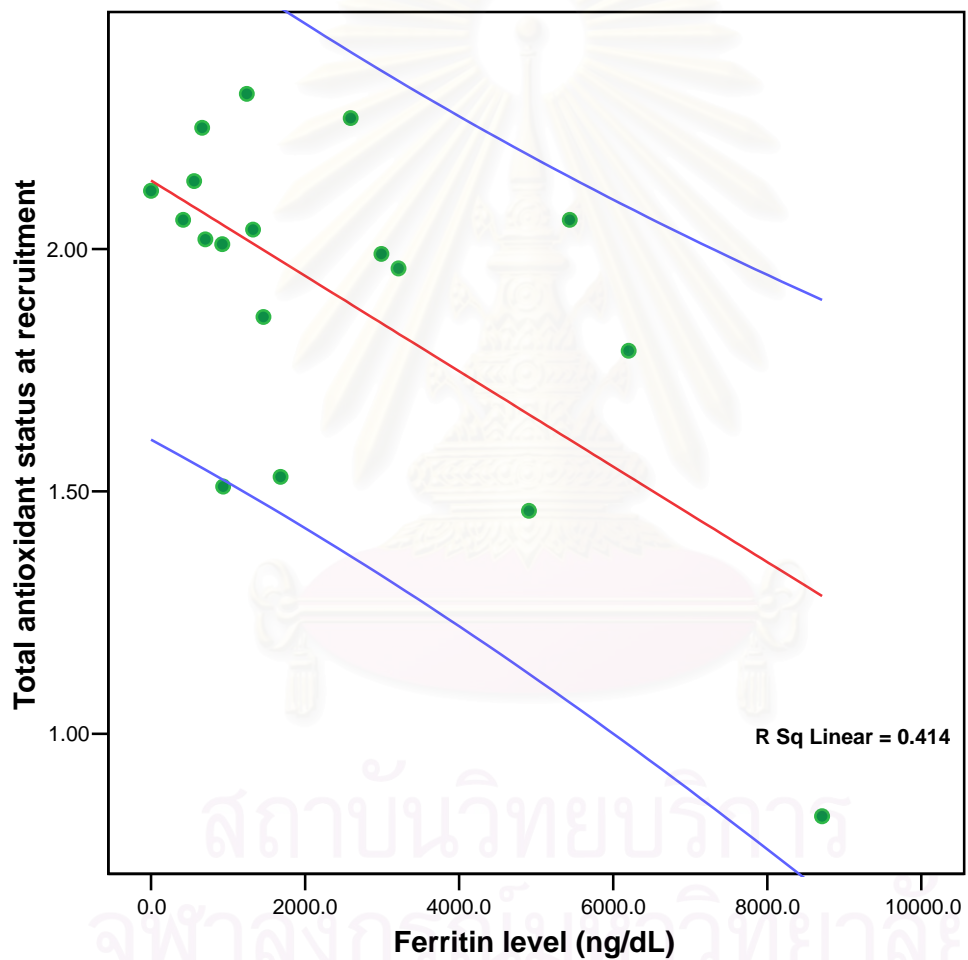
ภาพที่ 12 แสดงค่า Ferritin ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการแต่ละราย (n = 18 คน)



2. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Total antioxidant status และระดับ ferritin ก่อนเข้าร่วมโครงการ

พบว่า ระดับ TAS ของผู้เข้าร่วมโครงการมีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับระดับ ferritin ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) (ภาพที่ 13)

ภาพที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ferritin และ total antioxidant status ก่อนเข้าร่วมโครงการ (n = 18 คน)



3. ผลการศึกษาาระดับสารต้านอนุมูลอิสระ

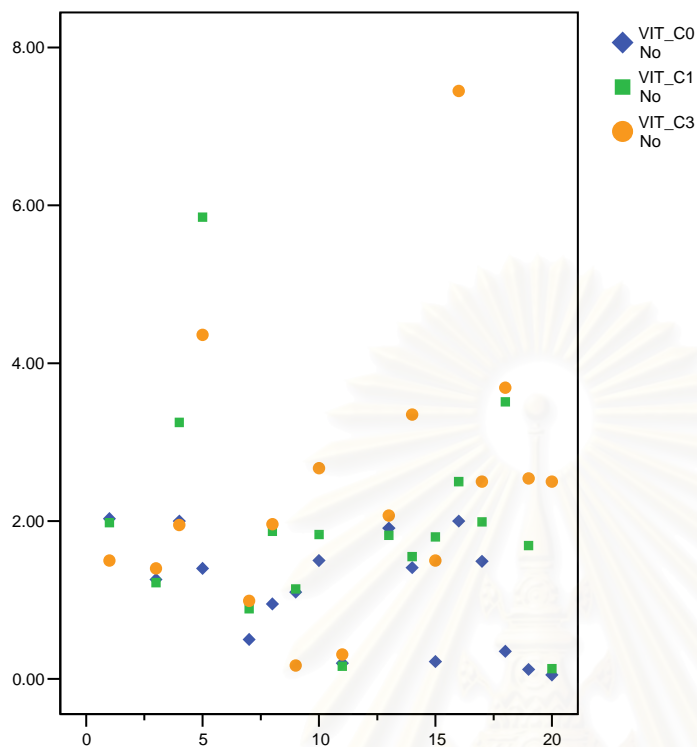
3.1 วิตามินซี

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับวิตามินซีต่ำกว่าค่าปกติ (1.269 ± 1.274 มิลลิกรัมต่อลิตร, ค่าปกติ 6-14 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อมาเมื่อได้รับประทานวิตามินซีขนาด 100 มิลลิกรัมต่อวันแล้ว พบว่าที่ 1 เดือนระดับวิตามินซีในเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1.952 ± 1.341 มิลลิกรัมต่อลิตร, $P = 0.012$) และที่ 3 เดือน พบว่าระดับวิตามินซีเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน แต่ยังคงต่ำกว่าระดับวิตามินซีในคนปกติ (2.595 ± 1.965 มิลลิกรัมต่อลิตร, $P = 0.02$) (ตารางที่ 4.4)

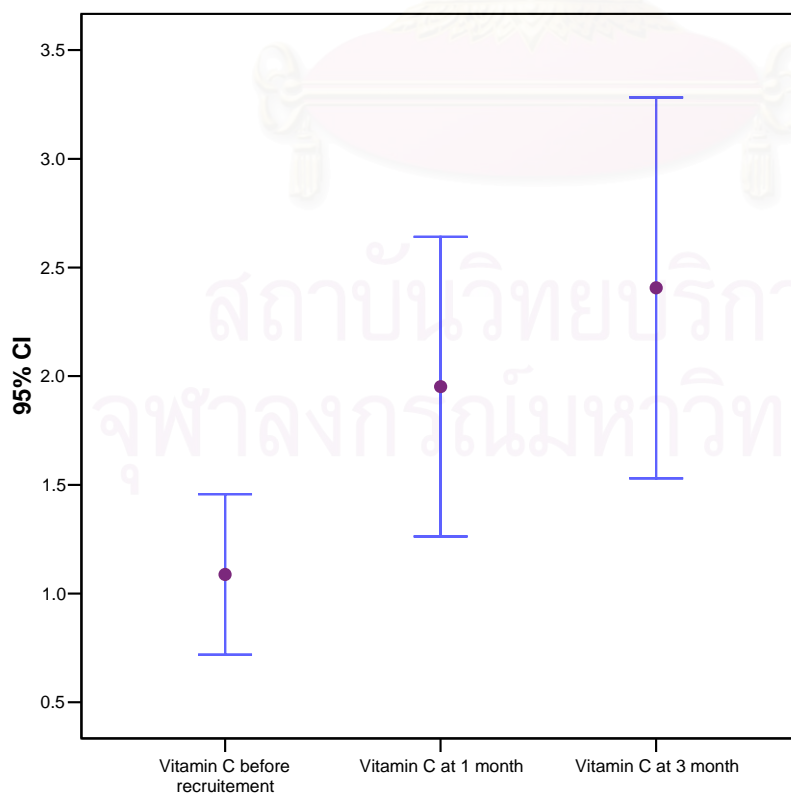
ตารางที่ 4.4 แสดงระดับวิตามินซีของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับวิตามินซี (mg/L)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	1.269 ± 1.274	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	1.952 ± 1.341	0.012
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	2.595 ± 1.965	0.020

ภาพที่ 14 ก แสดงระดับวิตามินซีของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 14 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับวิตามินซีของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



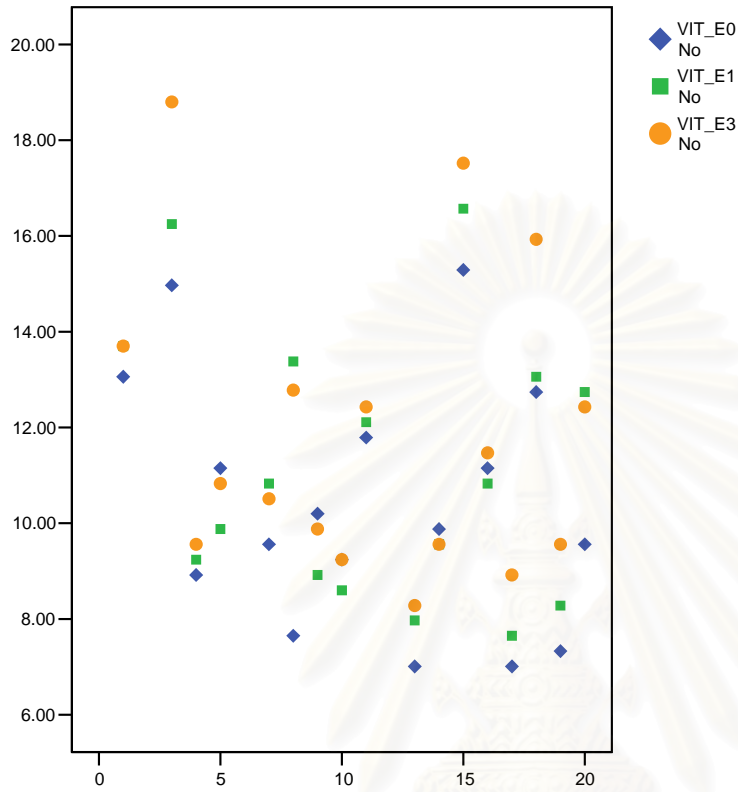
3.2 วิตามินอี

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับวิตามินอีต่ำกว่าค่าปกติ (9.686 ± 3.380 ไมโครโมลต่อลิตร, ค่าปกติ 11.6-23.2 ไมโครโมลต่อลิตร) ต่อมาเมื่อรับประทานวิตามินอีขนาด 400-600 ยูนิต ต่อวันแล้ว พบว่าที่ 1 เดือนระดับวิตามินอีในเลือดสูงขึ้นโดยไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (11.151 ± 2.784 ไมโครโมลต่อลิตร, $P = 0.076$) และที่ 3 เดือน พบว่าระดับวิตามินอีเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (11.488 ± 3.377 ไมโครโมลต่อลิตร, $P < 0.001$) แต่ยังคงต่ำกว่าค่าปกติเล็กน้อย (ตารางที่ 4.5)

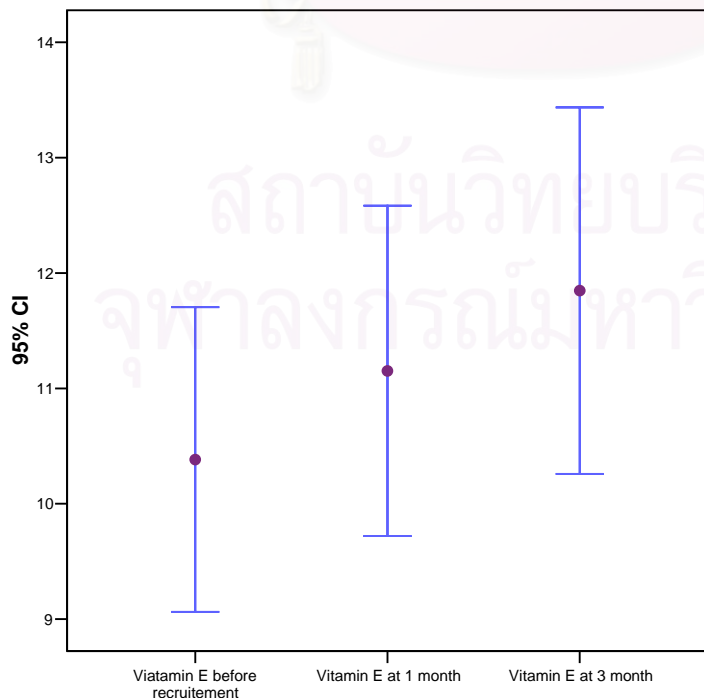
ตารางที่ 4.5 แสดงระดับวิตามินอีของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับวิตามินอี ($\mu\text{M/L}$)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	9.686 ± 3.380	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	11.151 ± 2.784	0.076
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	11.488 ± 3.377	< 0.001

ภาพที่ 15 ก แสดงระดับวิตามินอีของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 15 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับวิตามินอีของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



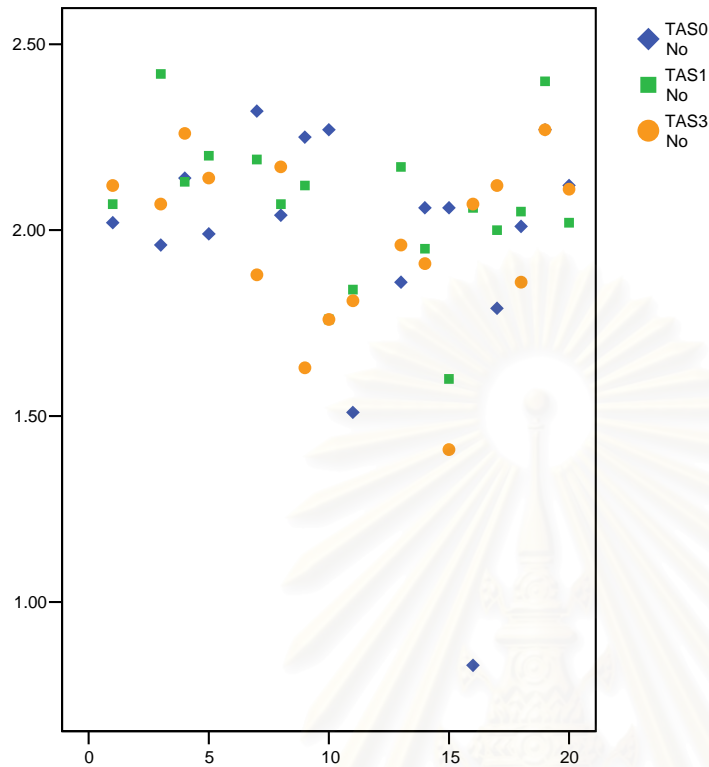
3.3 Total antioxidant status (TAS)

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับ TAS อยู่ในระดับต่ำ (1.938 มิลลิโมล) ภายหลังได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว พบว่าระดับ TAS ในเลือดสูงขึ้นเล็กน้อยที่ 1 เดือน (2.062 มิลลิโมล, P = 0.349) และที่ 3 เดือนตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ (1.995 มิลลิโมล, P = 0.565) (ตารางที่ 4.6)

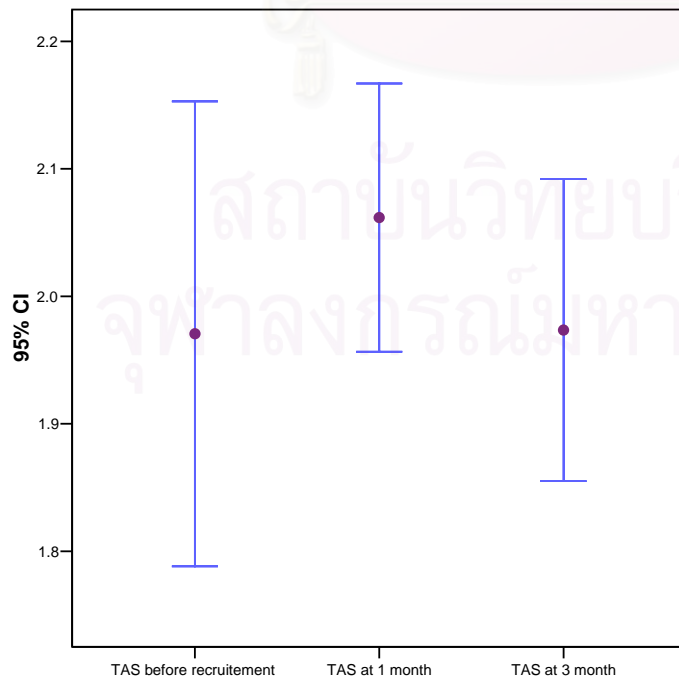
ตารางที่ 4.6 แสดงระดับ Total antioxidant status ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและ หลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับ TAS (mM)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	1.938 ± 0.365	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	2.062 ± 0.205	0.349
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	1.995 ± 0.257	0.565

ภาพที่ 16 ก แสดงระดับ Total antioxidant status (TAS) ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 16 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับ Total antioxidant status (TAS) ของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



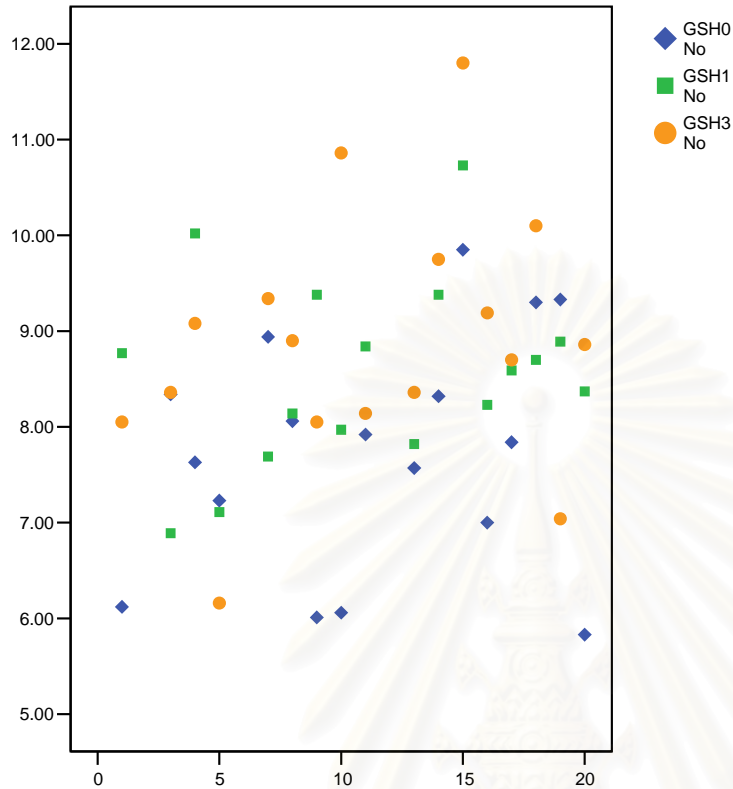
3.4 Glutathione

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับ Glutathione อยู่ในระดับต่ำ (7.760 ± 1.161 มิลลิโมลต่อกรัมของฮีโมโกลบิน) ภายหลังได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว พบว่าระดับ Glutathione ในเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 1 เดือน (8.560 ± 0.978 มิลลิโมลต่อกรัมของฮีโมโกลบิน, $P = 0.026$) และเพิ่มสูงขึ้นจากเดิมที่ 3 เดือน (8.751 ± 1.448 มิลลิโมลต่อกรัมของฮีโมโกลบิน, $P = 0.011$) (ตารางที่ 4.7)

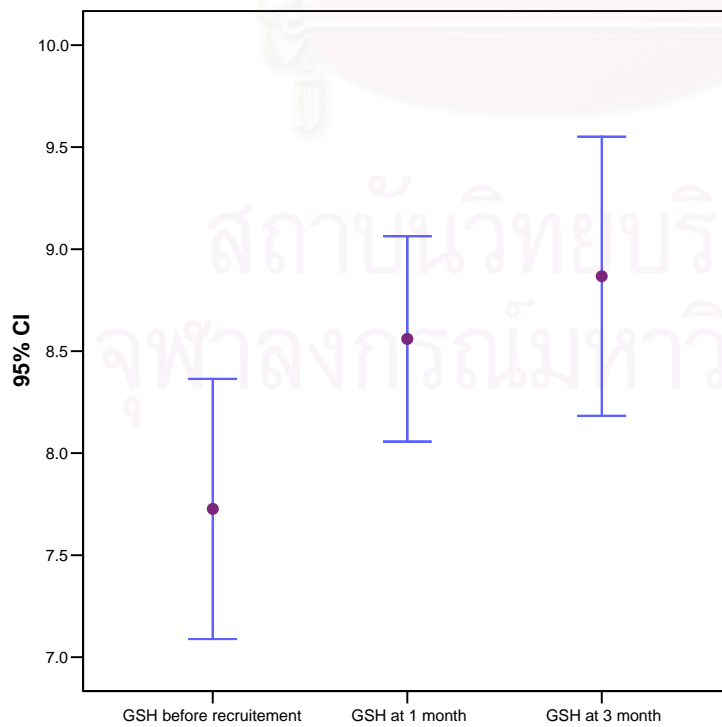
ตารางที่ 4.7 แสดงระดับ Glutathione ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับ Glutathione (mM/gHb)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	7.760 ± 1.161	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	8.560 ± 0.978	0.026
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	8.751 ± 1.448	0.011

ภาพที่ 17 ก แสดงระดับ Glutathione ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 17 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับ Glutathione ของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



4. ผลการศึกษาาระดับผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระ

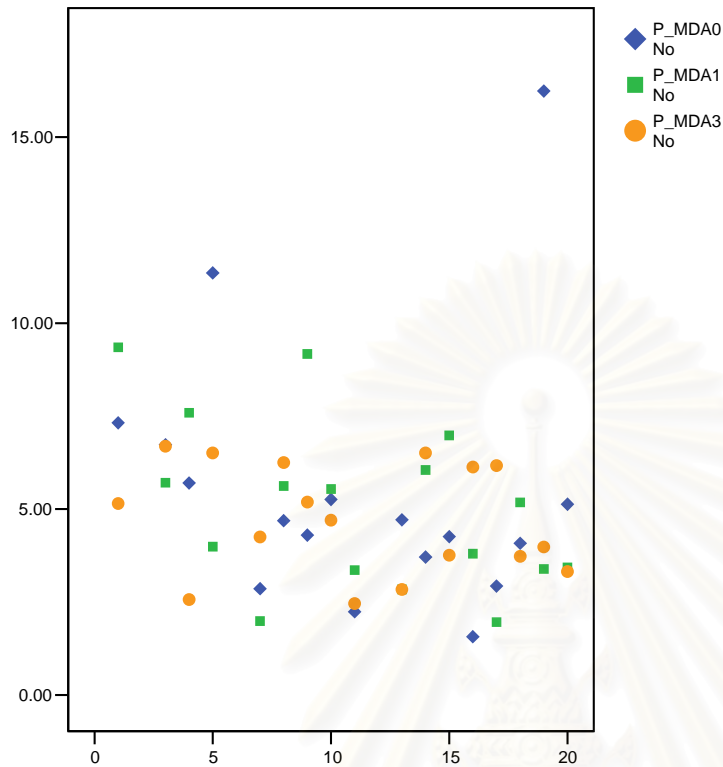
4.1 Plasma malondialdehyde (P-MDA)

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับ P-MDA อยู่ในระดับสูง (5.380 ± 3.318 มิลลิโมล) ภายหลังได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว พบว่าที่ 1 เดือน ระดับ P-MDA ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ (5.056 ± 2.269 มิลลิโมล, $P = 0.684$) และที่ 3 เดือน P-MDA ลดลงจากเมื่อ 1 เดือนอีกเล็กน้อยโดยไม่มีนัยสำคัญ (4.804 ± 1.678 มิลลิโมล, $P = 0.495$) (ตารางที่ 4.8)

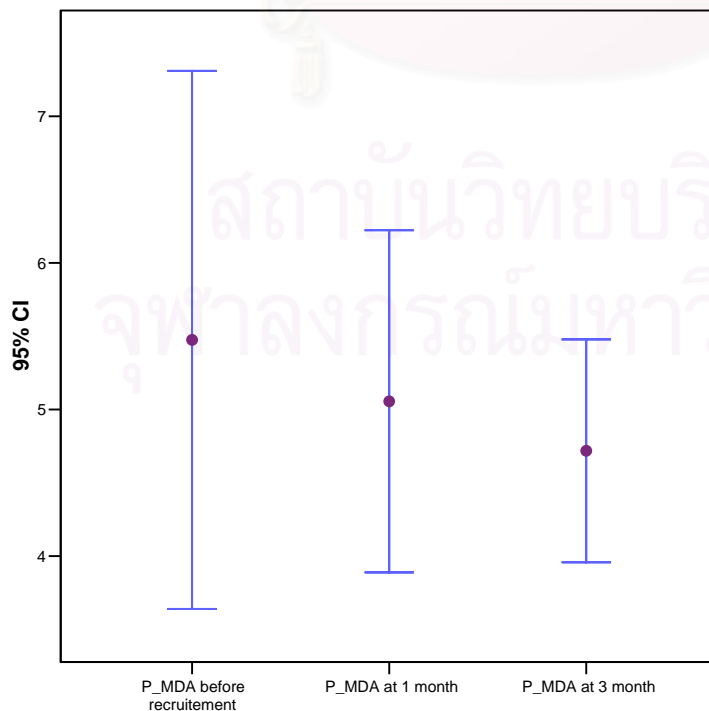
ตารางที่ 4.8 แสดงระดับ Plasma malondialdehyde (P-MDA) ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับ P-MDA (mM)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	5.380 ± 3.318	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	5.056 ± 2.269	0.684
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	4.804 ± 1.678	0.495

ภาพที่ 18 ก แสดงระดับ Plasma malondialdehyde (P-MDA) ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 18 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับ Plasma malondialdehyde (P-MDA) ของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



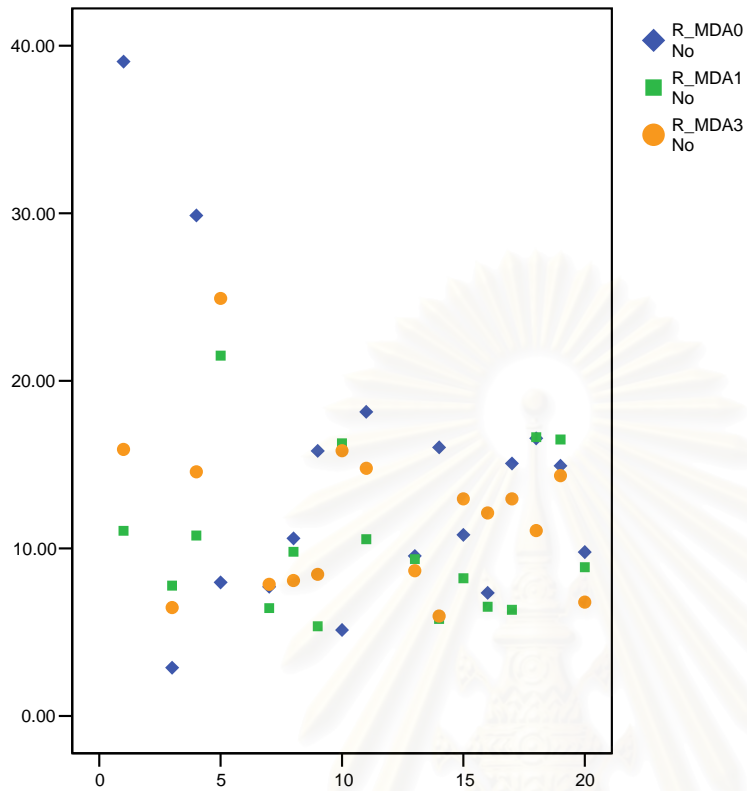
4.2 Erythrocyte malondialdehyde (R-MDA)

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับ R-MDA อยู่ในระดับสูง (14.280 ± 8.479 มิลลิโมล) ภายหลังจากได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว พบว่าที่ 1 เดือน ระดับ R-MDA ลดลง โดยไม่มีนัยสำคัญ (10.457 ± 4.635 มิลลิโมล, $P = 0.172$) และที่ 3 เดือน P-MDA เพิ่มขึ้นจากเมื่อ 1 เดือน แต่น้อยกว่าก่อนเข้าร่วมโครงการ โดยความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญ (12.831 ± 6.176 มิลลิโมล, $P = 0.470$) (ตารางที่ 4.9)

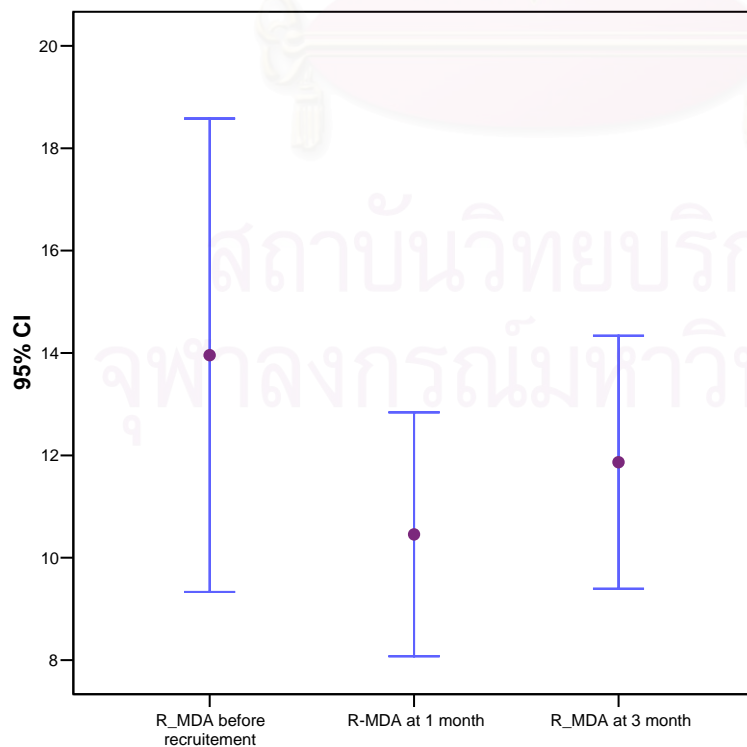
ตารางที่ 4.9 แสดงระดับ Erythrocyte malondialdehyde (R-MDA) ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับ R-MDA (mM)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	14.280 ± 8.479	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	10.457 ± 4.635	0.172
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	12.831 ± 6.176	0.470

ภาพที่ 19 ก แสดงระดับ Erythrocyte malondialdehyde (R-MDA) ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 19 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ระดับ Erythrocyte malondialdehyde (R-MDA) ผู้เข้าร่วมโครงการ ก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



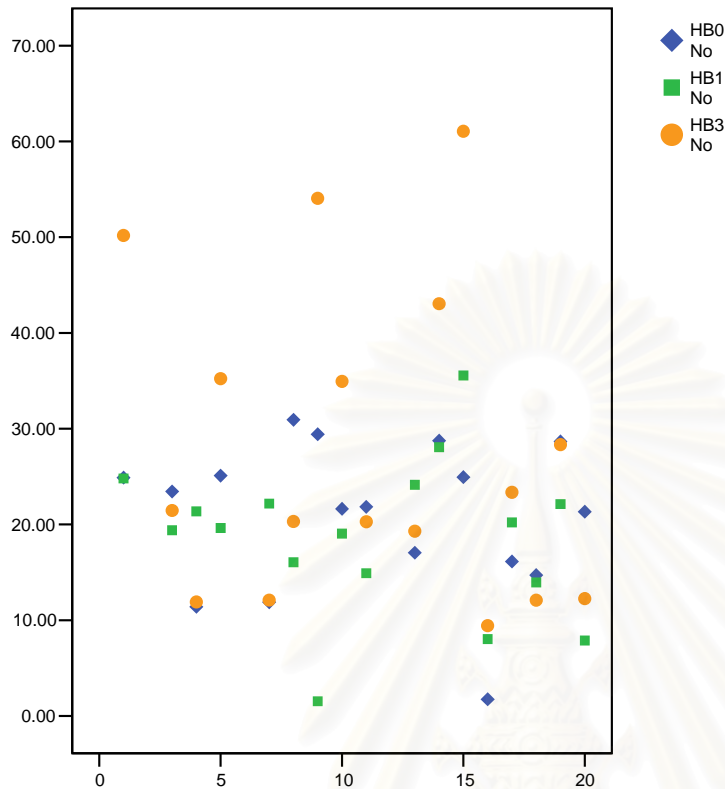
5. ระดับ Plasma hemoglobin

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับ plasma hemoglobin (P-HB) อยู่ในระดับสูง (21.691 ± 8.465 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ภายหลังจากได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้วพบว่าที่ 1 เดือน ระดับ P-HB ลดลงโดยไม่มีนัยสำคัญ (18.759 ± 8.074 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, $P = 0.420$) แต่ที่ 3 เดือน P-HB กลับเพิ่มขึ้นจนสูงกว่าระดับก่อนเข้าร่วมโครงการและเมื่อ 1 เดือน โดยความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญ (26.984 ± 15.027 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, $P = 0.082$) (ตารางที่ 4.10)

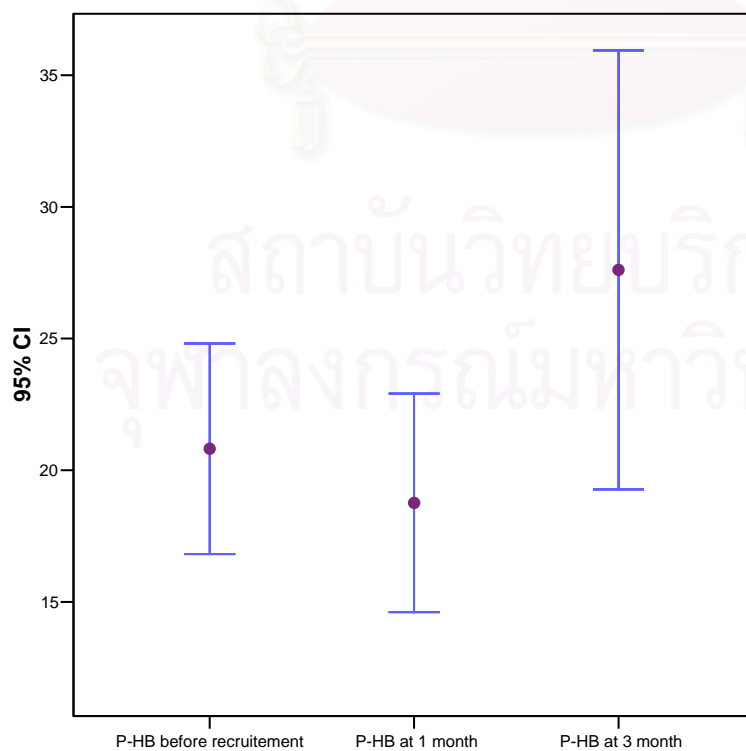
ตารางที่ 4.10 แสดงระดับ Plasma Hemoglobin (P-HB) ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับ P-HB (mg/dL)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	21.691 ± 8.465	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	18.759 ± 8.074	0.420
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	26.984 ± 15.027	0.082

ภาพที่ 20 ก แสดงระดับ Plasma hemoglobin (P-HB) ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 20 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ระดับ Plasma hemoglobin (P-HB) ผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



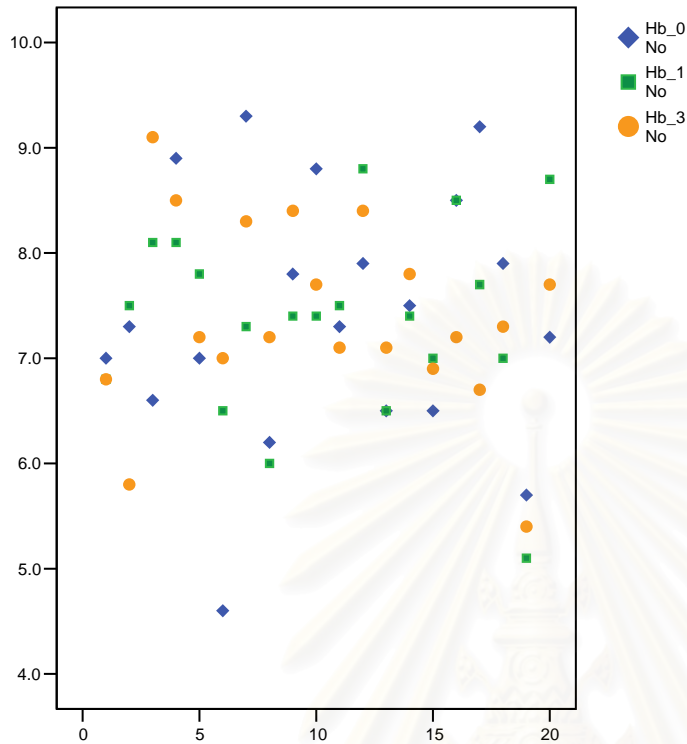
6. Total hemoglobin

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับฮีโมโกลบิน (total hemoglobin : Hb) อยู่ในระดับต่ำ (7.385 ± 1.208 กรัมต่อเดซิลิตร) ภายหลังจากได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว พบว่าที่ 1 เดือน ระดับฮีโมโกลบินไม่มีการเปลี่ยนแปลง (7.355 ± 0.907 กรัมต่อเดซิลิตร, $P = 0.898$) เช่นเดียวกับระดับฮีโมโกลบินที่วัดได้ที่ 3 เดือน (7.380 ± 0.900 กรัมต่อเดซิลิตร, $P = 0.985$) (ตารางที่ 4.11)

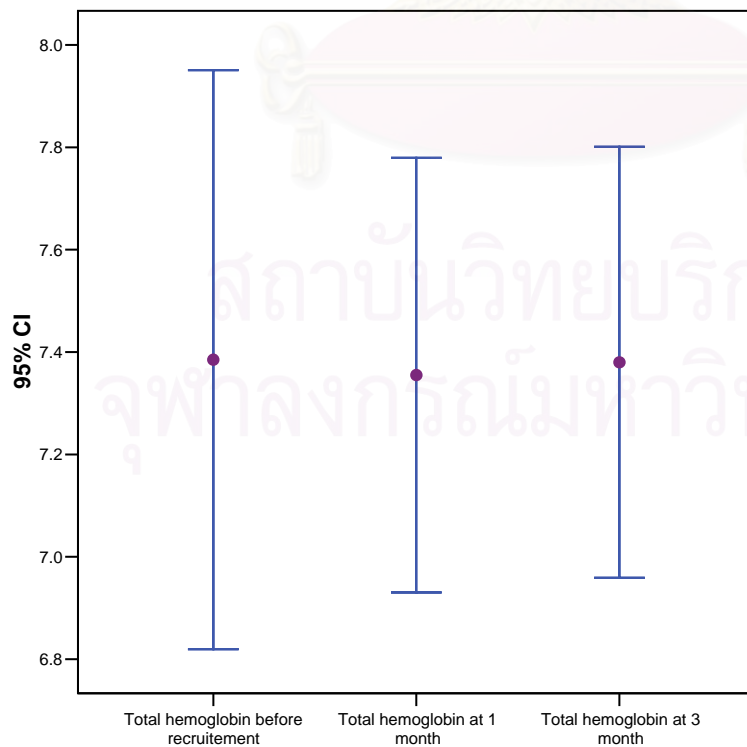
ตารางที่ 4.11 แสดงระดับฮีโมโกลบิน (Hb) ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับฮีโมโกลบิน (g/dL)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	7.385 ± 1.208	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	7.355 ± 0.907	0.898
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	7.380 ± 0.900	0.985

ภาพที่ 21 ก แสดงระดับฮีโมโกลบิน (Hb) ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 21 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับฮีโมโกลบิน (Hb) ของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



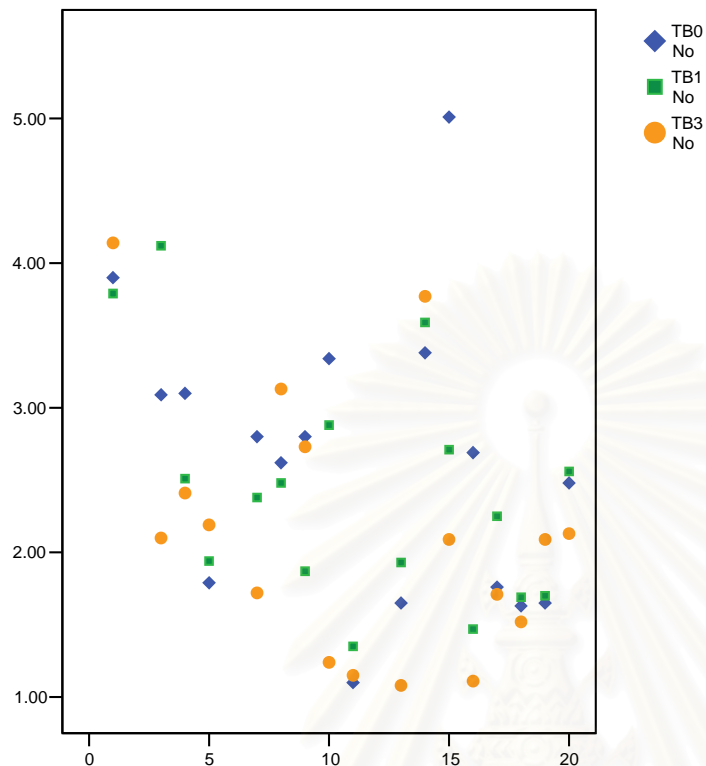
7. Total bilirubin

ก่อนเข้าร่วมโครงการ ผู้เข้าร่วมโครงการมีระดับ total bilirubin (TB) อยู่ในระดับสูง (2.562 ± 0.933 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ภายหลังได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว พบว่าที่ 1 เดือน ระดับ TB ลดลงโดยไม่มีนัยสำคัญ (2.425 ± 0.805 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, $P = 0.270$) และที่ 3 เดือน ระดับ TB ลดลงต่ำกว่าระดับ 1 เดือน แต่ค่าเปลี่ยนแปลงนั้นไม่มีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนเข้าร่วมโครงการ (2.178 ± 0.828 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, $P = 0.086$) (ตารางที่ 4.12)

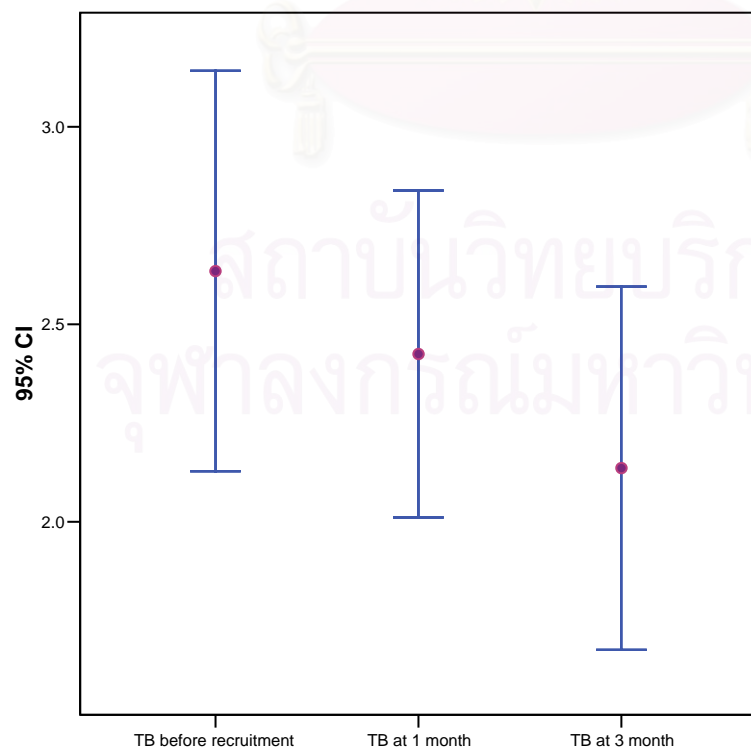
ตารางที่ 4.12 แสดงระดับ Total bilirubin (TB) ของผู้เข้าร่วมโครงการก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังเข้าร่วมโครงการที่ 1 และ 3 เดือน

เวลาที่วัด	จำนวน (คน)	ระดับ TB (mg/dL)	P
ก่อนเข้าร่วมโครงการ	20	2.562 ± 0.933	
หลังเข้าร่วมโครงการ 1 เดือน	17	2.425 ± 0.805	0.270
หลังเข้าร่วมโครงการ 3 เดือน	20	2.178 ± 0.828	0.086

ภาพที่ 22 ก แสดงระดับ Total bilirubin (TB) ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่ละราย ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



ภาพที่ 22 ข แสดงค่าความเชื่อมั่นที่ 95 % ของระดับ Total bilirubin (TB) ของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งก่อนเข้าร่วมโครงการและหลังรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 1 และ 3 เดือน



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ผู้เข้าร่วมโครงการทั้งหมดไม่มีความแตกต่างในด้านเพศ อายุ และระยะเวลาที่เข้ารับการรักษานในโรงพยาบาลอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ferritin ในเลือด Total antioxidant status ก่อนเข้าร่วมโครงการกับระดับในเชิงลบ

ระดับวิตามินซีในเลือดก่อนเข้าร่วมโครงการของทุกคนอยู่ในระดับต่ำ (1.09 mg/L, ค่าปกติ คือ 6-14 mg/L) ระดับวิตามินอีมีระดับต่ำเช่นกัน (10.38 $\mu\text{M/L}$, ค่าปกติ 11.6-23.2 $\mu\text{M/L}$) รวมถึงค่า Glutathione ซึ่งมีระดับต่ำเช่นกัน (7.73 mM/gHb)

หลังจากผู้เข้าร่วมโครงการได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอี พบว่า ที่ 1 เดือนมีการเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินซีและ Glutathione เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (วิตามินซี 1.95 mg/L, $P < 0.05$ และ Glutathione 8.56 mM/gHb, $P < 0.05$ ตามลำดับ) ในขณะที่วิตามินอีเพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่มีนัยสำคัญ (11.15 $\mu\text{M/L}$, $P = 0.76$) ค่า TAS, P-MDA, R-MDA, P-HB และ TB มีการเปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ และค่า Hb ลดลงเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญ

ภายหลังผู้เข้าร่วมโครงการได้รับวิตามินซีและวิตามินอีเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ระดับของวิตามินซีและวิตามินอีเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (วิตามินซี 2.60 mg/L, $P < 0.05$ และ วิตามินอี 11.49 μM , $P < 0.01$ ตามลำดับ) และพบว่าระดับของ glutathione เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Glutathione 8.75 mM/gHb, $P < 0.05$) ในขณะที่ค่า TAS, erythrocyte และ plasma MDA และ TB มีการเปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ ในขณะที่ P-HB มีค่าเพิ่มสูงขึ้นกว่าก่อนเข้าร่วมโครงการ และค่า Hb มีระดับใกล้เคียงกับก่อนเข้าร่วมโครงการ

อภิปรายผลการวิจัย

ผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีภาวะเหล็กเกินจากการได้รับเลือดเพื่อรักษาภาวะโลหิตจาง และไม่ได้รับยาขับเหล็กอย่างเพียงพอ ทำให้มีธาตุเหล็กสะสมอยู่ในร่างกาย เป็นเหตุให้เพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระ ผู้ป่วยเหล่านี้จึงมีระดับสารอนุมูลอิสระในเลือดสูง และสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดต่ำ (oxidative stress) เป็นผลให้เกิดการทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย และเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ตามมา

จากการศึกษา พบว่าเด็กที่ป่วยด้วยโรคธาลัสซีเมียที่เข้าร่วมโครงการมีระดับเหล็กเกินในเลือดสูงถึงร้อยละ 94 เด็กทุกรายมีภาวะขาดวิตามินซีและวิตามินอีซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย นอกจากนี้ ยังพบระดับ Glutathione ในเลือดลดลง malondialdehyde ในพลาสมา และเม็ดเลือดแดง รวมถึงระดับฮีโมโกลบินในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ความผิดปกติทั้งหมดน่าจะเป็นผลมาจากภาวะอนุมูลอิสระเกินจากภาวะเหล็กเกิน นอกจากนี้ ยังพบว่า ส่วนใหญ่ของผู้เข้าร่วมโครงการที่มีระดับ ferritin ในเลือดสูง จะมีค่า total antioxidant status ต่ำ เป็นข้อสนับสนุนสมมุติฐานที่ว่าภาวะเหล็กเกินมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับภาวะอนุมูลอิสระเกิน

การรักษาภาวะเหล็กเกินที่ดีที่สุดในปัจจุบัน นิยมใช้ยาขับเหล็ก ได้แก่ deferoxamine ทำหน้าที่กระตุ้นการขับเหล็กทางปัสสาวะ การบริหารยา deferoxamine ร่วมไปกับการรับประทานวิตามินซี จะช่วยในการขับเหล็กเพิ่มขึ้น เนื่องจากวิตามินซีกระตุ้นให้เหล็กที่สะสมอยู่ตามอวัยวะต่างๆ เปลี่ยนเป็นเหล็กอิสระเข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น ทำให้ยาสามารถจับกับเหล็กอิสระและถูกกรองออกทางไตเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน หากแต่ในกรณีที่ผู้ป่วยธาลัสซีเมียรับประทานวิตามินซีจำนวนมาก โดยไม่ได้รับยาขับเหล็ก เหล็กอิสระที่อยู่ในเลือดจะกระจายและเข้าไปสะสมยังอวัยวะต่างๆ อีกครั้ง อวัยวะที่สำคัญ ได้แก่ หัวใจ ผลของการสะสมเหล็กที่กล้ามเนื้อหัวใจอาจทำให้กล้ามเนื้อหัวใจทำงานผิดปกติจากภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน เป็นผลให้เกิดภาวะผิดปกติถึงแก่ชีวิตได้

แม้ยาขับเหล็กจะผลดีต่อการลดระดับเหล็กในร่างกาย และลดภาวะสารอนุมูลอิสระเกินก็ตาม แต่ยาดังกล่าวยังมีราคาค่อนข้างสูง ทำให้ผู้ป่วยธาลัสซีเมียส่วนใหญ่ซึ่งมีฐานะยากจนไม่สามารถใช้ยา ผู้ป่วยส่วนใหญ่ในประเทศไทยจึงมีภาวะเหล็กเกินและสารอนุมูลอิสระเกินสูง ส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ มากมาย จึงมีผู้ริเริ่มทำการศึกษาเพื่อหาทางเลือกการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากสารอนุมูลอิสระเกินที่มีค่าใช้จ่ายต่ำ โดยสารหรือยาที่หาง่าย ไม่มีพิษ และให้ผลในการรักษาเป็นที่น่าพอใจ เพื่อลดภาวะแทรกซ้อนที่จะเกิดขึ้น หรือเสริมจากการรักษาโดยใช้ยาขับเหล็ก ดังเช่นการศึกษาการให้สารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยธาลัสซีเมียฉบับนี้

เนื่องจากวิตามินซีและวิตามินอีเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง และมีอยู่ตามธรรมชาติ เป็นอาหารเสริมที่มีความปลอดภัยสูง จากการศึกษานี้เบื้องต้นพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ได้รับยาขับเหล็กมีระดับวิตามินซีและวิตามินอีในเลือดต่ำ คณะผู้ทำการวิจัยจึงพิจารณาเลือกวิตามินทั้งสองในการรักษาผู้ป่วย สำหรับวิตามินอีนั้น ได้มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับประโยชน์ในด้านการต่อต้านสารอนุมูลอิสระในผู้ป่วยโรคต่างๆ รวมถึงผู้ป่วยธาลัสซีเมีย พบว่าการให้วิตามินอีสามารถช่วยลดภาวะสารอนุมูลอิสระเกินลงได้บ้าง แต่ไม่พบความแตกต่างทางคลินิกอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากระยะเวลาที่ทำการศึกษาสั้นเกินไป ปริมาณวิตามินอีที่ให้ไม่เพียงพอ หรือการให้วิตามินอีเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการลดระดับสารอนุมูลอิสระ

เนื่องจากในร่างกายมนุษย์ปกติมีสารต้านอนุมูลอิสระอื่นนอกเหนือจากวิตามินอีที่ร่วมกันทำหน้าที่กำจัดสารอนุมูลอิสระอีกมาก

Tesoriere และคณะ ทำการศึกษาโดยให้วิตามินอีขนาด 600 มิลลิกรัมในผู้ใหญ่ที่ป่วยด้วยโรคธาลัสซีเมียที่ไม่ได้รับเลือดเป็นประจำ ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยเป็นเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ส่วนใหญ่ต้องได้รับเลือดเป็นประจำทุกเดือน ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีภาวะเหล็กเกินในร่างกายสูง ระดับอนุมูลอิสระในร่างกายสูง และระดับสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายต่ำกว่า ผู้วิจัยจึงพิจารณาให้ยาวิตามินอีขนาด 600 มิลลิกรัมในเด็กโตที่น้ำหนักมากกว่า 20 กิโลกรัม และวิตามินอีขนาด 400 มิลลิกรัมในเด็กเล็กที่มีน้ำหนักไม่เกิน 20 กิโลกรัม

การพิจารณาให้วิตามินซีแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ คณะผู้วิจัยได้ทบทวนการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระ แต่ไม่พบรายงานฉบับใดที่ศึกษาการให้วิตามินซีในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย สาเหตุอาจเนื่องมาจากวิตามินซีมีผลเสียต่อภาวะเหล็กเกิน ทำให้ผู้วิจัยก่อนหน้านี้จึงมีความลังเลที่จะเลือกใช้ หากแต่เมื่อพิจารณาว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียส่วนใหญ่มีภาวะวิตามินซีในเลือดต่ำ ประกอบกับวิตามินซีเป็นสารที่มีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูง และทำงานร่วมกับวิตามินอีโดยเปลี่ยนวิตามินอีที่ไม่ทำงานให้กลับมาเป็นวิตามินอีที่ทำงานได้แล้ว เป็นผลให้ระดับวิตามินในร่างกายเพิ่มขึ้น คณะผู้วิจัยจึงพิจารณาว่าการให้วิตามินซีในปริมาณที่เหมาะสม น่าจะมีประโยชน์ในด้านการลดสารอนุมูลอิสระมากกว่าการก่อให้เกิดโทษ

อย่างไรก็ดี ไม่มีหลักฐานใดๆ ที่บ่งว่าการรับประทานวิตามินซีปริมาณเท่าไรจึงจะก่อให้เกิดความผิดปกติแก่กล้ามเนื้อหัวใจ มีรายงานการเฝ้าติดตามผู้ป่วยที่มีภาวะเหล็กเกิน 1 ราย ที่รับประทานวิตามินซีวันละ 1 กรัมเป็นเวลานานกว่า 1 ปี พบว่าหลังจากติดตามการรักษาได้ไม่นานผู้ป่วยดังกล่าวได้เสียชีวิตลงเนื่องจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจบีบตัวไม่เพียงพอ ในขณะที่มีรายงานผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ป่วยด้วยโรคตับปิดกั้นเปิดจากการขาดวิตามินซี ดังนั้น จึงมีการแนะนำให้ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะเหล็กเกินไม่ควรรับประทานวิตามินซีมากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อวันโดยไม่ได้รับยาขับเหล็ก หรือ รับประทานในขนาดเล็กน้อยเพียงเพื่อรักษาภาวะขาดวิตามินซีเท่านั้น คณะผู้วิจัยพิจารณาให้วิตามินซีขนาด 100 มิลลิกรัมแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ โดยกล่าวเน้นถึงประโยชน์และโทษหากรับประทานวิตามินซีมากเกินไปให้แก่ผู้ปกครอง และแนะนำให้ผู้ปกครองเป็นผู้ให้วิตามินซีแก่ผู้เข้าร่วมโครงการด้วยตนเอง ซึ่งผู้ปกครองทุกท่านเข้าใจและยินดีปฏิบัติตาม

หลังจากผู้เข้าร่วมโครงการรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว พบว่า ระดับวิตามินซี วิตามินอี และ Glutathione ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น แสดงว่าเมื่อร่างกายมีระดับวิตามินซีหรือวิตามินอีเพียงพอ จะสามารถสร้าง Glutathione เพื่อกำจัดสารอนุมูลอิสระได้อย่างเพียงพอ ซึ่งสาร Glutathione เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในเซลล์ทุกชนิดของร่างกาย รวมถึงเม็ดเลือดแดง

ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า วิตามินซีและวิตามินอีมีบทบาทในการรักษาภาวะ Glutathione ในเซลล์ต่ำ อันเป็นอีกปัจจัยที่ส่งเสริมการทำลายเซลล์ต่างๆ รวมถึงเซลล์เม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดภาวะโลหิตจางมากขึ้น และเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะเหล็กเกิน

ประโยชน์ที่เห็นได้อย่างชัดเจนจากการให้วิตามินซีและวิตามินอี คือ การเพิ่มขึ้นของระดับวิตามินอีในเลือดและ Glutathione ในเม็ดเลือดแดง ซึ่ง Glutathione ทำหน้าที่สำคัญในการป้องกันเม็ดเลือดแดงแตกจากการทำลายของสารอนุมูลอิสระ ผู้วิจัยเชื่อว่า การขาดวิตามินอีซึ่งทำให้เกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตกง่าย อาจเป็นผลมาจากเม็ดเลือดแดงขาดเอนไซม์ Glutathione ดังนั้น เมื่อแก้ไขภาวะดังกล่าวแล้ว จำนวนเม็ดเลือดแดงที่ถูกทำลายควรจะลดลง ผู้เข้าร่วมโครงการควรจะมีความเสี่ยงต่ำกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่รับประทานวิตามินอีเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม เมื่อศึกษาในระดับ TAS, MDA ทั้งในเม็ดเลือดแดงและน้ำเลือด รวมถึงระดับฮีโมโกลบินในพลาสมา กลับพบว่าระดับ TAS เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย และ MDA ลดลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวคล้ายกับการศึกษาของ Tesoriere ที่พบว่า แม้ให้วิตามินอีติดต่อกันนานถึง 9 เดือน ระดับผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระจะลดลงแต่ไม่กลับเป็นปกติ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากผู้เข้าร่วมโครงการส่วนใหญ่มีภาวะเหล็กเกินรุนแรง ทำให้ภาวะอนุมูลอิสระเกินสูงจน Glutathione ไม่สามารถป้องกันการแตกสลายได้ หรือเม็ดเลือดแดงยังขาดสารต้านอนุมูลอิสระอื่นที่จำเป็นในการป้องกันการถูกทำลาย นอกเหนือจากวิตามินซีและวิตามินอี รวมถึงยังไม่ได้รับการรักษาสาเหตุที่สำคัญ คือ ภาวะเหล็กเกินในร่างกาย การศึกษาถึงสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ ที่มีบทบาทในการป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดงจากสารอนุมูลอิสระนี้เป็นเรื่องน่าสนใจ และมีประโยชน์ในการให้การดูแลรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียสืบไป

เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาของ Jamshidi ที่ให้ผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียรับประทานวิตามินอีเพียงอย่างเดียวมานาน 7 เดือน พบว่าระดับบิลิรูบินไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่จากการศึกษานี้ พบว่าการให้วิตามินซีร่วมกับวิตามินอี สามารถลดระดับบิลิรูบินในเลือดลงได้ที่ 3 เดือน แม้จะไม่มีผลทางสถิติก็ตาม (2.562 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรเป็น 2.168 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยมีค่า $P = 0.086$) เป็นหลักฐานที่แสดงว่าการให้วิตามินซีร่วมกับวิตามินอี มีประโยชน์ในด้านการลดภาวะบิลิรูบินในเลือดสูง ซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานของตับผิดปกติได้ดีกว่าการให้วิตามินอีเพียงอย่างเดียว

เมื่อพิจารณาถึงระดับฮีโมโกลบินทั้งหมดแล้ว จะพบว่า ทั้งรายงานของ Jamshidi, Unchern และการศึกษาอื่น ไม่พบความเปลี่ยนแปลงของระดับฮีโมโกลบินแต่อย่างใด ซึ่งเป็นผลมาจากการแตกของเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยเหล่านี้เป็นผลมาจากความผิดปกติของโกลบินโดยตรง การแตกของเม็ดเลือดแดงจากภาวะอนุมูลอิสระเกินเกิดขึ้นน้อยมาก หรืออาจเป็นผลมาจากร่างกายยังขาดปัจจัยอื่นที่สำคัญในการป้องกันเม็ดเลือดแดงแตกจากภาวะอนุมูลอิสระเกิน ดังจะเห็นได้จากรายงาน

การศึกษาของ ที่พบว่า การให้ผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียรับประทานวิตามินอีเพียงอย่างเดียว สามารถทำให้ค่า osmotic fragility กลับมาเป็นปกติได้ แต่ระดับฮีโมโกลบินยังคงไม่เปลี่ยนแปลง

สำหรับค่าฮีโมโกลบินอิสระในพลาสมา จากสมมุติฐานที่ว่า ภาวะอนุมูลอิสระเกินมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดงที่มี Glutathione จำกัด ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดภาวะแตกสลายในเส้นเลือด (intravascular hemolysis) ยังผลให้มีฮีโมโกลบินอิสระในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อได้รับการแก้ไขภาวะอนุมูลอิสระเกินแล้ว ระดับฮีโมโกลบินอิสระในพลาสมาควรลดลงแต่ผลจากการศึกษาพบว่าระดับฮีโมโกลบินอิสระในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น ความคลาดเคลื่อนนี้อาจมีสาเหตุมาจากภาวะเม็ดเลือดแดงแตกสลายนอกร่างกาย (in vitro hemolysis) จากภาวะต่างๆ ได้แก่ การใช้สายรัดแขน ความแรงในการดูดเลือด การเขย่าเพื่อผสมเลือดเข้ากับสารต้านการแข็งตัวของเลือด (เฮปาริน) ในหลอดเลือด ระยะเวลาก่อนทำการทดสอบนานเกินไปทำให้เม็ดเลือดแดงแตกสลายจากการขาดพลังงาน อุณหภูมิไม่เหมาะสม เป็นต้น เมื่อพิจารณาจากปัจจัยต่างๆ คณะผู้วิจัยจึงพบว่า ค่าฮีโมโกลบินอิสระไม่สามารถเป็นตัวแปรที่ดีในการบอกระดับภาวะการแตกสลายของเม็ดเลือดแดงในเส้นเลือดได้ เนื่องจากมีปัจจัยภายนอกหลายประการที่ส่งผลให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดงเพิ่มมากขึ้น ได้ดังที่กล่าวมา

หลังจากผู้เข้าร่วมโครงการได้รับประทานวิตามินซีและวิตามินอีติดต่อกัน 3 เดือน แม้ว่าผลทางห้องปฏิบัติการทั้งระดับบิลิรูบินในเลือด ค่า TAS และผลิตภัณฑ์จากสารอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้นโดยยังไม่กลับเป็นปกติก็ตาม แต่จากการสัมภาษณ์ผู้ปกครองของผู้เข้าร่วมโครงการ ส่วนใหญ่ยอมรับว่าหลังจากรับประทานวิตามินซีและวิตามินอีแล้ว อาการผิดปกติของผู้เข้าร่วมโครงการ เช่น อาการเหนื่อย การเจ็บป่วยจากไข้หวัดลดลง อย่างไรก็ดี ความเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นเพียงสิ่งที่ผู้ปกครองสังเกตได้ ไม่สามารถชี้วัดได้อย่างชัดเจน ดังนั้น หากมีการศึกษาเรื่องสารต้านอนุมูลอิสระในอนาคต ควรมีการกำหนดตัวแปร และวิธีวิเคราะห์ข้อมูลที่สามารถแสดงถึงความเปลี่ยนแปลงทางคลินิกภายหลังให้การรักษาด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ อันจะเป็นประโยชน์ในการตัดสินใจเลือกที่จะใช้สารต้านอนุมูลอิสระ ร่วมไปกับการรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียตามปกติหรือไม่ต่อไป

การศึกษานี้ ต้องการแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการให้วิตามินซีและวิตามินอีเพื่อเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย อันจะช่วยลดภาวะแทรกซ้อนที่จะเกิดขึ้นจากภาวะสารอนุมูลอิสระเกิน ได้แก่ ภาวะบิลิรูบินสูงในเลือด อย่างไรก็ดีตาม การให้วิตามินซีและวิตามินอี ไม่อาจรักษาภาวะอนุมูลอิสระเกินได้อย่างสมบูรณ์ ผู้ป่วยควรได้รับประทานอาหารที่มีคุณค่า ได้รับสารอาหารครบถ้วน ดูแลสุขภาพ และได้รับยาขับเหล็กอย่างสม่ำเสมอเพื่อแก้ไขภาวะเหล็กเกิน

ท้ายที่สุดแล้ว จนถึงปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาใดที่สามารถบอกถึงระดับของวิตามินซีและวิตามินอีที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียที่มีภาวะอนุมูลอิสระเกินได้ ดังนั้น การพิจารณาให้วิตามินซีและวิตามินอีแก่ผู้ป่วย ควรอยู่ภายใต้การแนะนำและการดูแลจากแพทย์อย่างใกล้ชิด รวมถึงเฝ้าสังเกตภาวะแทรกซ้อนอันอาจเกิดขึ้นจากวิตามินซีในผู้ป่วยที่มีภาวะเหล็กเกิน และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงระดับขนาดวิตามินซีและวิตามินอีที่เหมาะสม ระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ภาวะแทรกซ้อนจากยา รวมถึงการเปลี่ยนแปลงทางคลินิกเพื่อใช้ประกอบการวินิจฉัยและการรักษาต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. ปัญหาที่พบจากการวิจัยนี้ ได้แก่
 - 1.1 การรับประทานยาไม่สม่ำเสมอ ทำให้ค่าตัวแปรมีความแปรปรวนและเกิดความผิดพลาด สาเหตุของการรับประทานยาไม่สม่ำเสมอ เนื่องมาจากผู้ปกครองไม่ได้กำกับดูแลการรับประทานยาของผู้เข้าร่วมโครงการ และยาวิตามินอีมีขนาดใหญ่สำหรับเด็กเล็กบางราย เป็นต้น
 - 1.2 ค่าตัวแปรมีความแปรปรวนมาก อาจเกิดจากภาวะโภชนาการของผู้เข้าร่วมโครงการ อาหารที่รับประทานในแต่ละวัน ความสม่ำเสมอในการรับประทานยา และความผิดพลาดจากการเก็บเลือดตัวอย่าง เป็นต้น
 - 1.3 การส่งเลือดตัวอย่างมีความล่าช้า เนื่องจากเจ้าหน้าที่ไม่สามารถนำเลือดตัวอย่างมาส่งห้องปฏิบัติการได้ภายในเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้ค่าของวิตามินซี และ GSH มีค่าต่ำกว่าที่ควรจะเป็นได้
2. ระยะเวลาในการติดตามผู้เข้าร่วมโครงการสั้น อาจเป็นผลให้ตัวแปรต่างๆ ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนมีนัยสำคัญทางสถิติ การทำวิจัยครั้งต่อไป ควรติดตามผู้เข้าร่วมโครงการประมาณ 6-12 เดือน
3. การวิจัยครั้งนี้ไม่มีกลุ่มควบคุม โดยมีสมมุติฐานว่า ผู้เข้าร่วมโครงการทุกรายก่อนเข้าร่วมโครงการเป็นภาวะปกติของผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย หรือเป็นกลุ่มควบคุมแล้ว และหากมีปัจจัยอื่นที่กระทบต่อตัวแปรได้ เช่น ความเจ็บป่วยรุนแรง การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระอื่น การได้ยาขับเหล็ก เป็นต้น จะคัดผู้เข้าร่วมโครงการนั้นออกไป จึงกล่าวได้ว่าข้อมูลที่ได้มีความน่าเชื่อถือใกล้เคียงกับการทดลองที่มีกลุ่มควบคุม
4. การวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นว่า การให้วิตามินซีร่วมกับวิตามินอีแก่ผู้ป่วยเด็กที่เป็นโรคเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงมีประโยชน์หรือไม่ คณะผู้วิจัยได้ข้อสรุปว่าการให้วิตามินซีและวิตามินอีแก่ผู้ป่วยมีประโยชน์ในด้านการลดระดับอนุมูลอิสระเกิน การเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงการลดภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นที่ตับ และคณะผู้วิจัยมีความเห็นว่า

การศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของระดับวิตามินซีและวิตามินอีที่เหมาะสมในผู้ป่วยทั่วไป หรือ
ในผู้ป่วยแต่ละราย ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเริ่มให้ยาและการหยุดยา ช่วงเวลาและ
จำนวนครั้งที่เหมาะสมในการบริหารยา การเฝ้าระวังและติดตามผลการรักษาและ
ภาวะแทรกซ้อน รวมถึงการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางคลินิกที่สำคัญยังคงเป็นสิ่ง
น่าสนใจและควรทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อเป็นประโยชน์แก่แพทย์ทั่วไปในการตัดสินใจ
ให้การรักษาผู้ป่วยอย่างมีหลักฐาน (Evidence-based medicine)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. Britton RS, Leicester KL, Bacon BR; Iron toxicity and chelation therapy; Int J Hematol 2002 Oct;76(3):219-28.
2. Tavazzi D, Duca L, Graziadei G, Comino A, Fiorelli G, Cappellini MD; Membrane-bound iron contributes to oxidative damage of beta-Thalassaemia intermedia erythrocytes; Br J Haematol 2001 Jan;112(1):48-50.
3. Filosa A, Esposito V, Meoli I, Baron I, Romano L; Evidence of lymphocyte alveolitis by bronchoalveolar lavage in Thalassemic patients with pulmonary dysfunction; Acta Haematol 2000;103(2):90-5.
4. Yedgar S, Hovav T, Barshtein G; Red blood cell intercellular interactions in oxidative stress states; Clin Hemorheol Microcirc 1999;21(3-4):189-93.
5. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini MD; Oxidative status and malondialdehyde in beta-Thalassaemia patients. Eur J Clin Invest 2002 Mar;32 Suppl 1:55-60.
6. Chakraborty D, Bhattacharyya M; Antioxidant defense status of red blood cells of patients with beta-Thalassemia and Ebeta-Thalassemia. Clin Chim Acta 2001 Mar;305(1-2):123-9.
7. Meral A, Tuncel P, Surmen-Gur E, Ozbek R, Ozturk E, Gunay U; Lipid peroxidation and antioxidant status in beta-Thalassemia; Pediatr Hematol Oncol 2000 Dec;17(8):687-93.
8. Chan AC, Chow CK, Chiu D; Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia; Proc Soc Exp Biol Med 1999 Dec;222(3):274-82.
9. James C. Barton, MD; Paul C. Adams, MD; and Lawrie W. Powell, MD, PhD; Hemochromatosis and Vitamin C; Ann Int Med 1999 Sep; 131:476.
10. Tesoriere L, D'Arpa D, Butera D, Allegra M, Renda D, Maggio A, Bongiorno A, Livrea MA; Oral supplements of vitamin E improve measures of oxidative stress in plasma and reduce oxidative damage to LDL and erythrocytes in beta-Thalassemia intermedia patients; Free Radic Res 2001 May;34(5):529-40.

11. Livrea MA, Tesoriere L, Maggio A, D'Arpa D, Pintaudi AM, Pedone E; Oxidative modification of low-density lipoprotein and atherogenetic risk in beta-Thalassemia; Blood 1998 Nov 15;92(10):3936-42.
12. De Luca C, Filosa A, Grandinetti M, Maggio F, Lamba M, Passi S; Blood antioxidant status and urinary levels of catecholamine metabolites in beta-Thalassemia; Free Radic Res 1999 Jun;30(6):453-62.
13. Tesoriere L, D'Arpa D, Maggio A, Giaccone V, Pedone E, Livrea MA; Oxidation resistance of LDL is correlated with vitamin E status in beta-thalassemia intermedia. Atherosclerosis 1998 Apr;137(2):429-35.
14. Bianco L, Boccaccini R, Capalbo P, Morici G, Maestro M, Mandrino M; The role of vitamin E in the therapy of thalassemia; Pediatr Med Chir 1986 Jan-Feb;8(1):23-6.
15. Kassab-Chekir A, Laradi S, Ferchichi S, Haj Khelil A, Feki M, Amri F, Selmi H, Bejaoui M, Miled A; Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia; Clin Chim Acta. 2003 Dec;338(1-2):79-86.
16. Suthutvoravut U, Hathirat P, Sirichakwal P, Sasanakul W, Tassaneeyakul A, Feungpean B; Vitamin E status, glutathione peroxidase activity and the effect of vitamin E supplementation in children with Thalassemia; J Med Assoc Thai 1993 Oct;76 Suppl 2:146-52.
17. Antioxidant vitamins and disease - Risks of a suboptimal supply ; THER. UMSCH. (Switzerland), 1994,467-474.
18. Das N, Chowdhury TD, Chattopadhyay A, Datta AG; Attenuation of oxidative stress-induced changes in thalassemic erythrocytes by vitamin E; Pol J Pharmacol. 2004 Jan-Feb;56(1):85-96.
19. Unchern S, Laoharuangpanya N, Phumala N, Sipankapracha P, Pootrakul P, Fucharoen S, Wanachivanawin W, Chantharaksri U; The effects of vitamin E on platelet activity in beta-thalassaemia patients; Br J Haematol. 2003 Nov;123(4):738-44.
20. Jamshidi HR, Ghaneie M, Tabibian N: The effect of antioxidant (vitamin E) administration on red blood cell fragility in b-Thalassemia major; Irn J Blood Transfus 1997-98; 4(3-4):134-8.

21. Gerster H; High-dose vitamin C: a risk for persons with high iron stores?; Int J Vitam Nutr Res 1999 Mar;69(2):67-82.
22. Hamilton IM, Gilmore WS, Benzie IF, Mulholland CW, Strain JJ.: Interactions between vitamins C and E in human subjects; Br J Nutr 2000 Sep;84(3):261-7.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นพ.ฐิติณัฐ ดิษยบุตร เกิดเมื่อวันที่ 29 ธันวาคม พ.ศ. 2518 สถานที่เกิด กรุงเทพมหานคร จบการศึกษาแพทยศาสตรบัณฑิตจากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2542 เข้าทำงานในตำแหน่งแพทย์ใช้ทุนที่ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อปี พ.ศ. 2542-2545 โดยระหว่างนี้ได้เข้าโครงการเพิ่มพูนทักษะที่โรงพยาบาลศูนย์ราชบุรี จังหวัดราชบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2542-2543 ปัจจุบันลาศึกษาต่อโดยทำงานในตำแหน่งแพทย์ประจำบ้านแผนกกุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่วันที่ พ.ศ. 2545



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วยเพื่อเข้าโครงการศึกษา
การศึกษาระดับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยเด็กธาลัสซีเมียที่ได้รับการรักษาด้วย
วิตามินซีและวิตามินอี

ข้อมูลพื้นฐาน

วันเกิด ____ / ____ / ____ จำนวนพี่น้อง (นับรวมตัวเอง) ____ คน

- อยู่อาศัยกับ
- | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| <input type="radio"/> บิดา | <input type="radio"/> มารดา |
| <input type="radio"/> บิดาและมารดา | <input type="radio"/> ผู้ปกครองอื่น |
- ภูมิลำเนาเดิม
- | | |
|---|-----------------------------------|
| <input type="radio"/> กรุงเทพมหานคร | <input type="radio"/> ภาคกลาง |
| <input type="radio"/> ภาคเหนือ | <input type="radio"/> ภาคใต้ |
| <input type="radio"/> ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ | <input type="radio"/> ภาคตะวันออก |

ข้อมูลด้านสุขภาพ

- โรคประจำตัวอื่น
- ไม่ปรากฏโรคอื่น
 - โรคระบบทางเดินหายใจ
 - โรคระบบทางเดินอาหาร
 - โรคระบบหลอดเลือดและหัวใจ
 - โรคระบบทางเดินปัสสาวะ
 - โรคระบบประสาทและสมอง
 - โรคระบบต่อมไร้ท่อ
 - โรคตับ เช่น ตับอักเสบจากไวรัส
 - โรคที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน เช่น AIDS
 - โรคติดเชื้อชนิดอื่น
 - ภาวะขาดสารอาหาร

กรุณาระบุชื่อโรคและระยะเวลาที่เป็น

ระยะเวลาที่ได้รับการรักษา ____ ปี ____ เดือน (นับถึงวันที่เข้าร่วมโครงการ)

อาการที่นำผู้ป่วยมาโรงพยาบาลครั้งแรก

- ภาวะโลหิตจาง (ซีด เวียนศีรษะ เป็นลม)
- คีซ่าน (ตัวเหลือง ตาเหลือง)
- ก้อนในท้อง (ตับโต ม้ามโต)

- ได้รับการวินิจฉัยที่
- ไข้
 - ต้องการตรวจหา (มีประวัติในครอบครัว)
 - ตรวจพบโดยบังเอิญ
 - อาการอื่น โปรดระบุ _____
 - โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
 - โรงพยาบาลรัฐแห่งอื่น
 - โรงพยาบาลเอกชน คลินิก

- ชนิดของธาลัสซีเมีย
- Homozygous b^0 -Thal
 - Heterozygous b^0/b^+ Thal
 - b-Thal/HbE
 - b-Thal/HbCS

จำนวนพี่น้องที่ป่วยด้วยโรคธาลัสซีเมีย _____ คน

จำนวนครั้งที่พบแพทย์ในปีที่ผ่านมา (นับย้อนหลังไป 1 ปี) _____ ครั้ง

จำนวนครั้งที่ได้รับเลือด (นับตั้งแต่เริ่มรักษา) _____ ครั้ง

จำนวนครั้งที่เข้ารับการรักษาใน รพ. (นับตั้งแต่เริ่มรักษา) _____ ครั้ง

จำนวนครั้งที่ได้รับยาขับเหล็กใน 3 ปี (นับย้อนหลังไป 3 ปี) _____ ครั้ง

ได้ทำการผ่าตัดม้ามหรือไม่ ทำ เมื่อ _____ ปี ไม่ได้ทำ

ยาที่รับประทานเป็นประจำ วิตามินซีหรืออี folate

ยาด้านจุลชีพ ยาแก้ปวด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษา

	ครั้งแรก	1 เดือน	3 เดือน
Oxidative products			
1. plasma malondialdehyde (P-MDA)			
2. erythrocytic malondialdehyde (R-MDA)			
3. Plasma hemoglobin (P-Hb)			
Antioxidants			
4. Total antioxidant status (TAS)			
5. Erythrocyte glutathione (GSH)			
6. Vitamin C (Vit C)			
7. Vitamin E (Vit E)			
Hemoglobin			

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย