

ภาวะพร่องไนตริกออกไซด์สัมพันธ์กับความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคโลหิตจาง
ปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี



นางสาวสุตารัตน์ สถิตธรรมนิศย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Depleted Nitric Oxide Levels are Correlated with Endothelial Dysfunction in β -
thalassemia/Hb E Patients

Miss Sudarat Satitthummanid



A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2016
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ภาวะพร่องไนตริกออกไซด์สัมพันธ์กับความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคโลหิตจางปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี
โดย	นางสาวสุตารัตน์ สติธรรมนิตย์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุพจน์ ศรีมหาโชดะ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สมนพร บุญยรัตเวช สองเมือง ศาสตราจารย์ ปิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาคุณวุฒิบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ ชุขณา สนวนกระต่าย)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุพจน์ ศรีมหาโชดะ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สมนพร บุญยรัตเวช สองเมือง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ศาสตราจารย์ ปิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์)

..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ พลภัทร โรจน์นครินทร์)

..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ กัมมันต์ พันธุมจินดา)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ฉลาด โสมะบุตร)

สุภารัตน์ สถิติธรรมนิศย์ : ภาวะพร่องไนตริกออกไซด์สัมพันธ์กับความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคโลหิตจางปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี (Depleted Nitric Oxide Levels are Correlated with Endothelial Dysfunction in β -thalassemia/Hb E Patients) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. นพ. สุพจน์ ศรีมหาโชคตะ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. พญ. สมนพร บุญยะรัตเวช สองเมือง, ศ. ปิยะรัตน์ ไตรสุโขวงศ์, 88 หน้า.

ที่มา: ผู้ป่วยปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี มีระดับความรุนแรงของโรคปานกลาง เกิดภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดได้หลายอย่าง โดยเกิดจากกลไกตั้งแต่การสร้างเม็ดเลือดแดงผิดปกติ ภาวะเม็ดเลือดแดงแตกเรื้อรัง และภาวะเหล็กเกินในร่างกาย โดยระยะแรกอาจเกิดจากความผิดปกติของหลอดเลือด ปัญหาความผิดปกติของหลอดเลือดเป็นปัญหาสำคัญในผู้ป่วยกลุ่มนี้ โดยมีการศึกษาพบว่าเกี่ยวข้องกับไนตริกออกไซด์ที่ลดลง ซึ่งยังไม่มีการศึกษาที่แน่ชัดเกี่ยวกับสาเหตุการเกิดโรคที่แท้จริง

วิธีการศึกษา: กลุ่มผู้ป่วยปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี จำนวน 43 ราย และกลุ่มควบคุมที่เป็นอาสาสมัครปกติ 43 ราย ที่อายุและเพศตรงกัน ส่งตรวจเลือดหาระดับไนตริกออกไซด์ prostaglandin E2 และ soluble thrombomodulin ในพลาสมา และในวันเดียวกันผู้ป่วยได้รับการตรวจหาภาวะหลอดเลือดแดงผิดปกติด้วยวิธี flow-mediated dilatation (FMD) ที่ตำแหน่ง brachial artery และตรวจการทำงานของหัวใจด้วยเครื่องตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจ

ผลการศึกษา: กลุ่มผู้ป่วยปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี มีอายุเฉลี่ย 34.6+/-9.7 ปี และกลุ่มควบคุมมีอายุเฉลี่ย 36.7+/-8.6 ปี เพศชาย 22 คน เพศหญิง 21 คน ค่าเฉลี่ยของขนาดหลอดเลือดของกลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีขนาดเล็กกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (32.3+/-5.1 มม. กับ 37.1+/-5.8 มม. $p<0.01$) และมีความผิดปกติของหลอดเลือดจริง ที่ค่า FMD เทียบกับกลุ่มควบคุมเป็น ร้อยละ 5.0+/-5.9 กับ 9.0+/-4.0, $p<0.01$ แต่ไม่แตกต่างกันเมื่อมีการให้ยา nitroglycerine ที่ร้อยละ 18.4+/-8.3 กับ 17.8+/-6.3, $p=0.71$ ระดับไนตริกออกไซด์ และระดับ prostaglandin E2 ในพลาสมาของผู้ป่วยปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีน้อยกว่า แต่ระดับ soluble thrombomodulin มากกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า 117.2+/-27.3 กับ 135.8+/-11.3 $\mu\text{mol/L}$, $p<0.001$ และ 701.9+/-676.0 กับ 1374.7+/-716.5 pg/ml , $p<0.001$ และ 3587.7+/-1310.9 กับ 3093.9+/-583.8 pg/ml , $p=0.028$ ตามลำดับ พบความสัมพันธ์กันระหว่างภาวะผนังหลอดเลือดแดงผิดปกติกับภาวะพร่องไนตริกออกไซด์และ prostaglandin E2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่า $r = 0.28$, $p=0.017$ และ $r=0.38$, $p=0.001$ ตามลำดับ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างภาวะหลอดเลือดแดงผิดปกติกับระดับ soluble thrombomodulin

สรุปผลการศึกษา: ในผู้ป่วยปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี พบว่ามีความสัมพันธ์ของภาวะผนังหลอดเลือดผิดปกติกับการพร่องไนตริกออกไซด์ และ prostaglandin E2 จริง โดยเป็นการศึกษาแรกที่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในผู้ป่วยกลุ่มนี้โดยตรง ซึ่งต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาว่าการพร่องไนตริกออกไซด์ และ prostaglandin E2 เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะนี้ต่อไป

ภาควิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อ นิสิต

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5375365130 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: BETA-THALASSEMIA HEMOGLOBIN E / ENDOTHELIAL DYSFUNCTION / NITRIC OXIDE / PROSTAGLANDIN E2 / THROMBOMODULIN

SUDARAT SATITTHUMANID: Depleted Nitric Oxide Levels are Correlated with Endothelial Dysfunction in β -thalassemia/Hb E Patients. ADVISOR: ASSOC. PROF. SUPHOT SRIMAHACHOTA, M.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF. SAMONPORN BOONYARATAVEJ SONGMUANG, M.D., PROF. PIYARATANA TOSUKHOWONG, 88 pp.

Background: β -thalassemia/Hb E patients suffer from many systemic complications due to ineffective erythrocytosis, chronic hemolysis and iron overload. Vascular complications are essential, and previous studies proposed that impaired nitric oxide bioavailability is one of mechanisms. The alteration of nitric oxide may contribute to endothelial dysfunction. There are limited studies to determine an association between nitric oxide depletion and endothelial dysfunction in this particular population.

Methods: Forty three β -thalassemia/HbE patients without clinically documented vascular symptoms from hematology clinic and 43 age-sex matched healthy controls were enrolled. The endothelial function was measured using the flow-mediated dilatation (FMD) test of the brachial artery before and after nitroglycerine (NTG) administration which were defined as endothelium-dependent and -independent, respectively. Plasma nitric oxide metabolites (nitrite/nitrate; NOx), prostaglandin E2 (PGE2) and soluble thrombomodulin (sTM) levels were measured.

Results: The mean age of thalassemia and control group were 34.6+/-9.7 and 36.7+/-8.6 years old, respectively. Males and females were equal. The mean of baseline diameters of brachial artery in thalassemia was smaller than the control group (32.3+/-5.1 mm. vs. 37.1+/-5.8 mm, p<0.01). The mean of percent changes in diameter of FMD test before NTG administration in thalassemia group was significantly less than control subjects (5.0+/-5.9% vs. 9.0+/-4.0%, p <0.01) but no significant changes between both groups after NTG administration (18.4+/-8.3% vs. 17.8+/-6.3%, p=0.71). NOx and PGE2 levels were significantly decreased in thalassemia patients compared to healthy controls (117.2+/-27.3 vs. 135.8+/-11.3 μ mol/L, p<0.01) and (701.9+/-676.0 vs. 1,374.7+/-716.5 pg/ml, p<0.01), respectively, while a significant elevation in sTM levels (3,587.7+/-1,310.0 vs. 3,093.9 +/-583.8 pg/ml, p =0.028) in thalassemia group. NOx and PGE2 levels were significantly correlated with endothelial dysfunction (r =0.28, p=0.038) and (r=0.38, p=0.001), respectively, whereas no significant correlation between sTM and endothelial dysfunction was observed.

Conclusion: This is the first study that has demonstrated the association of endothelial dysfunction and nitric oxide as well as PGE2 depletion in patients with β -thalassemia/HbE without vascular symptoms. Further studies to define the mechanisms of nitric oxide and PGE2 depletion-related endothelial dysfunction are warranted.

Department: Medicine

Field of Study: Medicine

Academic Year: 2016

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องซึ่งสนับสนุนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงอย่างเรียบร้อยสมบูรณ์

1. ผศ.พญ.ปราณี สุจริตจันทร์ อาจารย์ผู้ให้คำแนะนำและสนับสนุน
2. รศ.นพ.นภชาญ เอื้อประเสริฐ อาจารย์ผู้ให้คำปรึกษาและสนับสนุน
3. อ.นพ.ยงเกษม วรเศรษฐการกิจ อาจารย์ผู้สนับสนุนให้งานวิจัยได้เริ่มขึ้น
4. นางเอมอร ภูริพันธ์ พยาบาล ผู้ช่วยวิจัย
5. นางทิพย์ประทุมวัลย์ นูห์ต เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ ผู้ช่วยวิจัย
6. นางธันยนันท์ โชคดีไชยบูรณ์ ผู้ช่วยพยาบาล ผู้ช่วยวิจัย
7. นส.วิภา ลอยเลื่อน ผู้ช่วยพยาบาล ผู้ช่วยวิจัย
8. แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคหัวใจและหลอดเลือด ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9. หน่วยย่อย Non-invasive สาขาวิชาอายุรศาสตร์โรคหัวใจและหลอดเลือด ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
10. เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
11. ทีมเทคโนโลยีสารสนเทศ (IT) ศูนย์โรคหัวใจ รพ.จุฬาลงกรณ์
และครอบครัวที่เป็นที่รัก ที่คอยสนับสนุนส่งเสริมอยู่เคียงข้างและเข้าใจเสมอ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูป	ฅ
สารบัญตาราง.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย	4
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.4 สมมติฐาน	4
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	5
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	6
1.7 คำสำคัญ.....	6
1.8 คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย	7
1.9 ขั้นตอนดำเนินการวิจัยโดยย่อ	7
1.10 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม.....	8
1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	9
1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	10
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	28
3.1 รูปแบบการวิจัย	28

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	28
3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	29
3.4 การสังเกตและการวัด.....	33
3.5 การรวบรวมข้อมูล	50
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล	50
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	51
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	64
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	64
5.2 อภิปรายผล	64
5.3 ข้อเสนอแนะ	71
รายการอ้างอิง	73
ภาคผนวก.....	83
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	88

สารบัญรูป

รูปที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดการวิจัย	5
รูปที่ 2 แสดงพยาธิกำเนิดของภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย.....	13
รูปที่ 3 แสดงพยาธิสภาพของภาวะ chronic hemolysis ทำให้ nitric oxide bioavailability ลดลง ส่งผลให้เกิดภาวะ endothelial dysfunction และกระตุ้นให้เกิดการอักเสบของร่างกาย	20
รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการดำเนินการตรวจในโครงการวิจัย.....	37
รูปที่ 5 ตัวอย่างแสดงการวัดขนาดหลอดเลือดขณะ baseline และ 1 นาทีหลังการตรวจ endothelium-dependent flow-mediated dilatation	41
รูปที่ 6 ตัวอย่างการ dilute สาร nitrite ที่ทราบปริมาณแน่นอน สำหรับการเตรียม standard curve.....	46
รูปที่ 7 ตัวอย่าง standard curve ของ nitrite levels ที่ใช้สำหรับเปรียบเทียบค่าการตรวจ	46
รูปที่ 8 ตัวอย่างการ dilute สาร prostaglandin E2 ที่ทราบปริมาณแน่นอน สำหรับการเตรียม standard curve	47
รูปที่ 9 ตัวอย่าง standard curve ของ prostaglandin E2 levels ที่ใช้สำหรับเปรียบเทียบค่าการตรวจ.....	48
รูปที่ 10 ตัวอย่างการ dilute สาร thrombomodulin ที่ทราบปริมาณแน่นอน สำหรับการเตรียม standard curve.....	49
รูปที่ 11 ตัวอย่าง standard curve ของ thrombomodulin levels ที่ใช้สำหรับเปรียบเทียบค่าการตรวจ.....	49
รูปที่ 12 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบค่า flow-mediated dilatation ระหว่างกลุ่มธาลัสซีเมีย และกลุ่มควบคุม.....	55
รูปที่ 13 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบระดับ nitric oxide metabolites ในกลุ่มธาลัสซีเมีย และกลุ่มควบคุม.....	56
รูปที่ 14 แสดงการกระจายของข้อมูล nitric oxide metabolites ในกลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมีย.....	57
รูปที่ 15 แสดงการกระจายของข้อมูล nitric oxide metabolites ในกลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมีย.....	57

รูปที่ 16	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ FMD1 และระดับของ nitric oxide ในพลาสมา..	58
รูปที่ 17	แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบระดับ prostaglandin E2 ระหว่างกลุ่มชาลส์ซีเมียและกลุ่มควบคุม.....	59
รูปที่ 18	แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบระดับ soluble thrombomodulin ระหว่างกลุ่มชาลส์ซีเมียและกลุ่มควบคุม	59
รูปที่ 19	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ prostaglandin E2 ในพลาสมา และค่าของ FMD1	60
รูปที่ 20	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ soluble thrombomodulin ในพลาสมา และค่าของ FMD1	60
รูปที่ 21	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Nitric oxide metabolites ในพลาสมา และค่าของ Tricuspid regurgitation pressure gradient (TRPG).....	61
รูปที่ 22	กลไกการเกิดภาวะผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติในผู้ป่วยชาลส์ซีเมีย	71

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงถึงคุณสมบัติของวิธีประเมิน endothelial function ทางคลินิก ที่มีในปัจจุบัน....	23
ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาความผิดปกติของหลอดเลือด ด้วยวิธีต่างๆกัน รวมถึงการตรวจหา biomarkers ที่สำคัญแต่ละชนิด ที่บ่งชี้ถึงความผิดปกติในการทำงานของ endothelium	26
ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐานของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม	52
ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ echocardiography ของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม.....	53
ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ flow-mediated dilatation ของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม	55
ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ endothelial markers ในกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม.....	56
ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ตัดม้ามและตัดม้าม	61
ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ตัดม้ามและตัดม้าม	62
ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ flow-mediated dilatation ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ตัดม้ามและไม่ตัดม้าม	63
ตารางที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ endothelial markers ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ตัดม้ามและไม่ตัดม้าม	63

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

โรคธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรมที่พบบ่อยที่สุดในประเทศไทย และชนิดที่พบบ่อยที่สุดคือโรคโรคปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี (β -thalassemia/HbE) เป็นชนิดที่มีการแสดงออกของความรุนแรงของโรคที่หลากหลาย ส่วนใหญ่เป็นความรุนแรงระดับปานกลาง (thalassemia intermedia) ซึ่งจะเริ่มแสดงอาการผิดปกติหลังอายุ 2 ปี ส่วนใหญ่แสดงอาการที่อายุประมาณ 10 ปี มักจะเสียชีวิตที่อายุประมาณ 20-40 ปี ด้วยภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในกระแสเลือด (1) อาการที่ผิดปกตินอกจากภาวะโลหิตจาง ได้แก่ ม้ามโต ไครงกระดูกผิดปกติ โดยที่อาจยังไม่มีอาการจำเป็นต้องได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอตั้งแต่เด็ก แต่จำเป็นต้องได้รับเลือดในกรณีที่มีภาวะเป็นไข้ ติดเชื้อ ปวดกระดูก ต่อมาเมื่อโตขึ้นอาจต้องได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่จะตามมาจากตัวโรคปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีเอง

โรคนี้เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญปัญหาหนึ่งของประเทศไทย นอกจากผู้ป่วยจะเกิดความทุกข์ทรมานจากตัวโรคและภาวะแทรกซ้อนแล้ว ยังมีค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้ในการดูแลรักษาสูงมาก ทั้งค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาโรค และการที่ผู้ป่วยและญาติต้องหยุดงาน สูญเสียเวลา เพื่อเดินทางเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาล (2) ปัจจุบันการรักษาโรคอย่างเหมาะสม คือการให้เลือดแก่ผู้ป่วยอย่างเพียงพอ และให้ยาขับเหล็กออกจากร่างกายอย่างสมดุล เพื่อที่จะป้องกันภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้ทั้งจากโรคของผู้ป่วยเองและการรักษาที่ได้รับ ช่วยให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น ภาวะของประเทศไม่มากขึ้น อย่างไรก็ตามการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ยังเต็มตามที่ตามมาตรฐานที่มีอยู่ในปัจจุบัน ผู้ป่วยยังต้องเผชิญกับภาวะแทรกซ้อนของโรค ซึ่งหลีกเลี่ยงไม่ได้ในระยะท้ายของการดำเนินโรคเมื่ออายุมากขึ้น

โรคธาลัสซีเมีย เป็นโรคของความผิดปกติของการสร้างสายโปรตีนฮีโมโกลบิน พยาธิสภาพการเกิดโรค เกิดจากมีการสร้างเม็ดเลือดแดงผิดปกติตั้งแต่ไขกระดูก (ineffective erythropoiesis) มีภาวะโลหิตจาง มีภาวะเม็ดเลือดแดงอายุสั้นแตกง่ายเรื้อรัง (chronic hemolysis) และธาตุเหล็กเกินในร่างกาย (iron overload) ทั้งจากภาวะเม็ดเลือดแดงแตกเอง การได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอเพื่อรักษาภาวะโลหิตจาง ซึ่งเหล็กที่เกินจะไปสะสมตามอวัยวะต่างๆของร่างกาย ได้แก่ ตับ ตับอ่อน ต่อมไทรอยด์ หัวใจ เป็นต้น นำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนสำคัญ ได้แก่ ภาวะหัวใจล้มเหลว (cardiac failure) จากกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้ายหนาและทำงานบีบตัวลดลง นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติอื่นๆ เช่น

ความดันหลอดเลือดปอดสูง (pulmonary hypertension) ในกรณีที่เป็นรุนแรงจะทำให้หัวใจห้องล่างขวาบีบตัวลดลงและหัวใจฝั่งขวาวาย (right ventricular dysfunction and failure) และยังพบภาวะหลอดเลือดแข็ง หลอดเลือดสมองตีบ (3, 4) เป็นต้น

ภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือดเป็นปัญหาที่สำคัญของโรคธาลัสซีเมียมีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มธาลัสซีเมียที่ความรุนแรงเป็นชนิดรุนแรง (thalassemia major) และ กลุ่มความรุนแรงปานกลาง (thalassemia intermedia) โดยในกลุ่ม thalassemia major จะพบภาวะหัวใจฝั่งซ้ายวายจาก cardiac hemochromatosis ในขณะที่ผู้ป่วยกลุ่ม thalassemia intermedia เช่น β -thalassemia/HbE จะพบภาวะหลอดเลือดแดงปอดสูง หากเป็นรุนแรงจะทำให้เกิดหัวใจข้างขวาล้มเหลว มีการพบหลักฐานของการเกิดสมองขาดเลือดจากภาพรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าของสมอง (MRI) โดยที่ผู้ป่วยไม่ได้มีอาการของสมองขาดเลือดชัดเจน (3, 4) นอกจากนี้ยังพบภาวะหลอดเลือดดำอุดตัน เช่น หลอดเลือดดำชั้นลึกที่ขาอุดตัน (deep vein thrombosis) ภาวะลิ่มเลือดอุดตันหลอดเลือดแดงปอด (pulmonary embolism) และภาวะแผลเรื้อรังที่ขา (chronic leg ulcer) โดยน่าจะเกิดมาจากหลายกลไกร่วมกัน แต่ยังไม่มีการศึกษาที่ทราบแน่ชัดทั้งหมดในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามมีข้อมูลหลักฐานมากขึ้นเกี่ยวกับกลไกอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือด ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ได้แก่ ภาวะพร่อง nitric oxide (NO) เป็นผลจากการที่มีเม็ดเลือดแดงแตกง่ายกว่าปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (5, 6)

NO สร้างโดยเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelium) มีบทบาทสำคัญหลายประการช่วยในการรักษาสมดุลของหลอดเลือด ได้แก่ ควบคุมการขยายและหดตัวของหลอดเลือด ควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์บุผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อผนังหลอดเลือด ป้องกันเลือดแข็งตัว ป้องกันการอักเสบอันตรายต่อหลอดเลือด ดังนั้นภาวะที่ร่างกายขาด NO จะส่งผลให้เกิดภาวะที่ทำให้ผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติ หรือ endothelial dysfunction ซึ่งอาจเป็นกลไกเริ่มต้นที่สำคัญของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ในการทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของระบบหัวใจและหลอดเลือดในกลุ่มที่เป็น thalassemia intermedia นี้ (6) มีการศึกษาที่แสดงว่าภาวะ endothelial dysfunction สามารถใช้พยากรณ์การเกิดโรคหัวใจได้ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ และหรือภาวะหัวใจวาย (7, 8)

ผนังหลอดเลือด ประกอบด้วย endothelial cell เรียงตัวต่อกันอยู่ผนังชั้นในสุดของหลอดเลือดเป็นแถวเดียว ทำให้หลอดเลือดหดหรือขยายตัวอย่างเหมาะสม การทำงานขึ้นกับสถานะของร่างกายในขณะนั้น โดยผ่านกลไกที่หลากหลาย มีสารที่คอยควบคุมการทำงานอยู่มากมายหลายชนิด แต่สารที่ทำงานหลักคือ NO และเมื่อกลไกที่สำคัญหลักที่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย เบต้าอี คือภาวะเม็ดเลือดแดงแตกง่ายเรื้อรัง ทำให้มีฮีโมโกลบิน หลุดออกมาจากเซลล์เม็ดเลือดแดงในปริมาณที่มากกว่าที่ร่างกายจะกำจัดได้หมดโดยกลไกของร่างกายตามปกติฮีโมโกลบิน ที่เหลือค้างอยู่จะไปทำลาย NO ทำให้กลายเป็นสาร nitrite และ nitrate ที่ไม่ทำปฏิกิริยาใดๆ และทำให้ nitric

oxide synthase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำหรับใช้สร้าง NO ลดลง ประกอบกับภาวะ iron overload จะมีผลเป็นอันตรายโดยตรงต่อ endothelium คือทำให้การทำงานของ endothelium ผิดปกติไป เกิดภาวะ endothelial dysfunction (4)

มีการศึกษาพบหลักฐานการเกิด endothelial dysfunction จากกาทดสอบในสภาวะต่างๆ ที่ทำให้เกิดการหดและขยายตัวของหลอดเลือดแดง mesenteric ในหนูทดลองที่เป็นโรคธาลัสซีเมีย (9) และในผู้ป่วยเด็กที่เป็นโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ oxidative stress (10) และพบว่ามีการศึกษาการตรวจการทำงานของผนังหลอดเลือด โดยวิธีที่เรียกว่า flow-mediated dilatation (FMD) ส่วนที่ศึกษาการทำงานเกี่ยวกับ endothelium-dependent ในเด็กไทยที่เป็นโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี พบหลักฐานว่ามีภาวะผนังหลอดเลือดผิดปกติ โดยมีความสัมพันธ์กับอายุ ความซืด และเหล็กเกินในร่างกาย (11) ยังไม่มีการศึกษาใดที่ทำการตรวจหาภาวะการทำงานของผนังหลอดเลือดผิดปกติ ด้วยเทคนิค FMD ทั้งสองส่วนคือ ส่วนที่เป็น endothelium-dependent และ endothelium-independent และยังไม่เคยมีการศึกษาทดลองหาความสัมพันธ์โดยตรงของภาวะพร่อง NO กับภาวะผนังหลอดเลือดผิดปกติ ซึ่งถ้าพบหลักฐานว่ามีความสัมพันธ์กันจริง จะสามารถทำให้เกิดความรู้และความเข้าใจในตัวโรคมากขึ้น เป็นข้อมูลเพื่อนำไปสู่การพัฒนาการป้องกันและรักษาภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยกลุ่มนี้ต่อไป

Prostaglandin E2 (PGE2) เป็น prostaglandin ที่สร้างจากเซลล์เกือบทุกชนิดในร่างกายรวมทั้ง endothelial cell และเป็น prostaglandin ที่มีปริมาณมากที่สุดในร่างกาย (12) แต่กลไกการทำให้เกิด endothelial dysfunction นั้นยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมอยู่ โดย PGE2 ทำให้เกิด vasodilatation เกิด smooth muscle relaxation (13) มีบทบาทควบคุมกระบวนการอักเสบของร่างกาย ถูกกระตุ้นโดยภาวะ hypoxia, shear stress และกระบวนการอักเสบ ยาบางกลุ่มเช่น nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) สามารถลดระดับ PGE2 ในเลือดได้

นอกจาก endothelium จะทำงานเกี่ยวกับการหดขยายตัวของหลอดเลือด ยังมีหน้าที่ป้องกันการเกิดลิ่มเลือด (14) ซึ่งในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจหา thrombomodulin (TM) เป็นโปรตีนบนผิวเซลล์ที่จับกับ thrombin ซึ่งมีหน้าที่สำคัญคือ ช่วย thrombin เปลี่ยน protein C เป็น activated protein C (APC) โดย APC มีคุณสมบัติเป็นสารกันเลือดแข็งตัวตามธรรมชาติ โดยไปยับยั้งปัจจัยต้านการแข็งตัวของเลือด (factor V, VIII) และมีฤทธิ์ในการป้องกันกันอันตรายต่อหลอดเลือด การเพิ่มขึ้นของ soluble thrombomodulin (sTM) ในพลาสมา อาจชี้บ่งถึงพยาธิสภาพหรืออันตรายที่เกิดขึ้นกับผนังหลอดเลือด (15)

1.2 คำถามของการวิจัย

- คำถามหลัก (primary research question)

ระดับของ nitric oxide metabolites ในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี น้อยกว่าคนปกติในกลุ่มควบคุมที่อายุและเพศใกล้เคียงกันหรือไม่

- คำถามรอง (secondary research questions)

1. ระดับของ PGE2 ในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี น้อยกว่าคนปกติ และ TM สูงกว่าคนปกติ ในกลุ่มควบคุมที่อายุและเพศใกล้เคียงกันหรือไม่

2. ระดับของ nitric oxide metabolites, PGE2 และ TM ในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี มีความสัมพันธ์กับภาวะ endothelial dysfunction หรือไม่

3. ปัจจัยทางคลินิกใดบ้างที่มีความสัมพันธ์กับการเกิด endothelial dysfunction ในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี อาทิเช่น ความถี่ในการให้เลือด ปริมาณเลือดที่เคยได้รับ ประวัติการตัดม้าม อายุของผู้ป่วย ระดับฮีโมโกลบิน, nucleated RBC count, ferritin, left ventricular mass index, left ventricular systolic/diastolic function, right ventricular function, pulmonary artery pressure เป็นต้น

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1 เพื่อศึกษาว่ามีภาวะพร่อง NO กับ PGE2 และมีระดับ TM สูงขึ้นในพลาสมา ในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี

1.3.2 เพื่อศึกษาถึงความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี

1.3.3 เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ NO, PGE2 และ TM ในพลาสมา กับความผิดปกติของผนังหลอดเลือด ในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี

1.3.4 เพื่อศึกษาว่ามีปัจจัยตัวแปรทางคลินิกและความผิดปกติของการทำงานของหัวใจใดบ้างที่มีความสัมพันธ์กับ endothelial dysfunction ในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี อาจจะพบความรู้ใหม่เพื่อนำไปทำการศึกษาต่อและหาแนวทางในการรักษาโรคต่อไปในอนาคต

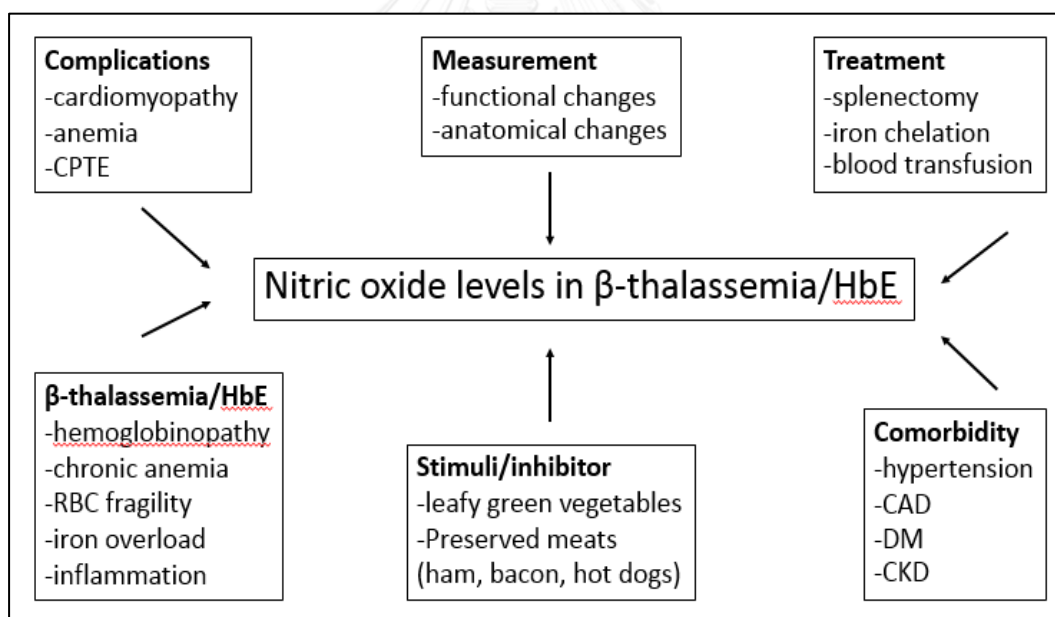
1.4 สมมติฐาน

H_0 = ระดับ nitric oxide ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย เท่ากับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

H_a = ระดับ nitric oxide ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

โรคธาลัสซีเมีย มีภาวะเม็ดเลือดแดงแตกง่ายเรื้อรัง ซึ่งจะทำให้โปรตีนฮีโมโกลบิน ที่ปกติจะอยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดง หลุดออกมาในพลาสมา เกิดเป็นโมโนโกลบินอิสระ ปริมาณมากเกินกว่าที่กลไกร่างกายปกติจะกำจัดได้ และยังทำให้มีภาวะเหล็กเกินในร่างกายเช่นกัน เหล็กที่เหลืออกจากที่จับกับโปรตีน จะเกิดเป็น non-transferrin bound iron สารเหล่านี้กระตุ้นกระบวนการอักเสบในร่างกาย ทำให้เกิด reactive oxygen specie เพิ่มขึ้นด้วย ส่งผลให้มีการทำลาย NO โดยฮีโมโกลบินอิสระ และการที่มีภาวะการอักเสบนี้ จะไปทำให้ NO สลายตัวไปเป็น nitrite และ nitrate อีกทั้งยังทำให้การสร้าง NO จากผนังหลอดเลือดลดลง ยิ่งส่งเสริมให้ระดับ NO ในพลาสมาลดลง กลไกทั้งหมดไปกระตุ้น endothelium ทำให้เกิดภาวะ endothelial dysfunction ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด cardiovascular disease ในอนาคตได้ และการทำงานของ endothelium อาศัยโมเลกุลหลายอย่าง ที่สำคัญได้แก่ NO, PGE2 และ TM



รูปที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดการวิจัย

ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจ FMD ที่ทำให้ตอบสนองลดลง ได้แก่ การสูบบุหรี่ อาหารที่มีไขมันสูง กาแฟ การออกกำลังกาย สำหรับการตรวจ NO สิ่งที่มีผลต่อการตรวจ ได้แก่ อาหารเนื้อแดง หรือผักใบเขียว ความรุนแรงของโรคธาลัสซีเมีย การรักษาที่ได้รับ ยาขับเหล็กหรือการตัดม้าม ปริมาณ

เลือดที่ได้รับ โรคร่วมต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคไต นอกจากนี้ภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นและเกี่ยวข้องได้แก่ โรคหัวใจวาย โรคหลอดเลือดดำอุดตัน เป็นต้น สำหรับปัจจัยที่มีผลทำให้การวัดระดับ PGE2 ลดลงได้แก่ ยาดับการอักเสบเช่น สเตียรอยด์ NSAIDs หรือ aspirin

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

1.6.1 ผู้ทำการตรวจ FMD คือ แพทย์ผู้วิจัยหลัก

1.6.2 ผู้ทำการตรวจ NO, PGE2 และ TM assay test คือ เจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์

1.6.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการสำหรับ NO, PGE2 และ TM ใช้ commercial kit test ของบริษัท R&D systems, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

1.6.4 ผู้ทำการตรวจ echocardiogram คือ แพทย์ผู้วิจัยหลัก sonographer และแพทย์ประจำบ้านต่ออายุรศาสตร์หัวใจและหลอดเลือด

1.6.5 ผลเลือดอื่นๆที่ใช้ในการศึกษา นำมาจากฐานข้อมูลของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หรือในแฟ้มประวัติผู้ป่วย เป็นค่าเฉลี่ยภายใน 1 ปี ที่ได้รับการตรวจก่อนเข้าร่วมโครงการ

1.6.6 การเก็บเลือด ทำการปั่นแยกพลาสมาภายใน 30 นาทีหลังเจาะเลือด และเก็บในตู้เย็นทันทีที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

1.6.7 ขั้นตอนการเจาะเลือด การตรวจ FMD และ echocardiogram ให้เสร็จเรียบร้อยภายในวันเดียวกัน

1.6.8 เก็บตัวอย่างเลือดของผู้เข้าร่วมโครงการจนครบจำนวนแล้วจึงทำการตรวจวิเคราะห์ในคราวเดียวกัน

1.7 คำสำคัญ

โรคปีตาราลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี (β -thalassemia/HbE)

ภาวะผนังหลอดเลือดผิดปกติ (endothelial dysfunction)

ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide)

พรอสตาแกลนดินอีทู (prostaglandin E2)

ธอมโบโมดูลิน (thrombomodulin)

1.8 คำนินยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

1.8.1 โรคปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี ต้องได้รับการตรวจ hemoglobin typing ก่อนการให้เลือด โดยจะพบ HbE 50-70% และ HbF 30-50% โดยไม่มี HbA หรือมีผล molecular test ยืนยันว่าเป็น β -thalassemia/HbE จริง

1.8.2 ภาวะเหล็กเกินในร่างกาย คือ ภาวะที่มีค่า ferritin มากกว่า 1,000 นาโนกรัม/มล. หรือได้รับยาขับเหล็ก (iron chelating agents)

1.8.3 กลุ่มควบคุมที่เป็นคนปกติ คือคนที่ไม่ใช่โรค ไม่มีอาการหรืออาการแสดงที่บ่งบอกถึงการมีโรคประจำตัว เช่น เบาหวาน โรคหัวใจ โรคไต โรคหลอดเลือดสมอง หรือเคยได้รับการตรวจสุขภาพภายใน 1 ปี แล้วไม่พบความผิดปกติ และได้รับการตรวจ hemoglobin typing โดยวิธี isoelectric focusing electrophoresis (IEF) หรือ high-pressure liquid chromatogram (HPLC) แล้วไม่พบว่าเป็นพาหะหรือเป็นโรคธาลัสซีเมีย โดยที่กลุ่มประชากรควบคุมที่เป็นอาสาสมัครปกติ ได้มาจากการติดต่อขอความยินยอมเข้าร่วมโครงการจากเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์หรือผู้ที่เข้ารับการตรวจสุขภาพประจำปีและไม่พบความผิดปกติ โดยสุ่มเลือกคนที่เป็นเพศเดียวกันและอายุไม่ต่างกับผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่เข้าร่วมโครงการเกินกว่า 5 ปี (age- and sex-matched control)

1.9 ขั้นตอนดำเนินการวิจัยโดยย่อ

- คัดเลือกประชากรที่จะนำมาศึกษา จากกลุ่มผู้ป่วยโรคปีตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอี ที่มาพบแพทย์เฉพาะทางด้านโลหิตวิทยา ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แบบ consecutive convenient จำนวน 40 ราย
- ให้ข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัยและการตรวจที่จะได้รับ การยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ขึ้นอยู่กับความสมัครใจ
- ขอ inform consent จากผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่เข้าร่วมโครงการทุกรายก่อนทำการตรวจ
- นัดอาสาสมัครมาเข้ารับการตรวจเลือด ตรวจ FMD และ echocardiogram ในวันเดียวกัน
- ดำเนินการเก็บตัวอย่างประชากรกลุ่มควบคุม โดยให้มีเพศและอายุใกล้เคียงกับประชากรกลุ่มโรคธาลัสซีเมีย (age- and sex-matched) จำนวน 40 ราย
- กลุ่มประชากรควบคุมได้มาจากการติดต่อขอความสมัครใจเข้าร่วมโครงการจากเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หรือผู้ที่เข้ารับการตรวจสุขภาพประจำปีและไม่พบความผิดปกติ แบบสุ่มเลือกคนที่อายุใกล้เคียงและเพศตรงกับผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการ การยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ขึ้นอยู่กับความสมัครใจ
- ขอ inform consent จากกลุ่มควบคุมผู้เข้าร่วมโครงการทุกรายก่อนทำการตรวจ

- นัดอาสาสมัครกลุ่มควบคุม มาเข้ารับการตรวจเลือด ตรวจ FMD และ echocardiogram ในวันเดียวกัน
- ตรวจสอบผลการตรวจต่างๆทางห้องปฏิบัติการในอดีตว่ามีหรือไม่ หากไม่มีจะทำการส่งตรวจพร้อมกันในวันที้นัดมาเข้าร่วมโครงการ
- ในวันเข้าร่วมโครงการ เริ่มจากการเจาะเลือดจากข้อพับแขนซ้าย ใส่ลงใน EDTA tube 4 ซีซี นำไปปั่นโดยเครื่อง centrifuge ที่ 1000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อให้ได้พลาสมา จากนั้นนำไปเก็บที่ตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ -80 องศาเซลเซียส
- เริ่มทำการตรวจ FMD หรือ echocardiogram ตามลำดับคิวที่จัดไว้
- ก่อนทำการตรวจ FMD ให้ผู้ป่วยนอนพักก่อนอย่างน้อย 20 นาที
- ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจครบทั้ง FMD และ echocardiogram
- ส่งข้อมูลภาพเก็บที่ external hard disk และ server ของศูนย์โรคหัวใจ รพ.จุฬาฯ
- ทำการวิเคราะห์ผล FMD และ echocardiogram โดยคอมพิวเตอร์ที่มี software Xcelera version R3.1 ของบริษัท Philips
- เมื่อได้พลาสมาของผู้ป่วยอัลสซีเมียและกลุ่มควบคุมครบเรียบร้อยแล้ว ทำการตรวจหา nitric oxide metabolites (NOx), PGE2 และ TM โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
- ขั้นตอนวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจและเทคนิคการตรวจ ทำโดยเจ้าหน้าที่ที่มีความเชี่ยวชาญของสาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ห้องปฏิบัติการ ตึก อปร. ชั้น 11
- เก็บข้อมูลที่ได้ทั้งหมดลงในตารางโปรแกรม excel โดยผู้ทำการวิจัย
- การบันทึกข้อมูลไม่มีการระบุชื่อของผู้ป่วยหรือเลขบัตรของโรงพยาบาล โดยจะจัดเก็บเป็นลำดับที่ตามการเข้าร่วมโครงการก่อน-หลังแทน
- ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลจนครบ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ
- หลังจากได้ทำการวิเคราะห์ผลลัพธ์เสร็จเรียบร้อยแล้ว การนำเสนอข้อมูลในวิทยานิพนธ์ หรือการนำเสนอข้อมูลในที่สาธารณะ จะไม่มีการระบุทราบชื่อของผู้ป่วย

1.10 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

หลักความเคารพในบุคคล (respect for person)

ก่อนที่อาสาสมัครยินยอมเข้าร่วมการวิจัย จะได้รับข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาวิจัยและผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากการตรวจ อย่างละเอียด ครบถ้วน และเข้าใจเป็นอย่างดี การให้ความยินยอมเข้าร่วมการวิจัยของอาสาสมัครเป็นไปอย่างอิสระ

ผลข้างเคียงที่เกิดจากการตรวจด้วย FMD และ echocardiogram เช่น อาการเจ็บหรือมีรอยขีดบริเวณแขนหรือบริเวณผนังหน้าอกที่ได้รับการตรวจ ผลข้างเคียงจากการเจาะเลือด เช่น เจ็บและเป็นจ้ำเลือดบริเวณที่เจาะเลือด แต่จะเป็นเพียงชั่วคราวและหายได้เอง

ผลข้างเคียงจากการพ่นยา nitroglycerine เช่น เวียนศีรษะหน้ามืด ความดันลดลงชั่วคราว เป็นความรู้สึกไม่สบายกาย แต่เนื่องจากยาออกฤทธิ์สั้นมากทำให้อาการเหล่านี้หายไปได้เร็วและหายเองได้ ซึ่งค่าครึ่งชีวิตของยานานประมาณ 1-4 นาที จึงไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงระยะยาวที่อันตรายใดๆต่อร่างกาย หากมีอาการผิดปกติ จะให้อนพักติดตามอาการโดยผู้ช่วยวิจัยที่เป็นพยาบาลจนกระทั่งผู้ป่วยดีขึ้น และแจ้งให้แพทย์ผู้วิจัยหลักทราบทันทีทุกครั้ง

การเก็บความลับของอาสาสมัคร จะไม่มีการระบุข้อมูลใดๆที่จะระบุถึงตัวอาสาสมัคร การบันทึกข้อมูลจะใช้เป็นเลขลำดับที่ที่เข้าร่วมโครงการ และเอกสารข้อมูลเหล่านี้จะถูกจัดเก็บในตู้เอกสารเฉพาะ โดยผู้ที่สามารถเปิดดูได้คือผู้วิจัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิจัย และอาจารย์ที่ปรึกษาวิจัยร่วมเท่านั้น

หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (beneficence/non-maleficence)

ประโยชน์ที่อาสาสมัครจะได้รับคือนอกจากจะได้รับการตรวจหาความผิดปกติของผนังหลอดเลือด ซึ่งเป็นการตรวจแบบไม่รุกราน ยังได้รับการตรวจการทำงานของหัวใจโดย echocardiogram เพื่อตรวจหาความผิดปกติของการทำงานของหัวใจและภาวะความดันในปอดสูงซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อนที่พบบ่อย นำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้ป่วยในอนาคต หรือถ้าพบความผิดปกติก็สามารถให้การรักษาได้เร็วขึ้น โดยการตรวจเหล่านี้ไม่ก่อให้เกิดอันตรายใดๆ เนื่องจากเป็นการศึกษาด้วยเครื่องมือแบบไม่รุกราน (noninvasive)

หลักยุติธรรม (Justice)

ผู้ที่ได้รับการคัดเลือกเข้ารับการตรวจหรือไม่ มีเกณฑ์การพิจารณาชัดเจนจากเกณฑ์การคัดเลือกและออกชัดเจน

1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษานี้เป็นการตรวจ ณ จุดใดจุดหนึ่ง ไม่ได้ทำการตรวจติดตามระยะยาวสามารถบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ระหว่างภาวะพร่อง NO หรือ PGE2 กับการเกิด endothelial

dysfunction แต่อาจจะยังไม่สามารถสรุปว่าเป็นสาเหตุหรือกลไกการเกิดโรคได้ อย่างไรก็ตามสามารถเป็นจุดเริ่มต้นที่จะนำไปสู่การศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกและสาเหตุของการเกิดโรคจริง หรือการตรวจหาภาวะ endothelial dysfunction จะสามารถพยากรณ์โรคแทรกซ้อนทางหลอดเลือดและหัวใจในผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้หรือไม่

1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

การศึกษานี้ ได้ตรวจหาว่ามีภาวะ endothelial dysfunction และการพร่องของไนตริกออกไซด์ในพลาสมา ว่ามีอยู่จริงในผู้ป่วยโรคปิตาธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีที่โตเป็นผู้ใหญ่แล้ว และศึกษาถึงว่ามีปัจจัยใดบ้างที่สัมพันธ์กับการเกิดภาวะ endothelial dysfunction ทั้งอาการทางคลินิกและการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ทำให้เข้าใจโรคและภาวะแทรกซ้อนของโรคมมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียฮีโมโกลบินอีได้ดีมากขึ้น ได้ข้อมูลไปใช้ในการต่อยอดความรู้ด้านกลไกการเกิดโรคหรือพยาธิสภาพของโรค นำไปสู่การดูแลรักษาและพยากรณ์โรคของผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น และเป็นพื้นฐานสำหรับการวิจัยต่อไปในอนาคต นำไปสู่การคิดค้นทดลองหาวิธีการรักษาโรคและภาวะแทรกซ้อน เพื่อลดอัตราการเสียชีวิตและพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยต่อไป

และในปัจจุบันมีผู้สนใจทำการศึกษาเกี่ยวกับการรักษา endothelial dysfunction เพิ่มมากขึ้น หากพบว่ามีผลดีจริง อาจพิจารณาศึกษาถึงวิธีการรักษาเพื่อป้องกันการเกิด cardiovascular event ในอนาคต ซึ่งการรักษาในปัจจุบันที่มีผลการศึกษา แบ่งเป็น non-pharmacologic therapy เช่น ควบคุมอาหารเค็ม การลดน้ำหนัก การออกกำลังกาย และส่วนที่เป็น pharmacologic therapy ได้แก่ การให้ยากลุ่ม calcium antagonist, beta blocker, angiotensin converting enzyme inhibitors (ACE inhibitors), renin inhibitors หรือยาลดไขมันกลุ่ม statin เป็นต้น (16) ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในคนไข้โรคหัวใจ อย่างไรก็ตามหากความรู้ด้านพยาธิสภาพของโรคชัดเจนมากขึ้น อาจนำไปสู่ศึกษาเพิ่มเติมเพื่อประยุกต์ใช้กับคนไข้โรคธาลัสซีเมียในอนาคตต่อไปได้

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ธาลัสซีเมีย (thalassemia) เป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมของโกลบินยีน (globin gene) ซึ่งทำให้การสร้างสายโพรตีนโกลบิน (globin chain) ที่เป็นส่วนประกอบของฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ในเม็ดเลือดแดงลดลง หรือทำงานผิดปกติไป ส่วนใหญ่เป็นการถ่ายทอดแบบยีนด้อย (recessive trait) ส่วนน้อยที่ถ่ายทอดแบบยีนเด่น (autosomal dominant form) ซึ่งสายโพรตีนโกลบินหลักแบ่งเป็น สายโพรตีนแอลฟาโกลบิน (α -globin chain) และสายโพรตีนบีตาโกลบิน (β -globin chain) การกลายพันธุ์ของโกลบินยีนนำไปสู่ความไม่สมดุลของการสร้างสายโพรตีนโกลบิน ทำให้สายโพรตีนโกลบินที่เกินจับตัวกันตกตะกอนในเม็ดเลือดแดงโดยเริ่มตั้งแต่เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดแดง (erythroid precursor) ทำให้เกิดการทำลายของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดแดงในไขกระดูก (ineffective erythropoiesis) ส่งผลให้การสร้างเม็ดเลือดแดงลดลงและได้เซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีเยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติและแตกง่าย นำไปสู่ภาวะโลหิตจาง (chronic hemolysis) (17)

ปีตาธาลัสซีเมีย (β -thalassemia) เกิดจากการกลายพันธุ์ของ β -globin gene ทำให้การสร้างสายโพรตีน β -globin ลดลง ส่งผลให้สายโพรตีน α -globin จับตัวเป็นสาย α_4 ซึ่งไม่ละลายน้ำ และตกตะกอนในเม็ดเลือดแดง และทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และโครงสร้างโพรตีนภายในเซลล์ เกิดภาวะ ineffective erythropoiesis ซึ่งทำให้เกิดความผิดปกติทางคลินิกตามมาได้แก่ เกิดการขยายตัวของไขกระดูกส่งผลให้กระดูกผิดรูป เช่น กระดูกโอบหน้า ทำให้เกิดการสร้างเซลล์เม็ดเลือดนอกไขกระดูก (extramedullary hematopoiesis) และผู้ป่วยมีม้ามและตับโตผิดปกติ (18) ความรุนแรงของโรคปีตาธาลัสซีเมียขึ้นกับระดับความผิดปกติของยีน โดยนิยมแบ่งกลุ่มตามความรุนแรงของอาการและอาการแสดงเป็น β -thalassemia major มักจะแสดงอาการตั้งแต่อายุ 6-24 เดือน เจริญเติบโตช้า และจำเป็นต้องได้รับเลือดและยาขับเหล็กอย่างสม่ำเสมอ (transfusion-dependent) ตั้งแต่อายุน้อย หากไม่ได้รับการรักษา จะเสียชีวิตตั้งแต่อายุต่ำกว่า 20 ปี หากได้รับการรักษาที่เหมาะสม จะมีชีวิตได้ถึงอายุ 40 ปี กลุ่มต่อมาคือ β -thalassemia intermedia เป็นกลุ่มที่มีความหลากหลายของอาการตั้งแต่อาการน้อยถึงมาก หากอาการน้อยอาจจะไม่แสดงอาการผิดปกติหรือมีเพียงภาวะซีดเล็กน้อย ส่วนที่ค่อนข้างมาทางรุนแรง จะแสดงอาการที่อายุประมาณ 2-6 ปี อาจต้องได้รับเลือดเป็นระยะ แต่ไม่จำเป็นต้องได้รับสม่ำเสมอ (transfusion-independent) และกลุ่มสุดท้ายคือ β -thalassemia minor จะไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ มีเพียงเม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กและติดสีน้อยกว่าปกติ ระดับฮีโมโกลบิน (Hb) ปกติหรือต่ำกว่าปกติเพียงเล็กน้อย ซึ่งไม่จำเป็นต้องรักษา นอกจากนี้ β -

thalassemia ยังพบร่วมกับการกลายพันธุ์ที่ทำให้มีโครงสร้างของสายโปรตีนบีตาผิดปกติ (β -globin variant) เช่น β -thalassemia/HbE, β -thalassemia/HbC หรือ β -thalassemia/HbS เป็นต้น (19) โดย β -thalassemia/HbE เป็นกลุ่มโรคบีตาธาลัสซีเมียที่พบบ่อยที่สุดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทยด้วย มีความรุนแรงของโรคหลายหลาย โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอาการแสดงแบบ β -thalassemia intermedia สำหรับประเทศไทยมีผู้ป่วย β -thalassemia/HbE ประมาณ 100,000 ราย ประกอบกับโรคนี้อาจถ่ายทอดทางพันธุกรรม ค่าใช้จ่ายในการรักษาสูงตลอดชีวิตของผู้ป่วย ทั้งการรักษาตัวโรคเองและค่าใช้จ่ายในการมารับรักษาตัวที่โรงพยาบาล และค่าใช้จ่ายแฝงจากการที่ต้องหยุดงานเพื่อมารักษา จึงจัดได้ว่าเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศ (2) หากสามารถศึกษาเข้าใจโรคมากขึ้นในเชิงลึก พยาธิกำเนิดของการเกิดภาวะแทรกซ้อน และการตรวจพบปัจจัยที่สามารถพยากรณ์การเกิดภาวะแทรกซ้อนและผลกระทบระยะยาว นำไปสู่การคิดค้นการป้องกันและรักษาใหม่ในอนาคต จะช่วยผู้ป่วยให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น และลดภาระของประเทศในอนาคตได้

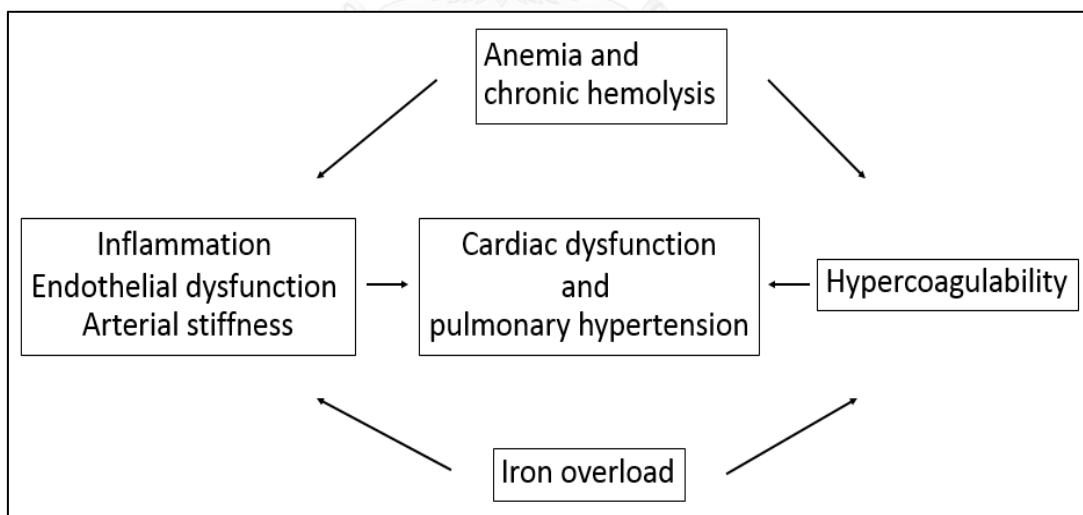
การดูแลรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียในปัจจุบันมีความก้าวหน้ามากขึ้น การรักษาหลักได้แก่การให้เลือดและยาขับเหล็ก (iron chelation) การดูแลรักษาประคับประคอง รวมทั้งการป้องกันและรักษาภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ทำให้ในปัจจุบันนี้ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีอัตราการเสียชีวิตลดลงมาก อายุขัยยืนยาวมากขึ้น คุณภาพชีวิตดีขึ้น อีกทั้งยังสามารถรักษาให้หายขาดได้ด้วยการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด (hematopoietic stem cell transplantation) ในผู้ป่วยที่มีความเหมาะสม การศึกษาในหลายประเทศพบว่าผู้ป่วยบีตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงมาก (β -thalassemia major) มีอัตราการรอดชีวิตที่ยาวนานขึ้น ดังตัวอย่างของสมาคมธาลัสซีเมีย ประเทศอิตาลี พบว่าการให้ยาขับเหล็กทำให้อัตราการเสียชีวิตลดลง (20)

อย่างไรก็ตามจากการติดตามดูแลรักษาและศึกษาผู้ป่วยเหล่านี้เป็นระยะเวลานานพบว่าสาเหตุของการเสียชีวิตในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย เกิดจากภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นในภายหลัง กลไกหลักที่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยกลุ่มนี้ เกิดจากการที่เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกง่ายกว่าปกติแบบเรื้อรัง (chronic hemolysis) มีการทำลายของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดแดงในไขกระดูก (ineffective erythropoiesis) ภาวะซีด กระตุ้นกระบวนการอักเสบในร่างกายเรื้อรัง และการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ ประกอบกับการรักษาที่ผู้ป่วยได้รับเลือดเป็นประจำ นำไปสู่การมีภาวะเหล็กเกินในร่างกาย (iron overload) ซึ่งเหล็กที่เกินจะไปสะสมตามอวัยวะต่างๆของร่างกาย ได้แก่ ตับ ตับอ่อน ต่อมใต้สมอง รวมถึงหัวใจ

ปัจจุบันการรักษาโรคอย่างเหมาะสม ให้เลือดและให้ยาขับเหล็กอย่างสมดุลเพื่อที่จะป้องกันภาวะแทรกซ้อนที่อาจจะเกิดขึ้นได้ทั้งจากโรคของผู้ป่วยเองและการรักษาที่ได้รับ จะทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น ภาระของประเทศลดลง อย่างไรก็ตามการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้อย่างเต็มที่ตาม

มาตรฐานที่มีอยู่ในปัจจุบัน ก็ไม่สามารถที่จะป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากโรคซึ่งหลีกเลี่ยงไม่ได้ในท้ายสุดของการดำเนินโรคได้ทั้งหมด คนไข้ยังต้องเผชิญกับภาวะแทรกซ้อนของตัวโรคเอง และผลจากการที่ได้รับเลือดปริมาณมากแม้จะได้รับยาขับเหล็กแล้วก็ตาม และภาวะแทรกซ้อนนี้เองก็เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

ภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือดเป็นปัญหาที่สำคัญของโรคธาลัสซีเมีย และเป็นสาเหตุหลักการเสียชีวิตที่สำคัญของทั้ง β -thalassemia major และ intermedia โดยมีความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มนี้ กล่าวคือ ใน thalassemia major จะพบภาวะหัวใจข้างซ้ายวายจาก cardiac hemochromatosis นอกจากนี้ยังพบหลักฐานของการเกิดหลอดเลือดแดงสมองขาดเลือดจากภาพรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic resonance imaging, MRI) โดยที่ผู้ป่วยไม่ได้มีอาการของสมองขาดเลือดชัดเจน ในขณะที่ผู้ป่วย thalassemia intermedia เช่น β -thalassemia/HbE จะพบภาวะหลอดเลือดแดงปอดสูง หากเป็นรุนแรงจะทำให้เกิดหัวใจข้างขวาล้มเหลว นอกจากนี้ยังพบภาวะหลอดเลือดดำอุดตันเช่น deep vein thrombosis และ/หรือ pulmonary embolism และภาวะแผลเรื้อรังที่ขา



รูปที่ 2 แสดงพยาธิกำเนิดของภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย (21)

β -thalassemia/HbE จัดเป็นกลุ่มโรคธาลัสซีเมียที่มีความรุนแรงของโรคระดับปานกลาง หรือที่เรียกว่า thalassemia intermedia มีความจำเป็นต้องได้รับเลือดน้อยกว่าในกลุ่ม thalassemia major โดยส่วนใหญ่ผู้ป่วยได้รับเลือดน้อยกว่า 8 ยูนิตต่อปี (22) จะพบภาวะซีดน้อยถึงปานกลาง (mild to moderate anemia) ระดับ Hb ประมาณ 5-9 g/dL มีตับม้ามโต มีความผิดปกติของกระดูก ใบหน้า การมีภาวะเหล็กเกินรุนแรงมากหรือน้อย ขึ้นกับความรุนแรงของภาวะซีดและความถี่ของการได้รับเลือด (23)

พยาธิสภาพที่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือดในกลุ่มโรค thalassemia intermedia (TI)

1. High output state

มีการศึกษาพบว่า คนไข้ TI มี cardiac output มากกว่าปกติถึงเกือบสองเท่าจากการตรวจ echocardiography (24) โดยที่เกิดจาก ineffective erythropoiesis และ chronic hemolysis นอกจากนี้การมี HbF ซึ่งมี oxygen affinity สูงเพิ่มขึ้นทำให้นำพาออกซิเจนให้กับเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกายได้น้อย ทำให้ร่างกายขาดออกซิเจนเป็นระยะเวลานานส่งผลให้เกิด bone marrow expansion และตับม้ามโตจาก extramedullary erythropoiesis เพื่อสร้างเม็ดเลือดแดงมากขึ้นมาทดแทน นำไปสู่ภาวะ high output state ผ่าน peripheral vasodilatation และ intramedullary shunt ประกอบกับหลอดเลือดใน TI มีแนวโน้มที่จะขยายตัวจาก elastic tissue injury (25)

2. Iron overload

ภาวะเหล็กเกินในโรคธาลัสซีเมีย มีกลไกจากการที่ผู้ป่วยมีภาวะ chronic hemolysis การได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอ และการเพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็กจากลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม (5)

3. Hemolysis-induced tissue injury

ภาวะ chronic hemolysis เกิดการปล่อย free heme และส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นไปกระตุ้นกลไกการอักเสบ มีการทำลาย NO และลดการสร้าง NO ทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstriction) ส่งเสริมการก่อตัวของลิ่มเลือดในร่างกาย

4. Hypercoagulability

สายโปรตีน α -globin อีสาระที่เกินจากการสร้างของ β -globin chain ที่ลดลงประกอบกับ free iron ในกระแสเลือดที่เกิดจาก hemolysis ทำให้เกิด oxidative damage ต่อเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของ negatively charged phospholipid ที่ผิวเซลล์ส่งเสริมการเกิดการแข็งตัวของเลือด (26, 27) ประกอบกับการภาวะ endothelial dysfunction โดยมีการศึกษาพบการเพิ่มขึ้นของ intercellular adhesion molecule (ICAM) และ vascular cell adhesion molecule

(VCAM) บนเซลล์บุผนังหลอดเลือด และมีการลดลงของ NO bioavailability ส่งเสริมให้เกิดภาวะเลือดแข็งตัวง่ายผิดปกติ (hypercoagulability) (28) นอกจากนี้ยังพบว่าเกล็ดเลือดถูกกระตุ้นให้เกาะกลุ่มกันมากขึ้นหากผู้ป่วยถูกตัดม้ามร่วมด้วยอาจทำให้เกล็ดเลือดมีปริมาณมากขึ้นหลังการตัดม้าม ยิ่งทำให้เกิดการเกาะกลุ่มมากขึ้น มีการศึกษาพบการลดลงของ protein C และ protein S และมีการเพิ่มขึ้นของ thrombin-antithrombin complex ภายหลังจากการตัดม้ามซึ่งแสดงให้เห็นถึงการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดเพิ่มขึ้น (29) อีกทั้งยังพบปฏิกิริยาการอักเสบเพิ่มขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของ cytokine ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และการกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด monocyte และ neutrophil เพิ่มขึ้นส่งเสริมให้เกิดภาวะเลือดแข็งตัวง่ายผิดปกติมากขึ้นไปอีก

ผลกระทบที่มีต่อหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular consequence)

1. Pulmonary arterial hypertension

มีการศึกษาพบความดันหลอดเลือดแดงปอดสูงถึงร้อยละ 60 ของผู้ป่วย TI ถือเป็นภาวะแทรกซ้อนที่จำเพาะของผู้ป่วยที่ไม่ได้รับเลือด (non-transfused TI) และเป็นปัจจัยหลักที่นำไปสู่การเกิด right-sided heart failure ซึ่งเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิด congestive heart failure ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ โดยที่ left ventricular (LV) systolic function ไม่มีความผิดปกติ (5) กลไกที่ทำให้เกิดเป็นจาก high output state ร่วมกับ pulmonary vascular resistance (PVR) เพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ PVR เป็นผลจากหลายกลไก ได้แก่ hypercoagulability, endothelial dysfunction, reduced NO availability, elastic tissue disorder และ lung tissue injury (30)

นอกจากนี้ยังอาจมีปัจจัยส่งเสริมจาก recurrent respiratory tract infection, chest wall deformity, extramedullary intrapulmonary hemopoietic mass และ age-related diffuse elastic tissue disorder จากการศึกษาที่มีภาวะเหล็กเกินทำให้เกิด interstitial pulmonary fibrosis (31) และมีการเพิ่มขึ้นของ PVR

2. Right-sided heart failure

เป็นผลที่เกิดตามมาของภาวะความดันหลอดเลือดแดงปอดสูงเป็นระยะเวลานานทำให้ right ventricle ทำงานหนักในการบีบตัวเพื่อนำเลือดไปพอกที่ปอดซึ่งมีความดันในหลอดเลือดปอดที่สูง เกิด right ventricular hypertrophy and dilatation เมื่อเป็นมากขึ้นเกิด right-sided heart failure ตามมาได้

3. Left ventricular involvement

ปัญหาของ left-sided heart disease ของ thalassemia intermedia ไม่ชัดเจนเท่า thalassemia major การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นคือมี LV diameter, volume และ mass เพิ่มขึ้นจาก

ภาวะ high output state มี diastolic dysfunction ได้โดยไม่พบปัญหาของ systolic dysfunction (5)

4. Valvular involvement

มีการศึกษาพบมีการหนาตัวและมีแคลเซียมเกาะที่ลิ้นหัวใจที่ mitral annulus และ papillary muscle มากขึ้น ตามมาด้วยการเกิด moderate valvular regurgitation หรือบางครั้งเกิด ลิ้นหัวใจตีบ ได้แก่ aortic stenosis ซึ่งเป็นผลจาก high output state, iron overload และ elastic tissue abnormality (25) แม้ว่าผลกระทบต่อการทำงานของ mild หรือ moderate valvular abnormality มักจะไม่ค่อยมีความสำคัญ แต่อาจเป็นส่วนส่งเสริมให้เกิดอาการของ โรคหัวใจที่รุนแรงมากขึ้นได้

5. Vascular manifestation

ภาวะ hypercoagulability และ hemolysis-related elastic tissue abnormality นำไปสู่ การเกิดภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดต่างๆมากมาย พบมีการเกิด ภาวะหลอดเลือดอุดตัน และการ หลุดลอยของลิ่มเลือดสูงขึ้น รวมทั้งมี fatal cerebral hemorrhage, anginal symptom, ascending aorta aneurysm formation และ gastrointestinal bleeding เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ภาวะ elastic tissue abnormality ยังอาจนำไปสู่การเกิดแผลที่ขาเรื้อรัง ซึ่งพบบ่อยในคนไข้ TI

อุบัติการณ์การเกิดภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดเพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยที่ได้รับการตัดม้าม และ เกิดในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับเลือดสม่ำเสมอถึงร้อยละ 29 เมื่อเทียบกับผู้ป่วย thalassemia major ที่ได้รับ เลือดสม่ำเสมอซึ่งพบเพียงร้อยละ 2 (32) โดยภาวะหลอดเลือดอุดตันในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความ หลากหลายของตำแหน่งที่เกิดโดยพบ หลอดเลือดดำชั้นลึกที่ขาอุดตัน ร้อยละ 40 portal vein thrombosis ร้อยละ 19 pulmonary thromboembolism ร้อยละ 12 และ cerebral thrombosis ร้อยละ 9 นอกจากนี้ยังพบการอุดตันในกลุ่มที่ไม่มีอาการจากการทำ autopsy โดยพบลิ่มเลือดใน หลอดเลือดขนาดเล็ก (microvasculature) ของปอดและสมองในรายที่ไม่มีอาการผิดปกติหรือมี ปัจจัยเสี่ยงใดๆ (30)

ความสัมพันธ์ของภาวะ chronic hemolysis และภาวะพร่องไนตริกออกไซด์ (nitric oxide depletion) ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

กลไกทางพยาธิสภาพของโรคธาลัสซีเมีย คือการมีภาวะซีด ร่วมกับ chronic hemolysis ซึ่งเป็นกลไกสำคัญหลัก การเกิด ineffective erythropoiesis และ iron overload ซึ่งคล้ายคลึงกับโรค sickle cell anemia ที่มีภาวะ chronic hemolysis เช่นเดียวกัน (33) แต่ในโรคธาลัสซีเมียไม่พบ การเกิดการอุดตันของหลอดเลือดจาก sickle shaped red blood cell (RBC) มีการศึกษาพยาธิ สภาพที่เกิดขึ้นในภาวะ chronic hemolysis ซึ่งมีมากมายในกลุ่มโรค sickle cell disease ซึ่งการเกิด

chronic hemolysis ในโรคต่างๆนอกจากธาลัสซีเมีย เช่น paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, hereditary spherocytosis เป็นต้น ก็จะมีพยาธิสภาพที่คล้ายคลึงกัน

กระบวนการ hemolysis ทำให้มี hemoglobin หลุดออกมาปริมาณมากกว่าที่จะกำจัดได้ โดยกลไกของร่างกายตามปกติ Hb ที่เหลือจะทำตัวเป็น NO scavenger เปลี่ยน NO เป็น nitrate (NO_3^-) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NO synthase ทำให้ไม่สามารถสร้าง NO ได้ และการที่เม็ดเลือดแดงแตก ทำให้มีการหลั่งเอนไซม์ erythrocyte arginase ไปเปลี่ยน L-arginine เป็น ornithine ยิ่งทำให้การสร้าง NO ลดน้อยลงมากขึ้น นอกจากนี้ธาตุเหล็กที่เกินร่างกายกำจัดได้ไม่หมด เป็น ferric heme เป็นพิษโดยตรงกับเซลล์บุผนังหลอดเลือด (6)

กลไกหนึ่งของภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือดที่ได้รับความสนใจศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้แก่ ภาวะพร่อง NO (nitric oxide deficiency) ซึ่งเกิดจาก chronic hemolysis ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ซึ่ง NO มีบทบาทสำคัญหลายประการต่อการรักษาสมดุลของหลอดเลือด ได้แก่ ควบคุมการขยายตัวของหลอดเลือด ควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์บุผนังหลอดเลือด ป้องกันอันตรายต่อหลอดเลือด การลดลงของ NO เป็นกลไกสำคัญหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (2) จะส่งผลให้เกิด endothelial dysfunction และอาจเป็นจุดเริ่มต้นที่ตรวจพบได้ตั้งแต่วัยที่ไม่มีอาการแสดงของภาวะแทรกซ้อนทางหัวใจและหลอดเลือด เป็นที่มาของการศึกษาความผิดปกติของ endothelium กับการลดลงของ NO มีความสัมพันธ์กันในแง่กลไกการเกิดโรคอย่างไร

ภาวะผนังหลอดเลือดแดงผิดปกติ Endothelial dysfunction

หลอดเลือดแดง (vascular wall) เป็นอวัยวะสำหรับนำพาเลือดจากหัวใจผ่านไปเลี้ยงร่างกาย ประกอบด้วยโครงสร้าง 3 ชั้น ได้แก่

1. Tunical intima อยู่ชั้นในสุด และเป็นชั้นที่บางที่สุด ซึ่งก็คือผนังหลอดเลือดแดง (endothelium) ประกอบด้วย endothelial cell ซึ่งเรียงตัวต่อกันเป็นแถวเดียว เป็นชั้นที่มีหน้าที่หลากหลาย โดยเป็นชั้นหลักในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดทั้งหมด
2. Tunica media อยู่ตรงกลาง เป็นชั้นที่หนาที่สุดของหลอดเลือดแดง ส่วนประกอบหลักคือ ชั้นกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (vascular smooth muscle) ทำหน้าที่ในการควบคุมขนาดและความดันของหลอดเลือด โดยทำให้เกิดการขยายตัวหรือหดตัวของหลอดเลือด ควบคุมการทำงานด้วย NO ซึ่งสร้างจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด
3. Tunica adventitia อยู่ชั้นนอกสุด ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เส้นประสาทส่วนปลาย ขนาดเล็ก และหลอดเลือดฝอยที่เลี้ยงหลอดเลือดเอง (vasa vasorum)

Endothelium เป็นโครงสร้างที่สำคัญมากโครงสร้างหนึ่งของร่างกาย มีปริมาณมากกว่าหัวใจ 5 เท่า มีพื้นที่รวมกันเท่ากับสนามเทนนิส 12 สนาม ในผู้ชายน้ำหนักประมาณ 70 กิโลกรัม (34) ทำหน้าที่หลักในการสร้างสมดุลการทำงานให้กับหลอดเลือด ซึ่งหน้าที่ของ endothelium ประกอบด้วย

1. Regulation of vascular tone and permeability
2. Equilibrium of hemostasis and fibrinolysis
3. Synthesis of growth factors (35)

ทำหน้าที่หลากหลายโดยผ่าน various mediators

Endothelial dysfunction คือ การทำงานที่ผิดปกติไปของ endothelium ไม่มีคำจำกัดความที่ให้ความหมายได้จำเพาะเจาะจงในปัจจุบัน และยังไม่มี การตรวจการทำงานของ endothelium ที่เป็นมาตรฐานสากล แต่อย่างไรก็ตามมีการศึกษาถึงการตรวจหลายอย่างที่สามารถใช้ประเมินการทำงานของ endothelium ได้ โดยที่มีความจำเพาะค่อนข้างสูงและตรวจได้ไม่ยาก ได้แก่

1. Flow mediated dilatation test
2. Plasma marker associated with endothelial dysfunction
 - a. Von Willebrand factor (vWF)
 - b. Soluble thrombomodulin
 - c. E-selectin
 - d. Nitric oxide หรือที่เรียกว่า endothelial-derived relaxing factor
3. Circulating endothelial cells (35)

ความสัมพันธ์ของ nitric oxide กับการเกิด endothelial function ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

ในภาวะ chronic hemolysis เมื่อมีการแตกของเม็ดเลือดแดง โดยที่มากกว่าการกำจัดออกได้ตามปกติของร่างกาย จะทำให้มี Hb ซึ่งเดิมอยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดงออกมาในหลอดเลือด (cell-free Hb) ซึ่งจะไปจับกับ haptoglobin เกิดเป็น haptoglobin-hemoglobin complex จากนั้นจะถูกกำจัดโดย macrophages (36) เนื่องจาก haptoglobin ใช้แล้วหมดไป ไม่ถูกสร้างใหม่ได้ทัน จึงทำให้สมดุลเสียไป ปริมาณ cell-free Hb จึงมากเกินอยู่ในร่างกาย Hb ที่เกินในร่างกายนี้ จะไปทำปฏิกิริยา nitric oxide dioxidation (37) อย่างรวดเร็ว ทำให้ NO กลายเป็น nitrate (NO₃⁻) ซึ่งไม่มีประโยชน์ กลไกนี้ในสภาวะปกติก็มีเกิดขึ้นในร่างกาย แต่น้อยกว่าในภาวะ hemolysis 650 เท่า เนื่องจากมี RBC membrane เป็นตัวควบคุมการทำปฏิกิริยาไว้ (38)

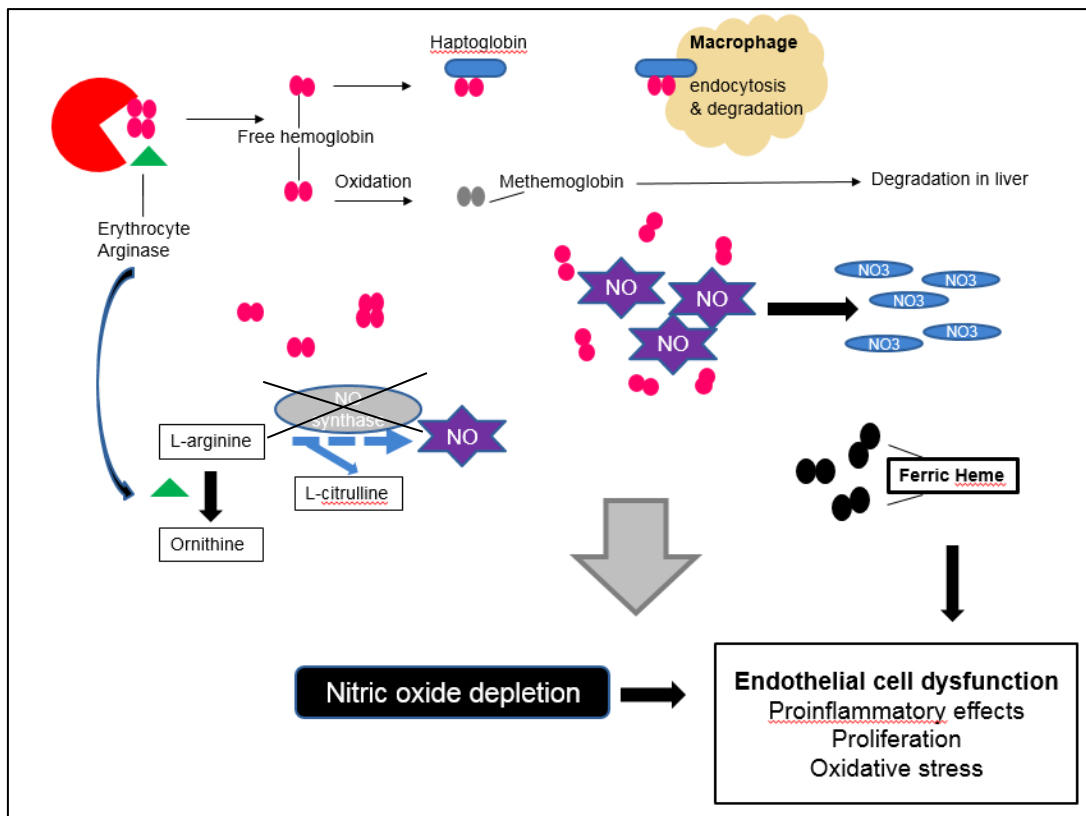
นอกจากกลไกที่เกิดจาก free Hb แล้ว การที่เม็ดเลือดแดงแตกทำให้เกิดการหลั่ง erythrocyte arginase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนอะมิโนแอซิดที่ชื่อ L-arginine ซึ่งเป็นสารตั้ง

ต้นสำหรับการสังเคราะห์ NO ไปเป็น ornithine (39) จึงยังเป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดภาวะพร่อง NO มากขึ้น ซึ่งในทางคลินิก มีการศึกษาพบว่า สัดส่วนของ arginine ต่อ ornithine ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในผู้ป่วย sickle cell disease ที่มีภาวะความดันในช่องปอดสูง (40)[40]

Nitric oxide ได้รับการค้นพบโดย Furchgott RF. ในปี ค.ศ. 1980 โดยพบว่าเป็นสารที่ทำให้ smooth muscle ของหลอดเลือดคลายตัว (41) โดยมีชื่อเรียกเป็น endothelium-derived relaxing factor (EDRF) ต่อมาในปี ค.ศ. 1988 จึงได้พบว่าสารชนิดนี้คือ NO (42) มีหน้าที่หลายอย่างในหลายระบบของร่างกาย ได้แก่ vascular system, nervous system และ hemostasis system (43) แต่ระบบหลักที่เกี่ยวข้องในกลุ่มโรค thalassemia คือ การควบคุมระบบการแข็งตัวของเลือด (regulation of coagulation) และการควบคุมการหดขยายตัวของหลอดเลือด (modulation of the vessel tone) (44) [44] NO สร้างจาก endothelial cell โดยอาศัย nitric oxide synthase เปลี่ยนสารตั้งต้นจาก L-arginine ไปเป็น NO มีสถานะเป็น soluble gas ค่าครึ่งชีวิตสั้นประมาณ 6–30 วินาที (45) ไปออกฤทธิ์ที่ smooth muscle cell ผ่าน cyclic guanine monophosphate (cGMP) ควบคุม vasomotor tone โดย NO จะไปทำให้เกิด vasodilatation ยับยั้ง smooth muscle cell proliferation สนับสนุนการเกิด endothelial growth ควบคุมสมดุลของ hemostasis และการอักเสบของร่างกาย ได้แก่ การยับยั้ง platelet aggregation และการจับของเซลล์เม็ดเลือดขาวบนผนังหลอดเลือด (6, 42, 46) NO จึงเป็น mediator หลักที่สำคัญที่สุดในการควบคุมทำงานของหลอดเลือด หากเกิดพยาธิสภาพใดก็ตามที่ทำให้ NO bioavailability ลดลง จะทำให้เกิดภาวะที่เรียกว่า endothelial dysfunction

มีการศึกษาถึงความสำคัญทางคลินิกของภาวะพร่อง NO ที่มีผลต่อหลอดเลือด เกิดภาวะ endothelial dysfunction และทำให้เกิดโรค ได้แก่ ภาวะความดันโลหิตสูง (47) โดยทำการทดลองในหนู ทำให้เอนไซม์ NO synthase ลดลง การสร้าง NO ก็ลดลงเช่นกัน ทำให้ความดันโลหิตของหนูสูงขึ้นคือ mean arterial pressure สูงขึ้นกว่าหนูปกติ 20 mmHg (48, 49) ในขณะที่ทำการศึกษาในทางกลับกันคือ NO synthase เพิ่มขึ้น ปริมาณ NO สูงขึ้น พบว่าค่าเฉลี่ยความดันโลหิตทั้ง systolic, diastolic และ mean arterial pressure ลดลง 18 มม.ปรอท (50) ภาวะความดันในช่องปอดสูง (pulmonary hypertension) ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) อาจนำไปสู่การเกิดความพิการและเสียชีวิตจากโรคของระบบหัวใจและหลอดเลือดในอนาคตได้

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า NO มีคุณสมบัติ antithrombotic ของ endothelium คือไปมีผลยับยั้ง platelet aggregation โดยไปเพิ่มระดับโมเลกุล c-GMP ซึ่งไปยับยั้ง intracellular signaling ในเกล็ดเลือดในหลากหลาย pathway (51, 52)



รูปที่ 3 แสดงพยาธิสภาพของภาวะ chronic hemolysis ทำให้ nitric oxide bioavailability ลดลง ส่งผลให้เกิดภาวะ endothelial dysfunction และกระตุ้นให้เกิดการอักเสบของร่างกาย

Prostaglandin E2

Prostaglandin E2 (PGE2) เป็น prostaglandin ซึ่งสารกลุ่ม eicosanoids ที่มีปริมาณมากที่สุดในร่างกาย (53) สร้างจากเซลล์เกือบทุกชนิดในร่างกาย รวมทั้งเซลล์บุผนังหลอดเลือด โดย PGE2 มีหน้าที่หลายประเภท ทั้งมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เพิ่มการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ และเกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการอักเสบของร่างกาย แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดเหมือน prostacyclin มีการศึกษาในผู้ป่วย sickle cell anemia ที่มี acute vaso-occlusive sickle crisis พบว่ามีปริมาณของ endothelin 1 และ PGE2 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และลดลงหลังจากออกจากโรงพยาบาล 1-3 สัปดาห์ต่อมา แต่ยังมีระดับสูงกว่าคนปกติทั้ง endothelin 1 และ PGE2 เนื่องจาก endothelin 1 เป็นออกฤทธิ์เป็น vasoconstrictor ที่รุนแรงที่สุดตัวหนึ่ง และยังมีฤทธิ์กระตุ้นการอักเสบด้วย โดยถูกกระตุ้นให้สร้างเพิ่มขึ้นโดยภาวะขาดออกซิเจน และ shear stress ในผู้ป่วย sickle cell นั้น endothelin 1 นอกจากทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดเพิ่มขึ้นนำมาสู่การ

ขาดเลือดของเนื้อเยื่อต่างๆ เพิ่มขึ้นแล้ว ยังทำหน้าที่กระตุ้นให้ monocyte สร้าง PGE2 มากขึ้น โดย PGE2 มีฤทธิ์ทั้งเพิ่มการขยายตัวของหลอดเลือด และลดการอักเสบ อย่างไรก็ตามภายหลังจากออกจากโรงพยาบาลแล้วยังพบว่าผู้ป่วยมี sickle cell ยังมีระดับของ endothelin 1 และ PGE2 สูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ อาจชี้บ่งว่าผู้ป่วย sickle cell มีภาวะอักเสบเรื้อรังในร่างกาย (54) ในขณะการศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิด β -thalassemia HbE ในเด็กพบว่า มีระดับ endothelin 1 สูงขึ้นกว่าปกติ และการให้เลือดสามารถลดระดับ endothelin 1 ลงได้เหมือนคนปกติ (55) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ระดับ endothelin 1 ในพลาสมาของผู้ป่วยธาลัสซีเมียเพิ่มกว่าคนปกติเพียงร้อยละ 15-20 ไม่ได้เพิ่มขึ้นหลายเท่าเหมือนในผู้ป่วย sickle cell ดังนั้นจึงชี้บ่งว่าพยาธิวิทยาของผู้ป่วย sickle cell และ thalassemia มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลง PGE2 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียว่าเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกับผู้ป่วย sickle cell หรือไม่

ข้อมูลการศึกษาทดลองเกี่ยวกับ soluble thrombomodulin

ในภาวะปกติ endothelium ทำหน้าที่โดยหลังสารหลากหลายชนิดขึ้นกับหน้าที่ต่างๆดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ในสภาวะที่มี endothelial damage จะกระตุ้นให้ endothelium ทำงานเกิด pro-coagulant ที่ผิวหลอดเลือด โดยมีการเพิ่มขึ้นของ tissue factor, adhesive molecules และ binding sites ของ factor IX และ X และการหลังสาร plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) (56)

TM เป็น transmembrane proteoglycan ที่ผนังหลอดเลือดและหลอดน้ำเหลือง มีการตรวจพบในร่างกายส่วนอื่นแต่น้อยมากเมื่อเทียบกับ endothelium ได้แก่ epithelial cell, placenta, keratinocyte, smooth-muscle cell และ neutrophil โดยพบในรูปที่ไม่มีการทำงาน (57) หน้าที่ของ TM คือป้องกันเลือดแข็งตัว มีความสามารถจับกับ thrombin ได้ดีมาก ซึ่งจะไปยังยังการสร้าง fibrin ยับยั้งการกระตุ้นเกล็ดเลือด และทำให้ protein S ไม่ทำงาน นอกจากนี้ยังไปกระตุ้น protein C ให้เป็น activated protein C ซึ่งจะไปยังยับยั้งการทำงานของ factors Va และ VIIIa (26, 27, 56)

นอกจากพบที่ transmembrane แล้ว ยังสามารถตรวจพบในรูปของ sTM ซึ่งมาจาก cleaved transmembrane glycoprotein ซึ่งถูกกำจัดออกทางตับและไต (27, 56, 57)

ในเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่า TM ที่ผนังเซลล์ถูกกระตุ้นให้สร้างด้วยสารสังเคราะห์ cAMP และถูกสร้างน้องลงด้วยภาวะ hypoxia สาร interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor (TNF) และ lipopolysaccharide (LPS) (56) การศึกษาทางคลินิกพบระดับ sTM เพิ่มขึ้นในโรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดแดงแข็ง (58, 59) และมีรายงานการเพิ่มสูงขึ้นของ sTM ใน peripheral arterial disease

และ coronary artery disease (60, 61) อย่างไรก็ตามมีการศึกษา atherosclerosis risk in communities (ARIC) ในช่วงแรกของการศึกษา ไม่พบว่า sTM มีความสัมพันธ์กับ cardiovascular risk factors แต่พอติดตามคนไข้ไป 6 ปี พบว่าระดับ sTM ที่น้อยเป็นตัวพยากรณ์การเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (62) ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า การเพิ่มขึ้นของระดับ sTM สัมพันธ์กับการที่มีความผิดปกติของหลอดเลือดแล้ว แต่ไม่เกี่ยวข้องกับการที่มีเพียงปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือด

มีการศึกษาการเพาะเลี้ยง endothelial cell ในภาวะที่มีการใส่ TNF- α หรือ neutrophil อย่างเดียว และใส่ทั้ง 2 อย่าง พบว่า มีการเพิ่มขึ้นของ sTM เฉพาะในเซลล์ที่ใส่ทั้ง TNF- α และ neutrophil (63) และมีการศึกษาทางคลินิกพบว่าระดับ sTM สูงขึ้นอย่างมากในกลุ่มโรค vasculitis (64-66) ในการศึกษาสรุปว่า sTM เป็น marker ของการเกิด endothelial cell injury มากกว่าจะเป็นเพียง endothelial activation

Thrombomodulin ในโรคธาลัสซีเมีย

โรคธาลัสซีเมียมีภาวะการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ โดยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของ endothelium อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ มีรายงานการศึกษภาวะการแข็งตัวของเลือดผิดปกติในโรคธาลัสซีเมียยังจำกัด โดยพบว่าเกิดจากหลายกลไก มีการตรวจพบการเพิ่มขึ้นของ endothelial adhesive protein ได้แก่ ICAM-1, VCAM-1, von Willebrand factor และ TM บ่งชี้ว่ามีการทำให้เกิด endothelial activation (67, 68)

มีการศึกษาว่าระดับ sTM ใน alpha- and beta-thalassaemia ที่ไม่ถูกตัดม้าม สูงกว่าถูกตัดม้าม และในกลุ่มที่มีแผลเรื้อรังที่ขา จะพบระดับของ sTM สูงที่สุด สนับสนุนว่ามี vascular injury จริงในผู้ป่วยกลุ่มนี้ (69)

การทดสอบการทำงานของเยื่อผนังหลอดเลือด (endothelial function test)

การศึกษาเพื่อให้เกิดความเข้าใจใน vascular biology ของ endothelium นำไปสู่การทดสอบทางคลินิก เพื่อการประเมินคุณสมบัติและหน้าที่ต่างๆ ของ endothelium ที่ปกติและผิดปกติ (70) ซึ่งการทดสอบเหล่านี้ ควรจะไม่ทำให้เกิดอันตรายแก่ผู้เข้ารับการตรวจ ไม่เป็นอันตราย และเชื่อถือได้ มีมาตรฐานในการตรวจ และผลการตรวจควรจะได้ข้อมูลด้านการเกิดโรคหรือการเปลี่ยนแปลงก่อนการเกิดโรค (subclinical disease) การพยากรณ์โรค และความเสี่ยงทางคลินิกในอนาคต

ในแง่ของการทดสอบการทำงานของ endothelium แบ่งใหญ่ๆได้เป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. Endothelium-dependent vasomotion ซึ่งมีการวิธีการตรวจหลายอย่าง ซึ่งเทคนิคการตรวจแตกต่างกัน มีจุดเด่นหรือจุดด้อยที่แตกต่างกัน ซึ่งการตรวจด้วยวิธี FMD เป็นการตรวจที่มีมาตรฐานการตรวจที่ชัดเจนที่สุด และมีหลักฐานความสัมพันธ์กับข้อมูลทางคลินิกชัดเจนที่สุดดังตารางที่ 1 และมี accuracy และ reproducibility สูง (71)
2. Circulating markers of endothelial function เป็นการตรวจเลือดหา biological markers ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของหลอดเลือด เช่น NOx, sTM, von Willebrand factor (vWF), circulating endothelial cells (CEC), endothelin, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), E-selectin, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), P-selectin (35, 72) การตรวจ endothelial markers มีหลายชนิดและมีความสำคัญในการบ่งบอกความผิดปกติของหน้าที่ของ endothelium แตกต่างกัน ดังที่ได้แสดงในตารางที่ 2 (35) ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบกับ การตรวจ FMD ไว้ด้วยกัน

ตารางที่ 1 แสดงถึงคุณสมบัติของวิธีประเมิน endothelial function ทางคลินิก ที่มีในปัจจุบัน (72)

Technique (Outcome measure)	Noninvasive	Repeatable	Reproducible	Reflects biology	Reversible	Predicts outcome
Cardiac catheterization (change in diameter, change in coronary blood flow)	-	-	±	+	+	+
Venous occlusion plethysmography (change in forearm blood flow)	-	±	±	+	+	+
Ultrasound FMD* (change in brachial artery diameter)	+	+	±	+	+	+
Pulse wave analysis (PWA) (change in augmentation index)	+	+	±	+	-	-
Pulse contour analysis (PCA) (change in reflective index)	+	+	±	+	-	-
Pulse amplitude tonometry (PAT) (change in pulse amplitude)	+	+	±	+	-	-

*FMD เป็นมาตรฐานการตรวจในปัจจุบัน เป็นการประเมิน conduit artery endothelial function มีข้อมูลการศึกษาทางคลินิกที่เชื่อถือได้ มีความสัมพันธ์ทาง biology และสัมพันธ์กับ cardiovascular events

หลักการของการตรวจ FMD

วิธีการตรวจในการศึกษานี้อ้างอิงจาก guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery ของ Journal of American Society of Cardiology ปี ค.ศ. 2002 (73) และ ultrasound assessment of flow-mediated dilation จาก Hypertension journal ปี ค.ศ. 2010 (74)

โดยกลไกการตรวจใช้ laminar shear forces กระทำต่อหลอดเลือด และส่งผลให้มีการกระตุ้นโมเลกุลที่ควบคุม vasomotor tone ของหลอดเลือด โดยผ่าน ion channels ที่จำเพาะ ได้แก่ calcium-activated potassium channels ซึ่งจะเปิดออกเมื่อมี shearing force มากกระตุ้น (75, 76) การเปิดของ potassium channels ทำให้ endothelial cell เปลี่ยนสถานะเป็น hyperpolarize เพิ่มการผลึก calcium เข้าเซลล์ calcium ไปกระตุ้นเอนไซม์ endothelial nitric oxide synthase (eNOS) ทำให้มีการสร้าง NO เพิ่มขึ้น ไปกระตุ้น soluble guanylate cyclase ไปเปลี่ยน GTP เป็น CMP กระตุ้นใน smooth muscle คลายตัวเกิด vasodilatation เรียกว่า flow-mediated vasodilatation (77, 78) หรือเป็นการตรวจวัดความสามารถในการสร้าง NO ของ endothelial cells ในทางอ้อมนั่นเอง

มีการศึกษาหลอดเลือดของหนูทดลองที่ไม่มี eNOS (eNOS knockout mice) ยังคงสามารถตรวจพบ FMD ได้ ซึ่งพบว่าน่าจะเกิดจาก endothelium-derived prostanoids (79) ซึ่งแท้จริงแล้วอาจมี mediators หลายตัวทำงานร่วมกันในการสื่อสารระหว่าง endothelium และ smooth muscle ของหลอดเลือด ซึ่งการศึกษายังไม่ชัดเจนเท่ากับ NO ที่มีการศึกษามากมายและพบว่าเป็น mediators หลักในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือด

ปัจจัยที่แนะนำพิจารณาก่อนทำการศึกษามีดังนี้

1. ผู้เข้ารับการตรวจ

มีการศึกษาพบว่า การได้รับอาหารเสริมที่เป็นกลุ่ม antioxidant เช่น วิตามินซี วิตามินอี จะทำให้ FMD เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงแนะนำให้งดอาหารเสริมดังกล่าว ให้ทานอาหารปกติได้ (80) ส่วนยาที่มีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด เช่น nitrates, beta-blockers, calcium channel blockers แนะนำให้หยุดมากกว่าหรือเท่ากับ 4 ค่าครึ่งชีวิต (73) หรือยาในกลุ่ม NSAIDs, aspirin แนะนำหยุด 3 วัน การสูบบุหรี่หรือแม้กระทั่ง passive smoker จะทำให้การตอบสนอง FMD ลดลง (81, 82) ให้หยุดอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนเข้ารับการตรวจ กาแฟหรือเครื่องดื่มที่มีคาเฟอีน จะไปยับยั้ง soluble guanylate cyclase ทำให้การตอบสนอง FMD ลดลง แนะนำให้หยุดอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนเข้ารับการตรวจ (83, 84) ผลของระดับ estrogen และ progesterone ในร่างกายช่วงการมีประจำเดือน ทำให้ FMD เพิ่มขึ้น (85, 86) แนะนำตรวจในช่วง menstrual period ที่ใกล้เคียงกัน มีการศึกษาว่าการออกกำลังกายทำให้ FMD เพิ่มขึ้นในคนปกติ (87)

แนะนำให้หยุดออกกำลังกายอย่างน้อย 12 ชั่วโมงก่อนการตรวจ อาหารที่มีไขมันสูง ทำให้การตอบสนอง FMD ลดลง (88) แนะนำงดอาหาร 8-12 ชั่วโมง ก่อนมาตรวจหรือทานอาหารไขมันต่ำ เช่นนมพร่องมันเนย

2. การตรวจ FMD

Baseline arterial diameter มีความสำคัญในการคำนวณและประเมิน FMD การที่ขนาดหลอดเลือดที่ baseline เล็ก จะมีการตอบสนองต่อ FMD มากกว่าหลอดเลือดที่ baseline มีขนาดใหญ่ (89)

Repeated measurement ถ้าหากจะต้องมีการตรวจ FMD ซ้ำใหม่ แนะนำให้ห่างจากครั้งแรกอย่างน้อย 30 นาที (90)

ปัจจัยด้านตำแหน่งการพัน cuff เครื่องวัดความดันโลหิต มีการศึกษาพบว่า พัน cuff ที่แขนส่วนบน ทำให้ FMD มีค่ามากกว่า การพัน cuff ที่แขนส่วนล่าง (91) แต่ด้วยเทคนิคแล้ว การพันแขนส่วนล่างจะทำให้ความคลาดเคลื่อนในการวัดน้อยกว่า และการที่พัน cuff ที่แขนส่วนบนและวัด brachial artery จะมีผลของการทำให้เนื้อเยื่อขาดเลือดเข้ามาเป็น confounding factors ได้มากกว่าพัน cuff ที่แขนส่วนล่าง และวัดการเปลี่ยนแปลงของ shear stress ที่ brachial artery (92) สำหรับระยะเวลาการพัน cuff มีการศึกษาการพัน cuff นาน 5 นาที เทียบกับ 10 นาที พบว่า FMD ไม่ต่างกัน (93) เพื่อความสะดวกของผู้ป่วย จึงแนะนำให้ใช้ 5 นาที

3. การวิเคราะห์ FMD

การใช้เครื่องตรวจวัดอัตโนมัติ (edge detection software) เปรียบเทียบกับการวัด ด้วยคนวัด (manual measurement) มีการศึกษาว่าการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป edge detection software มาใช้ในการคำนวณต่างๆของการตรวจ FMD ง่าย เชื่อถือได้มากกว่า แต่หากไม่มีสามารถวัดโดยวิธี manual ได้ พบว่าไม่แตกต่างกัน มีความสัมพันธ์กันที่ $r=0.98$ (9)

การตรวจ FMD แบ่งเป็น 2 ระยะ

1. Endothelium-dependent FMD หรือเรียกว่าระยะ reactive hyperemia บ่งชี้การทำงานของ endothelium โดยตรง เพื่อทำการสร้าง NO เป็นหลัก ไปมีผลต่อการทำงานของ smooth-muscle cells อย่างไรก็ตามมี mediators บางอย่างเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย แต่หลักฐานยังไม่ชัดเจนมาก
2. Endothelium-independent vasodilation with nitroglycerin หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า nitrated mediated dilatation (NMD) บ่งถึงการทำงานของ smooth-muscle cells ต่อ exogenous nitroglycerine (NTG) โดยไม่ต้องอาศัยการทำงานของ endothelium หลักการคือตรวจหลังจากตรวจระยะแรกเสร็จแล้วอย่างน้อย 10 นาที เพื่อให้หลอดเลือดกลับมาสู่ baseline

จริงอีกครั้ง และใช้ exogenous NO donor เช่น NTG ในขนาด 0.4 mg ฟันหรืออมใต้ลิ้น มีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ยา NTG ชนิดฟันกับชนิดอมใต้ลิ้นในขนาดยา 0.4 มก. ที่เท่ากัน พบว่า NTG lingual spray ยี่ห้อ Nitrolingual ประเทศแคนาดา ออกฤทธิ์เร็วกว่าและนานกว่าชนิดอมใต้ลิ้น ยี่ห้อ Nitrostat ประเทศแคนาดา ที่ 2 นาที และ 15 นาที ตามลำดับ โดยใช้การทดสอบ FMD ในคนปกติ (93) เพื่อให้มี vasodilator ได้มากที่สุดโดยไม่ต้องผ่านกลไกการสร้าง NO โดย endothelium บ่งบอกโดยตรงถึงการทำงานของ vascular smooth muscle cells โดยจะมี vasodilatation มากที่สุดหลังจากได้ยาแล้ว 3-4 นาที

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาความผิดปกติของหลอดเลือด ด้วยวิธีต่าง ๆ กัน รวมถึงการตรวจหา biomarkers ที่สำคัญแต่ละชนิด ที่บ่งชี้ถึงความผิดปกติในการทำงานของ endothelium (35)

Marker	Endothelial activation	Endothelial dysfunction	Endothelial damage/injury	Prognosis
vWF	Yes	Yes	Yes	Yes
sTM	No	No	Yes	Yes
E-selectin	Yes	No	No	? (may be in CAD)
FMD	No	Yes	No	? (prognostic in hypertension)
CED	No	No	Yes	?
Endothelin	No	Yes	Yes	Yes

(vWF= von Willibrand factor, sTM=soluble thrombomodulin, FMD=flow-mediated dilatation, CED=circulating endothelial cell, CAD=coronary artery disease)

จากข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบัน แนะนำการตรวจ endothelial function แบบบูรณาการ คือเป็นผลรวมการทำงานของ endothelium โดยตรวจทั้ง endothelial function และ biomarkers ร่วมกับการใช้ข้อมูลของ risk factors และการตรวจอัลตราซาวด์ดูลักษณะทางกายภาพของหลอดเลือดด้วยวิธีอื่นๆ เช่น carotid intima media thickness, intravascular ultrasound ดูหลอดเลือดหัวใจ หรือการตรวจเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ และวัด cardiovascular outcome ในงานวิจัยทางคลินิก

หลักฐานภาวะ endothelial dysfunction ในโรคธาลัสซีเมีย

มีการศึกษา endothelial dysfunction ในกลุ่มโรค thalassemia major มากกว่า และมีมากมายในโรค sickle cell disease โดยพบว่าการหนาตัวของ carotid artery และ endothelial dysfunction แสดงถึงการลดลงของ NO bioavailability ทั้งๆ ที่มีการเพิ่มขึ้นของ eNOS (9) และมีการศึกษาพบว่ามี arterial stiffness, endothelial dysfunction และ LV hypertrophy ใน thalassemia major สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ left ventricular mass index (28)

ในผู้ป่วย sickle cell anemia ที่อายุน้อยกว่า 45 ปี และไม่มีปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหัวใจ ตรวจพบ impaired FMD และ preserved NMD มี arterial stiffness และ diastolic dysfunction (94)

มีการศึกษาในผู้ป่วย β -thalassemia/HbE ในประเทศไทย พบว่าภาวะแทรกซ้อนสัมพันธ์กับ iron overload มีระดับ oxidative stress สูงขึ้น และพบภาวะ endothelial dysfunction ระดับของ FMD ที่ลดลง สัมพันธ์กับอายุ ระดับ hemoglobin และระดับของเหล็กอิสระในเลือด โดยที่สามารถใช้ FMD ประเมิน endothelial dysfunction ในทางคลินิก และเป็น independent predictor ของการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (11) อย่างไรก็ตามยังขาดแคลนการศึกษาที่ชัดเจนในคนไข้ผู้ใหญ่ที่เป็น β -thalassemia/HbE

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

Cross sectional analytical study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

3.2.1 ประชากร (population) และตัวอย่าง (sample)

ประชากรเป้าหมาย (target population): ผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย β -thalassemia/HbE

ประชากรตัวอย่าง (sample population): ผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย β -thalassemia/HbE ที่
รับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

3.2.2 การนำผู้ป่วยเข้าศึกษา (enrollment): ผู้ป่วยทุกรายที่เข้าเกณฑ์การศึกษาตามลำดับ

เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (inclusion criteria)

- ผู้ป่วยที่เป็นโรคธาลัสซีเมีย ชนิด β -thalassemia/Hb E
- อายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป
- ระดับ hemoglobin <10 ก./ดล.

เกณฑ์ในการคัดเลือกรอกจากการศึกษา (exclusion criteria)

- ผู้ป่วยตั้งครรภ์
- ผู้ป่วยให้นมบุตร
- ผู้ป่วยมีภาวะไตวายเรื้อรัง glomerular filtration rate (GFR) < 60 มล./นาที/1.73 ตร.ม.)
- ผู้ป่วยเบาหวาน (fasting blood sugar (FBS) \geq 126 มก./ดล., HbA1C \geq 6.5% หรือได้รับยาลดระดับน้ำตาลในเลือดอยู่)
- ผู้ป่วยความดันโลหิตสูง (blood pressure \geq 140/90 มม.ปรอท หรือได้รับยารักษาความดันโลหิตสูงอยู่)
- ผู้ป่วยมีโรคหัวใจ (การทำงานของหัวใจปกติจากการตรวจ echocardiography หรือมีโรคหัวใจเต้นผิดจังหวะชนิด atrial fibrillation)
- มีประวัติใช้ยาต้านการอักเสบ NSAIDs, aspirin หรือยาสเตียรอยด์ ภายภายใน 2 สัปดาห์ที่ผ่านมา

- มีประวัติใช้ประจำอื่นนอกจาก iron chelator หรือยาบำรุง เช่น ธาตุเหล็ก โพลีค
- มีประวัติการสูบบุหรี่

3.2.3 ขนาดตัวอย่าง (sample size)

สูตรคำนวณกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่าง 2 กลุ่ม มีกลุ่มทดลองและกลุ่ม

$$N = \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma^2}{(X1-X2)^2}$$

$$X1 = 15.6 \text{ นาโนโมล/ล. } n = 40$$

$$X2 = 8.2 \text{ นาโนโมล/ล. } n = 30$$

X1 = Nitric oxide levels in children with thalassemia intermedia

X2 = Nitric oxide levels in healthy children

(เอกสารอ้างอิงจาก J Child Neurol 2010;25:1473)

กลุ่มศึกษา β -thalassemia/Hb E 40 ราย

กลุ่มควบคุม 40 ราย (age- and sex-matched)

อัตราส่วนกลุ่มตัวอย่างต่อกลุ่มควบคุม เป็น 1:1

หมายเหตุ: กลุ่มควบคุม

กลุ่มควบคุมคืออาสาสมัครที่เป็นคนปกติ สุขภาพแข็งแรง ไม่มีโรคหรือไม่มีอาการหรืออาการแสดงที่บ่งบอกถึงการมีโรคประจำตัว เช่น โรคโลหิตจาง เบาหวาน โรคหัวใจ โรคไต โรคหลอดเลือดสมอง เป็นต้น และเคยได้รับการตรวจสุขภาพจากโรงพยาบาลภายใน 1 ปี แล้วไม่พบความผิดปกติ และได้รับการตรวจ Hb typing โดยวิธี isoelectric focusing electrophoresis (IEF) หรือ high-pressure liquid chromatography (HPLC) แล้วไม่พบว่าเป็นพาหะหรือเป็นโรคธาลัสซีเมีย

กลุ่มประชากรควบคุมที่เป็นอาสาสมัครปกติ ติดต่อเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยแจ้งให้เจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทราบโดยทั่วไป ที่เคยเข้ารับการตรวจสุขภาพประจำปีและไม่พบความผิดปกติทั้งการตรวจร่างกายและการตรวจทางห้องปฏิบัติการ จากนั้นขอความยินยอมเข้าร่วมโครงการ โดยการสุ่มเลือกจากคนที่เป็นเพศเดียวกันและอายุไม่ต่างกับกลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่เกินกว่า 5 ปี (age- and sex-matched control)

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ประกอบด้วย เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ต่างๆ

- 3.3.1 เครื่องตรวจคลื่นเสียงความถี่สูง เพื่อใช้สำหรับการตรวจ FMD และการตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจ (echocardiography) ดังจะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป
- 3.3.2 สายตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ 3 จุด
- 3.3.3 เครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับวิเคราะห์ผล โดยที่จะต้อง มี software Xcelera ในระบบ cardiovascular information system (CVIS) ของบริษัท Philips ประเทศเนเธอร์แลนด์ เพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูล
- 3.3.4 โปรแกรม Xcelera คือ ระบบการจัดการข้อมูล ที่รวบรวมเอาการตรวจทางระบบหัวใจและหลอดเลือดมารวมเข้าด้วยกัน (multi-modality image management system) สำหรับการเรียกดูภาพ ผลรายงานการตรวจ มีระบบการวิเคราะห์และวัดค่าต่างๆอย่างมีมาตรฐานของบริษัท Philips ประเทศเนเธอร์แลนด์
- 3.3.5 Sever สำหรับเก็บข้อมูลภาพการตรวจทั้งหมด
- 3.3.6 External hard disk ความจุ 1 terabytes สำหรับเก็บข้อมูลสำรอง
- 3.3.7 อุปกรณ์สำหรับการตรวจหา NO prostacyclin และ TM
- 3.3.8 เครื่องปั่น centrifuge
- 3.3.9 ตู้เย็นเก็บอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส
- 3.3.10 commercial kit test สำหรับตรวจหา NOx, prostacyclin และ TM แบบ 96-well strip plate ยี่ห้อ R&D system ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.11 เครื่องวัดความดันโลหิตแบบชนิดปรอท (sphygmomanometer)
- 3.3.12 เครื่องวัดความดันอัตโนมัติ
- 3.3.13 เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดดิจิตอล
- 3.3.14 เครื่องวัดส่วนสูง
- 3.3.15 นาฬิกาจับเวลา
- 3.3.16 Nitroglycerine spray ยี่ห้อ Nitromint ความเข้มข้น 0.4 mg/spray
- 3.3.17 อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ เจลสำหรับตรวจ ทิชชู กระดาษ อุปกรณ์สำนักงานต่างๆ

การตรวจ FMD มีรายละเอียดของอุปกรณ์ดังนี้

1. เครื่องตรวจคลื่นเสียงความถี่สูง สามารถแสดงคลื่นไฟฟ้าหัวใจได้ ยี่ห้อ Philips รุ่น EPIQ 5G หรือ 7C ผลิตจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ตัวอย่างดังรูป



2. หัวตรวจหลอดเลือดแดง ยี่ห้อ Philips รุ่น L12-3 ช่วงความถี่ 12-3 MHz ชนิด linear array สำหรับตรวจ vascular ได้แก่ carotid, arterial และ venous ผลิตจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ตัวอย่างดังรูป (หัวตรวจ vascular ควรมีความถี่ตั้งแต่ 10 MHz ขึ้นไป)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



3. อุปกรณ์สำหรับยึดหัวตรวจ (stereotactic device)
4. สายตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ 3 จุด

5. Software ของเครื่องตรวจ ที่สามารถถ่ายภาพเคลื่อนไหวเป็นวิดีโอได้นานอย่างน้อย 1 นาที ติดต่อกันแบบไปข้างหน้า (prospective recording)

การตรวจ echocardiography มีรายละเอียดของอุปกรณ์ดังนี้

1. เครื่องตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจความถี่สูง สามารถแสดงคลื่นไฟฟ้าหัวใจได้ ยี่ห้อ Philips รุ่น EPIQ 5C, EPIQ 7C, CX 50 หรือ IE33 ผลิตจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ตัวอย่างดังรูป



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2. หัวตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจความถี่สูง ชนิด phased array รุ่น S5-1 บริษัท Philips ประเทศเนเธอร์แลนด์



3.4 การสังเกตและการวัด

3.4.1 ขั้นตอนการดำเนินการตรวจ

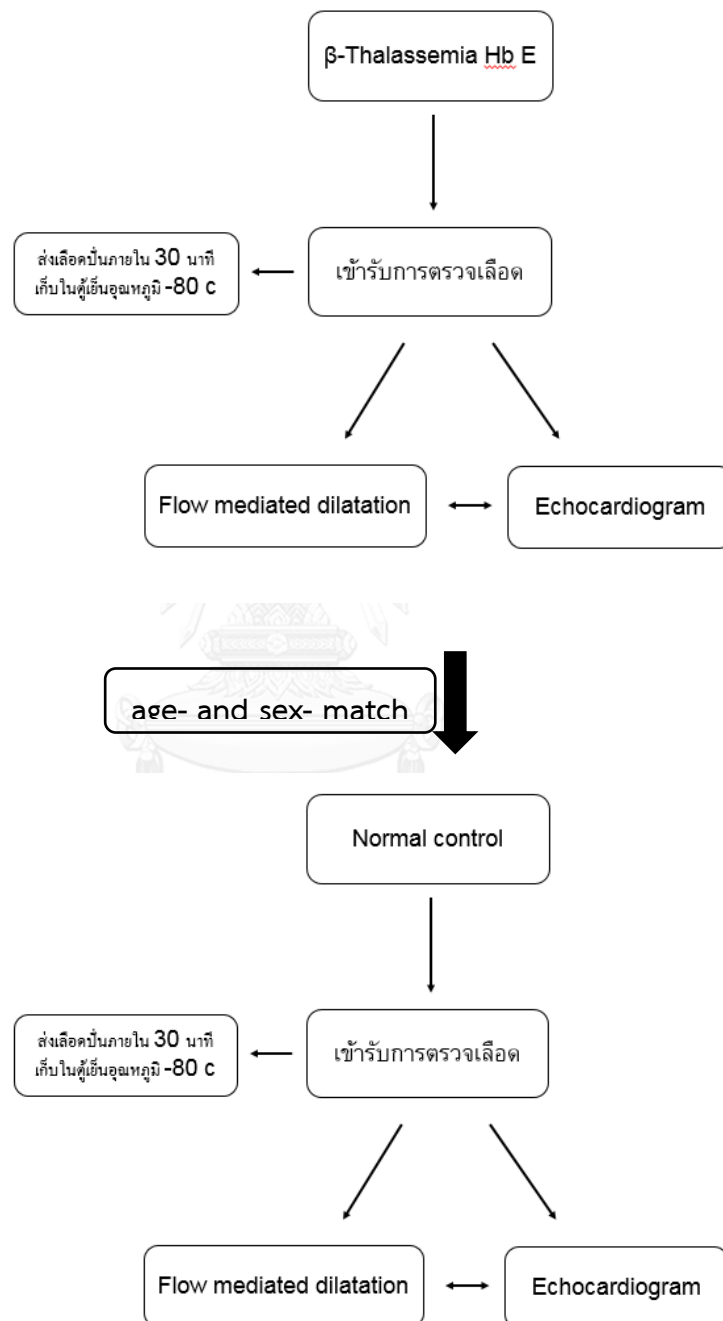
- ดำเนินการผ่านขั้นตอนการขออนุมัติดำเนินงานวิจัย จากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ติดต่อผู้ช่วยวิจัย ได้แก่ แพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาวิชาโรคหัวใจและหลอดเลือด พยาบาลและผู้ช่วยพยาบาลประจำห้องตรวจ non-invasive เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ sonographer ประจำห้องตรวจ non-invasive
- คัดเลือกประชากรที่จะนำมาศึกษา จากกลุ่มผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียเบต้าอี ที่มาพบแพทย์ผู้ดูแลเฉพาะทางด้านโลหิตวิทยา ที่คลินิกโรคเลือด ภาปร. 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แบบสุ่มจำนวน 40 ราย
- ให้ข้อมูลทั้งหมดเกี่ยวกับงานวิจัยและการตรวจที่อาสาสมัครจะได้รับ พร้อมกับให้เอกสารข้อมูลโครงการวิจัยให้ผู้ป่วยได้อ่านทุกคน และอธิบายด้วยวาจาและตอบข้อสงสัยที่มี
- การยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ขึ้นอยู่กับความสมัครใจ ปราศจากการชักจูงทุกกรณี และหากอาสาสมัครยินยอมเข้าร่วมโครงการ จึงทำนัดวันตรวจพร้อมทั้งคำแนะนำในการปฏิบัติตัวก่อนมารับการตรวจจริง
- ตรวจสอบฐานข้อมูลผู้ป่วยว่าเคยได้รับการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ การตรวจเม็ดเลือด (complete blood count, CBC) การตรวจค่าการทำงานของไต ตับ ระดับ ferritin ระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น หากไม่เคยได้รับการตรวจมาก่อนภายใน 3 เดือน จะทำการตรวจให้ใหม่ในวันที่มาเข้ารับการตรวจในโครงการวิจัย

- ประชุมเตรียมความพร้อมในทีมวิจัย และจัดเตรียมอุปกรณ์ สถานที่ ให้เรียบร้อย ก่อนวันตรวจจริงอย่างน้อย 1 วัน
- วันนัดตรวจจริง ให้อาสาสมัครมารับการตรวจตามเวลานัด ที่ห้องตรวจ non-invasive ดีก จุมภฏฯ ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- เมื่ออาสาสมัครมาถึงห้องตรวจ จะมีผู้ช่วยวิจัยคอยให้คำแนะนำผู้ป่วยเมื่อมาถึงห้องตรวจ
- ผู้ช่วยวิจัยอธิบายขั้นตอนการตรวจโดยละเอียดอีกครั้ง
- ให้อาสาสมัครเซ็นด์ชื่อยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยทุกราย ก่อนเริ่มทำการตรวจจริง ในวันที่มารับการตรวจ
- หลังจากเซ็นด์ชื่อยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ให้ลำดับคิวในการเข้าตรวจ
- จากนั้นให้อาสาสมัครเปลี่ยนชุดสำหรับการตรวจ FMD และ echocardiography เตรียมรอ
- ผู้ช่วยวิจัย ทำการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักดิจิทัล วัดส่วนสูงด้วยอุปกรณ์สำหรับวัดส่วนสูงโดยเฉพาะ
- วัดความดันโลหิต ซีพจร และออกซิเจนปลายนิ้ว ด้วยเครื่องอัตโนมัติ
- ผู้ช่วยวิจัยคอยดูแลให้อาสาสมัครได้รับการตรวจถูกต้องตามขั้นตอนทั้งหมด โดยได้จัดทำสติ๊กเกอร์ระบุลำดับการตรวจที่ต้องได้รับสำหรับผู้ป่วยแต่ละราย โดยเมื่อเข้าตรวจในขั้นตอนใดเสร็จแล้ว จะให้ผู้ช่วยวิจัยทำเครื่องหมายกากบาทว่าได้รับการตรวจดังกล่าวแล้ว
- การตรวจแบ่งออกเป็น 3 สถานี คือ สถานีเจาะเลือด สถานีตรวจ flow mediated dilatation และสถานี echocardiography
- อาสาสมัครทุกราย จะเข้ารับการตรวจเลือดก่อนเป็นอันดับแรก โดยเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำที่แขน นำเลือดที่ได้ใส่ EDTA tube 4 มล. นำไปปั่นภายในระยะเวลาไม่เกิน 30 นาที โดยใช้เครื่อง centrifuge ปั่นด้วยความเร็ว 1,000 g นาน 15 นาที เพื่อให้ได้พลาสมา จากนั้นนำไปเก็บที่ตู้เย็นอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส
- หลังจากตรวจเสร็จในแต่ละการศึกษา ให้ผู้ป่วยเข้าคิวรอรับการตรวจอีกอย่างต่อไป
- จากนั้นให้เข้ารับการตรวจ FMD และ echocardiography โดยมีวิธีการตรวจ ดังที่ได้กล่าวต่อไป
- นั่งพักรอก่อนเข้ารับการตรวจ FMD อย่างน้อย 20 นาที
- ผู้วิจัยหลักทำการตรวจ FMD
- ผู้ช่วยวิจัย ได้แก่ แพทย์ประจำบำบัดยอดสาขาโรคหัวใจและหลอดเลือด หรือนักวิทยาศาสตร์ sonographer ทำการตรวจ echocardiography ตาม protocol ซึ่งจะกล่าวถึงต่อไป

- ก่อนการตรวจ FMD จะทำการวัดความดันโลหิตให้กับอาสาสมัครอีกครั้งด้วยเครื่องดิจิตอล เพื่อให้ได้ข้อมูลความดันโลหิตตรงตามกับสภาวะขณะที่เข้ารับการตรวจจริง
- การตรวจ FMD และ echocardiography ใช้ระยะเวลาการตรวจอย่างละประมาณ 20-30 นาที
- หลังจากตรวจเสร็จแล้ว ให้เฝ้าดูอาการผิดปกติของผู้ป่วยที่ห้องรอตรวจอีก 15 นาที หากไม่มีอาการผิดปกติ เช่น เวียนศีรษะ หน้ามืด คลื่นไส้ อาเจียน จึงอนุญาตให้กลับบ้านได้
- โดยเฉลี่ยแล้ว จะใช้เวลาสำหรับการตรวจทั้งหมดในวันนัดตรวจประมาณ 1-2 ชั่วโมงต่อผู้ป่วย 1 ราย
- หากมีอาการผิดปกติ ผู้ช่วยวิจัยจะตามผู้วิจัยหลักเข้าตรวจประเมินอาการของอาสาสมัคร และให้การรักษาตามความเหมาะสม อย่างไรก็ตามการตรวจในโครงการไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรือผลข้างเคียงใดๆกับอาสาสมัคร
- อาสาสมัครที่ได้รับการตรวจครบแล้ว จะติดต่อผู้ช่วยวิจัยอีกครั้ง เพื่อตรวจสอบเอกสารขั้นตอนการตรวจของอาสาสมัครแต่ละรายว่ามีข้อมูลครบถ้วน และเข้ารับการตรวจครบทุกขั้นตอนจริง
- ให้คำแนะนำแก่อาสาสมัครว่าหากมีอาการผิดปกติใด สามารถโทรติดต่อปรึกษากับผู้วิจัยหลัก ได้ตลอด 24 ชั่วโมง
- ผู้ช่วยวิจัยตรวจสอบข้อมูลการตรวจ FMD และ echocardiography ว่าได้ถูกส่งไปยัง server สำหรับเรียกข้อมูลมาวิเคราะห์ผลเรียบร้อยแล้ว ครบถ้วนทุกราย
- ขั้นตอนต่อมา ดำเนินการเตรียมการเก็บตัวอย่างประชากรกลุ่มควบคุม โดยให้มีเพศและอายุตรงกับประชากรกลุ่มโรคฮาล์สซีเมีย (age-sex match) อายุแตกต่างกันไม่เกิน 5 ปี
- ประกาศให้เจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ว่าไม่มีโครงการขอรับอาสาสมัครที่แข็งแรง และตรวจสุขภาพประจำปีสม่ำเสมอและไม่พบความผิดปกติ ไม่มีโรคประจำตัว เข้าร่วมโครงการโดยสมัครใจ
- ผู้ช่วยวิจัยรับข้อมูลอาสาสมัครปกติที่แจ้งความจำนงเข้ารับการตรวจ
- ผู้วิจัยและผู้ช่วยวิจัย ดำเนินการจับคู่เพศที่ตรงกับประชากรกลุ่มโรคฮาล์สซีเมีย และอายุที่ตรงกันหรือต่างกันไม่เกิน 5 ปี จากนั้นติดต่อกลับไปหาอาสาสมัครที่แสดงความจำนงเข้าร่วมโครงการ และให้คำแนะนำข้อมูลเกี่ยวกับโครงการและขั้นตอนการตรวจทั้งหมด พร้อมทั้งทั้งตอบคำถามที่อาสาสมัครสงสัย
- หากผู้ป่วยเข้าใจรายละเอียดของโครงการ และยินดีเข้าร่วมโครงการ จึงดำเนินการนัดหมายวันที่จะเข้ารับการตรวจให้กับอาสาสมัครปกติ

- วันที่อาสาสมัครปกติเข้ารับการตรวจ จะมีเอกสารโครงการ คำแนะนำ และหนังสือยินยอมให้ผู้ป่วยศึกษาก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย
- ผู้วิจัยและผู้ช่วยวิจัย ให้คำแนะนำเกี่ยวกับโครงการวิจัย และตอบข้อซักถามที่อาสาสมัครสงสัย
- จากนั้นให้อาสาสมัครปกติเซ็นต์ชื่อยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ก่อนเข้ารับการตรวจจริง
- ดำเนินการขั้นตอนหลังจากนี้ เหมือนกับอาสาสมัครอาสาสมัครทุกขั้นตอน
- เมื่อได้รวบรวมอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มครบแล้ว ได้ทำการตรวจหาระดับ NOx PGE2 และ TM โดยใช้ commercial assay kit test ซึ่งได้มาตรฐานจากบริษัท R&D systems ประเทศสหรัฐอเมริกา
- ขั้นตอนวิธีการเก็บส่งตรวจและเทคนิคการตรวจได้ติดต่อให้เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ ที่มีความเชี่ยวชาญของทางสาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ เป็นผู้ทำการตรวจให้ โดยใช้สถานที่ตรวจเป็น ห้องปฏิบัติการของทางสาขาวิชาโลหิตวิทยา ที่ตึก อปร. ชั้น 11
- ระบุสิ่งส่งตรวจและการตรวจอื่นๆ เป็นรหัสของอาสาสมัครแต่ละราย ไม่มีการเปิดเผยชื่อโดยไม่ได้รับอนุญาตจากอาสาสมัคร
- ทำการวิเคราะห์ข้อมูล FMD และ echocardiography โดยโปรแกรม Xcelera ที่เครื่องคอมพิวเตอร์ ของห้องตรวจ non-invasive ตึกจุมภฏฯ ชั้น 3
- ผู้ทำการวิเคราะห์ FMD คือผู้วิจัยหลัก
- ผู้ทำการวิเคราะห์ echocardiography คือ ผู้วิจัยหลักและผู้ช่วยวิจัย
- ให้ผู้ช่วยวิจัยสุ่มวิเคราะห์การศึกษา FMD และ echocardiography อย่างละ 10 ราย และมาคำนวณหาความเชื่อถือได้ของการวัดของแต่ละคน (inter-examiner reliability) และมาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)
- เก็บข้อมูลที่ได้ทั้งหมดลงในโปรแกรม excel โดยผู้ทำการวิจัย
- การบันทึกข้อมูลไม่มีการระบุชื่อของผู้ป่วยหรือเลขบัตรของโรงพยาบาล โดยจะจัดเก็บเป็นลำดับที่ตามการเข้าร่วมโครงการก่อน-หลังแทน
- ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลทั้งหมดจนครบ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ
- ใช้โปรแกรมสถิติ SPSS version 16.0
- หลังจากได้ทำการวิเคราะห์ผลลัพธ์เสร็จเรียบร้อยแล้ว จะนำเสนอข้อมูลในวิทยานิพนธ์ หรือการนำเสนอข้อมูลในที่สาธารณะ โดยที่ไม่มีการระบุทราบชื่อของผู้ป่วย
- การเก็บข้อมูลผู้ป่วยในงานวิจัยนี้ จะไม่ส่งผลกระทบต่อการวินิจฉัยและการรักษาตามมาตรฐานที่ผู้ป่วยที่ได้รับมาก่อนหน้านี้

- อาสาสมัครอาจมีอาการเจ็บบริเวณที่ได้รับการตรวจ เช่น แขนด้านขวา ผนังหน้าอก เนื่องจากเทคนิคการตรวจ แต่จะหายได้เองภายใน 1-2 วัน



รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนการดำเนินการตรวจในโครงการวิจัย

3.4.2 ขั้นตอนและเทคนิคการตรวจ

3.4.2.1 การตรวจ Flow-mediated vasodilatation

อ้างอิงขั้นตอนการตรวจ จากบทความเรื่อง guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the international brachial artery reactivity task force ตีพิมพ์ในวารสาร Journal of American College of Cardiology [77] ซึ่งได้รับการยอมรับเป็นสากล

3.4.2.1.1 ผู้เข้ารับการตรวจ

- อดอาหารและน้ำอย่างน้อย 8 ชั่วโมงก่อนทำการตรวจ
 - งดชาหรือกาแฟหรืออาหารที่มีไขมันสูงก่อนเข้ารับการตรวจ 6 ชั่วโมง
 - นอนพักในห้องเงียบ อุณหภูมิประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 10 นาที
 - ติด electrocardiogram (ECG) electrode 3 จุด ต่อเข้ากับเครื่องตรวจคลื่นเสียงความถี่สูง
 - วัดความดันโลหิตด้วยเครื่องวัดความดันอัตโนมัติ บริเวณต้นแขนข้างซ้าย และจดบันทึกค่าที่วัดได้
 - ให้นอนในท่านอนหงาย ปล่อยตามสบาย หงายมือและกางแขนออกเล็กน้อย พร้อมแนะนำไม่ให้ขยับแขนในระหว่างการตรวจ
 - มีผู้ช่วยวิจัย คอยช่วยในระหว่างขั้นตอนการตรวจทั้งหมด อย่างน้อย 1 คน
- การเก็บภาพ
- ใช้เครื่องวัดความดันโลหิตชนิดปรอท (sphygmomanometer) สำหรับผู้ใหญ่ พัน cuff ที่ท่อนแขนส่วนล่าง (forearm) ด้านขวา
 - เก็บภาพ baseline ของ brachial artery แบบ 2D longitudinal plane ห่างจาก pressure cuff 5-10 ซม. เหนือต่อ antecubital fossa นานอย่างน้อย 30 วินาที
 - เก็บภาพ baseline ขณะพัก ของ blood flow โดย pulsed Doppler velocity ที่ตำแหน่ง mid brachial artery
 - ตำแหน่งที่ใช้วัดคือจุดที่กว้างที่สุดของหลอดเลือด ในช่วง end-diastole หรือจุดเริ่มต้นของ R wave โดยใช้ภาพ 2D gray scale และ M-mode โดยพยายามให้ภาพอยู่ตำแหน่งเดิมตลอดการศึกษา และภาพกายภาพที่เห็นรอบๆเหมือนเดิม เช่นตำแหน่งหลอดเลือดดำ ภาพ fascia เป็นต้น

3.4.2.1.2 ขั้นตอนการตรวจ

แบ่งการตรวจออกเป็น 2 ช่วง ดังนี้

- a. Endothelium-dependent FMD หรือที่เป็นการกระตุ้นให้หลอดเลือดเกิดภาวะ reactive hyperemia
- b. Endothelium-independent vasodilatation with nitroglycerin หรือที่เป็นการให้ exogenous NO โดยยา nitroglycerin แล้วดูการตอบสนองของหลอดเลือดว่ายังมี ความผิดปกติหรือไม่ เป็นการตรวจการทำงานของ smooth muscle

Endothelium-dependent FMD: reactive hyperemia

- ตรวจสอบตำแหน่งการวางวัดความดันโลหิตที่ตำแหน่งแขนส่วนล่าง
- จากนั้นบีบเพิ่มความดันเครื่องวัดความดันโลหิตชนิดปรอท ให้สูงกว่าระดับความดันสูงสุดที่ วัดได้ของผู้ป่วยจากแขนด้านซ้าย ประมาณ 50 มม.ปรอท นาน 5 นาที จากนั้นปล่อยความดัน ลง
- เก็บภาพ brachial artery ตำแหน่งเดียวกับ baseline แบบต่อเนื่อง โดยเก็บภาพนาน 30 วินาที ก่อนปล่อยความดันลง
- ส่งสัญญาณให้ผู้ช่วยวิจัย พร้อมปล่อยความดันลง โดยระวังไม่ให้ผู้ป่วยขยับแขน
- เก็บภาพ brachial artery แบบ 2D gray scale ติดต่อกันนาน 2 นาที ตั้งแต่ปล่อย cuff จน สิ้นสุด
- เก็บ mid-artery pulsed Doppler signal ตั้งแต่ลดความดันลงทันที หรือไม่เกิน 15 วินาที อย่างน้อย 3 beats

Endothelium-independent vasodilatation with nitroglycerin

- หยุดพักอย่างน้อย 10 นาทีหลังจากตรวจ reactive hyperemia
- เก็บภาพ baseline ของ brachial artery แบบ 2D longitudinal plane ห่างจาก pressure cuff 5-10 ซม. เหนือต่อ antecubital fossa นานอย่างน้อย 30 วินาที
- ฟัน 0.4 มก. ของยา nitroglycerine บริเวณใต้ลิ้น
- หลังจากให้ยาประมาณ 3 นาที เก็บภาพ brachial artery ตำแหน่งเดิมแบบต่อเนื่องนาน 1 นาที และเก็บ mid-artery pulsed Doppler signal อย่างน้อย 3 beats

3.4.2.1.3 การวิเคราะห์ภาพ

- ตรวจสอบความเรียบร้อยและครบถ้วนหลังจากเก็บภาพเรียบร้อยแล้ว
- ปิดการตรวจในผู้ป่วยแต่ละราย พร้อมส่งภาพเข้า server
- วัด diameter ของ brachial artery โดยตำแหน่งที่วัดคือจุดที่กว้างและเห็นชัดที่สุดของเส้น เลือด ในตำแหน่งเหมือนกับที่ใช้วัดในช่วง baseline และเริ่มทำการทดสอบ
- วัดจากตำแหน่ง intima ถึง media

- วัด 3 จุด ใน (รูปที่ 3) แต่ละ cardiac cycle และวัด 10 cardiac cycles
- ค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย
- วัดค่าทั้งหมด 3 ช่วง คือ ช่วงเริ่มต้นเป็น baseline diameter ช่วงต่อมาคือ ช่วงหลังจากคลาย cuff วัดความดันแล้วประมาณ 1 นาที และช่วงหลังจากให้ nitroglycerin แล้ว 4 นาที
- ตำแหน่งที่วัดคือ ตำแหน่งของ R wave จาก electrocardiogram (ECG) ซึ่งจะตรงกับช่วง end diastole และใช้จุดนี้ในทุกช่วงเวลาทำการวัดให้เหมือนกัน
- ค่าที่วัดได้มาคำนวณหาค่าร้อยละที่เปลี่ยนแปลงไป (%FMD) เปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการทดสอบ ซึ่งใช้ค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงที่มากที่สุด (maximum percentage change) เมื่อเทียบกับ baseline ดังสูตร

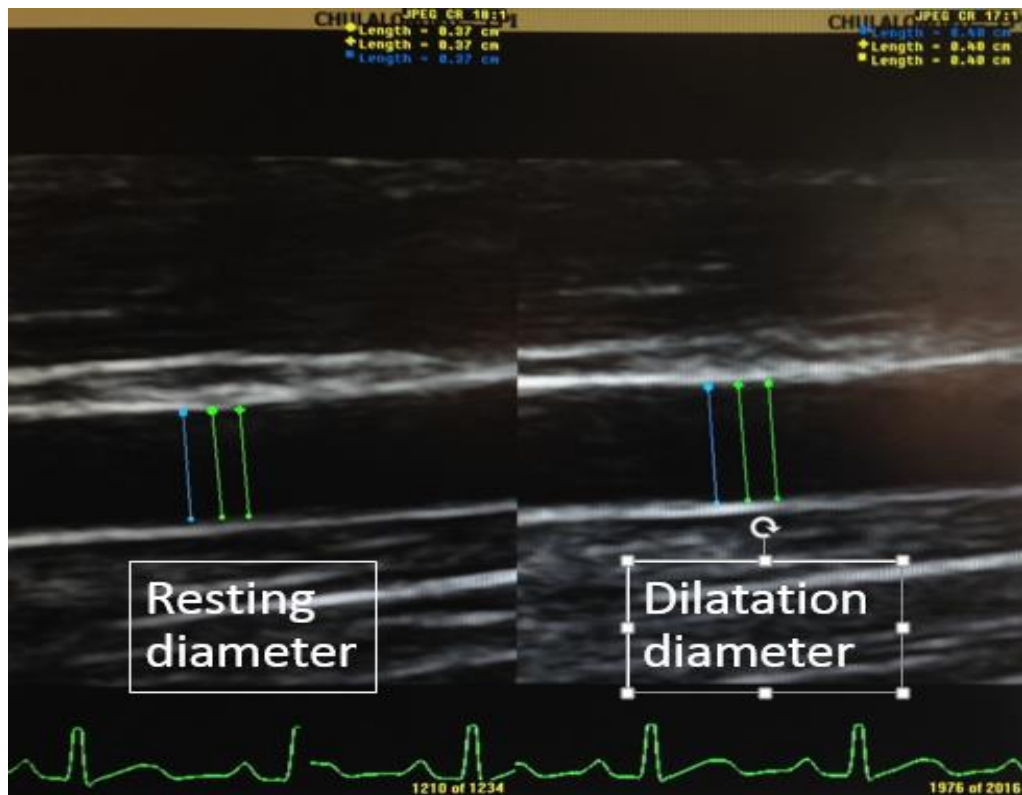
$$\%FMD = \frac{\text{Peak diameter} - \text{baseline diameter}}{\text{Baseline diameter}}$$

- วัดค่าที่เปลี่ยนแปลงไปของ diameter
- ค่า %FMD หลังตรวจ reactive hyperemia 1 นาที เรียกเป็น FMD1
- ค่า %FMD หลังพ่น nitroglycerine 4 นาที เรียกเป็น FMD2

3.4.2.2 การตรวจ Echocardiography

3.4.2.2.1 ผู้เข้ารับการตรวจ

- หากรับการตรวจต่อจากการตรวจ FMD ให้รอจนระยะห่างจากการตรวจ FMD ประมาณ 10 นาที
- นอนพักในห้องเงียบ หายใจธรรมดาไม่ลึกหรือแรงจนเกินไป
- ติด ECG electrode 3 จุด ต่อเข้ากับเครื่องตรวจคลื่นเสียงความถี่สูง
- ให้นอนในท่าตะแคงซ้าย หรือในท่าที่ทำให้ภาพจากการตรวจเห็นได้ชัดเจนที่สุด
- มีเจ้าหน้าที่อยู่ในห้องตรวจพร้อมผู้ช่วยวิจัยทำการตรวจอย่างน้อย 1 คน



รูปที่ 5 ตัวอย่างแสดงการวัดขนาดหลอดเลือดขณะ baseline และ 1 นาทีหลังการตรวจ endothelium-dependent flow-mediated dilatation

3.4.2.2.2 การเก็บภาพ:

- เก็บภาพประมาณ 3-5 cardiac cycles สำหรับภาพ 2D และ Doppler
 - ใช้ Harmonic imaging เพื่อให้ได้เห็น endocardium ได้ชัดเจน
 - ภาพ Doppler เก็บ sweep speed 75-100 mm/sec
- ขั้นตอน/ภาพที่เก็บจากการตรวจ
- ทำการตรวจและเก็บภาพที่ตรวจให้ครบ ตาม protocol ที่ตีไว้ที่เครื่องตรวจ
 - หากมีเหตุเก็บภาพไม่ได้ ให้แจ้งผู้วิจัยหลักทราบเพื่อมาดำเนินการตรวจเพิ่มเติมต่อไป

Protocol ที่ใช้สำหรับเก็บภาพ

Parasternal long axis

- 2D image
- Color Doppler across aortic and mitral valves

- Zoom left ventricular outflow tract (LVOT)

Parasternal short axis view (PSAX)

- Parasternal outflow view of the pulmonic valve (PV)
 - 2D image
 - Color Doppler across pulmonic valve (PV)
 - Pulse wave Doppler across PV
- Basal PSAX (at the aortic valve level)
 - 2D image include tricuspid valve (TV), short axis of aortic valve and right ventricular outflow tract (RVOT)
 - Color Doppler of TV include distal jet into right atrium
- PSAX of ventricles: ensure on-axis views and include right ventricle
 - Level of the mitral valve when both anterior and posterior leaflets are visualized.
 - Mid-papillary muscle level.
 - Level of the apex

Parasternal right ventricular inflow view of the tricuspid valve

- 2D image include RV and RA (optimize endocardium)
- Color Doppler across tricuspid valve (TV) including distal jet into RA
- Continuous wave Doppler across TV valve to estimate TV gradient

Apical 4-chamber view

- Full sector to include all four chambers
- Focus on right heart:
 - 2D to include RV and RA, making sure to include lateral wall of RV (often requires a slight medial tilt of transducer)
 - Zoom view of RV only (include base of RV/TV annulus and optimize RV endocardium)
 - PW of TV at leaflet tips and at level of TV annulus
 - CW of TV for estimation of pulmonary artery systolic pressure
 - M-mode across lateral tricuspid annulus (for TAPSE measurement)
 - Tissue Doppler of lateral tricuspid annulus (to measure peak annular velocity)
- Focus on left heart:
 - 2D include both left ventricle (LV) and left atrium (LA)
 - Zoom view of LV only (avoid foreshortening of LV apex)

- Zoom view of LA
- Color Doppler across MV
- PW of MV at leaflet tips and at level of MV annulus
- PW Doppler of right pulmonary vein flow. The sample volume should be placed at least 1 cm within the pulmonary vein
- CW of MV (if there is mitral stenosis or regurgitation)
- Tissue Doppler of lateral and septal mitral annulus

Apical 5-chamber view

- Color flow Doppler across LVOT/aortic valve
- PW Doppler in left ventricular outflow tract
- CW Doppler through the LVOT/aortic valve.

Apical 2-chamber view

- 2D image include left ventricle and left atrium
- Zoom view to include LV only (avoid foreshortening of LV apex)
- Color Doppler mitral valve including distal jet into left atrium
- Zoom view of LA

Modified 4-chamber view

- 2D image include all four chambers
- Color Doppler across interatrial septum

Subcostal imaging

- 2D of inferior vena cava with and without a sniff test (record 5-10 cardiac cycles)
- M-mode of inferior vena cave include inspiratory and expiratory phase
- Pulse wave of hepatic vein flow
- 4-chamber view showing RV, RA, LA and LV
- zoom view of RV free wall
- Color Doppler of TV and MV in 4 chamber subcostal view
- SAX views (particularly if parasternal evaluation was limited)

หมายเหตุ: กรณีที่ตรวจพบความผิดปกติที่ไม่เกี่ยวข้องกับโรคธาลัสซีเมีย เช่น ผนังหัวใจรั่ว ชนิด atrial septal defect หรือ ventricular septal defect พบลิ้นหัวใจตีบหรือรั่วมาก ให้ผู้ช่วยวิจัยที่ทำการ

ตรวจแจ้งให้ผู้วิจัยหลักทราบโดยทันที โดยจะดำเนินการทำนัดตรวจเพิ่ม เพื่อให้การรักษาเพิ่มเติมแก่ผู้ป่วยอย่างเหมาะสมต่อไป

3.4.2.2.3 การวิเคราะห์ภาพ

- หลังจากเก็บภาพเรียบร้อยแล้ว ตรวจสอบความเรียบร้อยและครบถ้วนตาม protocol
- ปิดโปรแกรมการตรวจในผู้ป่วยแต่ละราย พร้อมส่งภาพเข้า server
- วิเคราะห์ผลโดยเครื่องคอมพิวเตอร์ที่สามารถเข้า program Xcelera ได้
- ค่าที่วัดใช้เทคนิค มาตรฐานการวัด และค่าปกติสำหรับเปรียบเทียบ อ้างอิงจากแนวทางของ

American society of echocardiography (73)

- ลงข้อมูลที่ได้ยังโปรแกรม Excel
- รายละเอียดข้อมูลต่างๆที่เก็บเพื่อทำการศึกษา แสดงใน Case record form (ภาคผนวก ก)

3.4.2.3 การตรวจพิเศษทางห้องปฏิบัติการ

- ดำเนินการจัดซื้อชุดอุปกรณ์สำเร็จรูปที่ใช้ตรวจ จากบริษัท R & D systems, Inc. เมือง Minneapolis ประเทศสหรัฐอเมริกา
- รวบรวมพลาสมาของอาสาสมัครครบตามจำนวน และดำเนินการตรวจพร้อมกันในคราวเดียว
- การตรวจพิเศษประกอบด้วย

3.4.2.3.1 NO metabolites (nitrate/nitrite)

3.4.2.3.2 Prostaglandin E2

3.4.2.3.3 thrombomodulin

- อธิบายรายละเอียดในแต่ละการตรวจ ดังนี้

NO metabolites

- เนื่องจาก NO เองมีสถานะเป็นแก๊ส และไม่คงตัว การตรวจจึงเป็นการตรวจ NOx ได้แก่ nitrite (NO₂-) และ nitrate (NO₃-)
 - เตรียม microplate สำหรับการตรวจ มีจำนวน 96 หลุมตรวจ
 - เตรียม reagent สำหรับการตรวจ nitrite และ plasma
- การตรวจแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ

1. NITRIC ASSAY PROCEDURE

- ทำการวัด endogenous nitrite ด้วย reagent

- การตรวจใช้เทคนิค colorimetric detection ของ nitrite ในรูปของ azo dye product ด้วยปฏิกิริยา Griess

- Griess reaction ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนของ diazotization คือ ขั้นตอนแรก ทำการ acidified nitrite ได้เป็น nitrosating agent ขั้นตอนต่อมา ทำให้เกิดปฏิกิริยากันระหว่าง nitrosating agent กับ sulfanilic acid เพื่อได้ผลผลิตเป็น diazonium ion

- นำ diazonium ion ไปจับกับ N-(1-naphthyl) ethylenediamine เพื่อสร้างเป็น chromophoric azo-derivative นำไปวัดการดูดซับแสง

- เปรียบเทียบสีที่วัดได้กับ standard curve

- การวัดออกมาในขั้นตอนนี้จะได้ค่า endogenous nitrite

2. NITRATE REDUCTION ASSAY PROCEDURE

- ขั้นตอนนี้ คือทำการตรวจหา total nitrite โดยทำการเปลี่ยน endogenous nitrate เป็น nitrite ด้วยเอนไซม์ nitrate reductase

- ทำการวัดค่า nitrite ทั้งหมด ด้วยวิธีข้างต้นอีกครั้งหนึ่ง

- โดยขั้นตอนนี้คือการวัดค่ารวมของ endogenous nitrite และ nitrite ที่ถูกทำปฏิกิริยาจากการเปลี่ยน nitrate ไปเป็น nitrite รวมกันทั้งหมดเป็น total nitrite

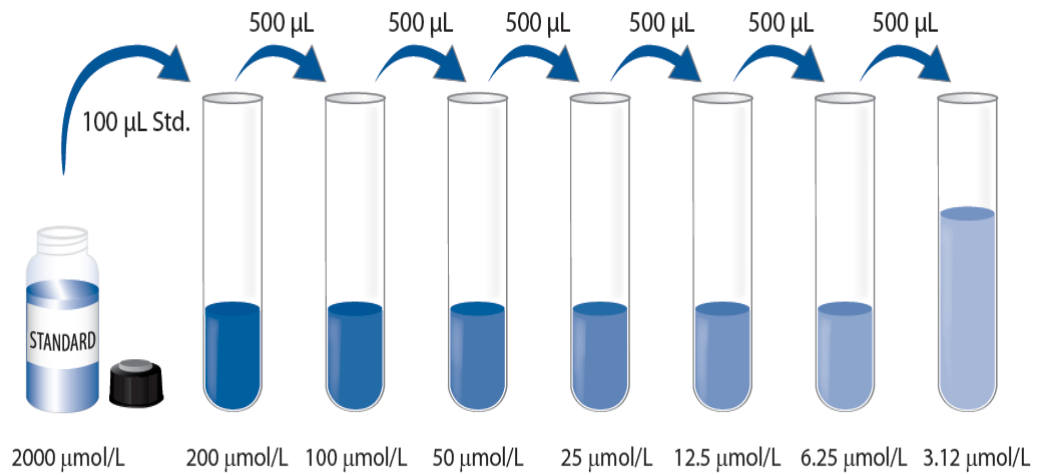
- สามารถหาค่า nitrate ได้โดยการคำนวณความแตกต่างของ total nitrite และ endogenous nitrite

สูตรคำนวณ nitrate = total nitrite - endogenous nitrite

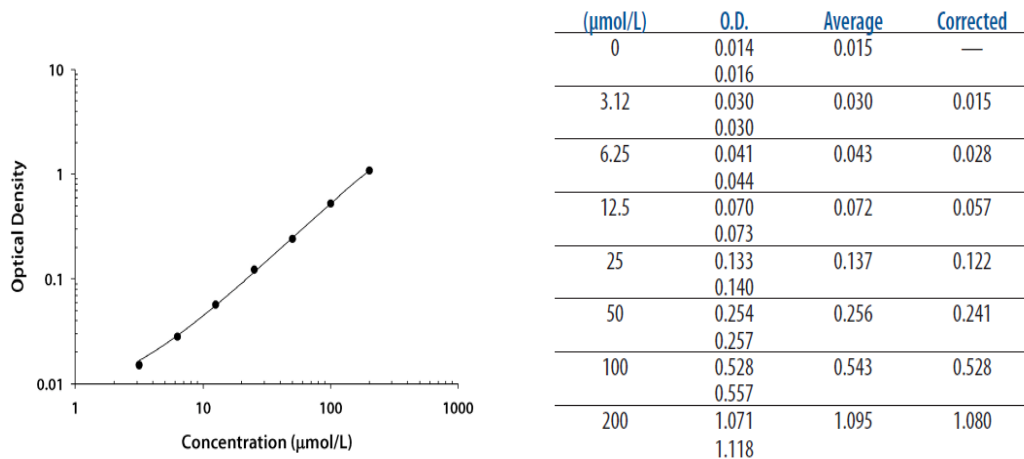
- คำนวณค่าที่ได้ออกมา โดยทำการเทียบกับ standard curve

- standard curve ได้จาก การใช้น้ำยาที่ทราบปริมาณสารที่ต้องการตรวจที่แน่นอน ทั้งหมด 8 ค่า แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ที่ใช้สำหรับเทียบกับปริมาณสารที่ตรวจได้ในพลาสมา

- หน่วยการตรวจเป็น ไมโครโมล/ล.



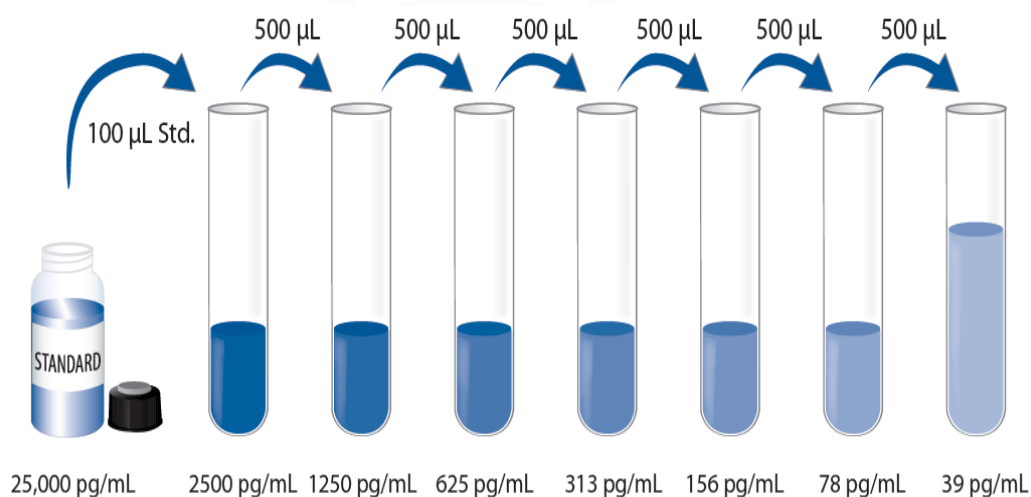
รูปที่ 6 ตัวอย่างการ dilute สาร nitrite ที่ทราบปริมาณแน่นอน สำหรับการเตรียม standard curve



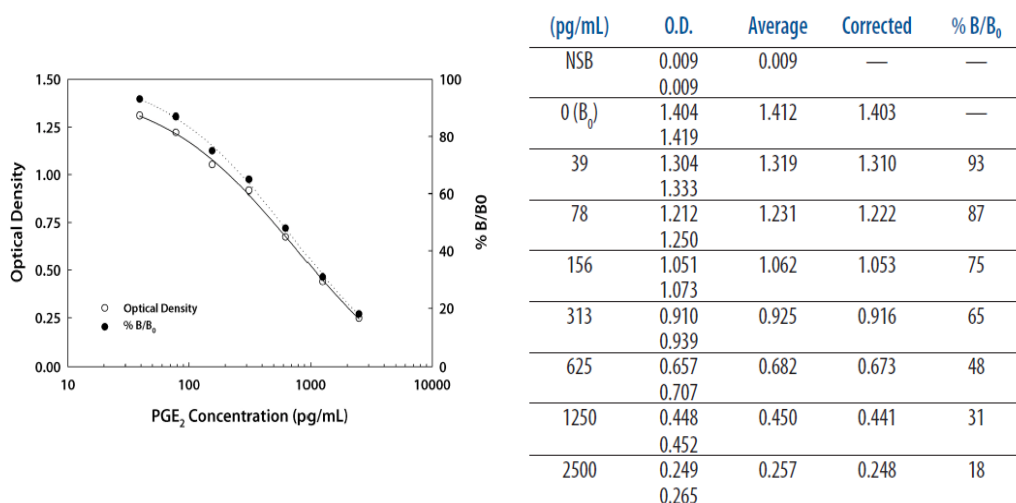
รูปที่ 7 ตัวอย่าง standard curve ของ nitrite levels ที่ใช้สำหรับเปรียบเทียบค่าการตรวจ

Prostaglandin E2 (PGE2)

- เป็นการตรวจหาสาร PGE2 ที่อยู่ในพลาสมาของอาสาสมัคร
- ประกอบด้วยลำดับขั้นตอนการทำปฏิกิริยา แบบ sequential competitive binding ดังนี้
 - ขั้นตอนที่ 1 ใส่พลาสมาไปจับกับ mouse monoclonal antibody ที่มีอยู่
 - ขั้นตอนที่ 2 ใส่ horseradish peroxidase (HRP)-labeled PGE2 ไปจับกับ mouse monoclonal antibody ที่เหลือจากขั้นตอนแรก
 - ขั้นตอนที่ 3 จากนั้นล้างสารที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาทั้งหมด
 - ขั้นตอนที่ 4 ใส่ substrate solution ไปทำปฏิกิริยากับ horseradish peroxidase (HRP)-labeled PGE2 ที่จับอยู่กับ mouse monoclonal antibody วัดเป็น enzyme activity จะเกิดการเปลี่ยนสีของสารที่ตรวจ
 - ขั้นตอนที่ 5 เมื่อการเปลี่ยนสีหยุดลง นำไปวัดการดูดซับแสง
- ค่าที่ได้จะเป็นสัดส่วนผกผัน (inverse proportion) กับความเข้มข้นของ PGE2 ที่อยู่ในพลาสมา
- คำนวณค่าที่ได้ออกมา โดยทำการเทียบกับ standard curve
- standard curve ได้จาก การใช้น้ำยาที่ทราบปริมาณสารที่ต้องการตรวจที่แน่นอน ทั้งหมด 8 ค่า แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ที่ใช้สำหรับเทียบกับปริมาณสารที่ตรวจได้ในพลาสมา
- หน่วยการตรวจเป็น พิโคก./มล.



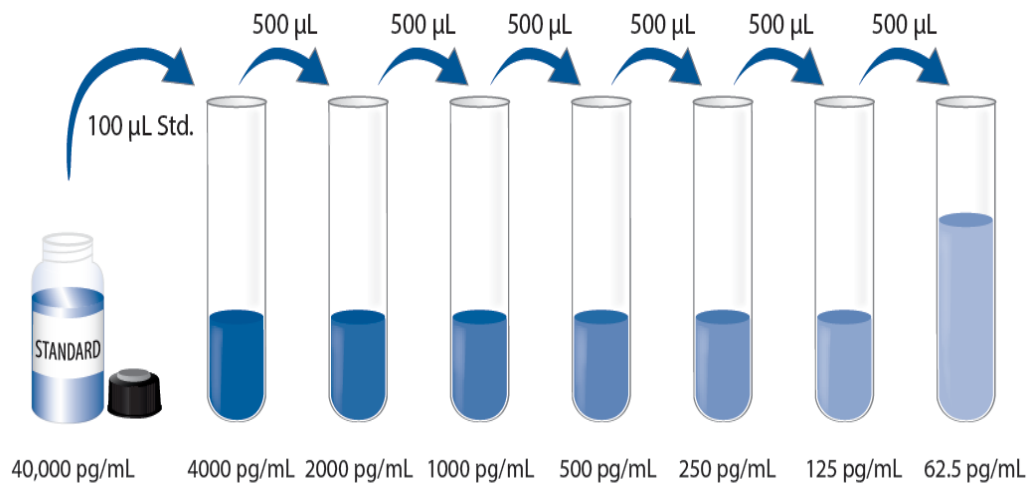
รูปที่ 8 ตัวอย่างการ dilute สาร prostaglandin E2 ที่ทราบปริมาณแน่นอน สำหรับการเตรียม standard curve



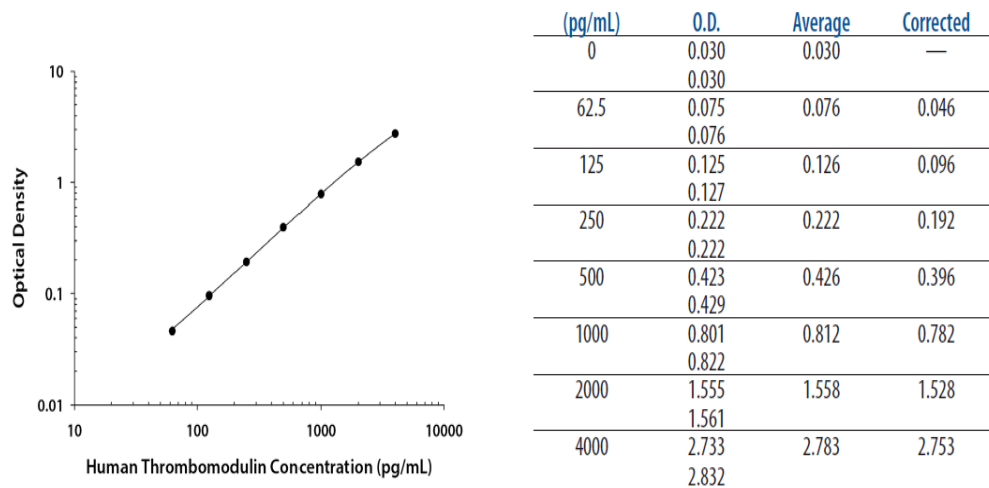
รูปที่ 9 ตัวอย่าง standard curve ของ prostaglandin E2 levels ที่ใช้สำหรับเปรียบเทียบค่าการตรวจ

Thrombomodulin

- เป็นการตรวจหาปริมาณ TM โดยใช้เทคนิค sandwich enzyme-linked immunoassay
- ใส่พลาสมาไปจับกับ monoclonal antibody ที่เตรียมไว้ เป็น antibody ที่จำเพาะกับ human TM
- หลังทำปฏิกิริยาเสร็จ ล้างสารที่เหลืออยู่ออกจนหมด
- จากนั้นใส่ enzyme-linked monoclonal antibody จำเพาะสำหรับ human TM ลงไปทำปฏิกิริยากันอีกครั้งหนึ่ง
- ทำการล้างสารที่เหลืออยู่ในขั้นตอนที่สองออกจนหมด
- ใส่สาร substrate solution ทำให้เกิดการเปลี่ยนสี
- นำไปวัดการดูดซับแสง ค่าที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ TM ที่มีอยู่จริง ในพลาสมา
- คำนวณค่าที่ได้ออกมา โดยทำการเทียบกับ standard curve
- standard curve ได้จาก การใช้น้ำยาที่ทราบปริมาณสารที่ต้องการตรวจที่แน่นอน ทั้งหมด 8 ค่า แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน ที่ใช้สำหรับเทียบกับปริมาณสารที่ตรวจได้ในพลาสมา
- หน่วยการตรวจเป็น พีโคก./มล.



รูปที่ 10 ตัวอย่างการ dilute สาร thrombomodulin ที่ทราบปริมาณแน่นอน สำหรับการเตรียม standard curve



รูปที่ 11 ตัวอย่าง standard curve ของ thrombomodulin levels ที่ใช้สำหรับเปรียบเทียบค่าการตรวจ

3.5 การรวบรวมข้อมูล

- เก็บข้อมูลเพิ่มเติมได้แก่ ข้อมูลพื้นฐานต่างๆ ประวัติการรับเลือด ประวัติการเจ็บป่วย ยาที่ได้รับ จากการซักประวัติ, บัตรบันทึกประวัติผู้ป่วยนอก (OPD card) หรือ แฟ้มประวัติผู้ป่วยใน (ถ้ามี) และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ จากแฟ้มประวัติหรือระบบฐานข้อมูลของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- เก็บบันทึกข้อมูลผู้ป่วยโดยใช้โปรแกรม excel
- ผู้ทำการเก็บรวบรวมข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัย
- ข้อมูลเหล่านี้จะถูกปิดเป็นความลับ และไม่ทำให้เกิดความเสียหายแก่ผู้ป่วยทุกกรณี
-

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

- ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม ที่เป็นข้อมูลเชิงนับจะนำเสนอโดยตารางแจกแจงความถี่และคำนวณเป็นร้อยละ ข้อมูลต่อเนื่องนำเสนอโดยค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน หรือมัธยฐาน และ interquartile range ตามความเหมาะสม เปรียบเทียบความแตกต่างของประชากร 2 กลุ่มโดยใช้ Chi-square สำหรับข้อมูลเชิงนับ และ unpaired T-test สำหรับข้อมูลต่อเนื่อง
- ประเมินความแตกต่างของระดับ NO, PGE2, TM ร้อยละของการเปลี่ยนแปลงของ FMD และค่าการที่ได้จากการ echocardiogram ระหว่างผู้ป่วยธาลัสซีเมียกับกลุ่มควบคุมโดยใช้ unpaired T-test
- ศึกษาความสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัยใช้ Pearson correlation analysis เช่น ระดับของ NO, PGE2, TM กับร้อยละของการเปลี่ยนแปลงของ FMD ปริมาณเลือดที่ด้รับ ความดันในหลอดเลือดแดงที่ปอด การบีบตัวและคลายตัวของหัวใจ เป็นต้น
- การรายงานผลความสัมพันธ์ จะแสดงค่าอยู่ในช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% (95% confidential interval)
- ระดับนัยสำคัญ (statistical significance) ใช้ค่า p-value ที่ <0.05
- นำเสนอข้อมูลในรูปแบบการบรรยาย ตาราง และกราฟ
- ใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 ช่วยในการวิเคราะห์

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ประชากรที่ศึกษา ประกอบด้วยผู้ป่วย β -thalassemia/HbE จำนวน 43 ราย และอาสาสมัครปกติ จำนวน 43 ราย โดยมีเพศและอายุของประชากรทั้ง 2 กลุ่มตรงกัน ทำการศึกษาตั้งแต่เดือน พฤษภาคม ปี พ.ศ. 2558 ถึง เดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2559 โดยกลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม เป็นเพศชาย กลุ่มละ 22 ราย เพศหญิง กลุ่มละ 21 ราย อายุในกลุ่มธาลัสซีเมียเฉลี่ย 34.6 ปี อยู่ในช่วง 19-54 ปี กลุ่มควบคุม 36.7 ปี อยู่ในช่วง 22-57 ปี ไม่มีผู้ใดเป็นโรคหรือพาหะธาลัสซีเมีย ลักษณะพื้นฐานของประชากรทั้ง 2 กลุ่ม สรุปดัง ตารางที่ 3 และผลการตรวจ echocardiogram แสดงในตารางที่ 4

จากผู้ป่วยทั้งหมด 43 ราย พบว่ากลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้รับการตัดม้าม 28 ราย คิดเป็นร้อยละ 65 ได้รับเลือดเฉลี่ย 19 ± 10 ถุงต่อปี ผู้ป่วยที่ได้รับเลือดสม่ำเสมอ (อย่างน้อย 1 ถุงต่อเดือน หรือ 12 ถุงต่อปี) คิดเป็นร้อยละ 95 โดยได้รับเลือดเฉลี่ย 20.6 ± 10.3 ถุงต่อปี โดยผู้ป่วยที่ไม่ได้ตัดม้ามได้รับเลือดเฉลี่ย 22.9 ± 15.5 ถุงต่อปี และผู้ป่วยที่ตัดม้ามได้รับเลือดเฉลี่ย 19.3 ± 5.7 ถุงต่อปี มีผู้ป่วยที่ไม่ได้รับเลือดสม่ำเสมอมีเพียง 2 คน หรือร้อยละ 5 ซึ่งเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการตัดม้ามทั้ง 2 คน ผู้ป่วยได้รับยาขับเหล็ก 38 คน คิดเป็นร้อยละ 88 มีไม่ได้รับยาขับเหล็กเพียง 5 คน คิดเป็นร้อยละ 12 มีภาวะความดันในปอดสูง 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 7 อย่างไรก็ตามมีผู้ป่วยที่มีค่า tricuspid regurgitation pressure gradient (TRPG) >25 มม.ปรอท หรือ tricuspid regurgitant velocity (TRV) >2.5 ม./วินาที ซึ่งบ่งชี้ถึงความดันหลอดเลือดแดงปอดที่สูงขึ้น 15 ราย คิดเป็นร้อยละ 36 และเป็นเบาหวาน 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 14

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐานของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม

Patient characteristics	Thalassemia (N=43)	Control (N=43)	P-value
Age (years)	34.63 ± 9.7	36.69 ± 8.6	0.30
Sex (male)	22	22	1.00
Height (cm)	158.25 ± 9.3	164.65 ± 8.9	0.002
Weight (kg)	50.1 ± 9.6	65.7 ± 15.7	<0.001
Body surface area (m ²)	1.48 ± 0.16	1.72 ± 0.22	<0.001
Systolic blood pressure (mmHg)	105.2 ± 12.6	123.9 ± 15.4	<0.001
Diastolic blood pressure (mmHg)	62.1 ± 7.9	68.3 ± 9.3	0.002
Heart rate (beats/minute)	75.1 ± 8.3	68.2 ± 8.4	<0.001
Laboratory data			
Hemoglobin (g/dl)	7.6 ± 1.2	13.6 ± 1.3	<0.001
Hematocrit (%)	25.0 ± 3.9	41.4 ± 3.5	<0.001
MCV (fl)	73.2 ± 6.0	81.4 ± 14.2	0.005
RDW (%)	23.2 ± 3.0	13.6 ± 1.0	
Platelet (/ μ L)	441,000 ± 310,724	272,000 ± 75,731	0.002
WBC count (/ μ L)	29,500 ± 27,716	7,743 ± 2,351	<0.001
corrected WBC count (/ μ L)	11,600 ± 5,650	0	N/A
Nucleated RBC count (/ μ L)	246.7 ± 254.7	0	N/A
Neutrophil (%)	48.2 ± 13.0	58.95 ± 10.0	<0.001
Lymphocyte (%)	39.8 ± 14.5	29.99 ± 8.5	0.001
Monocyte (%)	6.2 ± 4.2	4.9 ± 1.7	0.076
Fasting blood sugar (mg/dl)	105.7 ± 31.5	91.1 ± 12.7	0.012
BUN (mg/dl)	16.2 ± 20.1	11.2 ± 3.0	0.144
Creatinine (mg/dl)	0.48 ± 0.16	0.82 ± 0.14	<0.001
eGFR (ml/min/1.73m ²)	182 ± 54	103 ± 18	<0.001

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐานของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม

Patient characteristics	Thalassemia (N=43)	Control (N=43)	P-value
AST (U/L)	47.9 ± 31.9	22.4 ± 8.0	<0.001
ALT (U/L)	42.7 ± 24.2	25.4 ± 16.1	0.001
Ferritin (ng/ml)	3,090.2 ± 3297	N/A	N/A

(ALT = alanine aminotransferase, AST = aspartate aminotransferase, BUN = blood urea nitrogen, eGFR = estimated glomerular filtration rate, MCV = mean corpuscular volume, N/A = not applicable, RBC = red blood cell, RDW = red cell distribution width, WBC = white blood cell)

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ echocardiography ของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม

Echocardiographic data	Thalassemiias (N=42)	Controls (N=41)	p-value
LVEDD (mm)	50.8 ± 6.6	46.3 ± 3.7	<0.001
LVESD (mm)	29.7 ± 3.7	27.2 ± 3.7	0.011
LVEDD index (mm/m ²)	34.6 ± 4.2	27.0 ± 2.7	<0.001
LVESD index (mm/m ²)	20.2 ± 3.2	15.8 ± 1.9	<0.001
Ejection fraction (%)	70.2 ± 12.3	71.7 ± 6.7	0.474
Mitral E velocity (cm/sec)	108.0 ± 18.8	79.0 ± 17.4	<0.001
Mitral A velocity (cm/sec)	74.1 ± 15.9	58.0 ± 13.3	<0.001
Mitral E/A ratio	1.5 ± 0.5	1.4 ± 0.4	0.186
Deceleration time (msec)	189 ± 28	181 ± 22	0.15
Medial e' (cm/s)	9.7 ± 2.5	9.3 ± 2.0	0.43
TAPSE (mm)	28.5 ± 5.6	24.9 ± 3.3	0.001
Medial E/e' ratio	11.1 ± 3.3	8.7 ± 1.9	<0.001
LVMI (g/m ²)	100.3 ± 30.2	83.9 ± 19.3	0.004
LVEDV (ml)	74.7 ± 29.1	65.2 ± 19.7	0.085

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ echocardiography ของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม

Echocardiographic data	Thalassemias (N=42)	Controls (N=41)	p-value
LVESV (ml)	29.4 ± 10.5	22.8 ± 8.3	0.002
LVEDV index (ml/m ²)	51.3 ± 18.1	37.3 ± 8.5	<0.001
LVESV index (ml/m ²)	20.2 ± 3.2	15.8 ± 1.9	<0.001
S' (cm/sec)	13.9 ± 3.0	14.2 ± 9.4	0.856
TRPG (mmHg)	24.8 ± 17.1	14.5 ± 4.9	<0.001
PAEDP (mmHg)	5.5 ± 4.1	3.6 ± 1.4	0.011
mPAP (mmHg)	22.1 ± 5.6	10.9 ± 9.5	0.005
Stroke volume (ml)	78.2 ± 19.6	63.6 ± 13.3	<0.001
LAVI (ml/m ²)	28.1 ± 9.9	17.3 ± 3.8	<0.001

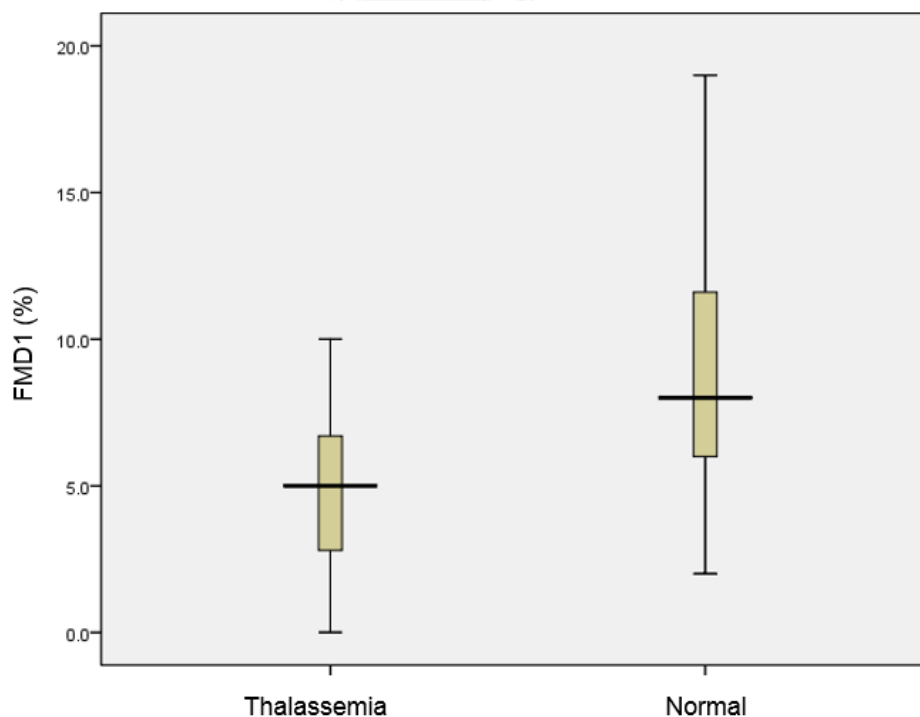
(LAVI = left atrial volume index, LVEDD = left ventricular end-diastolic diameter, LVESD = left ventricular end-systolic diameter, LVEDV = left ventricular end-diastolic volume, LVESV = left ventricular end-systolic volume, LVMI = left ventricular mass index, mPAP = mean pulmonary artery pressure, PAEDP = pulmonary artery end-diastolic pressure, S' = lateral tricuspid annular motion velocity, TAPSE = tricuspid annular plane systolic excursion, TRPG = tricuspid regurgitation pressure gradient)

จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าการเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของการทดสอบ FMD ในระยะ endothelium-dependent มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่ม คือ ในกลุ่มธาลัสซีเมียเทียบกับกลุ่มควบคุม เป็น 5.0±3.3 % กับ 9.0±4.0 % ที่ค่า p-value <0.001 แต่ไม่มีความแตกต่างกันในระยะ endothelium-independent ได้ค่าเป็น 18.4±8.3% กับ 17.8±6.3% ที่ค่า p-value=0.71 ซึ่งขนาดหลอดเลือดแดง brachial artery ก่อนเริ่มทำการทดสอบทั้งในระยะ endothelium-dependent และ endothelium-independent ในกลุ่มธาลัสซีเมียมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ flow-mediated dilatation ของกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม

การตรวจ flow mediated dilatation	Thalassemia (N=40)	Control (N=40)	P-value
Baseline diameter 1 (mm)	32.3 ± 5.1	37.1 ± 5.8	<0.001
Diameter at 1 minute after reactive hyperemia (mm)	34.6 ± 5.2	40.3 ± 5.9	<0.001
FMD1 (%)	5.0 ± 5.9	9.0 ± 4.0	<0.001
Baseline diameter 2 (mm)	34.1 ± 5.5	38.1 ± 6.0	0.003
Diameter at 4 minutes after nitroglycerine (mm)	39.8 ± 6.4	44.6 ± 6.6	0.001
FMD2 (%)	18.4 ± 8.3	17.8 ± 6.3	0.71

(FMD = flow-mediated dilatation)

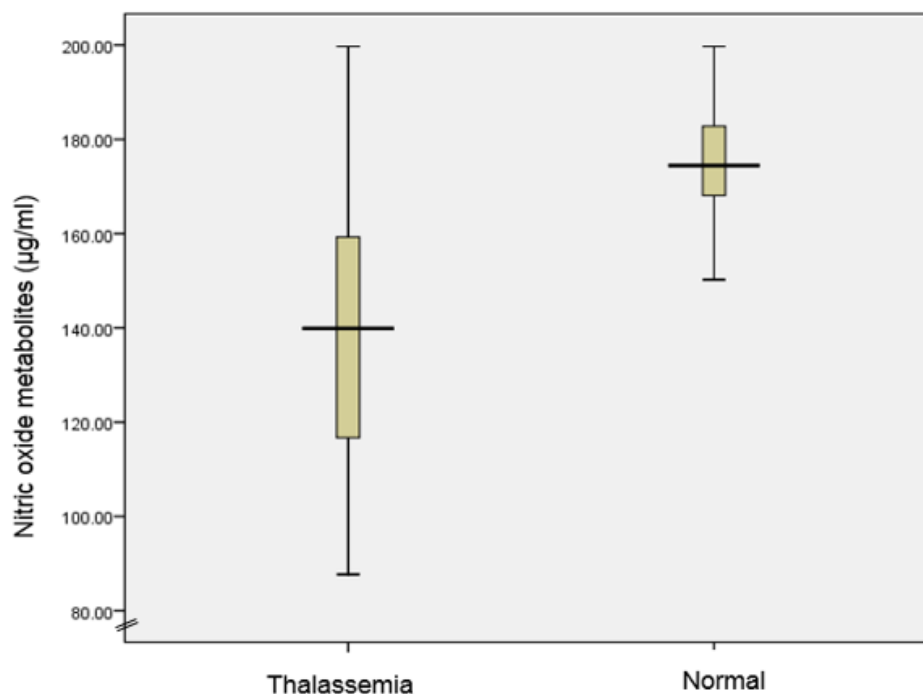


รูปที่ 12 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบค่า flow-mediated dilatation ระหว่างกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม

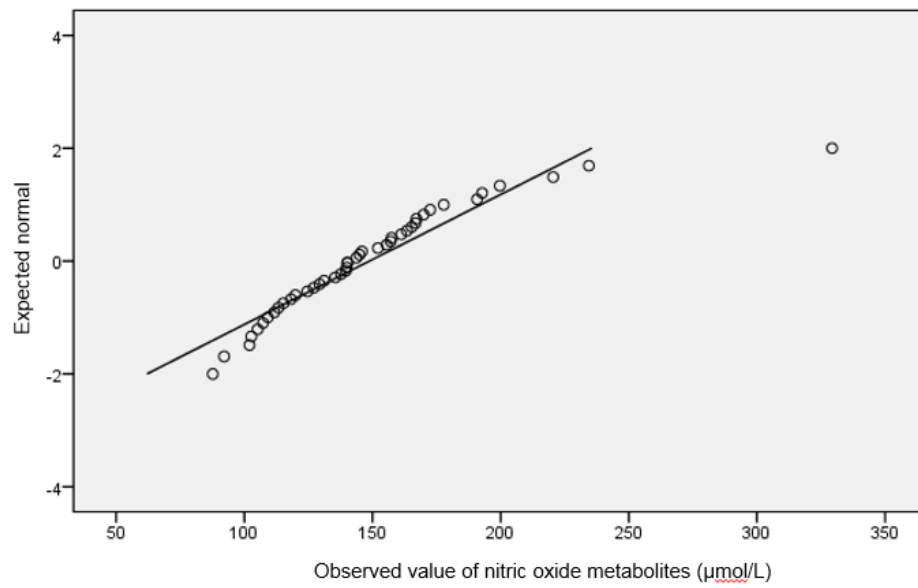
ผลการตรวจเลือดหาระดับ NOx พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมีย มีระดับน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ 117.2 ± 27.3 ไมโครโมล/ล. และ 135.8 ± 11.3 ไมโครโมล/ล. ตามลำดับ มีค่า $p < 0.001$ ระดับของ PGE2 ในกลุ่มธาลัสซีเมียน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และระดับของ sTM ในกลุ่มธาลัสซีเมียสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ endothelial markers ในกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม

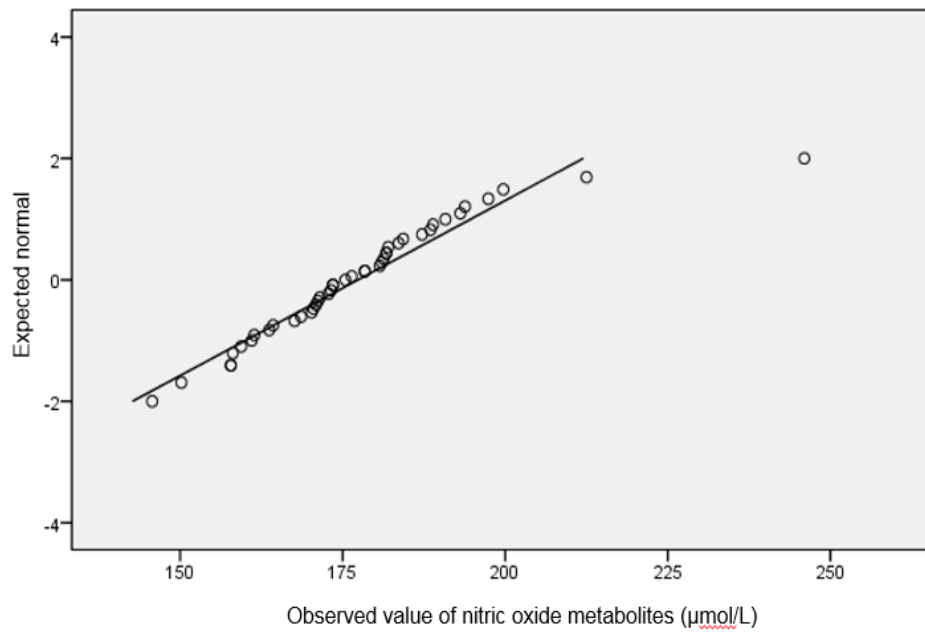
Endothelial marker	Thalassemia (N=43)	Control (N=43)	P-value
Nitric oxide metabolites ($\mu\text{mol/L}$)	117.2 ± 27.3	135.8 ± 11.3	<0.001
Prostaglandin E2 (pg/ml)	701.9 ± 676.0	1374.7 ± 716.5	<0.001
Thrombomodulin (pg/ml)	$3,587.7 \pm 1,310.9$	$3,093.9 \pm 583.8$	0.028



รูปที่ 13 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบระดับ nitric oxide metabolites ในกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม



รูปที่ 14 แสดงการกระจายของข้อมูล nitric oxide metabolites ในกลุ่มผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์

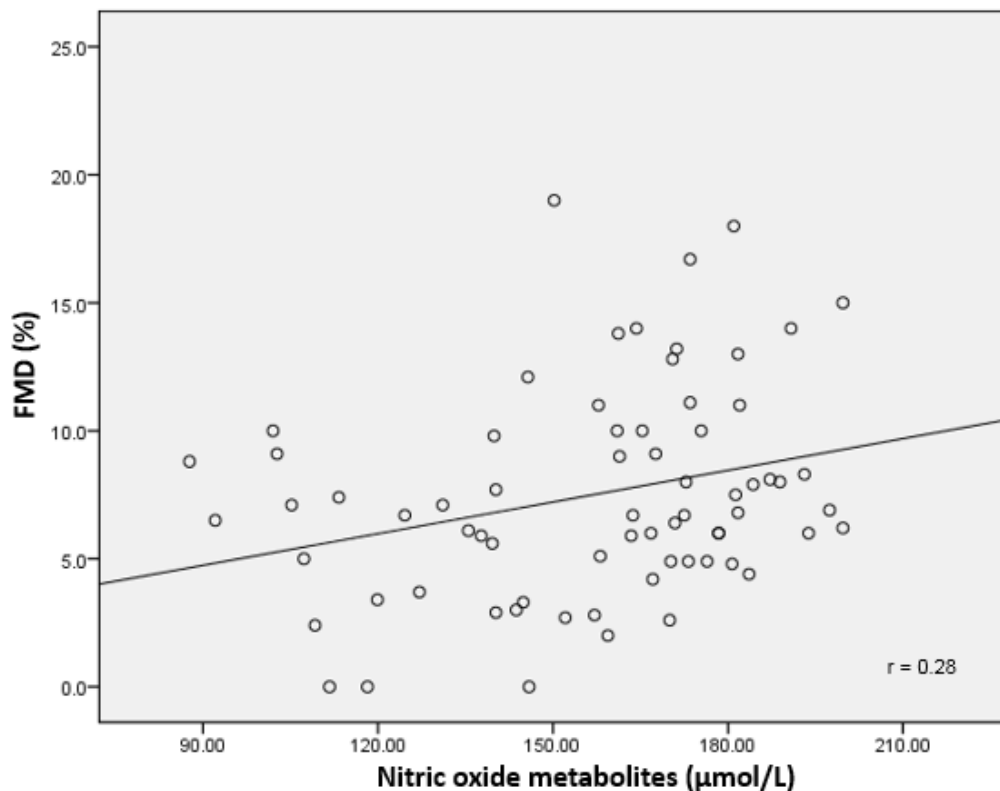


รูปที่ 15 แสดงการกระจายของข้อมูล nitric oxide metabolites ในกลุ่มผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์

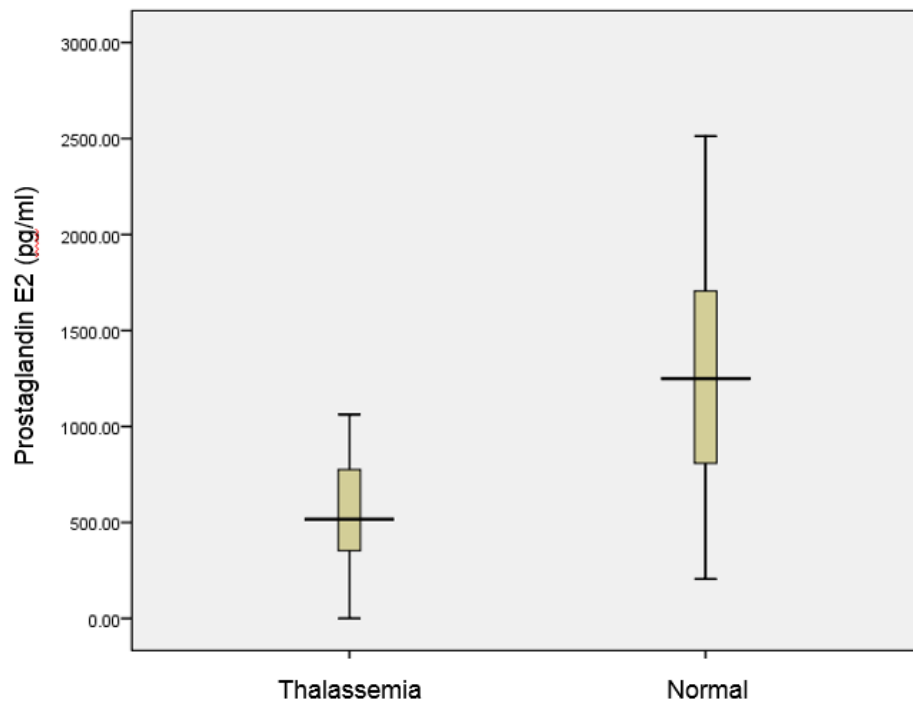
ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง endothelial dysfunction โดยค่า FMD1 กับระดับของ NOx พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่า $r = 0.28$ ($p = 0.017$) และค่า FMD1 ยังมีความสัมพันธ์กับระดับ PGE2 ในพลาสมาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่า $r = 0.32$ ($p = 0.005$) ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่าค่า tricuspid regurgitation pressure gradient (TRPG) มีความสัมพันธ์เชิงผกผันกับขนาดของหลอดเลือดก่อนวัดความดัน (baseline brachial artery diameter) และระดับ NOx ในพลาสมาโดยมีค่า $r = -0.285$ ($p = 0.013$) และ $r = -0.234$ ($p = 0.043$) ตามลำดับ และมีแนวโน้มที่จะสัมพันธ์กับค่า FMD1 โดยมีความสัมพันธ์ $r = -0.215$ ($p = 0.068$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง TRPG และ PGE2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่า $r = -0.114$ ($p = 0.313$)

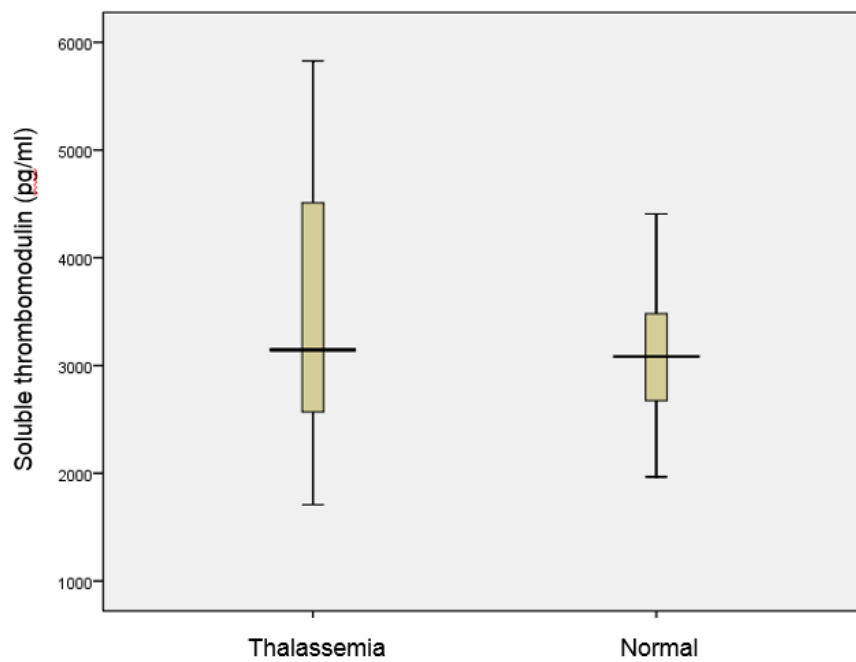
อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างค่า FMD1 กับระดับ sTM ในพลาสมาโดยมีค่า $r = 0.06$ ($p = 0.6$)



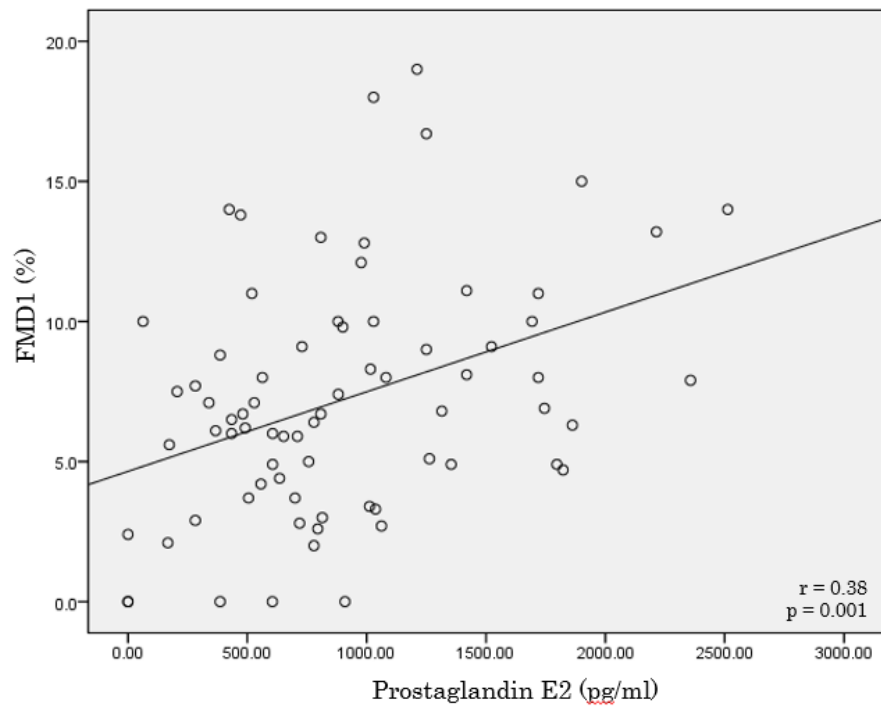
รูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ FMD1 และระดับของ nitric oxide ในพลาสมา



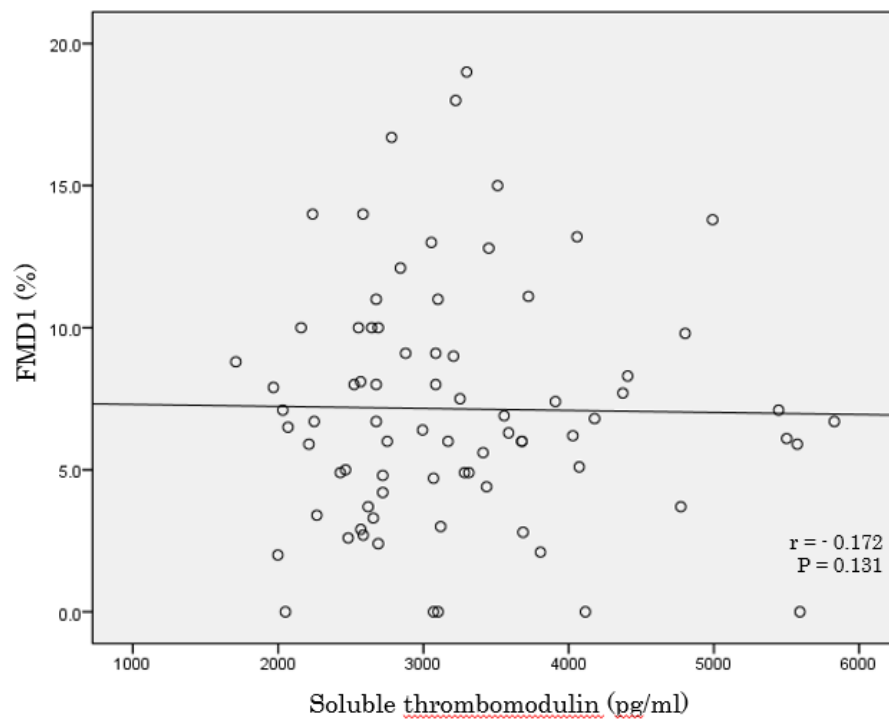
รูปที่ 17 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบระดับ prostaglandin E2 ระหว่างกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม



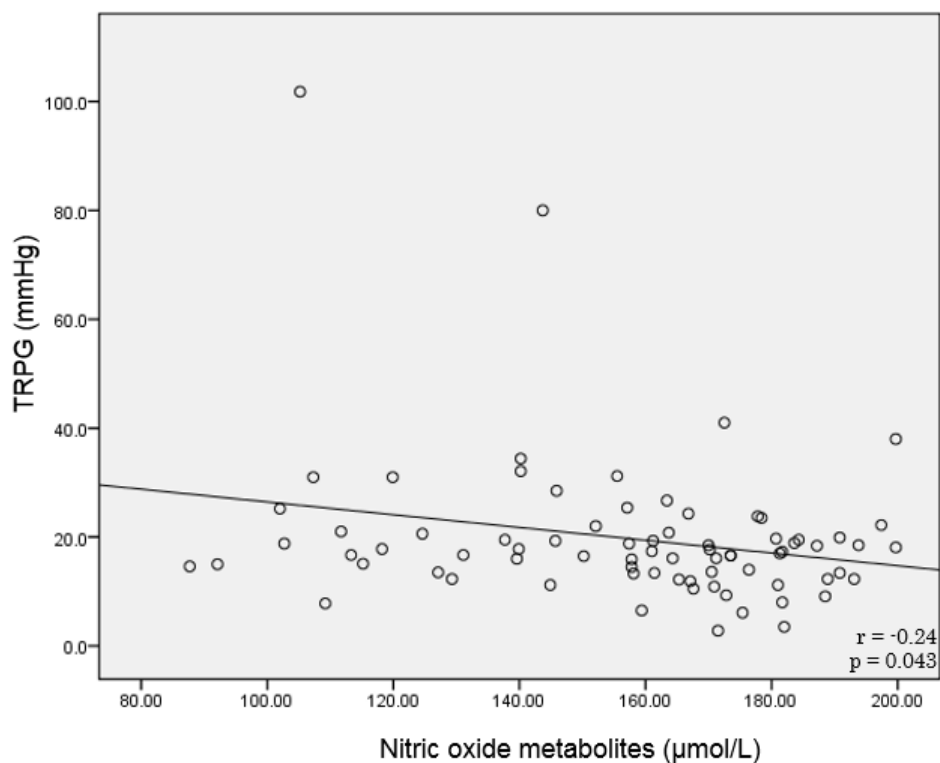
รูปที่ 18 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบระดับ soluble thrombomodulin ระหว่างกลุ่มธาลัสซีเมียและกลุ่มควบคุม



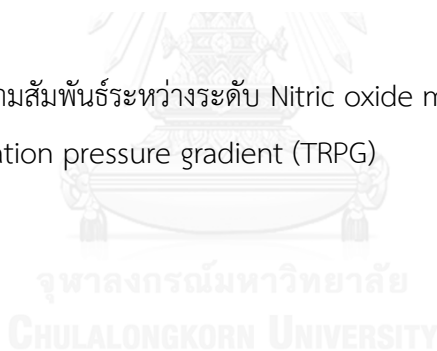
รูปที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ prostaglandin E2 ในพลาสมา และค่าของ FMD1



รูปที่ 20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ soluble thrombomodulin ในพลาสมา และค่าของ FMD1



รูปที่ 21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Nitric oxide metabolites ในพลาสมา และค่าของ Tricuspid regurgitation pressure gradient (TRPG)



เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการตัดม้ามและไม่ตัดม้าม พบข้อมูลดังตารางที่ 7 -9

ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ตัดม้ามและตัดม้าม

Patient characteristic	Non-splenectomy (N=15)	Splenectomy (N=28)	P-value
Age (years)	35.87 ± 7.9	33.96 ± 10.6	0.51
Height (cm)	161.7 ± 9.3	156.6 ± 9.0	0.110
Weight (kg)	48.9 ± 6.8	50.7 ± 10.7	0.5
Bobby surface area (m ²)	1.49 ± 0.11	1.48 ± 0.18	0.78

ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ตัดม้ามและตัดม้าม

Patient characteristic	Non-splenectomy (N=15)	Splenectomy (N=28)	P-value
Systolic blood pressure (mmHg)	108.2 ± 8.6	103.7 ± 14.1	0.23
Diastolic blood pressure (mmHg)	62.7 ± 7.1	61.7 ± 8.5	0.71
Heart rate (beats/minute)	74.4 ± 9.8	75.4 ± 7.6	0.75
Blood transfusion (unit/year)	23 ± 16	18 ± 7	0.3
Laboratory data			
Hemoglobin (g/dl)	6.9 ± 1.4	7.9 ± 1.0	0.38
Hematocrit (%)	23.3 ± 4.7	25.9 ± 3.3	0.87
MCV (fl)	69.2 ± 6.3	75.1 ± 4.8	0.010
RDW (%)	24.8 ± 3.1	22.5 ± 2.8	0.04
Platelet (/μL)	164,000 ± 186932	574,000 ± 268175	<0.001
WBC (/μL)	8,760 ± 8471	39,500 ± 28,283	<0.001
Corrected WBC (/μL)	6,189 ± 2,791	13,400 ± 5,152	<0.001
Nucleated RBC (/μL)	50.3 ± 78.8	310.8 ± 260.8	0.001
Fasting blood sugar (mg/dl)	103.7 ± 29.2	106.6 ± 33.0	0.790
BUN (mg/dl)	12.4 ± 4.0	13.1 ± 4.0	0.280
Creatinine (mg/dl)	0.53 ± 0.11	0.45 ± 0.17	0.1
eGFR (ml/min/1.73m ²)	159 ± 30	191 ± 59	0.38
AST (U/L)	41.2 ± 22.6	50.8 ± 35.2	0.31
ALT (U/L)	33.5 ± 19.6	46.9 ± 25.3	0.110
Ferritin (ng/ml)	2,526.7 ± 2905.2	3,371.9 ± 3497.2	0.43

(ALT = alanine aminotransferase, AST = aspartate aminotransferase, BUN = blood urea nitrogen, eGFR = estimated glomerular filtration rate, MCV = mean corpuscular volume, RBC = red blood cell, RDW = red cell distribution width, WBC = white blood cell)

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ flow-mediated dilatation ของผู้ป่วยโรคโลหิตจางที่ ตัดม้ามและไม่ตัดม้าม

การตรวจ flow mediated dilatation	Non-splenectomy (N=15)	Splenectomy (N=28)	p-value
Baseline diameter 1 (mm)	28.5 ± 3.5	34.2 ± 4.8	<0.001
Diameter at 1 minute after reactive hyperemia (mm)	31.5 ± 4.5	35.8 ± 5.1	0.02
FMD1 (%)	5.4 ± 3.9	4.9 ± 3.0	0.7
Baseline diameter 2 (mm)	30.2 ± 4.2	35.8 ± 5.1	0.002
Diameter at 4 minutes after nitroglycerine (mm)	35.0 ± 4.2	41.9 ± 6.1	<0.001
FMD2 (%)	16.9 ± 4.3	19.0 ± 9.4	0.36

(FMD = flow-mediated dilatation)

ตารางที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจ endothelial markers ของผู้ป่วยโรคโลหิตจางที่ตัดม้ามและไม่ตัดม้าม

Endothelial marker	Non-splenectomy (N=15)	Splenectomy (N=28)	P-value
NOx (μmol/L)	152.5 ± 21.2	131.5 ± 27.8	0.12
Prostaglandin E2 (pg/ml)	752.8 ± 695.5	674.6 ± 676.6	0.73
Thrombomodulin (pg/ml)	4,427.3 ± 979.8	3,138.0 ± 1,254.5	0.001

(NOx = nitric oxide metabolites)

ไม่พบความแตกต่างของผลการตรวจ echocardiography อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคโลหิตจางที่ได้ตัดม้ามกับไม่ได้ตัดม้าม ระดับ sTM ในกลุ่มตัดม้ามมีค่าน้อยกว่ากลุ่มไม่ตัดม้ามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัย พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความผิดปกติของการทำงานของผนังหลอดเลือด (endothelial dysfunction) โดยตรวจพบว่ามีความผิดปกติของ FMD ในระยะ endothelium-dependent แต่ไม่พบความแตกต่างจากคนปกติของ FMD ในระยะ endothelium-independent ซึ่งชี้บ่งว่าภาวะ endothelial dysfunction ที่พบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียน่าจะเกิดจากภาวะพร่อง NO (NO depletion) โดยเมื่อผู้ป่วยได้รับ nitroglycerin ซึ่งจะไปเพิ่มปริมาณ NO ในเลือดพบว่า FMD ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียไม่แตกต่างจากคนปกติ บ่งบอกการทำงานของ smooth muscle ของหลอดเลือดทำงานปกติ ซึ่งยืนยันโดยการตรวจพบระดับ NO ในพลาสมาของผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีค่าต่ำกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบความสัมพันธ์ของระดับ NO ในพลาสมาของผู้ป่วยกับการเปลี่ยนแปลง FMD ในระยะ endothelium-dependent อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากข้อมูลเหล่านี้สนับสนุนว่าความผิดปกติของการทำงานของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียน่าจะเกิดจากภาวะพร่อง NO นอกจากนี้การตรวจพบระดับของ PGE2 ซึ่งมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดลดลง และมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลง FMD ในระยะ endothelium-dependent อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยน่าจะเป็นอีกกลไกร่วมของการเกิดภาวะผนังหลอดเลือดผิดปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมียด้วยอีกทางหนึ่ง

นอกจากนี้แล้วยังพบระดับ sTM ในพลาสมาของผู้ป่วยธาลัสซีเมียสูงกว่าคนปกติ ซึ่งแสดงถึงการมีพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย และอาจเป็นส่วนหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะเลือดแข็งตัวง่ายในผู้ป่วยกลุ่มนี้ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับความผิดปกติของการทำงานของผนังหลอดเลือด อย่างไรก็ตามยังไม่พบภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมียในผู้ป่วยกลุ่มนี้ชัดเจน ซึ่งอาจเกิดจากผู้ป่วยกลุ่มนี้ยังมีอายุน้อย และได้รับการให้เลือดอย่างสม่ำเสมอจึงจำเป็นต้องติดตามผู้ป่วยต่อไปในอนาคต

5.2 อภิปรายผล

กลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมีย β -thalassemia/HbE เป็นผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง (thalassemia intermedia) โดยผู้ป่วยธาลัสซีเมียกลุ่มนี้เกือบทั้งหมดได้รับเลือดสม่ำเสมอ และได้รับยาขับเหล็กซึ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาตามมาตรฐานในปัจจุบัน ซึ่งแตกต่างจากประชากร

ผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลางที่ได้รับการศึกษาก่อนหน้านี้ซึ่งส่วนใหญ่ไม่ได้รับเลือดและยาขับเหล็กสม่ำเสมอ จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่นำมาศึกษาในกลุ่มนี้มีภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือด คือ ภาวะความดันหลอดเลือดแดงในปอดสูง ต่ำกว่ารายงานก่อนหน้านี้ซึ่งผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่ได้รับเลือดและยาขับเหล็กสม่ำเสมอ [25]

จากข้อมูลลักษณะทางประชากรและการตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีขนาดรูปร่างเล็กกว่าผู้ป่วยปกติทั้งความสูง น้ำหนัก และพื้นที่ผิวร่างกายน้อยกว่าคนปกติ นอกจากนี้ยังพบว่ามีอัตราเต้นของหัวใจที่สูงกว่า ในขณะที่ความดันทั้ง systolic blood pressure และ diastolic blood pressure ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียต่ำกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่ายังไม่เคยมีการศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียรุนแรงปานกลาง แต่มีการศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงมาก (thalassemia major) พบว่ามีความดัน systolic และ diastolic blood pressure ต่ำกว่าคนปกติเช่นกันซึ่งอาจอธิบายจากการตรวจพบระดับ norepinephrine ในพลาสมาที่ต่ำกว่าคนปกติ กลาง (95) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษายืนยันในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง

นอกจากนี้จากการตรวจทางห้องปฏิบัติการพบว่า ผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีระดับ hemoglobin ที่ต่ำกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นแม้จะตัด nucleated red cell ออกไปแล้วก็ตามและมีปริมาณเกล็ดเลือดสูงขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการตอบสนองต่อภาวะอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) หรือปัจจัยกระตุ้นอื่นๆ ที่ยังไม่ทราบแน่ชัด (reactive leukocytosis and reactive thrombocytosis) ซึ่งส่วนหนึ่งอาจเป็นผลจากการที่ผู้ป่วยตัดม้ามจะมีปริมาณเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้นด้วย

นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงกว่าคนปกติ และมีค่าเอนไซม์ตับที่สูงขึ้น โดยที่มีระดับ serum ferritin เฉลี่ยสูงถึง 3,090.2 นาโนก./มล. ซึ่งแสดงถึงภาวะเหล็กเกิน (secondary hemochromatosis) โดยเหล็กที่เกินจะไปสะสมยังตับอ่อนและตับทำให้เซลล์ทำงานผิดปกติ แต่กลับพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีระดับ creatinine และ estimated glomerular filtration rate ต่ำกว่าคนปกติซึ่งอาจอธิบายจากมีปริมาณกล้ามเนื้อน้อยกว่าคนปกติ ร่วมกับมีภาวะ cardiac output สูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การตรวจการทำงานของหัวใจโดย echocardiography พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความผิดปกติของตัวชี้วัดในการทำงานของหัวใจผิดปกติหลายค่าซึ่งบ่งชี้ว่าการทำงานของหัวใจของผู้ป่วยธาลัสซีเมียเพิ่มขึ้นทั้งด้านซ้ายและด้านขวา โดยพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีปริมาณของเลือดที่ผ่านเข้าออกหัวใจเพิ่มขึ้น มีการไหลของเลือดเร็วกว่าคนปกติ โดยที่การบีบตัวของหัวใจด้านซ้าย (ejection fraction) ไม่ต่างจากคนปกติ ถึงแม้จะพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีปริมาณเหล็กสะสมมากขึ้น แต่ยังไม่ส่งผลถึงการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจในขณะนี้ นอกจากนี้ยังพบการบีบตัวของหัวใจด้านขวาเพิ่มขึ้นและความดันหลอดเลือดแดงปอดเฉลี่ยสูงกว่าคนปกติ อย่างไรก็ตามพบว่ามีผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์ความดัน

หลอดเลือดแดงปอดสูงผิดปกติเพียงร้อยละ 7 ซึ่งต่ำกว่ารายงานก่อนหน้านี้ อาจมาจากการที่ผู้ป่วยเกือบทั้งหมดได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอซึ่งมีหลักฐานแสดงว่าสามารถลดความดันหลอดเลือดแดงปอดได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้รับเลือดหรือได้รับไม่สม่ำเสมอ (96) อย่างไรก็ตาม แม้จะพบผู้ป่วยที่มีความดันหลอดเลือดแดงปอดสูงน้อยแต่ผู้ป่วยที่มีค่า TRPG หรือ TRV สูงแม้จะไม่มีอาการแต่บ่งชี้ถึงดันหลอดเลือดแดงในปอดที่สูงเพิ่มขึ้นและมีความเสี่ยงต่อการเกิดความดันหลอดเลือดแดงปอดสูงในอนาคตพบว่ายังมีถึงร้อยละ 36 ซึ่งจำเป็นต้องติดตามผู้ป่วยกลุ่มนี้ต่อไปในอนาคต นอกจากนี้ยังมีข้อมูลว่าผู้ป่วย sickle cell ที่มีค่า TRPG >25 มม.ปรอท หรือ TRV >2.5 ม./วินาที มีโอกาสเสียชีวิตสูงขึ้น แต่ยังไม่มีความชัดเจนในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (97)

ในการตรวจการทำงานของผนังหลอดเลือดแดงพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีขนาดหลอดเลือดเล็กกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งอาจอธิบายจากผู้ป่วยมีขนาดตัวเล็กกว่าคนปกติซึ่งปัจจัยหนึ่งของขนาดของหลอดเลือดคือแปรผันตามกับขนาดของร่างกาย นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจมีภาวะหลอดเลือดส่วนปลายหดตัวในระดับที่ไม่ทำให้เกิดอาการทางคลินิก (subclinical) ร่วมด้วย ซึ่งพบว่าขนาดของหลอดเลือดของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับค่า TRPG ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดความดันหลอดเลือดแดงปอดสูงในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย เมื่อทำการวัดการขยายตัวของหลอดเลือดภายหลังวัดความดันที่แขนของผู้ป่วย (reactive hyperemia) พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีการขยายตัวของหลอดเลือดน้อยกว่าคนปกติ (endothelium-dependent flow-mediated dilatation) อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งชี้ไปถึงการทำงานผิดปกติของผนังหลอดเลือดในการตอบสนองต่อ shearing force โดยเชื่อว่ามาจากการที่เซลล์บุผนังหลอดเลือดไม่สามารถสร้าง NO ได้เท่ากับในคนปกติ (endogenous NO depletion) นอกจากนี้มีหลักฐานว่าหลอดเลือดขนาดเล็กมีแนวโน้มที่จะเกิดการขยายตัวของหลอดเลือดมากกว่าหลอดเลือดขนาดใหญ่ ซึ่งจะยิ่งช่วยสนับสนุนความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมากขึ้น เมื่อทำการวัดการขยายตัวของหลอดเลือดภายหลังให้ nitroglycerine ซึ่งจะไปเพิ่มปริมาณของ NO ในกระแสเลือด พบว่าการขยายตัวของหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียไม่แตกต่างจากคนปกติ แสดงให้เห็นว่ากล้ามเนื้อผนังหลอดเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมียทำงานได้ปกติ คือสามารถตอบสนองต่อ exogenous NO ได้เหมือนคนปกติ ซึ่งเป็นหลักฐานบ่งชี้ว่าความผิดปกติของผนังหลอดเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมียนั้น เกิดจากความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดที่มีความผิดปกติในการสร้าง NO ทำให้เกิดภาวะ NO depletion

การตรวจวัดปริมาณ NO ในพลาสมาช่วยยืนยันภาวะพร่อง NO ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย โดยพบว่ามีปริมาณต่ำกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ การที่ผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีระดับ NO ลดลงนอกจากภาวะ chronic hemolysis ซึ่งทำให้มี free heme จับกับ NO แล้ว การที่ผู้ป่วยมีผนังหลอดเลือดที่ทำงานผิดปกติซึ่งเป็นผลของ endogenous production ของ NO ของเซลล์บุผนังหลอดเลือดลดลงเอง ทำให้การหลั่ง NO จากเซลล์บุผนังหลอดเลือดลดลงเป็นผลรวมให้ปริมาณ NO ที่ตรวจได้ลดลงเมื่อ

เปรียบเทียบกับคนปกติ จากการศึกษาที่ยังพบว่าปริมาณของ NO ในพลาสมายังมีความสัมพันธ์กับการทำงานของผนังหลอดเลือดจากการวัดการเปลี่ยนแปลงการขยายตัวของหลอดเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นหลักฐานช่วยสนับสนุนความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ที่พบระหว่าง NO ในพลาสมา และการทำงานของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียนั้นพบว่าค่าความสัมพันธ์ (r) ไม่สูงมาก เนื่องจากกลไกการเกิดความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความซับซ้อน และน่าจะมีสาเหตุจากหลายกลไกไม่ได้เกิดจาก NO depletion แต่เพียงอย่างเดียว

อย่างไรก็ตามผู้ป่วยธาลัสซีเมียกลุ่มนี้ที่นำมาทำการศึกษากลับเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาตามมาตรฐานการดูแลในปัจจุบันคือ ได้รับเลือดและยาขับเหล็กอย่างสม่ำเสมอเกือบทั้งหมด เนื่องจากมีการศึกษาว่าการให้เลือดนั้นสามารถลดภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดของผู้ป่วยเช่น ความดันหลอดเลือดแดงในปอด (98) เป็นต้น เนื่องจากเชื่อว่าการให้เลือดอย่างสม่ำเสมอจะลดการสร้างเม็ดเลือดแดงผิดปกติ (ineffective erythropoiesis) ทำให้เม็ดเลือดแดงที่ผิดปกติลดลง หรือทำให้ความรุนแรงของการเกิด chronic hemolysis ลดลงนั่นเอง จึงอาจส่งผลให้ระดับ NO ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียกลุ่มนี้ไม่ต่ำมากชัดเจน และ/หรือภาวะผนังหลอดเลือดแดงผิดปกติในผู้ป่วยกลุ่มนี้อาจจะผิดปกติน้อยลง อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย β -thalassemia/HbE ที่ไม่ได้รับเลือดสม่ำเสมอมาเปรียบเทียบ แต่เนื่องจากผู้ป่วยในปัจจุบันมีแนวโน้มที่จะได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอมากขึ้นเพราะสามารถเข้าถึงการรักษาพยาบาลมากขึ้น และแพทย์ที่ดูแลผู้ป่วยมีความรู้ความเข้าใจในการรักษาดีขึ้น ทำให้ผู้ป่วยที่ไม่ได้รับเลือดสม่ำเสมอมีน้อยลงเรื่อยๆจึงอาจเป็นข้อจำกัดในการศึกษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ อย่างไรก็ตาม การที่ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอแล้วยังตรวจพบความผิดปกติของผนังหลอดเลือดอยู่อาจเป็นหลักฐานสนับสนุนว่าการให้เลือดสม่ำเสมอเพียงอย่างเดียวยังไม่เพียงพอในการแก้ไขความผิดปกตินี้ และยังช่วยสนับสนุนว่าพยาธิกำเนิดของความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความซับซ้อน และมีหลายกลไกร่วมกัน

ภาวะผิดปกติทางหลอดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย โดยเฉพาะความดันหลอดเลือดแดงในปอดสูงนั้น นอกจากสามารถลดความรุนแรงได้โดยการให้เลือดสม่ำเสมอ การให้ sildenafil ซึ่งเป็น specific phosphodiesterase type 5 (PDE 5) inhibitor ออกฤทธิ์ในการเพิ่มฤทธิ์ของ NO ในการขยายตัวของหลอดเลือด สามารถช่วยลดความดันหลอดเลือดแดงในผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้ และยังเพิ่มระดับของ NOx ในเลือดของผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญ (99, 100) นอกจากฤทธิ์ขยายตัวของผนังหลอดเลือดแล้ว NO ยังมีฤทธิ์อื่นๆ เช่น ฤทธิ์ต้านการทำงานของเกล็ดเลือด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคตว่า ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะผนังหลอดเลือดผิดปกติ และเกิดภาวะหลอดเลือดแทรกซ้อนทางหลอดเลือดอื่นๆ ในอนาคตเช่น stroke, coronary artery disease นั้น นอกจากการให้ยาต้านเกล็ดเลือดตามการรักษามาตรฐานแล้ว การให้ยาที่สามารถเพิ่มระดับ NO ในเลือด หรือเสริมฤทธิ์การทำงานของ

NO จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการรักษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีหลักฐานว่ามีการทำงานของผนังหลอดเลือดผิดปกติได้หรือไม่

จากการศึกษานี้นอกจากการเปลี่ยนแปลงของการขยายตัวของหลอดเลือดที่สัมพันธ์กับระดับ NO แล้ว ยังพบว่าค่า TRPG ยังมีความสัมพันธ์กับระดับของ NO ในพลาสมาของผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการลดลงของ NO ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียจากภาวะ chronic hemolysis นั้น น่าจะส่งผลต่อหลอดเลือดของร่างกายทั้งระบบ (systemic effect) ทำให้สามารถตรวจพบทั้งการขยายตัวของหลอดเลือด brachial artery ที่ผิดปกติ รวมทั้งความผิดปกติของ pulmonary artery ทำให้มีความดันหลอดเลือดแดงปอดที่สูงขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามยังไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่า FMD1 และระดับ NO ในพลาสมาของผู้ป่วยที่มีค่าความดันหลอดเลือดแดงปอดสูงนั้น อาจเนื่องมาจากผู้ป่วยธาลัสซีเมียกลุ่มนี้ได้รับเลือดอย่างสม่ำเสมอทำให้ความดันหลอดเลือดแดงปอดไม่สูงมากและจำนวนผู้ป่วยที่ใช้ในการศึกษาอาจไม่เพียงพอในการตรวจพบความสัมพันธ์

นอกจาก NO แล้ว ยังพบว่าปริมาณ PGE2 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีปริมาณน้อยกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับการขยายตัวของหลอดเลือดโดยมีความสัมพันธ์กับค่า FMD1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย PGE2 เป็น prostaglandin ซึ่งสารกลุ่ม eicosanoid ที่มีปริมาณมากที่สุดในร่างกาย (53) สร้างจากเซลล์เกือบทุกชนิดในร่างกาย รวมทั้งเซลล์บุผนังหลอดเลือด โดย PGE2 มีหน้าที่หลายอย่างทั้งมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เพิ่มการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบ และเกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการอักเสบของร่างกาย แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดเหมือน prostacyclin มีการศึกษาในผู้ป่วย sickle cell anemia ที่มี acute vasoocclusive sickle crisis พบว่ามีปริมาณของ endothelin 1 และ PGE2 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และลดลงหลังจากออกจากโรงพยาบาล 1-3 สัปดาห์ แต่ยังมีระดับสูงกว่าคนปกติทั้ง endothelin 1 และ PGE2 เนื่องจาก endothelin 1 เป็นออกฤทธิ์เป็น vasoconstrictor ที่รุนแรงที่สุดตัวหนึ่ง และยังมีฤทธิ์กระตุ้นการอักเสบด้วย โดยถูกกระตุ้นให้สร้างเพิ่มขึ้นโดยภาวะขาดออกซิเจน และ shear stress ในผู้ป่วย sickle cell นั้น endothelin 1 นอกจากทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดเพิ่มขึ้นนำมาสู่การขาดเลือดของเนื้อเยื่อต่างๆ เพิ่มขึ้นแล้ว ยังทำหน้าที่กระตุ้นให้ monocyte สร้าง PGE2 มากขึ้น โดย PGE2 มีฤทธิ์ทั้งเพิ่มการขยายตัวของหลอดเลือด และลดการอักเสบ ดังนั้นการที่ผู้ป่วย sickle cell anemia เกิด acute vasoocclusive sickle crisis จากการอุดตันของหลอดเลือดโดยการจับกันของเม็ดเลือดแดงผิดปกติในหลอดเลือดขนาดเล็ก กระตุ้นกระบวนการอักเสบของร่างกาย อย่างไรก็ตามภายหลังออกจากโรงพยาบาลแล้วยังพบว่าผู้ป่วยมี sickle cell ยังมีระดับของ endothelin 1 และ PGE2 สูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ อาจชี้บ่งว่าผู้ป่วย sickle cell มีภาวะอักเสบเรื้อรังในร่างกาย

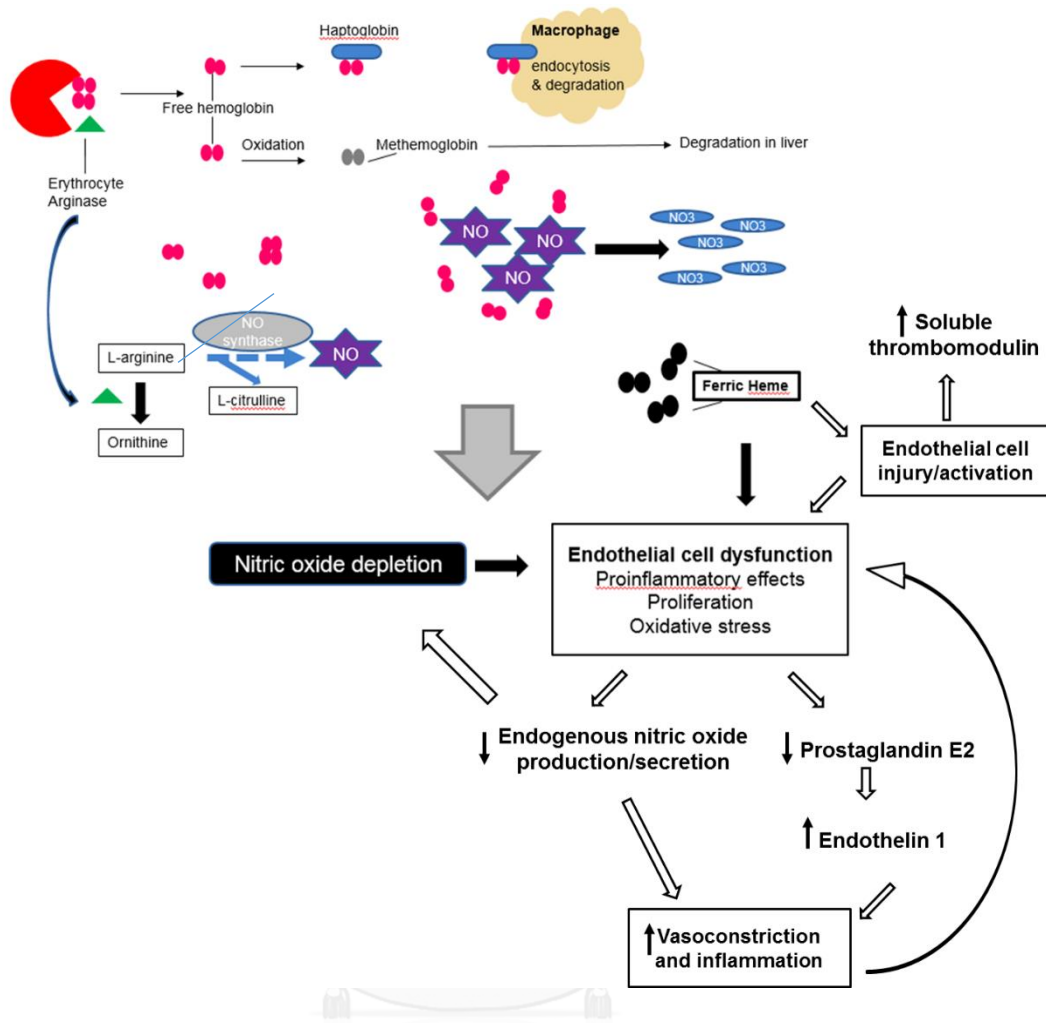
(54) ในขณะที่การศึกษาในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิด β -thalassemia/HbE ในเด็กพบว่ามียระดับ

endothelin 1 สูงขึ้นกว่าปกติ และการให้เลือดสามารถลดระดับ endothelin 1 ลงได้เหมือนคนปกติ (55) โดยในปัจจุบันมีการนำยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง endothelin 1 เช่น bosentan มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะความดันโลหิตแดงปอดสูงผิดปกติแม้จะได้รับเลือดอย่างเพียงพอแล้ว (101) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ระดับ endothelin 1 ในพลาสมาของผู้ป่วยธาลัสซีเมียเพิ่มกว่าคนปกติเพียงร้อยละ 15-20 ไม่ได้เพิ่มขึ้นหลายเท่าเหมือนในผู้ป่วย sickle cell ดังนั้นจึงชี้บ่งว่าพยาธิวิทยาของผู้ป่วย sickle cell และ thalassemia มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลง PGE2 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียว่าเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกับผู้ป่วย sickle cell หรือไม่ ซึ่งผลการศึกษาของเราพบว่าระดับของ PGE2 ในพลาสมาของผู้ป่วยธาลัสซีเมียนั้นต่ำกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของ PGE2 ในพลาสมาของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับการทำงานผิดปกติของผนังหลอดเลือดโดยมีความสัมพันธ์กับค่า FMD1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การที่ระดับ endothelin 1 และ PGE2 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย และผู้ป่วย sickle cell นั้นมีความแตกต่างกัน นั้นแสดงให้เห็นว่าพยาธิกำเนิดของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย และ sickle cell มีความแตกต่างกัน โดยในผู้ป่วย sickle cell นั้นเชื่อว่าการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นของ endothelin 1 มาจากภาวะขาดออกซิเจน และการอักเสบโดย endothelin 1 จะไปกระตุ้นการสร้าง PGE2 จาก monocyte เพื่อตอบสนองการอักเสบ ในทางตรงข้าม PGE2 เองสามารถยับยั้งการสร้าง endothelin 1 ได้ โดยมีหลักฐานว่า PGE2 สามารถยับยั้งการสร้าง endothelin 1 ผ่านการเพิ่มของ cyclic AMP ที่เซลล์เยื่อหุ้มหลอดลม (bronchial epithelial cell) ทำให้การสร้าง endothelin 1 ในเซลล์เยื่อหุ้มหลอดลมลดลง (102) ซึ่งจะลดทั้งการหดตัวและการอักเสบของผนังหลอดเลือด จึงเป็นไปได้ว่าระดับของ PGE2 ที่ลดลงในผู้ป่วยธาลัสซีเมียกลุ่มนี้เมื่อเทียบกับคนปกติอาจเกิดจากความผิดปกติของเซลล์ผนังหลอดเลือดทำให้การสร้าง PGE2 ที่ผนังหลอดเลือดลดลง และส่งผลให้การยับยั้งการสร้าง endothelin 1 เสียไปจึงมีระดับ endothelin 1 เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

นอกจาก NO และ PGE2 แล้ว การศึกษานี้ยังตรวจพบว่า ระดับของ sTM ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง TM เป็นโปรตีนบนผิวเยื่อหุ้มผนังหลอดเลือด มีหน้าที่ในการส่งเสริมการทำงานของ thrombin ในการเปลี่ยน protein C เป็น activated protein C (APC) ซึ่ง APC มีหน้าที่สำคัญในการยับยั้งปัจจัยการแข็งตัวของเลือด คือ factor V และ factor VIII ให้อยู่ในรูปที่ทำงานไม่ได้ นอกจากนี้ APC ซึ่งจับกับ endothelial protein C receptor ยังสามารถไปกระตุ้น protease activated receptor บนผิวเซลล์ผนังหลอดเลือดซึ่งจะส่งสัญญาณภายในเซลล์หลายอย่างที่ทำหน้าที่ปกป้องเซลล์ผนังหลอดเลือด เช่น ป้องกันการตาย (anti-apoptosis) ป้องกันการอักเสบ (anti-inflammation) ของเซลล์ผนังหลอดเลือด เป็นต้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของระดับ sTM ในเลือดแสดงถึงการหลุดของ TM บนผิวเซลล์ซึ่งชี้บ่งว่าอาจมีอันตรายต่อผนังหลอดเลือด (endothelial cell injury) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับการเพิ่มขึ้นของ sTM ในพลาสมานั้นมีความเสี่ยงต่อการกลับเป็นซ้ำของ coronary

artery disease และ stroke สูงขึ้นกว่าผู้ป่วยที่มีระดับ sTM ต่ำอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งระดับ sTM ที่เพิ่มขึ้นอาจชี้บ่งถึงความผิดปกติของผนังหลอดเลือดที่มากกว่าซึ่งทำหน้าที่ของหลอดเลือดในการป้องกันการแข็งตัวของเลือดลดลง นอกจากนี้อาจทำให้หลอดเลือดเกิดหยันตรง่ายขึ้นยิ่งเป็นการส่งเสริมให้การทำงานของผนังหลอดเลือดผิดปกติเพิ่มมากขึ้นอีก (61, 103) อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะพบการเพิ่มขึ้นของระดับ sTM ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของการทำงานของหลอดเลือดที่ผิดปกติ ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีพยาธิสภาพของหลอดเลือดที่เกิดขึ้นมาก่อนแล้วเป็นระยะเวลาชานาน และนำไปสู่การทำงานของผนังหลอดเลือดผิดปกติ โดยที่ระดับ sTM ที่วัดในขณะนี้ไม่ได้ชี้บ่งถึงการทำงานที่ผิดปกติของหลอดเลือดในปัจจุบัน จึงไม่พบความสัมพันธ์กับค่า FMD1 จึงอาจสรุปการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้เกิดผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้ดัง รูปที่ 20

เนื่องจากผู้ป่วยธาลัสซีเมียรุนแรงปานกลางที่ได้รับการตัดม้ามมักจะพบภาวะแทรกซ้อนของหลอดเลือดสูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการตัดม้าม เช่น พบภาวะความดันหลอดเลือดแดงในปอดสูงผิดปกติมากกว่า จึงได้ศึกษาเปรียบเทียบผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ได้รับการตัดม้ามและได้รับการตัดม้ามเปรียบเทียบกัน พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับการตัดม้ามมีระดับ Hb สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเลือดที่ได้รับต่อปีจะน้อยกว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ได้ตัดม้าม และยังคงพบปริมาณเม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และ nucleated red cell สูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการตัดม้ามเช่นกัน แต่จากการศึกษาไม่พบความแตกต่างของความผิดปกติในการทำงานของผนังหลอดเลือดจากค่า FMD1 และปริมาณ NO และ PGE2 ในพลาสมาของผู้ป่วยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากการพิจารณาผลลัพธ์ที่ออกมาพบว่าค่า NO และ PGE2 ในผู้ป่วยที่ได้รับการตัดม้ามมีค่าน้อยกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการตัดม้าม ดังนั้นการที่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติอาจเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีจำนวนน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าระดับของ sTM ในผู้ป่วยที่ได้รับการตัดม้ามต่ำกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการตัดม้ามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจสัมพันธ์กับปริมาณของเซลล์หลอดเลือดที่มีมากกว่าในผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ไม่ได้ตัดม้ามซึ่งจะมีม้ามขนาดใหญ่มากและมีเซลล์บุผนังหลอดเลือดปริมาณมากกว่า อย่างไรก็ตามจำนวนผู้ป่วยธาลัสซีเมียในแต่ละกลุ่มยังมีปริมาณน้อย และไม่ได้เปรียบเทียบเพศและอายุเหมือนกับการเปรียบเทียบกับคนปกติ จึงอาจต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อยืนยันผลการศึกษานี้



รูปที่ 22 กลไกการเกิดภาวะผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมีย β -thalassemia/HbE ซึ่งผู้ป่วยเกือบทั้งหมดได้รับเลือดและได้รับยาขับเหล็กสม่ำเสมอ มีการทำงานของผนังหลอดเลือดผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ จากการศึกษาในประชากรทั่วไปพบว่าเป็นตัวบ่งชี้ของการเกิดผนังหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) และภาวะแทรกซ้อนที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดหัวใจโคโรนารี ภาวะหัวใจวาย และโรคหลอดเลือดสมอง ซึ่งจำเป็นต้องติดตามภาวะแทรกซ้อนของผู้ป่วยกลุ่มนี้ต่อไปในอนาคต นอกจากนี้ยังพบว่าความผิดปกติในการทำงานของผนังหลอดเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมียยังมีความสัมพันธ์กับความดันหลอดเลือดแดงในปอดที่สูงขึ้นในผู้ป่วยธาลัสซีเมียด้วยซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อนจำเพาะที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยกลุ่มนี้ จึงจำเป็นต้องติดตามการเกิดความดันหลอดเลือด

แดงปอดสูงผิดปกติในผู้ป่วยกลุ่มนี้ต่อไปด้วยในอนาคต นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความสัมพันธ์กับระดับของ NO และ PGE2 ในพลาสมาที่ลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้จะบ่งชี้ถึงพยาธิวิทยาของการเกิดผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมียแล้ว ยังอาจนำไปสู่การศึกษาเพิ่มเติมในรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดงเช่น การให้ยาเพิ่ม NO และ/หรือ PGE2 ในพลาสมา ร่วมกับการรักษามาตรฐานต่อไป



รายการอ้างอิง

1. Fucharoen S, Ketvichit P, Pootrakul P, Siritanaratkul N, Piankijagum A, Wasi P. Clinical manifestation of beta-thalassemia/hemoglobin E disease. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2000;22(6):552-7.
2. Riewpaiboon A, Nuchprayoon I, Torcharus K, Indaratna K, Thavorncharoensap M, Ubol BO. Economic burden of beta-thalassemia/Hb E and beta-thalassemia major in Thai children. *BMC Res Notes.* 2010;3:29.
3. Manfre L, Giarratano E, Maggio A, Banco A, Vaccaro G, Lagalla R. MR imaging of the brain: findings in asymptomatic patients with thalassemia intermedia and sickle cell-thalassemia disease. *AJR Am J Roentgenol.* 1999;173(6):1477-80.
4. Taher AT, Musallam KM, Nasreddine W, Hourani R, Inati A, Beydoun A. Asymptomatic brain magnetic resonance imaging abnormalities in splenectomized adults with thalassemia intermedia. *J Thromb Haemost.* 2010;8(1):54-9.
5. Aessopos A, Kati M, Farmakis D. Heart disease in thalassemia intermedia: a review of the underlying pathophysiology. *Haematologica.* 2007;92(5):658-65.
6. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA.* 2005;293(13):1653-62.
7. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005;23(2):233-46.
8. Hadi HA, Carr CS, Al Suwaidi J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc Health Risk Manag.* 2005;1(3):183-98.
9. Stoyanova E, Trudel M, Felfly H, Lemsaddek W, Garcia D, Cloutier G. Vascular endothelial dysfunction in beta-thalassemia occurs despite increased eNOS expression and preserved vascular smooth muscle cell reactivity to NO. *PLoS One.* 2012;7(6):e38089.

10. Dissayabuttra T, Tosukhowong P, Seksan P. The benefits of vitamin C and vitamin E in children with beta-thalassemia with high oxidative stress. *J Med Assoc Thai.* 2005;88 Suppl 4:S317-21.
11. Aphinives C, Kukongviriyapan U, Jetsrisuparb A, Kukongviriyapan V, Somparn N. Impaired endothelial function in pediatric hemoglobin E/beta-thalasseia patients with iron overload. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2014;45(6):1454-63.
12. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(5):986-1000.
13. Busse R, Forstermann U, Matsuda H, Pohl U. The role of prostaglandins in the endothelium-mediated vasodilatory response to hypoxia. *Pflugers Arch.* 1984;401(1):77-83.
14. Martin FA, Murphy RP, Cummins PM. Thrombomodulin and the vascular endothelium: insights into functional, regulatory, and therapeutic aspects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;304(12):H1585-97.
15. John S, Drobnik W, Lackner K, Schmieler RE. Soluble thrombomodulin and endothelial dysfunction in early atherosclerosis. *Lancet.* 1999;354(9190):1647.
16. Hirata Y, Nagata D, Suzuki E, Nishimatsu H, Suzuki J, Nagai R. Diagnosis and treatment of endothelial dysfunction in cardiovascular disease. *Int Heart J.* 2010;51(1):1-6.
17. Cohen AR, Galanello R, Pennell DJ, Cunningham MJ, Vichinsky E. Thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2004:14-34.
18. Borgna-Pignatti C, Marsella M, Zanforlin N. The natural history of thalassemia intermedia. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1202:214-20.
19. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:11.
20. Maggio A, Vitrano A, Capra M, Cuccia L, Gagliardotto F, Filosa A, et al. Improving survival with deferiprone treatment in patients with thalassemia major: a prospective multicenter randomised clinical trial under the auspices of the Italian Society for Thalassemia and Hemoglobinopathies. *Blood Cells Mol Dis.* 2009;42(3):247-51.
21. Satitthummanid S. UN. Cardiovascular complication in β -thalassemia patients. *Chulalongkorn Medical Journal.* 2014;58:657-72.

22. Walker JM. Thalassaemia major and the heart: a toxic cardiomyopathy tamed? *Heart*. 2013;99(12):827-34.
23. Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia. *N Engl J Med*. 2005;353(11):1135-46.
24. Aessopos A, Farmakis D, Karagiorga M, Voskaridou E, Loutradi A, Hatziliami A, et al. Cardiac involvement in thalassemia intermedia: a multicenter study. *Blood*. 2001;97(11):3411-6.
25. Taher A, Isma'eel H, Cappellini MD. Thalassemia intermedia: revisited. *Blood Cells Mol Dis*. 2006;37(1):12-20.
26. Dittman WA, Majerus PW. Structure and function of thrombomodulin: a natural anticoagulant. *Blood*. 1990;75(2):329-36.
27. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem*. 1989;264(9):4743-6.
28. Cheung YF, Chan GC, Ha SY. Arterial stiffness and endothelial function in patients with beta-thalassemia major. *Circulation*. 2002;106(20):2561-6.
29. Eldor A, Rachmilewitz EA. The hypercoagulable state in thalassemia. *Blood*. 2002;99(1):36-43.
30. Gladwin MT. Role of the red blood cell in nitric oxide homeostasis and hypoxic vasodilation. *Adv Exp Med Biol*. 2006;588:189-205.
31. Maggio A, Vitrano A, Calvaruso G, Barone R, Rigano P, Mancuso L, et al. Serial echocardiographic left ventricular ejection fraction measurements: a tool for detecting thalassemia major patients at risk of cardiac death. *Blood Cells Mol Dis*. 2013;50(4):241-6.
32. Aggeli C, Antoniadis C, Cosma C, Chrysohoou C, Tousoulis D, Ladis V, et al. Endothelial dysfunction and inflammatory process in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia major. *Int J Cardiol*. 2005;105(1):80-4.
33. Roseff SD. Sickle cell disease: a review. *Immunohematology*. 2009;25(2):67-74.
34. Henderson AH. St Cyres lecture. Endothelium in control. *Br Heart J*. 1991;65(3):116-25.
35. Chong AY, Blann AD, Lip GY. Assessment of endothelial damage and dysfunction: observations in relation to heart failure. *QJM*. 2003;96(4):253-67.

36. Nagel RL, Gibson QH. The binding of hemoglobin to haptoglobin and its relation to subunit dissociation of hemoglobin. *J Biol Chem.* 1971;246(1):69-73.
37. Olson JS, Foley EW, Rogge C, Tsai AL, Doyle MP, Lemon DD. No scavenging and the hypertensive effect of hemoglobin-based blood substitutes. *Free Radic Biol Med.* 2004;36(6):685-97.
38. Liu X, Miller MJ, Joshi MS, Sadowska-Krowicka H, Clark DA, Lancaster JR, Jr. Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes. *J Biol Chem.* 1998;273(30):18709-13.
39. Schnog JJ, Jager EH, van der Dijs FP, Duits AJ, Moshage H, Muskiet FD, et al. Evidence for a metabolic shift of arginine metabolism in sickle cell disease. *Ann Hematol.* 2004;83(6):371-5.
40. Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, et al. Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. *N Engl J Med.* 2004;350(9):886-95.
41. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288(5789):373-6.
42. Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol.* 2006;147 Suppl 1:S193-201.
43. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;43(2):109-42.
44. Luscher TF, Noll G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. *Atherosclerosis.* 1995;118 Suppl:S81-90.
45. Tousoulis D, Kampoli AM, Tentolouris C, Papageorgiou N, Stefanadis C. The role of nitric oxide on endothelial function. *Curr Vasc Pharmacol.* 2012;10(1):4-18.
46. Barbato JE, Tzeng E. Nitric oxide and arterial disease. *J Vasc Surg.* 2004;40(1):187-93.
47. Thomas GD, Zhang W, Victor RG. Nitric oxide deficiency as a cause of clinical hypertension: promising new drug targets for refractory hypertension. *JAMA.* 2001;285(16):2055-7.

48. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(24):9265-9.
49. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, et al. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature*. 1995;377(6546):239-42.
50. Ohashi Y, Kawashima S, Hirata K, Yamashita T, Ishida T, Inoue N, et al. Hypotension and reduced nitric oxide-elicited vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. *J Clin Invest*. 1998;102(12):2061-71.
51. Irwin C, Roberts W, Naseem KM. Nitric oxide inhibits platelet adhesion to collagen through cGMP-dependent and independent mechanisms: the potential role for S-nitrosylation. *Platelets*. 2009;20(7):478-86.
52. Wang GR, Zhu Y, Halushka PV, Lincoln TM, Mendelsohn ME. Mechanism of platelet inhibition by nitric oxide: in vivo phosphorylation of thromboxane receptor by cyclic GMP-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(9):4888-93.
53. Park JY, Pillinger MH, Abramson SB. Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. *Clin Immunol*. 2006;119(3):229-40.
54. Graido-Gonzalez E, Doherty JC, Bergreen EW, Organ G, Telfer M, McMillen MA. Plasma endothelin-1, cytokine, and prostaglandin E2 levels in sickle cell disease and acute vaso-occlusive sickle crisis. *Blood*. 1998;92(7):2551-5.
55. Viprakasit V, Kankirawatana S, Akarasereenont P, Durongpisitkul K, Chotewuttakorn S, Tanphaichitr VS. Baseline levels of plasma endothelin-1 (ET-1) and changes during transfusion in thalassemic patients. *Am J Hematol*. 2002;70(3):260-2.
56. Seigneur M, Dufourcq P, Conri C, Constans J, Mercie P, Pruvost A, et al. Plasma thrombomodulin: new approach of endothelium damage. *Int Angiol*. 1993;12(4):355-9.
57. Blann A, Seigneur M. Soluble markers of endothelial cell function. *Clin Hemorheol Microcirc*. 1997;17(1):3-11.
58. Seigneur M, Dufourcq P, Conri C, Constans J, Mercie P, Pruvost A, et al. Levels of plasma thrombomodulin are increased in atheromatous arterial disease. *Thromb Res*. 1993;71(6):423-31.

59. Gabat S, Keller C, Kempe HP, Amiral J, Ziegler R, Ritz E, et al. Plasma thrombomodulin: a marker for microvascular complications in diabetes mellitus. *Vasa*. 1996;25(3):233-41.
60. Blann AD, Amiral J, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leucocyte adhesion molecules in ischaemic heart disease. *Br J Haematol*. 1996;95(2):263-5.
61. Blann AD, Amiral J, McCollum CN. Prognostic value of increased soluble thrombomodulin and increased soluble E-selectin in ischaemic heart disease. *Eur J Haematol*. 1997;59(2):115-20.
62. Salomaa V, Matei C, Aleksic N, Sansores-Garcia L, Folsom AR, Juneja H, et al. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: a case-cohort study. *Lancet*. 1999;353(9166):1729-34.
63. Boehme MW, Deng Y, Raeth U, Bierhaus A, Ziegler R, Stremmel W, et al. Release of thrombomodulin from endothelial cells by concerted action of TNF-alpha and neutrophils: in vivo and in vitro studies. *Immunology*. 1996;87(1):134-40.
64. Akazawa H, Ikeda U, Kuroda T, Shimada K. Plasma endothelin-1 levels in Takayasu's arteritis. *Cardiology*. 1996;87(4):303-5.
65. Boehme MW, Schmitt WH, Youinou P, Stremmel WR, Gross WL. Clinical relevance of elevated serum thrombomodulin and soluble E-selectin in patients with Wegener's granulomatosis and other systemic vasculitides. *Am J Med*. 1996;101(4):387-94.
66. Hoffman GS, Ahmed AE. Surrogate markers of disease activity in patients with Takayasu arteritis. A preliminary report from The International Network for the Study of the Systemic Vasculitides (INSSYS). *Int J Cardiol*. 1998;66 Suppl 1:S191-4; discussion S5.
67. Butthep P, Bunyaratvej A, Funahara Y, Kitaguchi H, Fucharoen S, Sato S, et al. Possible evidence of endothelial cell activation and disturbance in thalassemia: an in vitro study. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1997;28 Suppl 3:141-8A.
68. Cappellini MD. Coagulation in the pathophysiology of hemolytic anemias. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007:74-8.

69. Butthep P, Bunyaratvej A, Funahara Y, Kitaguchi H, Fucharoen S, Sato S, et al. Alterations in vascular endothelial cell-related plasma proteins in thalassaemic patients and their correlation with clinical symptoms. *Thromb Haemost.* 1995;74(4):1045-9.
70. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, et al. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005;23(1):7-17.
71. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J.* 1995;74(3):247-53.
72. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115(10):1285-95.
73. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(2):257-65.
74. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension.* 2010;55(5):1075-85.
75. Cooke JP, Rossitch E, Jr., Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest.* 1991;88(5):1663-71.
76. Miura H, Wachtel RE, Liu Y, Loberiza FR, Jr., Saito T, Miura M, et al. Flow-induced dilation of human coronary arterioles: important role of Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circulation.* 2001;103(15):1992-8.
77. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuiliez C, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation.* 1995;91(5):1314-9.
78. Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension.* 1986;8(1):37-44.

79. Sun D, Huang A, Smith CJ, Stackpole CJ, Connetta JA, Shesely EG, et al. Enhanced release of prostaglandins contributes to flow-induced arteriolar dilation in eNOS knockout mice. *Circ Res*. 1999;85(3):288-93.
80. Wray DW, Uberoi A, Lawrenson L, Bailey DM, Richardson RS. Oral antioxidants and cardiovascular health in the exercise-trained and untrained elderly: a radically different outcome. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116(5):433-41.
81. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. 1993;88(5 Pt 1):2149-55.
82. Kato T, Inoue T, Morooka T, Yoshimoto N, Node K. Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers. *Can J Physiol Pharmacol*. 2006;84(5):523-9.
83. Papamichael CM, Aznaouridis KA, Karatzis EN, Karatzi KN, Stamatelopoulos KS, Vamvakou G, et al. Effect of coffee on endothelial function in healthy subjects: the role of caffeine. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109(1):55-60.
84. Strinden ST, Stellwagen RH. Inhibition of guanylate cyclases by methylxanthines and papaverine. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;123(3):1194-200.
85. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Toba K, et al. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation*. 1995;92(12):3431-5.
86. Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Kuzuya M, Satake S, Ishikawa T, et al. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;214(3):847-55.
87. Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, et al. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol*. 1999;33(5):1379-85.
88. Padilla J, Harris RA, Fly AD, Rink LD, Wallace JP. The effect of acute exercise on endothelial function following a high-fat meal. *Eur J Appl Physiol*. 2006;98(3):256-62.

89. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340(8828):1111-5.
90. Harris RA, Padilla J, Rink LD, Wallace JP. Variability of flow-mediated dilation measurements with repetitive reactive hyperemia. *Vasc Med*. 2006;11(1):1-6.
91. Betik AC, Luckham VB, Hughson RL. Flow-mediated dilation in human brachial artery after different circulatory occlusion conditions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286(1):H442-8.
92. Doshi SN, Naka KK, Payne N, Jones CJ, Ashton M, Lewis MJ, et al. Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin Sci (Lond)*. 2001;101(6):629-35.
93. Ducharme A, Dupuis J, McNicoll S, Harel F, Tardif JC. Comparison of nitroglycerin lingual spray and sublingual tablet on time of onset and duration of brachial artery vasodilation in normal subjects. *Am J Cardiol*. 1999;84(8):952-4, A8.
94. Aessopos A, Farmakis D, Tsironi M, Diamanti-Kandarakis E, Matzourani M, Fragodimiri C, et al. Endothelial function and arterial stiffness in sickle-thalassemia patients. *Atherosclerosis*. 2007;191(2):427-32.
95. Veglio F, Melchio R, Rabbia F, Molino P, Genova GC, Martini G, et al. Blood pressure and heart rate in young thalassemia major patients. *Am J Hypertens*. 1998;11(5):539-47.
96. Chueamuangphan N, Patumanond J, Wongtheptien W, Nawarawong W, Sukonthasarn A, Chuncharunee S, et al. Benefits of chronic blood transfusion in hemoglobin E/beta thalassemia with pulmonary arterial hypertension. *Int J Gen Med*. 2014;7:411-6.
97. Machado RF, Gladwin MT. Pulmonary hypertension in hemolytic disorders: pulmonary vascular disease: the global perspective. *Chest*. 2010;137(6 Suppl):30S-8S.
98. Taher AT, Musallam KM, Karimi M, El-Beshlawy A, Belhoul K, Daar S, et al. Overview on practices in thalassemia intermedia management aiming for lowering complication rates across a region of endemicity: the OPTIMAL CARE study. *Blood*. 2010;115(10):1886-92.

99. Derchi G, Forni GL, Formisano F, Cappellini MD, Galanello R, D'Ascola G, et al. Efficacy and safety of sildenafil in the treatment of severe pulmonary hypertension in patients with hemoglobinopathies. *Haematologica*. 2005;90(4):452-8.
100. Morris CR, Kim HY, Wood J, Porter JB, Klings ES, Trachtenberg FL, et al. Sildenafil therapy in thalassemia patients with Doppler-defined risk of pulmonary hypertension. *Haematologica*. 2013;98(9):1359-67.
101. Anthi A, Tsangaris I, Hamodraka ES, Lekakis J, Armaganidis A, Orfanos SE. Treatment with bosentan in a patient with thalassemia intermedia and pulmonary arterial hypertension. *Blood*. 2012;120(7):1531-2.
102. Pelletier S, Dube J, Villeneuve A, Gobeil F, Jr., Yang Q, Battistini B, et al. Prostaglandin E(2) increases cyclic AMP and inhibits endothelin-1 production/secretion by guinea-pig tracheal epithelial cells through EP(4) receptors. *Br J Pharmacol*. 2001;132(5):999-1008.
103. Olivot JM, Labreuche J, Aiach M, Amarenco P, Investigators G. Soluble thrombomodulin and brain infarction: case-control and prospective study. *Stroke*. 2004;35(8):1946-51.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

แบบฟอร์มบันทึกข้อมูลอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

Date.../...../..... Time.....

Thalassemia Control

Patient ID _____

Ageyears

Gender Male Female

Vital signs:

Systolic Blood Pressure:mmHg

Diastolic Blood Pressure:mmHg

Pulse ratesbpm.

Pulse pressuremmHg

Mean arterial pressuremmHg

Anthropometrics:

Heightcm

Weightkg

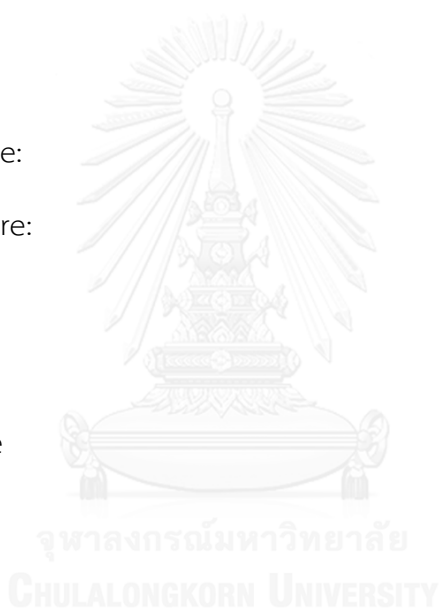
BSAm²

FMD

Baseline 1mm

Peak diameter 1min (reactive hyperemia)mm

Baseline 2mm



Mean pulmonary artery pressuremmHg
Stroke volumeml
Stroke volume indexml/m ²
Heart ratebpm
Cardiac output indexml/min/m ²

SPECIAL LABORATORY

Nitric oxide metabolites μ mol/L
Prostaglandin E2pg/ml
Thrombomodulinpg/ml

BASIC LABORATORY

CBC:

Hbg/dL
Hct%
MCVfl.
RDW%
WBC/mm ³
Neutrophils%
Lymphocytes%
Nucleated red cells/mm ³

CHEMISTRY

FBSmg/dL
BUNmg/dL



Crmg/dL
 eGFRmL/min per 1.73 m²
 ASTU/L
 ALTU/L
 Ferritinng/ml

CLINICAL CHARACTERISTICS

Number of PRC transfusionunits/year

Splenectomy YES NO

Chelating agents YES NO

Drug name.....

Dosemg/day

COMMENTS

ลงชื่อผู้บันทึกข้อมูล

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ พญ. สุภารัตน์ สถิติธรรมนิตย์

ที่อยู่ 445/8 ถ.ไมตรีจิตต์ เขตป้อมปราบศัตรูพ่าย จ.กรุงเทพมหานคร 10100

วันเดือนปีเกิด 19 กรกฎาคม พ.ศ. 2521 ภูมิลำเนา จ.กรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษา

ระดับประถมศึกษา โรงเรียนอัสสัมชัญศึกษา 2528 - 2534

มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนอัสสัมชัญศึกษา 2534 - 2537

มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษา 2537 - 2539

แพทยศาสตร์บัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2539 - 2545

วุฒิปัตรสสาขายูรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2548 - 2551

วุฒิปัตรอายุรศาสตร์โรคหัวใจ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2551 - 2553

ประวัติการทำงาน

แพทย์เพิ่มพูนทักษะโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา 2545 - 2446

แพทย์ประจำโรงพยาบาลด่านขุนทด จ.นครราชสีมา 2546 - 2548

แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2548 - 2551

แพทย์ประจำบ้านต่อยอดอายุรศาสตร์หัวใจและหลอดเลือด รพ.จุฬาฯ 2551 - 2553

แพทย์ประจำบ้านต่อยอดคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจความถี่สูง รพ.จุฬาฯ 2553 - 2555

ปัจจุบัน

อาจารย์แพทย์ สาขาวิชาอายุรศาสตร์หัวใจและหลอดเลือด

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย