การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของการให้ยาแคลเซียมเสริมหลังอาหาร 2 มื้อ กับการให้ก่อนนอนครั้งเดียวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ ซี–เทอร์มินอล เทลโลเปปไทด์ ครอสลิงค์และ ระดับพาราธัยรอยด์ฮอร์โมน ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกบางอายุ 60-70 ปี

นางสาว สมลักษณ์ จึงสมาน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546
ISBN 974-17-4406-4
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARING THE EFFICACY OF SHORT TERM POST MEALS AND BEDTIME CALCIUM SUPPLEMENTATION ON THE C-TERMINAL TELOPEPTIDE CROSSLINKS AND PTH LEVELS IN POSTMENOPAUSAL OSTEOPENIC WOMEN

Ms. Somlak Chuengsamarn

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master Science in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2003

ISBN 974-17-4406-4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของการให้ยาแคลเซียมเสริมหลังอาหาร 2 มื้อ กับการให้ก่อนนอนครั้งเดียวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ ซี–เทอร์มินอล เทลโลเปปไทด์ ครอสลิงค์ และระดับพาราธัยรอยด์ ฮอร์โมน ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกบางอายุ 60-70 ปี
โดย	นางสาว สมลักษณ์ จึงสมาน
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์นายแพทย์ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(อาจารย์นายแพทย์สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประวิตร อัศวานนท์)

..... กรรมการ
(นายแพทย์ ภาสกร วัธนธาดา)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมลักษณ์ จึงสมาน : **การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของการให้ยาแคลเซียมเสริมหลังอาหาร 2 มื้อกับการให้ก่อนนอนครั้งเดียวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ ซี–เทอร์มินอล เทลโลเปปไทด์ ครอสลิงค์และระดับพาราธัยรอยด์ฮอร์โมน ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกบางอายุ 60-70 ปี** (COMPARING THE EFFICACY OF SHORT TERM POST MEALS AND BEDTIME CALCIUM SUPPLEMENTATION ON THE C-TERMINAL TELOPEPTIDE CROSSLINKS AND PTH LEVELS IN POSTMENOPAUSAL OSTEOPENIC WOMEN) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. นพ. สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร: 86 หน้า. ISBN 974-17-4406-4.

การให้แคลเซี่ยมเสริมในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีความเสี่ยงต่อโรคกระดูกพรุน สามารถลดภาวะการลดลงของมวลกระดูก และความเสี่ยงต่อการเกิดกระดูกหัก อย่างไรก็ตามเวลาที่เหมาะสมในการให้แคลเซี่ยมเสริมยังไม่มีข้อสรุปชัดเจน การศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์ที่จะเปรียบเทียบประสิทธิผลระหว่างการรับประทานแคลเซียมหลังอาหารสองมื้อและการรับประทานแคลเซียมก่อนนอนในระยะเวลาสองสัปดาห์ ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน โดยวัดผลของการเปลี่ยนแปลงระดับ ซี–เทอร์มินอล เทลโลเปปไทด์ ครอสลิงค์ และพาราธัยรอยด์ฮอร์โมน

การศึกษาออกแบบการวิจัยในรูป" randomized double blind placebo-control crossover" โดยแบ่งช่วงเวลาการให้แคลเซี่ยมเสริมเป็น 3 ช่วงการศึกษา โดยแต่ละช่วงการศึกษาใช้เวลาสองสัปดาห์ ช่วงแรกของการศึกษา ผู้ร่วมโครงการจะได้รับการคัดเลือกโดยการสุ่มให้ได้รับแคลเซี่ยมคาร์บอเนต [Chalk Cap® 835 mg = elemental calcium 334 mg ต่อเม็ด หลังอาหารสองมื้อ (เช้า 1 เม็ด และ เย็น 1 เม็ด)] หรือได้รับแคลเซี่ยมคาร์บอเนตก่อนนอน 2 เม็ด ช่วงที่สองการศึกษาผู้ร่วมโครงการจะได้รับเฉพาะยาหลอกทั้งหลังอาหารสองมื้อ และก่อนนอน ช่วงที่สามของการศึกษาจะ crossover ในคนเดียว โดยถ้าช่วงแรกได้แคลเซี่ยมคาร์บอเนตช่วงหลังอาหารสองมื้อ ในช่วงที่สามของการศึกษาจะได้รับแคลเซี่ยมคาร์บอเนตช่วงก่อนนอน และตรงกันข้ามถ้าช่วงแรกได้แคลเซี่ยมคาร์บอเนตก่อนนอน ในช่วงที่สามของการศึกษาจะได้รับแคลเซี่ยมคาร์บอเนตช่วงหลังอาหาร สองมื้อ เมื่อจบการศึกษาในช่วงแรก และช่วงที่สามของการศึกษา ผู้ร่วมโครงการเข้านอนพักในโรงพยาบาล เพื่อวัดระดับซี–เทอร์มินอล เทลโลเปปไทด์ ครอสลิงค์ ที่เวลา 8.00 น. และวัดระดับพาราธัยรอยด์ฮอร์โมน ก่อนอาหารเช้า 8.00 น. และเย็น 18.00 น. 1 ชั่วโมง และภายหลังอาหารเช้าและเย็น 1 ชั่วโมง และวัดช่วงนอนหลับที่เวลา 24.00 น., 2.00 น., 4.00 น., และ 6.00 น. รวมทั้งสิ้น 8 ครั้งต่อวัน ผลของการศึกษา พบว่าผู้ร่วมโครงการ เป็นหญิงวัยหมดประจำเดือน จำนวน 36 คน มีอายุเฉลี่ย 63.84 ±3.62 ปี มีความหนาแน่นกระดูกสันหลังและกระดูกสะโพกวัดเป็นค่า T-score - 2.96±0.87 กรัม / ซม.^{2} และ - 2.86±0.77 กรัม / ซม.^{2} ระดับซี–เทอร์มินอล เทลโลเปปไทด์ ครอสลิงค์ในกลุ่มที่ได้รับแคลเซี่ยมก่อนนอน มีระดับที่ต่ำกว่าในกลุ่มที่ได้รับแคลเซี่ยมหลังอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.228±0.00 และ 0.313±0.003 , P< 0.001) และระดับพาราธัยรอยด์ฮอร์โมนในกลุ่มที่ได้รับแคลเซี่ยมก่อนนอนมีระดับต่ำกว่า ในกลุ่มที่ได้รับแคลเซี่ยมหลังอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (25.173±2.31 และ 31.930±2.677)

ผลสรุปจากการศึกษานี้พบว่าการให้แคลเซี่ยมเสริมในช่วงก่อนนอน ลดระดับค่าดัชนีการสลายของมวลรวมกระดูกและพาราธัยรอยด์ฮอร์โมนได้ดีกว่า การให้แคลเซี่ยมเสริมในช่วงหลังอาหาร ในช่วงระยะเวลาสั้นๆ อย่างไรก็ตามผลสรุปในระยะยาวต้องการการศึกษาต่อไป

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2546..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4575259230: MAJOR MEDICINE (ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM)
KEYWORD: CALCIUM SUPPLEMENTATION/ PARATHYROID HORMONE LEVELS

SOMLAK CHUENGSAMARN: COMPARING THE EFFICACY OF SHORT TERM POST MEALS AND BEDTIME CALCIUM SUPPLEMENTATION ON THE C-TERMINAL TELOPEPTIDE CROSSLINKS AND PTH LEVELS IN POSTMENOPAUSAL OSTEOPENIC WOMEN. THESIS ADVISOR: ASSIT PROF. SOMPONGSE SUWANWALAIKORN, M.D. 86 pp. ISBN 974-17-4406-4

Calcium supplement for postmenopausal osteopenic women can significantly reduce bone loss and the risk of fractures. However, the optimal time for calcium supplementation remains controversy. The aim of this study was to compare the effect of twice daily post meals and bedtime calcium supplementation for two weeks period, on C- terminal telopeptide crosslinks and PTH levels in postmenopausal osteopenic women.

A randomized double blind placebo-control, crossover design, was carried on 3 consecutive periods of 2-week treatment regimen. The first period, subject randomly received either two calcium carbonate tablets (Chalk Cap® 835 mg= elemental calcium 334 mg per tab) or placebo at bedtime with one tablet of calcium tablet or placebo after breakfast and dinner for two weeks. The second period, subjects received only placebo tablets after the meals and bedtime for 2 weeks. The third period subject received either calcium carbonate or placebo for another two weeks. The C- terminal telopeptide crosslinks were measured at the end of each period and serum PTH were sampling at 1 hr after breakfast and dinner and at time 22.00 PM, 24.00 PM, 2.00A M, 4.00 AM and 6.00 AM respectively by the end of each study period. The study **was** showed thirty-six postmenopausal subject (mean age 63.9$\pm$3.66 years) participated in this study. The means T-score BMD of the spine and hip were -2.96$\pm$0.87 and -2.86$\pm$0.77 gm/cm^2.

C – terminal telopeptide crosslinks levels of the bed time supplementation was significant lower than the post meal supplementation (0.228 ± 0.002 vs.0.313 ± 0.003, $p<0.001$). The mean night time serum PTH level during the bedtime was significant lower than the post meal period. (25.173± 2.31 vs 31.930± 2.677). No differences in the post meal PTH level between two periods were observed.

The bedtime calcium supplementation appeared to reduce the bone resorption marker and night time serum PTH level greater than the post meal calcium supplementation in this short term period study. However, long term comparison may be needed.

Department ……MEDICINE……..Student's signature……..
Field of study …….MEDICINE……..Advisor's signature……..
Academic Year……..2003…….Co- advisor's signature……..

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ในการให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น แนวทางการทำวิจัย รวมทั้งด้านทุนการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์นายแพทย์ภาสกร วัธนธาดา

ขอขอบพระคุณ คุณจรูญพงศ์ เกียรติวงศ์ บริษัท จรูญเภสัช จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์จัดหายาแคลเซี่ยม Chalk cap® 835 มิลลิกรัม ให้โดยไม่คิดมูลค่า และดำเนินการขออนุญาตต่อคณะกรรมการอาหารและยา ในการจัดทำยาหลอกเพื่อการวิจัยครั้งนี้โดยเฉพาะ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงสมรัตน์ เลิศมหาฤทธิ์ ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับการรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

ขอขอบพระคุณ คุณประไพ ศรีสวัสดิ์ ในการตรวจทางห้องปฏิบัติพาราธัยรอยด์ฮอร์โมนและซีเทอร์มินัล เทโลเปปไทด์ ครอสลิงค์ ในงานวิจัยนี้เป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณพยาบาลและเจ้าหน้าที่ประจำตึกธนาคารกรุงเทพ ทุกท่าน ที่ช่วยเหลือในการดูแลผู้เข้าร่วมโครงการ รวมทั้งขอขอบพระคุณผู้เข้าร่วมโครงการทุกท่านในงานวิจัยนี้ที่เสียสละเวลาและให้ความร่วมมืออย่างดียิ่งจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญภาพ..... ซ

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญแผนภูมิ..... ญ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... ฎ

บทที่

1. บทนำ..... 1

ความสำคัญและที่มาของการศึกษาวิจัย……. 1

2. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการปรับเปลี่ยนกระดูก ภาวะกระดูกพรุนในวัยหมดประจำเดือนและการดูแลรักษาด้วยยาป้องกันภาวะกระดูกพรุน..... 6

3. ความรู้พื้นฐานของการวัดดัชนีการเปลี่ยนของการสลายและการสร้างกระดูกต่อการเปลี่ยนแปลงการให้แคลเซียมรับประทาน..... 25

4. ปริทัศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... 34

5. วัสดุและวิธีการ..... 42

6. ผลการวิจัย..... 47

7. การอภิปรายผลการวิจัย..... 55

8. สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 63

รายการอ้างอิง..... 65

ภาคผนวก..... 76

วิธีการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ..... 77

ใบคำยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย..... 81

แบบฟอร์มเก็บข้อมูลการวิจัย..... 84

ใบเสร็จรับเงินค่าพาหนะ..... 85

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 86

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1. ภาพ Normal bone remodeling cycle 7
2. Graph แสดง step ต่างๆ ของ remodeling cycle เมื่อ plot ความลึก กับเวลา..... 10
3. Diagram แสดง Irreversible bone loss 11
4. Graph แสดงการ development ของ “Peak bone mass” 16
5. แสดงการเพิ่มขึ้นของ Bone mineral density (BMD) ของ Lumbar spine และ Femoral neck ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกพรุน โดยได้รับ alendronate เป็นระยะเวลา 3 ปี เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม..... 23
6. แสดงผลของการรักษาชนิดต่างๆ ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกพรุนต่อการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นกระดูก (Bone mineral density)ของกระดูกสันหลัง..... 24
7. แสดง Biochemical marker of bone turnover โดยแยกเป็น bone resorption และ formation markers ชนิดต่างๆ ตามการทำงานของ osteoclast และ osteoblast cells 29
8. แสดงโครงสร้างของ type 1 collagen และ cross-link degradation products . 31
9. แสดง osteocalcin รูปแบบต่างๆ ในเลือด..... 33

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1. แสดงถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มของมวลกระดูกในช่วงวัยรุ่น…….. 19
2. แสดงถึงสภาวะที่เกี่ยวข้องกับการลดลงของมวลกระดูก…….. 19
3.แสดงผลของ antiresorptive agents ชนิดต่างๆ ในการลดการหักของกระดูก ของหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกพรุน…..……. 21
4. แสดงถึงข้อดี และข้อเสีย ของการให้ เอสโตรเจน รักษา ในภาวะหญิงวัยหมด ประจำเดือน…… 22
5. แสดงถึงวิธีการต่างๆ ในการวัดความหนาแน่นของกระดูก..... 26
6. แสดงถึงภาวะฮอร์โมน และปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ กระดูกโดยขบวนการต่างๆ ……..…….. 27
7. แสดง bone resorption markers ชนิดต่างๆ ที่วัดได้ในเลือดและ ปัสสาวะ…… 30
8. แสดง bone formation marker ชนิดต่างๆ ที่วัดในเลือด..…….. 32
9. แสดงลักษณะพื้นฐานของผู้ร่วมโครงการวิจัย จำนวน 38 ราย..…..…… 49
10.แสดงค่า PTH และ CTx ในช่วงเวลาต่างๆ โดยแยกเป็น 2 กลุ่ม (กลุ่มได้รับแคลเซียมหลังอาหารและก่อนนอน)…….. 50
11.แสดงค่าเหตุการณ์ข้างเคียงที่เกิดขึ้น…… ……..…… 53
12.แสดงผลข้างเคียงของการรับประทานแคลเซี่ยมเสริม โดยจำแนกตามอาการ….. 54

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิแท่งที่ **หน้า**

1. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับ Serum CTx ระหว่างกลุ่มที่ได้รับแคลเซียม หลังอาหาร และก่อนอาหาร..... 51
2.เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับ PTH ระหว่างกลุ่มที่ได้รับแคลเซียม หลังอาหารและก่อนนอน..... 52

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

BMD	=	Bone mineral density
BMU	=	Bone remodeling units
CTx	=	C – telopeptide fragments of type 1 collagen
Dexa	=	Dual-energy X-ray absorptionmetry
NTx	=	Cross-linked N-telopeptide of type 1 collagen
PTH	=	Parathyroid hormone
TRAP	=	Enzyme tartrate resistant acid phosphatase
U–T–Pyd	=	Urinary total pyridinoline
U-T-Dpd	=	Urinary total deoxypyridinoline
U-F-Dpd	=	Urinary free deoxypyridinoline

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของการศึกษาวิจัย (Background and rational)

โรคกระดูกพรุน (Osteoporosis) เป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากประชากรมีอายุขัยยืนยาวเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้สัดส่วนของผู้สูงอายุเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ องค์การอนามัยโลกได้ให้คำจำกัดความของโรคกระดูกพรุนว่า เป็นความผิดปกติของกระดูกที่เกิดขึ้นทั่วไปโดยมีมวลกระดูก (bone mass) ลดลงร่วมกับมีการเปลี่ยนแปลงของจุลโครงสร้างภายในเนื้อกระดูก (microarchitectural deterioration) ทำให้กระดูกเปราะบางและสูญเสียความคงทน จนเป็นเหตุให้เกิดกระดูกหักได้ง่าย เนื่องจากการลดลงของมวลกระดูกในโรคกระดูกพรุนนั้นมีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณแคลเซียมในกระดูกดังนั้นการตรวจวัดมวลกระดูกจึงมักตรวจวัดโดยทางอ้อมโดยอาศัยการตรวจความหนาแน่นของกระดูก(bone mineral density) แทนโดยอาศัยเครื่องมือที่เรียกว่า Bone densitometer ซึ่งได้กลายเป็นมาตรฐานของการตรวจวินิจฉัยโรคกระดูกพรุนในปัจจุบัน

สาเหตุของโรคกระดูกพรุนมีมากมาย ส่วนใหญ่เกิดจากภาวะชราภาพร่วมกับภาวะพร่องฮอร์โมนเพศ (Estrogen deficiency) ในระยะแรกของโรคนี้ (ช่วงอายุ 60-70 ปี) จะพบว่ากระดูกชนิด trabecular bone มีการลดลงมากกว่า เช่น กระดูกสันหลัง กระดูกข้อมือ ในระยะท้ายของโรค (อายุ 70 ปีขึ้นไป) จะพบว่าทั้งกระดูก trabecular bone และกระดูก cortical bone เช่น กระดูกสะโพก จะลดลงทั่วไป

การป้องกันและรักษาโรคกระดูกพรุนตั้งแต่ในระยะแรกนั้นมีความสำคัญ เนื่องจากเมื่อมวลกระดูกลดลงมากจนเกิดกระดูกหักแล้ว จะมีผลให้เกิดความพิการและทุพลภาพและคุณภาพชีวิตที่ลดลงตามมา โอกาสที่จะเกิดกระดูกหักซ้ำในคนที่เกิดกระดูกหักแล้วพบได้สูงมาก การป้องกันและรักษาโรคกระดูกพรุนจึงควรเริ่มตั้งแต่เมื่อมวลกระดูกเริ่มลดลง จนถึงระดับที่เริ่มมีความเสี่ยงต่อกระดูกหักได้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่มีความเสี่ยงสูง ต่อการเกิดกระดูกพรุนและกระดูกหัก

ภาวะกระดูกพรุนโดยปกติจะพบได้ในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย เนื่องจากฮอร์โมนเอสโตรเจน มีบทบาทสำคัญมากต่อความหนาแน่นของกระดูก เพศหญิงเมื่อเข้าสู่วัยหมดระดู จะมีการลดลงของฮอร์โมนเอสโตรเจนและมีการลดลงของมวลกระดูกด้วยอัตราที่สูงกว่าเพศชาย ปัจจัยเสี่ยงหลายประการที่จะทำให้เกิดโรคกระดูกพรุนในหญิงหมดระดู ได้แก่ น้ำหนักตัวน้อย รูปร่างเล็กผอมบาง หมดระดูก่อนวัยอันสมควร การได้รับยาหรือฮอร์โมนบางชนิด การบริโภคอาหารที่มีแคลเซี่ยมน้อย ไม่ค่อยออกกำลังกาย สูบบุหรี่ เป็นต้น

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับยาหลายชนิดในการป้องกันและรักษาภาวะกระดูกพรุนในวัยหมดประจำเดือน เช่น แคลเซี่ยม, เอสโตรเจน, แคลซิโตนิน (calcitonin), บิสฟอสฟอเนต (bisphosphonate), Vitamin D, Selective Estrogen Receptor Moderators (SERMs) เป็นต้น จากการศึกษาต่างๆ ที่ผ่าน

มาจะพบว่า แคลเซี่ยมเป็นปัจจัยสำคัญในการเสริมสร้างมวลกระดูก ช่วยเสริมฤทธิ์ในการลดการสลายกระดูกและเพิ่มมวลกระดูกของยาต่างๆ ในกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอกร่วมกับแคลเซี่ยมจะมีการลดลงของมวลกระดูกลดลงกว่าเมื่อได้แต่ยาหลอกเพียงอย่างเดียว

องค์การอนามัยโลกได้แนะนำให้รับประทานแคลเซี่ยมจากอาหารอย่างเพียงพอเพื่อป้องกันภาวะกระดูกพรุน โดยแนะนำให้รับประทาน อย่างน้อย 800 มิลลิกรัมต่อวัน (ปริมาณธาตุแคลเซี่ยม) ในกรณีที่ไม่สามารถรับประทานแคลเซี่ยมจากอาหารได้เพียงพอ ควรรับประทานแคลเซี่ยมเสริมในรูปต่างๆ จากการศึกษา พบว่าการให้แคลเซียมเสริมเพียงอย่างเดียวในช่วง 5 ปี หลังหมดประจำเดือนอาจไม่เพียงพอที่จะยับยั้งการลดลงของมวลกระดูก ควรมีการให้แคลเซี่ยมร่วมกับยาเสริมตัวอื่น

โดยปกติแคลเซี่ยมจะดูดซึมได้น้อยในระบบทางเดินอาหาร การดูดซึมแคลเซี่ยมจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของแคลเซี่ยมที่รับประทาน ระดับของไวตามินดี ความเป็นกรดของกระเพาะอาหาร สารอาหารต่างๆ หลายชนิดเช่น phytate oxalate จะขัดขวางการดูดซึมของแคลเซี่ยม เป็นต้น การรับประทานแคลเซี่ยมในเวลาหลังอาหาร จะมีการดูดซึมได้ดีกว่าการรับประทานเมื่อท้องว่าง แต่อาจมีอาการข้างเคียงได้น้อยกว่าการรับประทานแคลเซี่ยมในช่วงก่อนเข้านอน ซึ่งอาจมีประโยชน์ในการลดระดับ parathyroid hormone ซึ่งมักจะมีระดับสูงขึ้นในช่วงกลางคืน อย่างไรก็ตามเวลาในการรับประทานแคลเซี่ยมเสริมที่เหมาะสมนั้นยังไม่เป็นที่ทราบกันแน่นอนว่า ควรจะรับประทานเวลาใดจึงจะได้ประโยชน์สูงสุด

การศึกษาผลของการรับประทานแคลเซี่ยมเสริม โดยเปรียบเทียบผลของการให้แคลเซี่ยมเสริมขนาดสูงในช่วงกลางคืน เพื่อลดระดับ PTH ที่สูงช่วงกลางคืนในผู้สูงอายุ จะมีผลต่อการลดระดับ PTH ได้ดีกว่า การรับประทานแคลเซี่ยมเสริมหลังอาหาร ซึ่งเชื่อว่าการดูดซึมแคลเซี่ยมจะดีกว่านั้น ขณะนี้ยังไม่มีข้อมูลหลักฐานการศึกษาเปรียบเทียบผลระหว่าง การให้แคลเซี่ยมเสริมสองแบบนี้ ในประชากรไทยวัยหมดประจำเดือน ช่วงอายุ 60 ถึง 70 ปี ที่มีกระดูกบางเสี่ยง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ต้องการศึกษาผลการเปรียบระหว่างการรับประทานแคลเซี่ยมเสริมหลังอาหาร กับ ก่อนนอนต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ PTH และ Serum C – terminal telopeptide crosslinks (S-CTX) ในกลุ่มประชากรดังกล่าวข้างต้น ซึ่งมีภาวะเสี่ยงต่อภาวะกระดูกพรุน จากภาวะพร่องฮอร์โมนเอสโตรเจน และประโยชน์จากผลของการศึกษาวิจัยครั้งนี้ก็เพื่อเป็นแนวทาง ในการแนะนำการรับประทานแคลเซี่ยมเสริมในประชากรไทยกลุ่มนี้

คำถามของการวิจัย (Research question)

การให้แคลเซี่ยมเสริมแก่ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนตั้งแต่อายุ 60 ปีขึ้นไปโดยรับประทานยาในช่วงก่อนนอนจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกระดูกแตกต่างจากการรับประทานยาภายหลังอาหาร 2 มื้อหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objective)

วัตถุประสงค์หลัก เพื่อศึกษาผลของการให้แคลเซี่ยมเสริมแก่ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนตั้งแต่อายุ 60 ปีขึ้นไป ที่มีภาวะของกระดูกพรุน โดยเปรียบเทียบการรับประทานก่อนนอนและการรับประทานหลังอาหารวันละสองมื้อ ต่อการเปลี่ยนแปลงของเมตะบอลิสมของกระดูก โดยวัดจากการเปลี่ยนแปลงของ

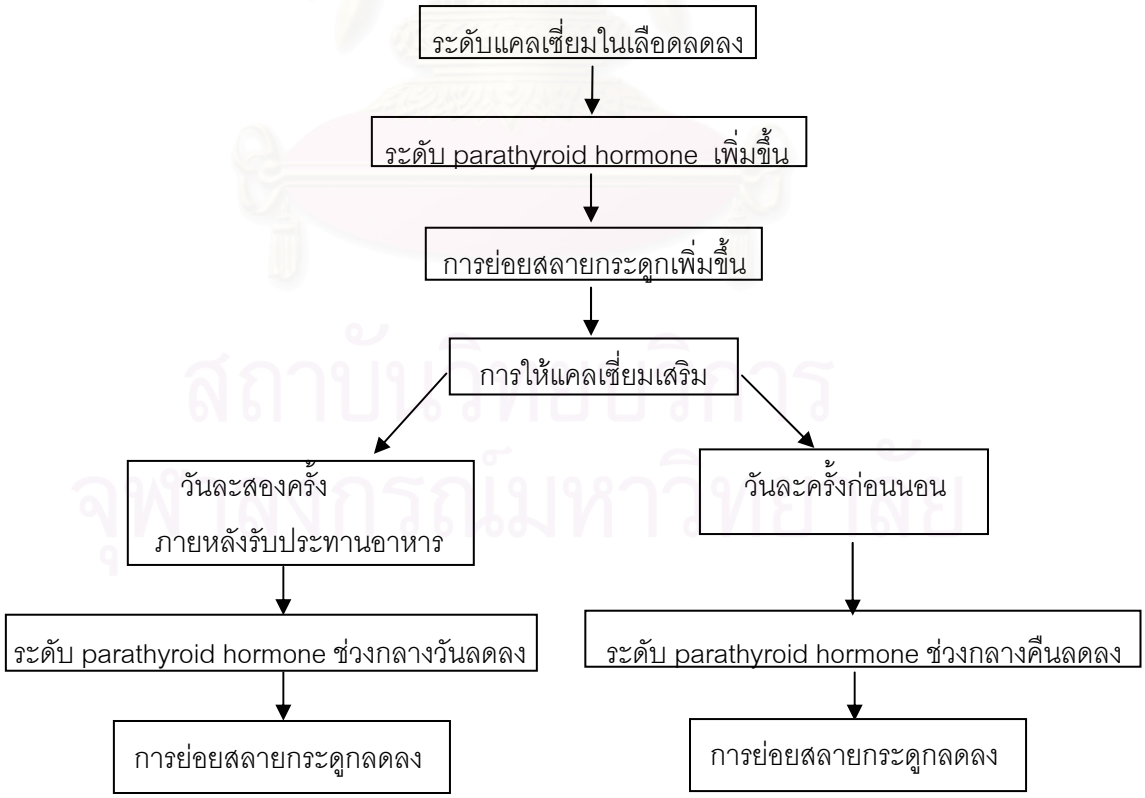
1. ระดับ PTH ใน 24 ชั่วโมง
2. อัตราการย่อยสลายของกระดูกโดยวัดจากสารในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

วัตถุประสงค์รอง เพื่อศึกษาผลข้างเคียงของการให้แคลเซี่ยมทั้งสองชนิด

สมมติฐานการวิจัย (Hypothesis)

การให้แคลเซี่ยมเสริมวันละสองครั้งหลังอาหาร จะทำให้ระดับ PTH ในช่วงกลางวันลดลง ขณะที่การให้แคลเซี่ยมเสริมก่อนนอนทำให้ระดับ PTH ในช่วงกลางคืนลดลง การให้แคลเซี่ยมเสริมทั้งสองวิธีอาจจะมีประสิทธิผลต่อเมตะบอลิสมของกระดูกที่แตกต่างกัน ในหญิงวัยหมดระดูที่มีภาวะกระดูกพรุน

กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework)



วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะได้รับการกำหนดให้รับประทานยาแคลเซี่ยมสองวิธีคือ

ช่วงระยะเวลาที่หนึ่ง ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับยา Calcium Carbonate โดยรับประทานวันละสองครั้งภายหลังอาหารเช้าและเย็น และได้รับยาหลอก (placebo) รับประทานก่อนนอนเป็นเวลา 2 สัปดาห์

ช่วงระยะเวลาที่สอง ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับยาหลอก (placebo) โดยรับประทานวันละสองครั้งภายหลังอาหารเช้าและเย็น และได้รับยาหลอก (placebo) รับประทานก่อนนอน เป็นเวลา 2 สัปดาห์

ช่วงระยะเวลาที่สาม ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับยาหลอกรับประทานวันละสองครั้งภายหลังอาหารเช้าและเย็น และได้รับยา Calcium Carbonate ก่อนนอน เป็นเวลา 2 สัปดาห์

ระยะ run in	**phase 1**	**phase 2**	**phase 3**
1 weeks	2 weeks	2 weeks	2 weeks
	Treatment	Wash out	Treatment
	Postmeal →	Placebo	Postmeal
	Bedtime →	Placebo	Bedtime
	(Placebo)		(Placebo)

ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะเข้านอนพักในโรงพยาบาล 2 ครั้ง เป็นเวลาครั้งละ 24 ชั่วโมง ครั้งแรกเมื่อครบ 2 สัปดาห์หลังการได้รับยาแคลเซี่ยมเสริมในช่วงที่ 1 และครั้งที่สองเมื่อครบ 2 สัปดาห์หลังการรับยาแคลเซี่ยมในช่วงที่ 3 เพื่อรับการตรวจเลือดวัดระดับของ C – terminal telopeptide Crosslinks (S-CTx) ที่เวลา 08.00 น. และ ระดับ PTH ที่เวลา 24.00 น., 02.00 น., 04.00 น., 06.00 น., 08.00 น., 09.00 น., 17.00 น. และ 19.00 น. รวมทั้งหมด 8 ครั้ง

ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะควบคุมการรับประทานอาหารให้ใกล้เคียงกัน ตลอด 6 สัปดาห์ ในช่วงการศึกษาทั้ง 3 ช่วง โดยการตรวจสอบจาก สมุดบันทึกการรับประทานอาหาร เพื่อตัดปัจจัยความแตกต่างของอาหารต่อระดับแคลเซี่ยมในเลือด ร่วมทั้งบันทึกอาการข้างเคียงต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างที่รับประทานยาแคลเซี่ยมด้วย

ปัญหาทางจริยธรรม

การศึกษานี้ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ผู้ร่วมโครงการได้รับคำอธิบายถึงขั้นตอนและวิธีการศึกษาขณะร่วมโครงการ รวมทั้งอาการข้างเคียงของยาที่อาจเกิดขึ้นได้ และได้ให้ความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรก่อนการเข้าร่วมโครงการวิจัย

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected benefit and application)

ผลประโยชน์ทางตรง เพื่อเป็นทางเลือกในการพิจารณา การรับประทานแคลเซี่ยมในช่วงเวลาก่อนนอน หรือหลังอาหาร รวมทั้งพิจารณาถึงผลข้างเคียงของยาที่เกิดขึ้นทั้งสองแบบ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในกลุ่มประชากรไทยช่วงอายุ 60 ถึง 70 ปี ที่มีกระดูกบางเสี่ยง

ผลประโยชน์ทางอ้อม เป็นการวิจัยเบื้องต้น ในการนำไปสู่การวิจัยอื่นๆ ต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับภาวะการปรับเปลี่ยนกระดูก, ภาวะดูกพรุน ในวัยหมดประจำเดือน และการดูแลรักษาด้วยยาป้องกันภาวะกระดูกพรุน

การปรับเปลี่ยนกระดูก (Bone remodeling)

คำนำ (Introduction)

Growth ของกระดูกในช่วงเด็ก หรือ วัยรุ่น หมายถึง การเจริญเติบโตตามแนวยาวของกระดูก (longitudinal growth) อันเกิดเนื่องจากการ proliferation ของ cartilage tissues บริเวณ growth plates ที่ปลายของ long bone ตามมาด้วยการเกิด calcification ของ cartilage เหล่านั้น

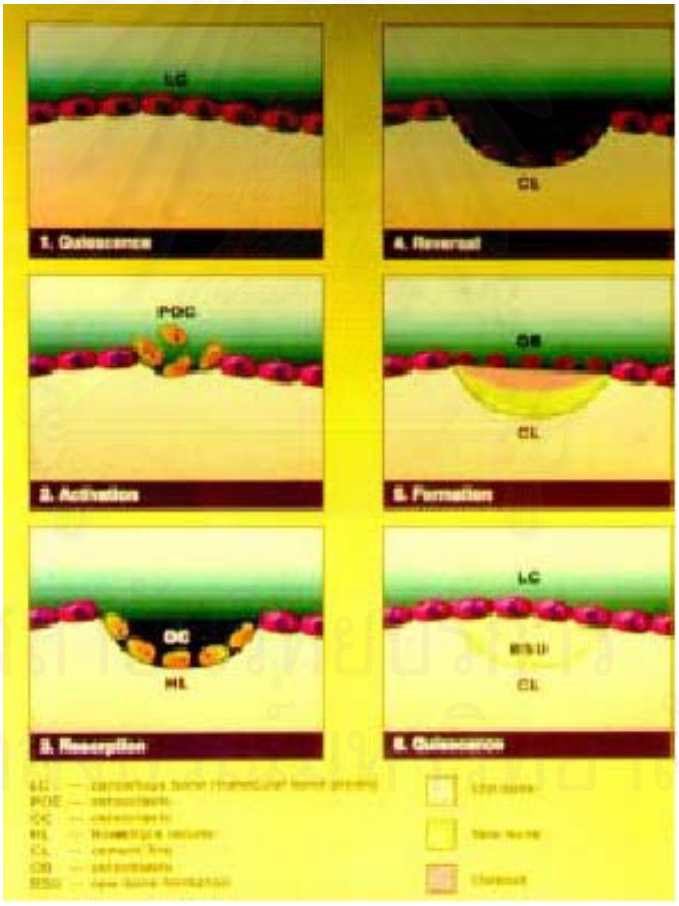
Bone modeling เป็น process ซึ่งมีการปรับเปลี่ยนรูปร่างของกระดูกไป เพื่อตอบสนองต่อ physiologic และ mechanical influences ที่เกิดขึ้น กระดูกสามารถที่จะกว้างออก หรือ ปรับเปลี่ยนแนวของตัวมันเองโดยใช้กลไกการ remove bone ในตำแหน่งที่ไม่ต้องการ และ add bone เข้าไปในตำแหน่งที่ต้องการ ยกตัวอย่าง เช่น การกว้างออกของ long bone เกิดจากการสร้าง new layers ของ bone ที่ periosteal surface ในขณะที่มีการ remove bone ในด้านของ endosteal surface ปรากฏการณ์นี้จะเห็นได้ชัดเจนในช่วงวัยเด็ก และจะค่อยหมดความสามารถนี้ไปเมื่อแก่ตัวขึ้น การที่ long bone สามารถปรับเปลี่ยนรูปร่างไปตาม stress ที่กระทำกับมันได้ เราเรียกอีกอย่างว่า *"Wolff's law"*

Bone remodeling ถือเป็น life long process ของการที่มีการผลัดเปลี่ยนเนื้อ bone ทดแทนกันตลอดเวลา โดยมีการ remove bone เก่า ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง (bone resorption) ออก ตามมาด้วยการ replace bone ใหม่ ที่ตำแหน่งนั้นๆ (bone formation) ความแตกต่างจาก bone modeling อยู่ที่การ remove และ replace bone ใน remodeling process จะต้องเกิดขึ้นที่ตำแหน่งเดียวกันเสมอ ในระดับ microscopic แล้ว remodeling เป็น active process ที่เกิดขึ้นในทุกๆกระดูกของร่างกายตลอดเวลา แต่ในระดับ macroscopic แล้ว เราแทบจะไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงใดๆ ทั้งในแง่ปริมาณหรือรูปร่างที่กระดูกเลย

วงจรการปรับเปลี่ยนกระดูก (Remodeling cycle)

Bone remodeling เป็นปรากฏการณ์ที่ถือได้ว่าเป็นกุญแจสำคัญในการอธิบาย กลไกการควบคุม "มวลกระดูก" (bone mass) และ pathophysiology ของการเกิด osteoporosis เลยทีเดียว ในกระดูกผู้ใหญ่จะมีการสลายกระดูก (bone resorption) และ การสร้างกระดูก (bone formation) เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา เป็นการทำงานกันเป็นทีม ประสานกันอย่างยอดเยี่ยมของ cells สองจำพวก คือ osteoclast และ osteoblast ดังได้กล่าวมาแล้ว ซึ่งเราเรียกรวมกันว่า "Basic multicellular unit" (BMU) หรือ

“Bone remodeling unit” (BRU) การเกิด bone remodeling เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นที่พื้นผิว (surface phenomenon) โดยใน cancellous หรือ trabecular bone จะเกิดขึ้นที่ trabecular surface ส่วนใน cortical bone จะเกิดขึ้นจากภายใน Haversian system ซึ่งผิวกระดูกเหล่านี้ในเวลาปกติจะมี cells ที่เราเรียกว่า bone lining cells ปกคลุมอยู่ ผิวกระดูกในระยะนี้เรียกได้ว่า อยู่ใน ระยะพัก (resting surface) หรือ Quiescent phase bone remodeling จะมีขั้นตอนการทำงานเป็น 4 ระยะ เรียงตามลำดับดังนี้ ดังแสดงในภาพที่ 1 diagram แสดงระยะต่างๆ ของ remodeling cycle

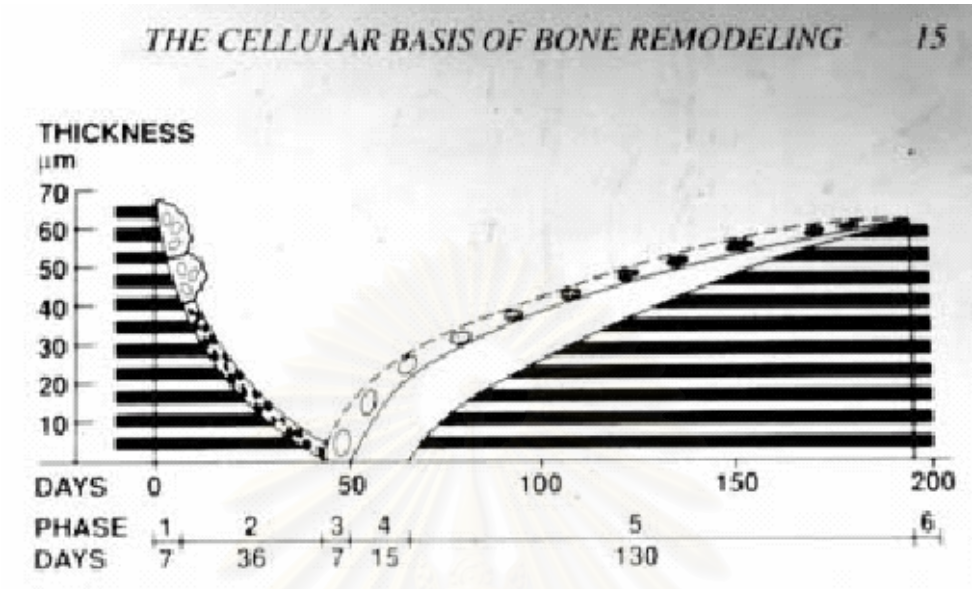


ภาพที่ 1 ภาพ Normal bone remodeling cycle

เริ่มต้นจาก Activation phase จะมีการ recruit mononuclear osteoclast จาก circulation มายังตำแหน่งที่จะเกิดการ remodeling มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นที่ quiescent surface โดย bone lining cells จะแยกออกจากกันเพื่อ expose หรือเปิดทางให้ multinucleated osteoclast ที่เกิดจากการ fusion ของ mononuclear precursor cells เหล่านั้น ลงไปเกาะยึดกับผิวของเนื้อกระดูก (mineralization bone) osteoclast เหล่านี้ จะยึดเกาะอย่างเหนียวแน่น โดยใช้ membrane receptor ที่เรียกว่า integrin จับกับส่วนของ bone matrix ที่เรียกว่า RGD-containing proteins ทำให้เกิดช่องว่างซึ่งแยกออกจาก extracellular space รอบๆ อย่างเด็ดขาด เรียกว่า “sealing zone” activation นี้เกิดขึ้นได้อย่างไร เหตุการณ์นี้ทำไมจึงมาเกิดขึ้นตรงนั้น สิ่งนี้เป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นอย่างมีจุดหมาย (purposeful) หรือเป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นแบบสุ่ม (random) เรายังไม่สามารถตอบอะไรได้ชัดเจนในปัจจุบัน หลักฐานที่ค้นพบแล้วในช่วงปีสองปีมานี้ บ่งไปในทางที่ว่า preosteoblast หรือ osteoblast นี้เองเป็นตัวการที่สำคัญยิ่งในการ activate osteoclast โดยใช้ surface protein ที่เรียกว่า osteoclast differentiation factors (ODF) หรือ RANK ligand (receptor activator of nuclear factor kappa-B) [1] ระยะต่อมาของ bone remodeling ก็คือ **Resorption phase** osteoclast ที่ differentiated เต็มที่แล้วจะเริ่มสลายกระดูกซึ่งอยู่ภายใต้ sealing zone โดยการหลั่ง proton หรือ H^+ ion และ proteolytic enzymes ต่างๆ เข้าไปภายใน sealing zone สภาพที่เป็นกรดอย่างมากภายใน sealing zone จะช่วยให้เกิดการสลาย mineral part ของ bone ออก ส่วน proteolytic enzymes โดยเฉพาะอย่างยิ่ง cathepsin K [2] จะทำหน้าที่ย่อยสลายส่วน organic partของ bone ก่อน resorption phase จะสิ้นสุดลง มี evidence ที่แสดงว่า หลังจากที่ multinucleated osteoclast ผละออกจาก resorption lacuna แล้ว จะมี mononuclear cells อีกกลุ่มหนึ่งเข้ามาย่อยสลายกระดูกต่ออีกช่วงหนึ่ง [3] ยังไม่ทราบแน่ชัดว่า mononuclear cells กลุ่มนี้ มาจากที่ใด เชื่อว่าน่าจะมาจาก bone marrow [4] หลังจาก resorption phase เสร็จสิ้นก็จะตามมาด้วย Reversal phase resorption lacuna จะถูก filled-up ด้วย mononuclear cells ซึ่งอาจจะเป็น mononuclear cells เดิมจากระยะ resorption phase, osteocyte ที่หลุดออกจาก bone และ preosteoblast ซึ่งเคลื่อนเข้ามาเพื่อเตรียมการที่จะสร้างกระดูก ชื่อ reversal phase นี้มาจาก การที่บริเวณ remodeling surface นั้นกำลังจะเกิดเหตุการณ์ที่ reverse จากตอนแรกในอีกไม่ช้า นั่นคือ การสร้างกระดูก ไม่ทราบแน่ชัดว่าอะไรเป็นตัว trigger ให้เกิดการ reverse นี้ แต่เชื่อว่าอาจจะเป็นสารบางอย่าง ที่ถูกจัดเป็นสารที่เรียกว่า “osteoblast growth factors” ถูกปลดปล่อยออกมาจากเนื้อกระดูกที่ถูก osteoclast ย่อยสลายไป สารเหล่านี้ได้แก่ transforming growth factor β (TGF-β) [5] และ insulin-liked growth factor II (IGF-II) ซึ่งทั้งสองตัวถือเป็น growth factors ที่สำคัญของ osteoblast สิ่งที่สนับสนุนในเรื่องนี้คือการที่พบว่าจำนวนของ osteoblast precursors ที่ถูก recruit เข้ามาที่ remodeling surface นี้ มีปริมาณสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณเนื้อ bone ที่ถูก remove ออกไปโดย osteoclast ในช่วง resorption phase นอกจากนั้นยังมีการศึกษาล่าสุดโดย Pfeilchifter ในปี 1998 [6] นี้ว่า concentration ของ TGF-β มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างชัดเจนกับ histomorphometric parameters ต่างๆ ของ bone formation และ

กับระดับ serum osteocalcin (OC) และbone-specific alkaline phosphatase (BSALP) ด้วย Formation phase ถือเป็น stage สุดท้ายของ bone remodeling เริ่มจาก osteoblast ที่ถูก recruit เข้ามาสร้าง organic matrix หรือที่เราเรียกว่า osteoid ซึ่งประกอบไปด้วย collagen type I , non-collagen proteins อื่นๆ เช่น osteocalcin, osteopontin, bone sialoprotein และ growth factors ต่างๆ อีกหลายตัว organic bone matrix เหล่านี้ต่อมาจะเกิด mineralization process ขึ้น และกลายเป็น normal bone ตามปกติต่อไป osteoblast ที่ทำหน้าที่สร้าง bone เหล่านี้บางส่วนจะถูกล้อมรอบด้วย matrix ที่มันสร้างขึ้นเอง หลังจากที่เกิด mineralization ขึ้นแล้วก็จะถูกขังอยู่ในช่องว่างที่เรียกว่า lacuna ซึ่งมันก็จะกลายสภาพไปเป็น cell ที่มี cytoplasmic process ยื่นออกมารอบๆ ตัว เรียกว่า osteocyte หลังจาก formation phase เสร็จสมบูรณ์แล้วพื้นผิวของ bone จะกลับสู่ระยะพักอีกครั้งหนึ่ง เพื่อรอเวลาที่จะเข้าสู่ remodeling cycle ใหม่ osteoblast บางส่วนที่เสร็จจากการสร้างกระดูกจะกลายเป็น cells ที่ inactive และปกคลุมผิวของกระดูก เรียกว่า bone lining cells เนื้อของ bone ส่วนที่ถูกสร้างขึ้นใหม่จะถูกเรียกว่า “bone structural unit” (BSU) ซึ่งถ้าใน trabecular bone เราอาจเรียกว่า “packet” หรือ “trabecular osteon” ส่วนใน cortical bone เราจะเรียกว่า “cortical osteon” หรือ “haversian system” นั่นเอง

เวลาที่ใช้ ตั้งแต่ phase 1-4 เป็นเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการ complete remodeling sequence ในแง่ของ bone histomorphometry ดังแสดงในภาพที่ 4 จะเรียกว่า “Remodeling time” หรือ “Remodeling period” (RP) ซึ่งจะแบ่งออกได้เป็น “Resorption period” หรือ “Erosion period” (EP) และ “Formation period” (FP) ใน cortical bone erosion period จะกินเวลาประมาณ 30 วัน ซึ่งในช่วงเวลานี้ อุโมงค์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 150 μm หรือที่เรียกว่า “cutting cone” จะถูกขุดโดย osteoclast และ mononuclear cells หลังจากนั้นจะมี reversal phase ซึ่งกินเวลาสั้นๆ แค่ 5 วัน formation period ก็เริ่มต้นขึ้น และจะกินเวลาทั้งสิ้น 90 วัน รวมแล้ว remodeling period สำหรับ cortical bone จะใช้เวลาประมาณ 100 วัน สำหรับ cancellous bone จะใช้เวลานานกว่า โดย erosion period จะกินเวลาประมาณ 45 วัน มี reversal phase ประมาณ 7 วัน และ formation period จะกินเวลา 145 วัน รวมแล้ว remodeling period ใน cancellous bone จะใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 200 วัน , จะได้ความหนาของ bone ใหม่ที่เกิดขึ้นประมาณ 60 μm



ภาพที่ 2 Graph แสดง step ต่างๆ ของ remodeling cycle เมื่อ plot ความลึก กับเวลา
(นำมาจากหนังสือ Bone histomorphometry: Eriksen EF, et al., Raven Press, 1994)

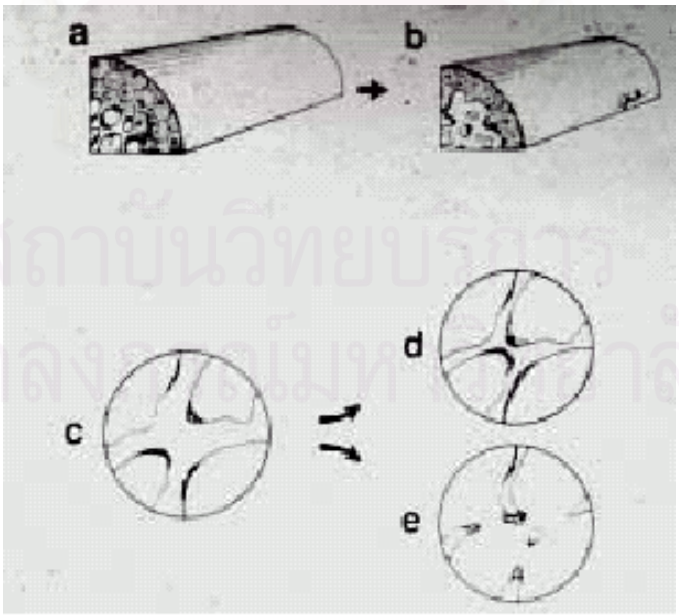
ปริมาณของเนื้อ bone ซึ่ง remodel ในหนึ่งหน่วยเวลา ย่อมขึ้นอยู่กับ จำนวนของ active remodeling sites ที่เกิดขึ้น ในแง่ของ bone histomorphometry เราเรียกว่า อัตราการเกิดช่อง remodeling sites หรือ BRU นี้ว่า “activation frequency” (AF) ภาษาธรรมดาจะเรียกว่า “bone turnover rate” นั่นเอง คิดอีกแบบหนึ่งก็คือ เป็นความถี่ของ new remodeling unit ที่ถูก activated ต่อหนึ่งหน่วยเวลา activation frequency นี้มีความสำคัญมากต่อ bone turnover และการเปลี่ยนแปลงของ bone mass ดังจะได้กล่าวต่อไป

การปรับเปลี่ยนกระดูกและการสลายกระดูก (Bone remodeling and Bone lose)

“Reversible bone loss” เป็นภาวะที่จำนวนของ resorption cavities ได้เกิดเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ถ้าเรามองเห็นกระดูกได้ จะพบว่าผิวของมันจะเต็มไปด้วยหลุมที่ osteoclast ขุดขึ้น เรียกอีกอย่างหนึ่งว่าพื้นผิวของ bone มี remodeling activity เพิ่มขยายมากขึ้น แต่เนื่องจาก coupling process ต้องเกิดขึ้นแน่นอน bone formation โดย osteoblast จะเกิดตามมา อย่างไรก็ตาม กว่าที่ bone formation จะเกิดตามทัน bone resorption ซึ่งโดยปกติแล้ว bone formation จะใช้เวลานานกว่า bone resorption ถึง 2-3 เท่า เพื่อที่จะ replaced bone ในปริมาณที่เท่าเดิม สิ่งที่จะเห็นในภาพรวมก็คือ การลดลงของ bone mass ปรากฏการณ์อันนี้ก็คือ สิ่งที่เราเรียกว่า มีการเพิ่มขึ้นของ activation frequency หรือ bone

turnover rate เพิ่มมากขึ้น (high turnover stage) นั่นเอง ใน cortical bone จะเห็น ปรากฏการณ์ อันนี้ในลักษณะของ การเพิ่มขึ้นของ cortical porosity หรือ ความพรุนของกระดูกมากขึ้น

"Irreversible bone loss" ใน cortical bone จะเกิดจากการที่มี endosteal bone resorption อย่างมากมาย ในขณะที่ periosteal bone formation เกิดขึ้นน้อยกว่า ดังแสดงในภาพที่ 3 อีกทั้งแต่ละ haversian canal จะมี diameter ที่กว้างขึ้น ทำให้ดูเหมือนเพิ่ม porosity หรือ ความพรุนของ cortex ใน cancellous bone irreversible bone loss เป็นผลจาก negative balance (bone formation น้อยกว่า bone resorption) ในแต่ละ remodeling cycle ของ BRU ซึ่งอาจจะเกิดจากการที่ osteoclast เพิ่มความดุดันมากขึ้นในการย่อยสลายกระดูก หรือ อาจเกิดจากการที่ osteoblast อ่อนเปลี้ยลงไม่สามารถที่จะสร้างกระดูดให้ได้เท่าเดิม ผลที่ตามมาคือ การบางลงของ trabecular bone หรือ "trabecular thinning" หรือไม่ก็เกิด "perforative resorption" ซึ่งเชื่อว่าเกิดจาก การที่ osteoclast สลาย bone อย่างมากจนทะลุอีกด้านหนึ่งของ trabecular plate หรือการที่เกิด resorption cavity ทั้งสองด้านของ trabecular plate พร้อมกันแล้ว ทำให้ทะลุถึงกัน ปรากฏการณ์อันนี้จะไม่เกิด bone formation ตามมา เรียกว่า uncoupling ผลสุดท้ายก็คือ การสูญเสีย trabecular นั้นไป และเกิดการขาดช่วงการเชื่อมต่อถึงกันและกัน ของ trabecular network เรียกว่า "loss of trabecular connectivity" ดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งปรากฏการณ์นี้จะมีผลทำให้ bone strength ลดลงอย่างมาก โดยที่ bone mass อาจจะลดลงไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งเป็นที่มาของสิ่งที่เรียกว่า "bone quality concept" ซึ่งเชื่อว่าการให้ anti resorption บางตัวที่สามารถหยุดยั้ง osteoclast ได้ดี จะป้องกันการสูญเสีย trabecular connection เหล่านี้ได้



ภาพที่ 3 Diagram แสดง Irreversible bone loss

(นำมาจากหนังสือ Bone histomorphometry: Eriksen EF, et al., Raven Press, 1994)

การวัดการปรับเปลี่ยนกระดูก (Measurement of Bone Remodeling)

Bone remodeling เป็น process ของการทำงานระดับ tissues ซึ่งการตรวจวัดไม่ใช่ของง่ายๆ เหมือนกับการวัดค่าความดันโลหิต หรือการ x-ray เพื่อตรวจดูกระดูกหัก การทำงานของ bone remodeling system ค่อยข้างสลับซับซ้อน ประกอบด้วยการทำงานของ cells สองจำพวกกับงานสองแบบ คือ osteoclast กับ bone resorption และ osteoblast กับ bone formation อีกทั้งยังต้องมีการ balance และ coupling ของการทำงานอยู่ตลอดเวลาดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ในทาง practical แล้วเราอาจมีวิธีการตรวจวัด bone remodeling ได้ 2 วิธี

1. Bone histomorphometry วิธีนี้เป็นการตรวจวัด parameters ต่างๆ ในระดับ cell และ tissue ซึ่งได้มาจากการทำ bone biopsy ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง ที่ถือเป็นมาตรฐานคือ iliac crest biopsy ส่วนใหญ่เราจะดูที่ cancellous bone เป็นหลัก เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงให้เห็นได้รวดเร็วกว่า และด้วยวิธีย้อมสีแบบต่างๆ ทำให้เราสามารถวัด primary parameters หรือก็คือ ปริมาณตัวชี้วัดที่เราตรวจวัดได้โดยตรงจาก histological section เช่น osteoblast number, osteoclast number, osteoid surface, resorption surface, osteoid thickness ฯลฯ เป็นต้น parameters เหล่านี้ สามารถวัดได้เป็นตัวเลข และนำมาคำนวณเพื่อหาค่า secondary parameters ซึ่งบ่งบอกถึง bone remodeling activity ได้ เช่น resorption period, formation period, activation frequency, bone formation rate (BFR) ฯลฯ เป็นต้น

2. Biochemical markers of bone turnover หรือที่เราเรียกสั้นๆ ว่า “bone markers” เป็นการวัดปริมาณ biochemical substance บางตัวใน serum หรือ urine ซึ่งสามารถบ่งบอกถึง activities ของ bone cells ทั้งสองจำพวกได้ เช่น osteoblastic activity เราก็ตรวจวัดระดับของการสร้าง type I collagen โดยดูจากระดับของ N-terminal propeptide และ C-terminal propeptide หรืออาจจะวัด activity ของ specific enzymes / proteins ที่สร้างโดย osteoblast เช่น BSALP และ osteocalcin (OC) ก็ได้ เราจะเรียกรวมกันว่า “bone formation markers” สำหรับ osteoclastic activity เราก็จะตรวจวัดจาก specific enzyme เช่น TRAP หรือ จาก collagen type I breakdown products เช่น pyridinoline, deoxypyridinoline, N-telopeptide, C-telopeptide, cross lap ฯลฯ เป็นต้น เราเรียกว่า “bone resorption markers”

ภาวะกระดูกพรุน (Osteoporosis)

คำจำกัดความและแนวคิด (Definition and Concept)

จาก consensus development conference ในปี 1993 [8] ได้ตกลงกันกำหนด definition ของ Osteoporosis ไว้ว่า “a systemic skeletal disorder characterized by low bone mass and micorarchitectural deterioration of bone tissue, with a consequent increase of bone fragility and susceptibility to fracture” ถ้าเราจะอธิบายความหมาย definition นี้ทีละคำ Bone mass หรือ มวลกระดูก คือ ปริมาณ (quantity) ของเนื้อกระดูก โดยที่เนื้อกระดูกนั้นมีองค์ประกอบที่ปกติ Micorarchitectural deterioration หมายถึง ความผิดปกติในโครงสร้าง (ทางสถาปัตยกรรม) ระดับจุลภาคของกระดูก ได้แก่การที่ trabecular network มีการขาดเป็นช่วงๆ แทนที่จะต่อเนื่องเป็นร่างแห ถือเป็นความผิดปกติในเชิงคุณภาพ (quality) Bone fragility คือ กระดูกเปราะบาง และ susceptibility to fracture คือการที่กระดูดนั้นหักได้ง่ายกว่าปกติ

จะเห็นได้ว่า Osteoporosis นั้นมีการลดลงของกระดูกทั้งในแง่ ปริมาณ และ คุณภาพ ถ้าเรามองภาพว่า Osteoporosis นั้นเป็น ภาวะ (condition) หรือ ความผิดปกติ (disorder) มากกว่าที่จะเป็นโรคๆ หนึ่ง โดยเฉพาะมี fracture เป็น complication ของภาวะนี้ เช่นเดียวกับ hypertension ซึ่งมี stroke เป็น complication และ hypercholesterolemia ซึ่งมีการเกิด myocardial ischemia เป็น complication ทุกภาวะที่กล่าวมานี้โดยปกติมักจะไม่มีอาการใดๆ ส่วนใหญ่ผู้ป่วยจะมาหาเราเมื่อเกิด complication ขึ้นแล้วเท่านั้น เพราะฉะนั้นการใช้ definition นี้ทำให้เราแทบไม่สามารถที่จะพบผู้ป่วยก่อนที่จะเกิด fracture ได้เลย เราจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีปริมาณใดปริมาณหนึ่ง เป็นตัวบ่งชี้ ว่าขณะนี้มีภาวะ osteoporosis ได้เกิดขึ้นแล้วหรือไม่ และขณะนี้เป็นมากน้อยเพียงไร เหมือนอย่างเช่น การวัดระดับของ blood pressure ในกรณี hypertension และ การวัดระดับ serum LDL cholesterol ในกรณีของ hypercholesterolemia สำหรับ osteoporosis ก็ควรจะเป็นการวัดระดับของ bone mass ซึ่งวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือการวัด “Bone Mineral Density (BMD)” นั่นเอง

WHO โดย Kanis และคณะ [9] ได้ให้ diagnostic criteria ในการวินิจฉัยโดยใช้ BMD ไว้ ซึ่งใช้วิธีเทียบ BMD ที่วัดได้กับ mean peak BMD ของ young healthy adult เป็นจำนวนเท่าของ standard deviation (S.D.) หรือ เรียกว่า T-score ดังนี้

- ถ้า BMD ที่วัดได้ต่ำกว่าค่า young adult mean (T-score) ไม่เกิน – 1 S.D. ถือว่า normal
- ถ้า BMD ที่วัดได้ต่ำกว่าค่า young adult mean (T-score) มากกว่า -1 S.D. แต่ไม่เกิน -2.5 S.D. ถือว่ามีภาวะ “Osteopenia” หรือกระดูกบางกว่าปกติ
- ถ้า BMD ที่วัดได้ต่ำกว่าค่า young adult mean (T-score) มากกว่า -2.5 S.D. ถือว่าโรค “Osteoporosis” หรือกระดูกพรุน

- ถ้า BMD ที่วัดได้ต่ำกว่าค่า young adult mean (T-score) มากกว่า -2.5 S.D. และมี fracture เกิดขึ้นที่กระดูกใดกระดูกหนึ่ง ถือว่าเป็น “Severe Osteoporosis” หรือ “Established Osteoporosis”

จริงๆ แล้วการวัด BMD เป็นเพียงส่วนหนึ่งในการช่วยวินิจฉัยโรคได้ก่อนที่จะเกิด fractures การตรวจพบ “low BMD” ไม่ได้หมายความว่า “fractures” จะต้องเกิดขึ้นเสมอไป มันเป็นเพียงตัวที่บอกเราถึงความเสี่ยง หรือ “risk” ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติที่ช่วงอายุเดียวกัน ที่มี average BMD สาเหตุที่ทำให้เกิด fractures หรือส่งเสริมให้เกิด fractures ยังมีอีกหลายประการ เช่น falls, postural imbalance, underlining disease และ aging factors เป็นต้น อย่างไรก็ดี ability ของ BMD ในการ predict fractures [10] ยังถือเป็น standard และอย่างน้อยก็มีความแม่นยำไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าการใช้ระดับ serum cholesterol ในการ predict heart diseases หรือ ระดับ blood pressure ในการ predict stroke

Magnitude of problem

ปัญหา osteoporosis ถูกถือเป็น disease ของ postmenopausal women และ aging persons ทั้งสองเพศ มีคนประมาณได้ว่า ครึ่งหนึ่งของผู้หญิง และ 1/3 ของผู้ชาย จะต้องประสบกับ osteoporosis ก่อนที่เขาเหล่านั้นจะสิ้นอายุไข[11] เนื่องจากปัจจุบันโลกของเรามีความก้าวหน้าทางการแพทย์และสาธารณสุขมากขึ้น ผู้คนมีอายุยืนยาวขึ้น osteoporosis ก็จะเป็นโรคที่พบบ่อยขึ้นเป็นเงาตามตัว โดยมี prevalence เพิ่มขึ้นตามอายุไข ตั้งแต่ 15%ในผู้หญิงช่วงอายุ 50-59 ปี ไปถึง 70%ในผู้หญิงที่อายุมากกว่า 80 ปี

ใน USA. ได้มีการประมาณกันไว้ในปี 1995 [12] ว่ามี postmenopausal womenถึง 16.8 ล้านคน หรือ 54% ของ American white women ที่มี low bone mass และอีกประมาณ 6.7 ล้านคน หรือ 20-30 % ที่เป็น osteoporosis

Osteoporotic fractures

จากการที่ Osteoporosis ไม่ค่อยมีอาการ ทำให้เราไม่อาจทราบ incidence ที่แท้จริงของภาวะนี้ แต่เราอาจจะประมาณได้โดยใช้ incidence ของ fracture แทน fracture ที่เกิดขึ้นในคนอายุมากกว่า 55-65 ปี และไม่มีประวัติ trauma ที่รุนแรง เช่น การล้มจากระดับของ standing height หรือน้อยกว่า อาจถือได้ว่าเป็น ***“Osteoporotic fractures”*** ได้ทั้งหมด Osteoporotic fractures เกิดขึ้นได้ทุกกระดูก แต่ที่พบบ่อยที่สุด คือ distal radius, spine และ hip fractures ในบรรดา Osteoporotic fractures เหล่านี้ hip fracture เป็นตัวปัญหามากที่สุด มี cost สูงมากในการรักษา ทำให้มีคนหันมาสนใจการ prevention การเกิด hip fracture มากขึ้น โดยพยายาม prevention การเกิด Osteoporosis ซึ่งใช้วิธีดูจาก bone mass หรือ bone mineral density (BMD) การวัด BMD เป็นวิธีการหนึ่งที่จะบอกเราถึง bone mass หรือปริมาณของเนื้อกระดูก โดยดูจาก mineral content ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ของกระดูก ตามทฤษฎีแล้ว การวัด BMD สามารถบ่งบอกถึง strength ของ bone ได้ถึง 80% ของทั้งหมด และการลดลงของ BMD มี

ความสัมพันธ์เป็นสัดส่วนกลับกับ fractures มีการประมาณไว้ว่า ทุกๆ 1 S.D. ต่ำกว่า mean peak bone mass ของ young healthy adult (30-40 years) จะเพิ่ม risk ต่อ fractures 1.5-2.5 เท่า [10, 13]

Clinical characteristics

Rigg และ Melton ได้พยายามแบ่ง Involutional Osteoporosis เป็น 2 จำพวกคือ

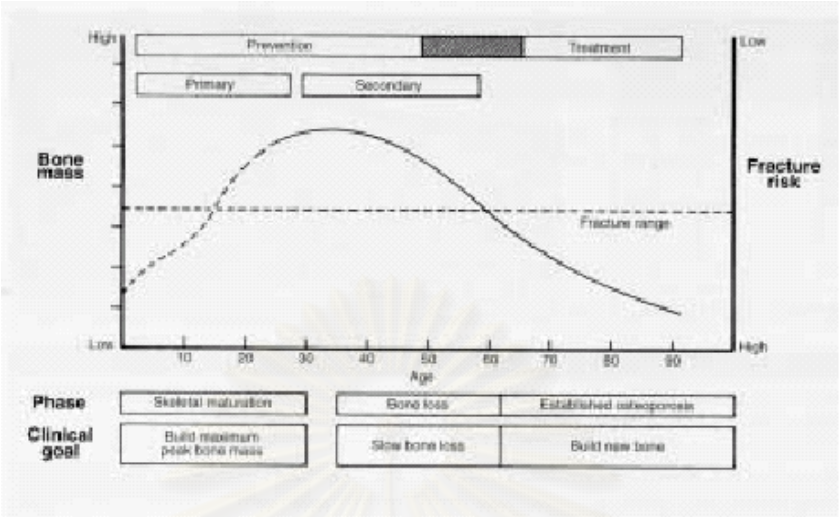
Type 1 หรือ ***Postmenopausal Osteoporosis*** เป็น classic form ที่ describe ไว้โดย Albright ตั้งแต่ 1948 มักจะเกิดในผู้หญิง และเกิดภายใน 15-20 ปี หลัง menopause ลักษณะ fractures จะเกิดกับ bone ที่มีส่วนประกอบของ cancellous bone มากๆ เช่น crush fracture ของ vertebral body, Colles' fracture ของ distal radius

Type 2 หรือ ***Senile Osteoporosis*** เกิดได้ทั้งในผู้ชายและผู้หญิง โดยเฉพาะในวัยสูงอายุ ตั้งแต่ 70 ปีขึ้นไป ลักษณะ fractures จะเกิดขึ้นใน bone ที่สัดส่วนของ cortical และ cancellous bone ปกติ นั่นคือมีการลดลงของ bone ทั้งสองประเภทพอๆ กัน fractures ที่พบบ่อยๆ คือ hip fractures, vertebral fracture, proximal humerus และ pelvic fractures

พยาธิกำเนิดของภาวะกระดูกพรุน (Pathophysiology of Osteoporosis)

Peak bone mass

กระดูกของคนเราจะมีการเจริญเติบโต และสะสมมวลกระดูก (bone mass) ตั้งแต่เด็กๆ จนกระทั่งกระดูกจะมี bone mass สูงสุดที่ประมาณช่วงอายุ 20-30 ปี เราเรียกจุดสูงสุดของ bone mass นี้ว่า "peak bone mass" การสะสม bone mass นี้จะเห็นได้ชัดเจนที่สุดในช่วงของ adolescence จะมาการเพิ่มขึ้นของ bone mass อย่างรวดเร็ว ดังแสดงในภาพที่ 4 ตัวการสำคัญที่สุดในการกำหนดระดับของ peak bone mass คือ genetic factors จะเห็นได้จากความแตกต่างกันอย่างชัดเจนของ peak bone mass ในแต่ละเชื้อชาติ และความเหมือนกันของ peak bone mass ใน twin ได้มีการพยายามค้นหาสิ่งที่เราเรียกว่า "osteoporosis gene" ซึ่งเราเชื่อว่าเป็นตัวกำหนด peak bone mass ในแต่ละคน มีการกล่าวถึง gene หลายตัว เช่น vitamin D receptor gene (VDR), IL-6 gene, type-1 collagen gene (COL1A1), TGF-β gene และ estrogen receptor gene (ER gene) ฯลฯ ซึ่ง polymorphism ของ gene เหล่านี้มี correlation กับ bone mass ไม่มากก็น้อย แต่ก็ยังไม่สามารถอธิบายการเกิด peak bone mass และ การเกิด bone loss โดยใช้ gene ใด gene หนึ่ง ได้ในปัจจุบัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะยังมี environmental factors อีกหลายปัจจัยซึ่งสามารถ modify ผลงาน genetic ที่มีต่อ bone mass ได้ เช่น nutrition , physical activity, hormone influence, sunlight exposure ฯลฯ ซึ่งยังคงต้องการการศึกษาต่อไป



ภาพที่ 4 Graph แสดงการ development ของ "Peak bone mass"
(นำมาจากหนังสือ Orthopaedics basic science: Buckwalter JA, AAOS, 2nd ed., 2000)

Rate of bone loss

ภายหลังจากที่เราได้สะสมมวลกระดูกมาจนถึง peak bone mass แล้ว ระดับของ bone mass จะ maintain อยู่ระยะหนึ่ง โดยไม่มีทางล่วงรู้ได้ ที่จุดใดจุดหนึ่งในช่วงอายุ 35-45 ปี bone mass ก็จะเริ่มลดลง เชื่อว่าปัจจัยที่ทำให้เกิด bone loss ภายหลังจาก peak bone mass แล้วนี้ เป็น multifactorial ซึ่งคงจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงบางอย่างที่เกิดขึ้นกับ bone remodeling system ซึ่งทำหน้า maintain bone mass factors เหล่านี้ได้แก่ hormone deficiency, calcium and vitamin D deficiency , disused และ low activity life style รวมทั้ง aging factors บางอย่างที่เรายังไม่ทราบแน่ชัด แต่ไม่ว่าจะเกิดจากสาเหตุใดก็ตาม เราจะสามารถแบ่งแยก rate of bone loss ตามความสำคัญทางคลินิก ออกได้เป็น 2 ประเภท คือ พวก "slow loser" หรือ "low turnover" หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า "age-related bone loss" ซึ่งเชื่อว่ามี aging factors เป็นสาเหตุสำคัญ โดยมีการสูญเสียมวลกระดูกแบบช้าๆ เริ่มต้นตั้งแต่อายุ 35-45 ปี เกิดได้ทั้งในผู้ชายและผู้หญิง ในแต่ละคนจะมีอัตราการสูญเสียกระดูกไม่เท่ากัน แต่มักจะอยู่ในช่วงประมาณ 1-2% ต่อปี สำหรับ bone loss อีกประเภทหนึ่งจะเกิดเฉพาะในผู้หญิงเมื่อเข้าสู่ menopause คือจะมีปรากฏการณ์การสูญเสียกระดูกที่รวดเร็วเกิดขึ้น อาจถึง 3-5% ต่อปี เราเรียกว่า "fast loser" หรือ "high turnover" หรืออาจจะเรียกว่าเป็น "postmenopausal bone loss" ซึ่งเชื่อว่า การขาด estrogen เป็นสาเหตุสำคัญ ปรากฏการณ์การสูญเสียกระดูกที่รวดเร็วนี้ จะคงอยู่ประมาณ 5-10 ปี หลัง menopause แล้วอัตราการสูญเสียกระดูกจะค่อยๆ ลดลง กลับมาอยู่ที่ 1-2% ต่อปีในลักษณะของ age-related bone loss อีก อย่างไรก็ตามในผู้หญิงบางคนก็ไม่เป็นเช่นนั้น มีการศึกษาพบว่าใน

aging women บางคนยังคงมี rate of bone loss สูงอยู่ถึงแม้จะ menopause มานาน (>20ปี) แล้วก็ตาม [14] การตรวจวัด BMD ที่จุดใดจุดหนึ่งในช่วงชีวิต จึงไม่สามารถบอกเราถึง rate of bone loss ได้ สิ่งที่ช่วยเราได้ และ practical กว่าก็คือการวัด bone turnover โดยใช้ bone markers นั่นเอง

ความผิดปกติของการปรับเปลี่ยนกระดูกในภาวะ Osteoporosis
(Bone remodeling abnormality in Osteoporosis)

ตามที่กล่าวมาข้างต้น bone remodeling cycle เริ่มต้นจากการ activation ของ resting osteoblast บน surface ของ bone (bone lining cells) และ stromal cells ใน marrow ซึ่งจะตามมาด้วย signal ที่จะส่งต่อไปกระตุ้นให้มีการ recruit precursors ของ osteoclast และการกระตุ้นให้ mature multinucleated osteoclast ทำงาน resorp bone เชื่อว่าภายหลัง osteoclast resorp bone แล้ว growth factors ต่างๆ ที่อยู่ภายในเนื้อ bone ที่ถูกย่อยสลาย เช่น TGF-β และ IGF-I จะถูกปลดปล่อยสู่ microenvironment รอบๆ ซึ่งจะทำหน้าที่ในการ recruit new osteoblast เข้ามายังบริเวณนั้น และเริ่มต้นสร้าง new bone เป็นปรากฏการณ์ที่จะเกิดคู่ควบกันเสมอเรียกว่า coupling และด้วยปริมาณของเนื้อกระดูกส่วนที่สลายและสร้างใหม่ที่เท่ากันเรียกว่า balance เชื่อว่าใน healthy adult ที่ปกติจะมี remodeling site ถึง 2 ล้าน remodeling site เกิดขึ้นตลอดเวลา ถ้าคำนวณไปแล้วจะพบว่า ¼ ของ cancellous bone ที่มีในร่างกายคนเราจะถูกเปลี่ยนด้วยกระดูกใหม่ๆ ทุกๆ ปี จะเป็นว่าจุดสำคัญที่สุดของขั้นตอนการ remodeling คือ การ activation ของ bone remodeling และการ recruitment ของ osteoclast ซึ่งจะเป็นขั้นตอนที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงทั้ง systemic และ local อยู่ตลอดเวลา เช่น การเกิด estrogen deprivation , การ response ต่อ endogenous PTH และ local cytokines ต่างๆ , ภาวะ steroid excess, รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของ serum calcium ด้วย เป็นต้น ใน postmenopausal osteoporosis การขาด hormone estrogen ถือเป็น trigger ที่สำคัญ ในการกระตุ้นให้มีการทำงานของ remodeling system ที่มากขึ้น เหมือนกันว่า remodeling rate ถูก shift ไปยัง set point ใหม่ที่สูงกว่าเดิม จำนวน osteoclast ที่มาสลายกระดูกเพิ่มมากขึ้น จำนวนของ remodeling site ที่เกิดขึ้นในหนึ่งหน่วยเวลาเพิ่มมากขึ้น เรียกว่ามีการ increase activation frequency หรือ increase bone turnover ถึงแม้ osteoblast จะมาสร้างกระดูกทดแทนก็ตาม แต่ bone formation ซึ่งกินเวลานานกว่าไม่สามารถไล่ตาม bone resorption ได้ทัน เหตุการณ์นี้จะปรากฏให้เราเห็นในลักษณะของการลดลงของ bone mass เมื่อเรามองที่จุดใดจุดหนึ่ง สิ่งนี้เป็นความผิดปกติของ bone remodeling system ใน postmenopausal osteoporosis ที่เห็นได้ชัดเจน นอกจากนั้นยังพบว่า osteoclast มีความดุดันเพิ่มมากขึ้น มี life span ที่ยืนยาวขึ้น (resorb bone โดยขุดหลุมที่ลึกขึ้น) ถึงแม้ osteoblast จะสร้าง bone ใหม่ในปริมาณที่เท่าเดิมก็ยังไม่เพียงพอ (imbalance) สิ่งเหล่านี้วัดได้จาก erosion wedge ซึ่งลึกขึ้น อีกทั้งปรากฏการณ์ที่เรียกว่า trabecular perforation ซึ่งเกิดจากการที่ osteoclast ได้ resorb bone จนทะลุไปอีกด้านหนึ่งของ trabecular plate หรือ osteoclast สองตัวเกิดมา resorb bone ในตำแหน่งตรงข้ามกัน ทำให้ทะลุถึงกัน

“loss of trabecular connectivity” นี้จะทำให้ bone strength ลดลงอย่างมากโดยที่ BMD ไม่ต้องลดมากก็ได้ สิ่งนี้ก็เป็นความผิดปกติของ bone remodeling ที่พบได้ใน postmenopausal osteoporosis เช่นกัน การใช้ antiresorptive agents ในกรณีของ postmenopausal osteoporosis เพื่อยับยั้ง remodeling ที่มากเกินไปจึงเป็นวิธีที่ถูกต้อง สำหรับ slow age-related osteoporosis หรือ senile osteoporosis กลับจะเป็นเหมือนตรงกันข้าม remodeling activity จะช้าลง และความผิดปกติของ bone remodeling system นี้เชื่อว่ามาจากตัว osteoblast เองซึ่งไม่สามารถ filled-up space ที่เกิดจาก osteoclast ได้พอ (imbalance) การสร้างกระดูกที่น้อยลงนี้เชื่อว่าเกิดจาก aging ของ Osteoblast หรือการลดน้อยลงของ stromal stem cells ก็ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่การศึกษา senile osteoporosis นี้มีแนวโน้มไปในทางการใช้ bone-forming agents หรือการใช้ stem cells manipulation technique เป็นหลัก

ภาวะกระดูกพรุนหลังหมดประจำเดือน (Post-Menopausal osteoporosis)

ภาวะนี้เกิดขึ้นหลังจากหมดประจำเดือนในผู้หญิง ตามที่ describe ไว้โดย Albright และ Reifenstein [15] โดยมักเกิดภายใน 15-20 ปี หลัง menopause มักเกิดกับส่วนประกอบของ cancellous bone เช่น vertebral body, distal radius สาเหตุเนื่องจากการขาดฮอร์โมน estrogen เป็นสำคัญมากกว่าจาก senile osteoporosis จากที่ describe โดย Rigg และ Melton [16] ได้แบ่งภาวะ osteoporosis เป็น 2 แบบ คือ Type 1 (post-menopausal osteoporosis) และ Type 2 (senile osteoporosis) ในสภาวะปกติในผู้ใหญ่ กระดูกจะมี peak bone mass ตามอายุสูงสุดประมาณ 28 ปี หลังจากนั้นจะคงที่ และค่อยๆ ลดลงของ bone mass ดังนั้นในภาวะใดๆ ที่ทำให้ไม่สามารถมี peak bone mass ได้ตามปกติ ของคนๆ นั้น จะเสี่ยงกับ osteoporosis สูง เช่น มีช่วงขาดประจำเดือนมาก, เจ็บป่วยต้องนอนโรงพยาบาลนานๆ , มีความผิดปกติของการกินและโรคต่างๆ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าภาวะ osteoporosis เป็นผลจากหลายๆ ปัจจัย เช่น multiple genetic , การผิดปกติของฮอร์โมนเพศ , สภาพร่างกาย , สารอาหารที่ไม่เพียงพอ

ปัจจัยกำหนดการเพิ่มขึ้นของกระดูกในช่วงวัยรุ่นถึงวัยผู้ใหญ่

ในวัยเด็กกระดูกจะค่อยๆ เพิ่มขนาดและปริมาณในสองเพศไม่แตกต่างกัน เมื่อเริ่มเข้าสู่วัยรุ่น การเจริญเติบโตและ bone mineral density (BMD) ของกระดูกจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในผู้หญิงพบว่าจะมีองค์ประกอบของ bone mineral ประมาณ 900 ถึง 2,200 grams ที่อายุ 9 และ 21 ปี ตามลำดับ [17] ในวัยรุ่นจะพบว่ามีการสะสมเพิ่มขึ้นของ bone mass ประมาณ 60% ของ peak bone mass การเพิ่มขึ้นของ bone mass ในเด็กหญิงจะเริ่มประมาณ 1 ปี หลังจากมี maximum height velocity และจะเพิ่มสูงสุดประมาณ 95% เมื่ออายุ 17 ปี (ในเด็กชาย จะเริ่มที่ 1 ปี หรือช้ากว่านั้น 2 ปี และจะเพิ่มสูงสุดจนถึงอายุ 20 ปี) มีหลายหลักฐานที่สนับสนุนว่า genetic เป็นปัจจัยสำคัญต่อการเพิ่มของ bone mass เช่น ในคู่แฝดพบว่ามีการถ่ายทอดได้ถึง 80% มี genes หลายอย่างที่มีความสัมพันธ์กับการกำหนด bone size

(growth hormone/IGF I – axis) และจาก polymorphism analysis ยังพบความเกี่ยวข้องในหลายๆ genes (steroids hormone receptors, type 1 collagen, P_{450} aromatase complex) นอกจากปัจจัยทาง genetic แล้วยังมีอีกหลายปัจจัยที่เป็นตัวกำหนด bone mass ดังแสดงในตารางที่ 1 และมีอีกหลายภาวะที่สัมพันธ์กับภาวะ osteopenia ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มของมวลกระดูกในช่วงวัยรุ่น

Genetic endowment (80% of variance in peak bone mass)
Primary genes related to linear growth and body size
Contribution from other gene polymorphisms
(VDR, ER, type I collagen, and others)
Environmental factors
Diet (particularly calcium in Western nation)
Habitual physical activity
Reproductive hormone adequacy
Exposures (alcohol, tobacco)
Illness, immobilization, medication

(นำมาจาก Best Practice & research Clin Obst & Gyn 2002;16: 309-327)

ตารางที่ 2 แสดงถึงสภาวะที่เกี่ยวข้องกับการลดลงของมวลกระดูก

Anorexia nervosa
Ankylosing spondylitis
Childhood immobilization/therapeutic rest
Cystic fibrosis
Delayed puberty
Exercise-associated amenorrhoea
Intestinal inflammatory diseases
Coeliac disease
Renal disease
Marfan syndrome
Osteogenesis imperfecta

(นำมาจาก Best Practice & research Clin Obst & Gyn 2002;16: 309-327)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การดูแลรักษาภาวะกระดูกพรุนในวัยหมดประจำเดือนด้วยยาป้องกันภาวะกระดูกพรุน

เนื่องจากภาวะหลังหมดประจำเดือน ผลของการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน และการลดลงของแคลเซี่ยม มีผลต่อภาวะกระดูกพรุน โดยเฉพาะในช่วง 15 ปีแรก การให้แคลเซี่ยม และวิตามิน ดี ในรายที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการขาดวิตามิน ดี มีผลต่อการป้องกันการลดลงของมวลกระดูก นอกจากนั้นยังลดการหักของกระดูก อย่างไรก็ตาม การให้แคลเซี่ยม หรือวิตามิน ดี อย่างเดียวในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีพยาธิสภาพของกระดูกหักแล้ว อาจไม่เพียงพอในการป้องกันการหักของกระดูก และหลังการได้รับแคลเซี่ยม หรือวิตามิน ดี แล้ว ควรประเมิน BMD ที่ 2 ปี ว่ามีการเพิ่มมากกว่า 2% หรือไม่ ถ้าผลการเพิ่ม BMD น้อยกว่า 2% ควรมีการให้ antiresorptive agents อื่น ร่วมกับ แคลเซี่ยม และวิตามิน ดี ดังแสดงในตารางที่ 3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงผลของ antiresorptive agents ชนิดต่างๆ ในการลดการหักของกระดูก ของหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกพรุน

STUDY	TREATMENT	DOSE	NO. OF WOMEN	DURATION(YR)	COMMENTS
Lindsay [18]	Mestranol	25µg/day	100	Up to 12	Vertebral deformity less common in mestranola group *†
Lufkin et al. [19]	Estradiol (transdernal)	100 ug/day,21 of every 28 days	75	1	Decrease in number of new vertebral fractures†
Storm et al.[20]	Cyclic etidronate	400 mg/day,2 of every 15 wk	66	3	Decrease in number of new vertebral fractures in period from 60 to 150 wk†
Watts et al. [21]	Ctclic etidronate	400 mg/day,2 of every 13 wk	429	2	Decrease in number of new vertebral fractues†‡
Libernan et al.[22]	Alendronate	5-20 mg/day	994	3	Decrease in number of patients with new vertebral fractures
Black et al.[23]	Alendronate	5-10 mg/day	2027	3	Decrease in number of patients with new vertebral, hip, or wrist fractures
Orimo et al.[24]	Alfacalcidol	1 ug/day	61	2	Decrease in number of new vertebral fractures§¶
Orimo et al.[25]	Alfacalcidol	1 ug/day	80	1	Decrease in number of new vertebral fractures‖
Gallagher and Goldgar[26]	Calcitriol	0.5-1 ug/day	50	2	No effect on vertebral fractures
Heikinheimo et al.[27]	Vitamin D injection	150,000-300,000 IU/yr	341	Up to 5	Decrease in nonvertebral (especially upper-limb) fractures‡
Tilyard et al.[28]	Calcitriol	0.5 ug/day	622	3	Decrease in new vertebral and nonvertebral fractures§¶
Chapuy et al.[29]	Vitamin D (oral) and calcium	800 IU/day and 1200 mg/day	3270	1.5	Decrease in number of patients with hip fractures
Dawson-Hughes et al.[30]	Vitamin D (oral) and calcium	700 IU/day and 500 mg/day	389 (men and women)	3	Decrease in number o fpatients with nonvertebral fractures
Lips et al.[31]	Vitamin D (oral)	400 IU/day	2578	Up to 3.5	No decrease in number of patients with hip fractues
Reid et al.[32]	Calcium	1000 mg/day	86	4	Decrease in number of patients with new nonvertebral fractures‖
Recker et al.[33]	Calcium	1200 mg/day	197	4.3	Decrease in number of patients with new vertebral fractures among those with vertebral fractures at base line
Overgaard et al.[34]	Calcitoini (intranasal)	50-200 IU/day	208	2	Decrease in number of new vertebral fractrues‖
Rico et al.[35]	Cyclic calcitonin (intramuscular)	100 IU/day, 10 of every 30 days	72	2	Decrease in number of new vertebral fractures§
Mamelle et al.[36]	Sodium fluoride	50 mg/day	257	2	Decrease in number of new vertebral fractures§¶
Riggs et al.[37]	Sodium fluoride	75 mg/day	202	4	No effect on vertebral-fracture rate, but increase in nonvertebral-fracture rate
Meunier et al.[38]	Sodium fluoride or monofluorophosphate	50 mg/day or 150-200 mg/day	354	2	No effect on rate of vertebral or nonvertebral fracture
Kleerekoper et al. [39]	Sodium fluoride	75 mg/day	84	4	No effect on rate of vertebral or nonvertebral fracture
Pak et al.[40]	Cyclic sodium fluoride (slow-release)	50 mg/day, 12 of every 14 mo	110	Up to 5	Decrease in number of patients with new vertebral fractues§
Lindsay et al.[41]	Parathyroid hormone	400 U/day	34	3	Decrease in vertebral deformities‖

* There were no spine radiographs at base line, so vertebral morphometry was cross-sectional.

† The extension study was uncontrolled.

‡ The treatment groups were pooled.

§ The Study was not blinded.

¶ The study had no placebo group.

‖ The number of women with fractures was small (<10).

(นำมาจาก N Engl J Med 1998 ; 338 (11) หน้า 741)

สำหรับการให้เอสโตรเจน เพื่อป้องกันการหักของกระดูกนั้น มีหลายการศึกษาสนับสนุนดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าการให้ในช่วง 5 ปีแรก ไม่มีปัจจัยเสี่ยง แต่การให้ระยะยาวกว่านี้จำเป็นต้องพิจารณาข้อดี และ ข้อเสีย เป็นรายๆ ไป ดังแสดงในตารางที่ 4

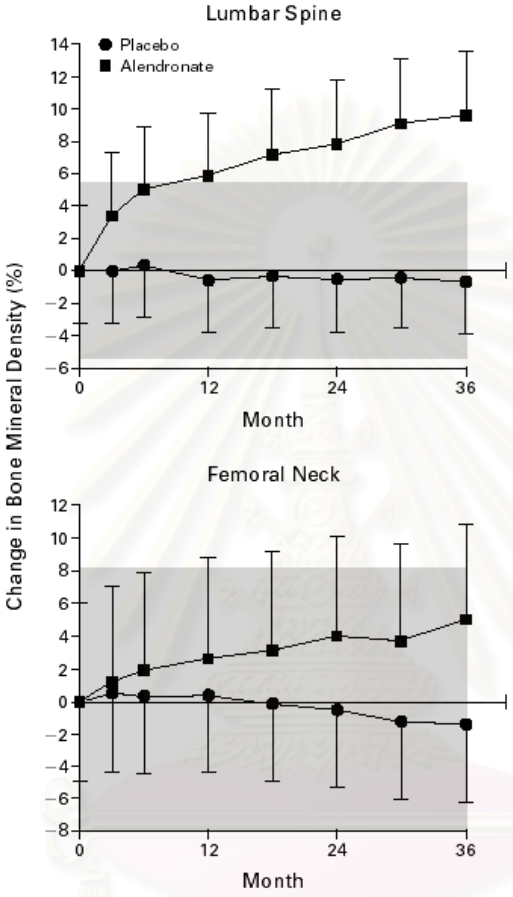
ตารางที่ 4 : แสดงถึงข้อดี และ ข้อเสีย ของการให้เอสโตรเจน รักษาในภาวะหญิงวัยหมดประจำเดือน

Benefits	Risks
Relief of menopausal symptoms	Return of menstrual bleeding
Prevention of bone loss and fractures	Risk of endometrial carcinoma
Prevention of ischemic heart disease	Breast tenderness
Prevent of dementia	Risk of breast carcinoma
	Migraine
	Risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism

(นำมาจาก N Engl J Med 1998 ; 338 (11) หน้า 741)

การใช้ Bisphosphonate ในการป้องกันการหักของกระดูก ในหญิงวัยหมดประจำเดือน พบว่ามีประสิทธิภาพที่สูงในการเพิ่ม BMD ทั้งที่ Lumbar spine และ femoral neck ดังแสดงในภาพที่ 5 มีข้อมูลหลายการศึกษา พบว่า เอสโตรเจน มีประสิทธิภาพในการเพิ่ม BMD และลดการหักของกระดูกได้ดีกว่า เอสโตรเจน จึงน่าจะเลือกใช้แทน เอสโตรเจน ในรายที่เป็นกลุ่มเสี่ยงของการใช้ เอสโตรเจน หรือรายที่จำเป็น ต้องใช้ antiresorptive agent อื่น หลังหมดประจำเดือนในระยะเวลายาวนาน เนื่องจากมี pathological fractures อย่างไรก็ตาม ขณะนี้ยังไม่มีการศึกษาที่เปรียบเทียบผล combine therapy ระหว่าง estrogen / bisphosphonates เทียบกับ estrogen หรือ bisphosphonates อย่างเดียว

ภาพที่ 5 แสดงการเพิ่มขึ้นของ Bone mineral density (BMD) ของ Lumbar spine และ Femoral neck ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกพรุน โดยได้รับ alendronate เป็นระยะเวลา 3 ปี เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

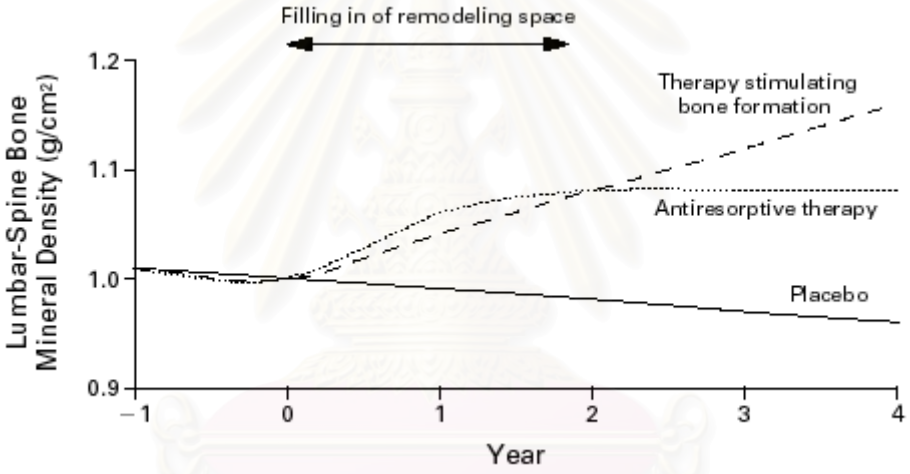


(นำมาจาก Eastell R. [42] Osteoporos Int 1996; 6 Suppl 2 : S3-S5)

โดยสรุป การดูแลผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกพรุน เป้าหมายเพื่อป้องกันการหักของกระดูก ที่เกิดขึ้นนอกเหนือจากการเพิ่ม BMD (ซึ่งเป็นผลการวัดทางอ้อมต่อ fracture rates ที่ลดลง) ดังนั้น การป้องกันการหักของกระดูก ในผู้สูงอายุมีหลายมาตรการที่สำคัญ คือ การป้องกันการล้ม ซึ่งมีหลายขั้นตอน ตั้งแต่การแก้ไขสภาวะร่างกายบางอย่าง (การแก้ไขสายตาการมองเห็น, การฝึกกล้ามเนื้อข้อต่อ และเอ็นให้ยืดหยุ่นเพื่อการทรงตัว) รวมทั้งการแก้ไขสภาพแวดล้อมไม่ให้เสี่ยงต่อการล้ม (แสงสว่างที่เพียงพอ, ให้เดินในที่ราบพื้นเรียบ, อุปกรณ์การทรงตัว, รองเท้าที่กระชับพอดีเท้า) การให้ยาเพื่อป้องกันการเกิดการหักของกระดูก โดยการเพิ่ม BMD ก็มีความสำคัญ ดังแสดงในภาพที่ 8 จะเห็นว่าผลของการรักษาโดยให้ antiresorptive agents เพื่อลด bone resorption สามารถเพิ่ม BMD ได้ตามความคงที่ของกราฟ (dotted line) และสามารถคงที่ ได้หลัง 2 ปี ด้วยการใช้ estrogen [43,44]

หรือ bisphosphonates [22] โดยผลดังกล่าวอาจเนื่องจากภาวะ secondary mineralization ในระยะเวลายาวนาน หรือ positive remodeling imbalance ในทางตรงกันข้ามผลของการรักษาโดยการกระตุ้น bone formation (broken line) จะยังคงมีการเพิ่มของ BMD เรื่อยๆ หลัง 2 ปี ในกลุ่มควบคุม (solid line) จะยังคงมีอัตราการลดลงของกระดูกเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามในหลายการศึกษา พบว่าการรักษาโดยการให้แคลเซี่ยมในกลุ่มควบคุม สามารถป้องกันการลดลงของกระดูกได้ แต่ไม่เพียงพอในการป้องกันกระดูกหักได้

ภาพที่ 6 แสดงผลของการรักษาชนิดต่างๆ ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกพรุนต่อการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นกระดูก (Bone mineral density) ของกระดูกสันหลัง



(นำมาจาก Parfitt AM. [45] Miner Electrolyte Metab 1980; 4 : 273-87)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ความรู้พื้นฐานของการวัดดัชนีการเปลี่ยนแปลงของการสลาย, การสร้างกระดูก และพาราธัยรอยด์ฮอร์โมนต่อการเปลี่ยนแปลงหลังการให้แคลเซียมรับประทาน

การใช้ Biochemical markers ของ Bone remodeling ในทางคลินิก

ขบวนการของ bone remodeling มีความจำเป็นสำหรับกระดูกในการคงสภาพการทำงานที่ปกติ โดยเริ่มที่ resorption ของ osteoclast แล้วตามด้วย formation ของ osteoblast การเกิด bone loss หลังหมดประจำเดือนเพราะขาดเอสโตรเจน ทำให้เกิดภาวะไม่สมดุล ของ 2 ขบวนการนี้ โดย resorption มากกว่า formation การวัด bone status ทำได้หลายวิธี แต่ในทางวิจัยการวัดการเปลี่ยนแปลงของกระดูกหลังการให้การรักษา ต้องการวัดผลการเปลี่ยนแปลงที่เร็วมักใช้ biochemical marker of bone ซึ่งมี 2 ชนิดคือ bone resorption และ bone formation markers

การประเมินสภาพของกระดูก ทำได้ 3 วิธี 1) Histomorphometry ไม่มีความนิยมเนื่องจาก invasive , expensive และใช้ระยะเวลานาน 2) Densitometry มีความนิยมในทางเวชปฏิบัติ ซึ่งมีหลาย technique แต่ละ technique มีข้อดีและข้อเสียดังแสดงในตารางที่ 5 การวัดด้วยวิธี Dual–energy X-ray absorptiometry (Dexa scan) แม้จะแพง แต่เป็นวิธีมาตรฐานในการประเมินภาวะ osteoporosis โดยเทียบกับ T score ตามที่ WHO กำหนด นอกจากนั้นยังมีความถูกต้อง, Non – invasive และสะดวกแต่ข้อเสียของวิธีการนี้ คือ การวัดการเปลี่ยนแปลงของกระดูกหลังการให้ intervention ต้องใช้เวลาอย่างน้อย 1-2 ปี เนื่องจามีความผิดพลาดของเครื่องมือที่ใช้วัดประมาณ ± 1% ต่อปี ดังนั้นจึงไม่เป็นที่นิยมในการวิจัย 3) Biochemical makers of bone turnover ซึ่งมีข้อดีในการวิจัยเนื่องจากสามารถวัดผลการเปลี่ยนแปลงของกระดูกได้เร็วหลังการให้การรักษา นอกจากนี้ยังมีหลายการศึกษาที่แสดงผลของความสัมพันธ์ระหว่าง bone marker และ bone mineral density รวมทั้งการหักของกระดูก

ตารางที่ 5 แสดงถึงวิธีการต่างๆ ในการวัดความหนาแน่นของกระดูก

TECHNIQUE	SITE	COMMENTS
Single-energy x-ray absorptiometry	Forearm and heel	Inexpensive Precise Use low doses of radiation Measures sites unresponsive to therapy Does not need skilled operator
Dual-energy x-ray absorptionmetry	Lumbar spine	Fairly expensive Precise Uses low doses of radiation Measures site responsive to therapy Needs skilled operator Subject to artifacts (spondylosis)
	Proximal femur	Fairly expensive Less precise Uses low doses of radiation Measures best site for fracture prediction Needs skilled operator
	Total body	Expensive Precise Uses low doses of radiation Measures sites unresponsive to therapy Needs skilled operator Allows assessment of body composition
Quantitative Computed tomography	Spine	Expensive Less precise Uses high doses of radiation Measures sites responsive to therapy Needs skilled operator Allows assessment of trabecular bone alone
	Forearm	Inexpensive Precise Use low dose of radiation Measures site unresponsive to therapy Does not need skilled operator
Ultrasonography	Heel, fingers, tibia, Patella	Inexpensive Less precise Use no radiation Measures sites unresponsive to therapy Does not need skilled operator Fairly portable

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Biochemical marker of bone turnover

Bone marker ในทางปฏิบัติแบ่งเป็น 2 ชนิดตามหน้าที่การทำงานของ osteoblast และ osteoclast โดย bone formation markers แสดงถึงการทำงานของ osteoblast synthetic activity โดย protrelease metabolism of procollagen และ bone resorption markers แสดงถึงการทำงานของ osteoclast โดยย่อยสลาย collagen ใน bone ดังนั้นผลของ hormone และปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อ bone remodeling จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ bone formation และ resorption marker ดังแสดงในตารางที่ 6 ถึงปัจจัยที่มีผลต่อ bone remodeling และกลไกที่เกิดขึ้น

ตารางที่ 6 แสดงถึงภาวะฮอร์โมน และปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกระดูกโดยขบวนการต่างๆ

Hormone or Factor	Effect on Bone Turnover	Cells Effected	Mechanism of Effect
Parathyroid hormone	Increase	Progenitor, osteoblasts	High levels stimulate osteoblasts causing increased osteoclast activity, increased activation frequency, and accelerated bone loss.
Thyroxine (T3)	Increase	Osteoclasts	High concentrations increase resorption with differential effects on cortical and cancellous bone, cortical bone lost preferentially
Estrogen	Decrease	Osteoblasts	With deficiency, osteoblasts stimulated causing increased osteoclast activity, increased activation frequency, and Accelerated bone loss.
Testosterone	Decrease	Osteoblasts	With deficiency, osteoblasts stimulated causing increased osteoclast activity, increased activation frequency, and Accelerated bone loss.
Vitamin D (calcidiol, calcitriol)	Decrease	Osteoblasts	Deficiency causes increased activation frequency but also inhibits mineralization of newly synthesized osteoid matrix.
Cortisol	Increase	Progenitor, osteoblasts, osteoclasts	Increased concentration have profound effect by both increasing bone resorption and inhibiting bone formation, leading to accelerated bone loss.
Calcitonin	Decrease	?	Inhibits bone resorption; used therapeutically to treat Increased bone loss, *e.g.,* Paget's disease and high Turnover osteoporosis
Insulin	Decrease	Osteoblasts	Causes increased IGF-1 synthesis in liver, resulting in ıcreases collagen synthesis by osteoblasts.

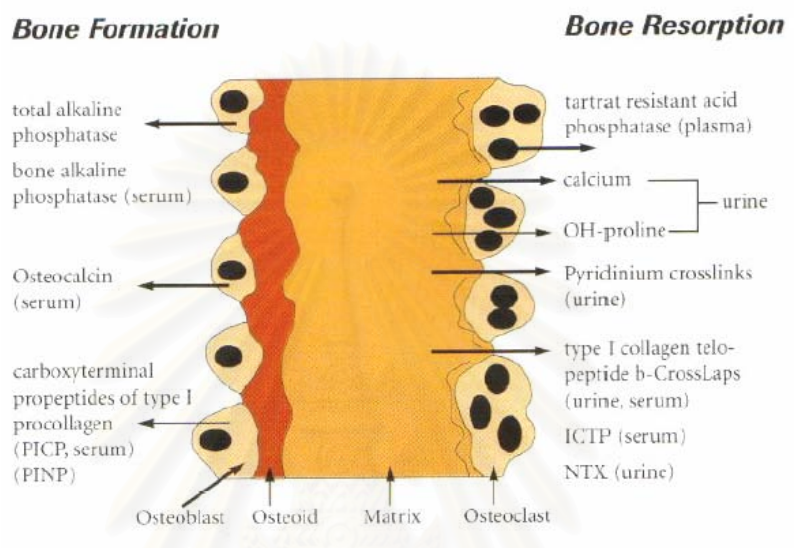
(นำมาจาก Robert H. [46] Clin Biochem 1997; 30: 576)

โครงสร้างกระดูกประกอบด้วย bone 2 ชนิด ชนิดแรก cortical หรือ compact bone ซึ่งมีหน้าที่ supporting , protection และ mechanical functions ของกระดูก นอกจากนี้ยังเป็นส่วนประกอบของ shafts of the long bones (appendicular skeleton) และ outer envelope of all bones ซึ่งมีประมาณ 80% ของ skeletal mass ชนิดที่สอง cancellous หรือ trabecular bone มีลักษณะโครงสร้างแบบ lacy หรือ honeycombed (เป็น marrow หรือ mineral reservoir) ส่วนมากอยู่ส่วนในของกระดูกตรงบริเวณ vertebrae, pelvis และ the ends of the long bones (the axial หรือ central skeleton) การเปลี่ยนแปลงของ bone remodeling มีผลทั้ง cortical และ cancellous bone ขึ้นกับชนิดของ hormone และ mechanism ต่อ bone remodeling

องค์ประกอบของ bone tissue มี 3 ส่วนคือ organic matrix (osteoid) , bone mineral และ bone cells (osteoclast / osteoblast cells) โดย type 1 collagen เป็นโปรตีนที่มีต่อองค์ประกอบถึง 90% ของ bone matrix ส่วนอีก 10% เป็นองค์ประกอบโปรตีนชนิดอื่นๆ เช่น osteocalcin , osteonectin และ osteopontin ดังแสดงในภาพที่ 7 โดยการวัด biochemical markers (bone resorption หรือ formation markers) สามารถวัดได้ใน serum และ urine , การวัด markers เหล่านี้ บ่งถึง remodeling process 3 แบบ คือ 1) enzymes หรือ proteins ซึ่งหลั่งโดย cells ที่เกี่ยวข้องกับ remodeling process 2) breakdown products ซึ่งเป็นผลจาก bone resorption ของกระดูกเก่า 3) new products ในระหว่างขบวนการ synthesis ของกระดูกใหม่ เนื่องจาก process เหล่านี้จะบอกถึง bone turnover เมื่อเข้าสู่ steady state ระหว่าง bone resorption และ formation นอกจากนี้ bone resorption markers จะบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของ bone remodeling หลังให้ interventions ภายใน 1-3 เดือน ซึ่งเร็วกว่า bone formation markers ซึ่งใช้เวลา 4-6 เดือน [47]

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 7 แสดง Biochemical marker of bone turnover โดยแยกเป็น bone resorption และ formation markers ชนิดต่างๆ ตามการทำงานของ osteoclast และ osteoblast cells



Bone resorption markers

Bone resorption markers มี enzyme tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) [48] และผลของ bone breakdown ซึ่งประกอบด้วย calcium และผลการย่อยสลายของ bone matrix เช่น hydroxyproline , pyridinium , cross-links และ telopeptides ดังแสดงในตารางที่ 7 ส่วน urinary calcium จะมีผลกระทบทั้งอาหารและการทำงานของไตซึ่งไม่มี sensitivity และ specificity ที่ดีพอในการประเมิน bone remodeling

ตารางที่ 7 : แสดง bone resorption markers ชนิดต่างๆ ที่วัดได้ในเลือดและปัสสาวะ

Markers of bone resorption
Serum
C-terminal pyridine cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP)
Free γ -carboxy Glutamic acid
TRAP
Urine
Calcium
Hydroxyproline (total, free)
Pyr (free, total)
Dpd (free, total)
C-telopeptide (ICTP)
Hydroxylysine glycosides

TRAP

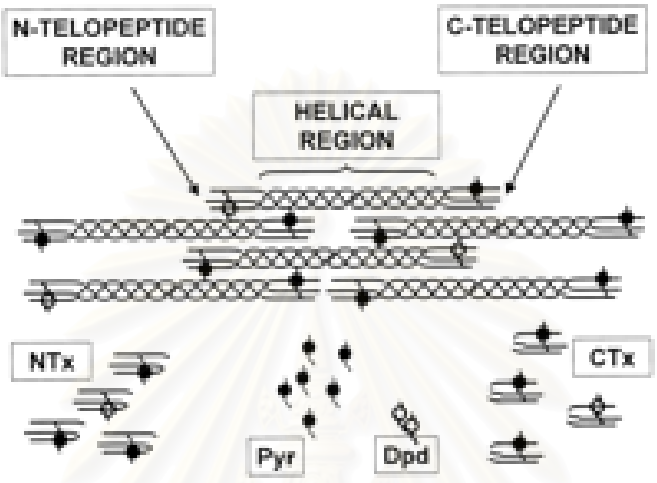
Acid phosphatase เป็น lysosomal enzyme ซึ่งพบในกระดูก , prostate , platelets , erythrocytes และ spleen ซึ่งมี 5 isoenzymes และไม่ stable ใน frozen sample ยังไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากขาด specificity ที่ดี

Collagen breakdown products

Type 1 collagen ประกอบด้วย amino acid hydroxyproline ซึ่งมีโครงสร้างเป็น “triple helix strands” โดยแต่ละ strands จะเชื่อมด้วย cross-links (pyridinolines และ deoxypyridinolines) ระหว่าง lysine หรือ hydroxylysine ด้วย helical bonds ส่วนปลายของ collagen molecule มี 2 ส่วน คือ N-telopeptide region (amino-terminal) และ C-telopeptide region (carboxy – terminal) ซึ่งจะเชื่อมกับ cross-links โดย non-helical bonds ดังแสดงในภาพที่ 8

ภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างของ type 1 collagen และ cross-link degradation products

○ , Dpd ; • , Pyr.



(นำมาจาก Nelson B. (60) Clin Chem 1999 ; 45 : 1361.)

Hydroxyproline

เป็น amino acid ที่พบส่วนใหญ่ใน collagen [49] และในเกือบทุก connective tissues marker นี้ถูก metabolized ในตับและมีผลกระทบจากอาหารและการทำงานของไต ดังนั้น จึงขาด sensitivity และ specificity ที่ดีพอ

Pyridinium cross-links (pyridinoline และ deoxypyridinoline)

Marker นี้จะถูกปล่อยจากการสลายของ mature collagen โดยมีอัตราส่วนของ Pyr : Dpd ≈ 3:1 Dpd. มีความเฉพาะกับ bone ส่วน Pyr. พบได้ทั้งใน articular cartilage และ soft tissues (ligaments และ tendons) ในระหว่างขบวนการ resorption cross-links ที่หลั่งออกมา 60% จะจับกับโปรตีน และอีก 40% จะอยู่ในรูป free forms. Pyr cross-links ไม่ถูก metabolized หรือ absorbed โดยอาหาร [50] Pyr. และ Dpd. สามารถวัดใน urine โดยวิธี HPLC หรือ immunoassay [51-55] ก่อนหรือหลังขบวนการ hydrolysis

Cross-linked telopeptides

ในขบวนการ resorption จะมีการย่อยสลายส่วนปลายของ collagen ที่เชื่อมกับ cross-links เรียกว่า N-telopeptides (NTx) และ C-telopeptides (CTx) ซึ่งจะขับออกทางไต การวัด urinary NTx และ CTx โดยวิธี immunoassay (conventional methods) [56,57] ซึ่งมีผลกระทบจากการทำงานของไต และ sensitivity ไม่ดี เมื่อเทียบกับการพัฒนาวิธีการวัด NTx และ CTx ใหม่ใน serum โดย immunoassay ต่อ monoclonal antibody [58-61] ซึ่งมี sensitivity ที่ดีกว่า และมีผลกระทบต่อการทำงานของไตน้อยกว่า

Bone formation markers

ประกอบด้วย enzyme (alkaline phosphatase) และ product จาก bone matrix synthesis (osteocalcin และ amino- / carboxy – terminal procollagen I extension peptides)
ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 : แสดง bone formation marker ชนิดต่างๆ ที่วัดในเลือด

Markers of bone formation
Alkaline phosphatase
Total alkaline phosphatase
BAP
Osteocalcin (bone-GLA protein, BGP)
Procollagen extension peptides
PINP
PICP

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

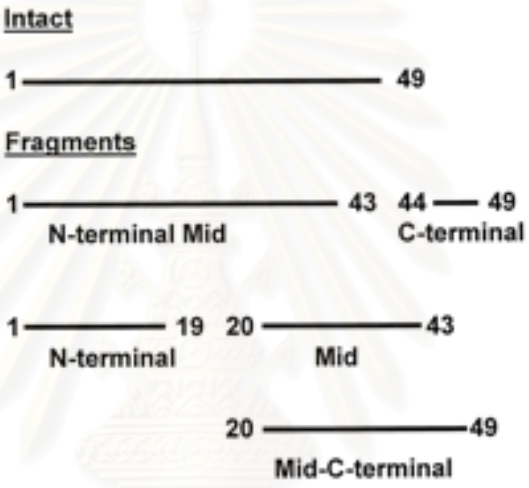
Alkaline phosphatase (AP)

เป็น enzyme ของ plasma membrane of cells ส่วนมากพบใน osteoblasts และพบได้ใน liver , intestine และ placenta เนื่องจาก AP มีหลาย isoenzymes และมักไม่ค่อยเพิ่มในภาวะ osteoporosis หรือ metabolic bone diseases อีกหลายชนิด จึงไม่นิยมใช้เป็น bone remodeling marker นอกจากนี้ยังมี half-life ยาว และถูกขับออกทางตับ

Osteocalcin

ในขบวนการ matrix synthesis ของ osteoblast จะหลั่ง osteocalcin ใน blood circulation ซึ่งมี half-life สั้นและถูกขับออกทางไต osteocalcin เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของ non collagen protein ใน bone matrix ซึ่งประกอบด้วย amino acid 49 ตัว โดยใน circulation จะมี 3 รูปแบบ คือ 1/3 อยู่ในรูป intact , 1/3 อยู่ในรูป N-terminal mid fragment และอีก 1/3 เป็น smaller fragments ต่างๆ ดังแสดงใน ภาพที่ 9

ภาพที่ 9 แสดง osteocalcin รูปแบบต่างๆ ในเลือด



(นำมาจาก Am J Med 1993 : 95 (suppl SA).)

Procollagen extension peptides

เป็น products of type 1 collagen synthesis โดย osteoblasts ประกอบด้วย amino- / carboxy – terminal procollagen 1 extension peptides (PINP และ PICP) [61-65] ซึ่งจะถูกปล่อยจาก procollagen ก่อนที่ collagen จะเข้าไปรวมใน bone matrix marker เหล่านี้มี half-life สั้น และได้จาก tissue หลายแห่ง (skin, dentin , tendon) ดังนั้นจึงขาด sensitivity ที่ดี

ปัญหาของการใช้ bone markers

เนื่องจาก bone markers หลายชนิดรวมทั้งวิธีการวัดยังมีข้อจำกัดหลายอย่างที่จะนำไปใช้เป็น routine laboratory assay โดยยังไม่พบว่าจะมี marker ใดเป็น “ideal marker” คือ ไม่มี short – term biologic variability (เช่น stable ได้หลายวันหรือหลายสัปดาห์) , มีวิธีการวัดที่ง่ายและเป็น automate มี reliable ของ standard , วิธีการวัดมีความถูกต้องสูงหรือมี interference น้อย และควรวัดได้ในภาวะ non fasting blood sample หรือ random urine

บทที่ 4

ปริทัศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Heaney RP[66] ได้แสดงหลักฐาน ที่สนับสนุนการให้แคลเซียม และวิตามินดีเสริมในคนสูงอายุ เพื่อลดภาวะ การลดลงของความหนาแน่นของกระดูก (Bone mineral density, BMD) และ ลดอัตราการหักของกระดูกที่เกิดขึ้น เนื่องจากพบว่าการได้รับแคลเซียมเสริมที่เพียงพอ มีความสัมพันธ์กับมวลรวมของกระดูกในทุกอายุ โดยเฉพาะในคนสูงอายุ พบว่ามีความต้องการของแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการลดลงของการดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้ และการเพิ่มขึ้น ของระดับ Parathyroid hormone (PTH) จากอายุที่เพิ่มขึ้นเอง และผลของ PTH ที่สูงขึ้นส่งผลต่อ bone resorption ที่เพิ่มขึ้น และภาวะเสี่ยงของกระดูกพรุนสูงขึ้น นอกจากนี้ในหญิงวัยหมดประจำเดือนยังมีผลของ estrogen ที่ลดลงทำให้ bone remodeling และ bone resorption เพิ่มขึ้น ดังนั้นในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่ได้รับแคลเซียมเสริมไม่เพียงพอ จะเสี่ยงต่อภาวะกระดูกพรุนสูง การป้องกันและรักษาภาวะนี้นอกจากการให้แคลเซียมเสริมที่เพียงพอแล้ว ยังมีการให้ antiresorptive drug อีกหลายชนิด ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่ม BMD ของกระดูก และลดอัตราการหักของกระดูก แต่อย่างไรก็ตาม การจะเลือกใช้ antiresorptive drug อื่นเสริมนั้น ควรได้รับแคลเซียมเสริมที่เพียงพอก่อนจากกลไกการเกิดภาวะกระดูกพรุน ในหญิงวัยหมดประจำเดือนดังกล่าวข้างต้น นอกจากนั้นยังมีหลายหลักฐานที่พบว่าการได้รับแคลเซียมเสริมที่เพียงพออย่างเดียว สามารถป้องกันการลดลงของ BMD ของกระดูกในหญิงวัยหมดประจำเดือน

Cooper C และคณะ[67] พบว่าการให้แคลเซียมและวิตามินดีเสริมในคนสูงอายุที่รับประทานแคลเซียมในปริมาณ 512-725 มิลลิกรัมต่อวัน (ซึ่งเป็นระดับที่มากกว่าคนไทยรับประทาน) หรือคนสูงอายุที่มีระดับวิตามินดีต่ำ สามารถป้องกันการลดลงของมวลกระดูกได้ในหลายบริเวณ รวมทั้งลดอุบัติการณ์ของกระดูกหักบางราย มีการศึกษาจำนวนมาก ที่บ่งชี้ว่าการได้แคลเซียมเสริมสามารถชะลอการลดลงของมวลกระดูกในหญิงวัยหมดประจำเดือนได้ถึง 50% นอกจากนี้ Riggs BL และคณะ[68] ได้ทำการศึกษาแบบ Randomized trial เกี่ยวกับผลของการให้แคลเซียมเสริมอย่างเดียวต่ออุบัติการณ์ของกระดูกหักที่ทำการศึกษาในคนตะวันตก ทั้งหมด 3 การศึกษาโดย 2 ใน 3 เป็นการศึกษาที่มี vertebral fracture เป็น endpoint พบว่าสามารถลดอุบัติการณ์ของกระดูกสันหลังหัก (vertebral fracture) ได้ถึง 31%

Chapuy และคณะ [29] พบว่าการรับประทานแคลเซี่ยมปริมาณ 1,200 mg ต่อวัน และ วิตามิน ดี 800 IU ต่อ วัน เป็นเวลา 3 ปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือน ชาวฝรั่งเศสและทำงานอุตสาหกรรม จำนวน 3,270 คน สามารถลดการหักของกระดูกสะโพกได้ 30% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลดังกล่าวอาจอธิบายจากระดับแคลเซียมที่เพียงพอที่จะลดภาวะ secondary hyperparathyroidism ทำให้ BMD ของ femoral neck เพิ่มขึ้น Lips P และคณะ [31] พบว่าการให้วิตามินดี (400 IU ต่อวัน) เป็นเวลา 3½ ปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือน 2,578 คน (ชาวเนเธอร์แลนด์) ได้ พบว่าสามารถลดการหักของกระดูกสะโพกได้เกือบ 30% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Dawson-Hughes Bและคณะ [30] พบว่าการให้แคลเซียม (500 mg ต่อวัน) และวิตามินดี (700 IU ต่อวัน) ในคนสูงอายุชาวอเมริกา ซึ่งมีอายุมากกว่า 63 ปี จำนวน 389 คน สามารถลด non-vertebral fractures โดยเพิ่ม BMD ของ lumber spine (0.9%) femoral neck (1.2%) และ total body (1.2%) ตามลำดับ Heikinheimo RJ และคณะ [27] พบว่าการให้วิตามิน ดี ฉีดเข้ากล้ามเนื้อทุกปี พบว่าสามารถลด non-vertebral fractures ได้

Dawson-Hughes B และคณะ[69] พบว่าการให้แคลเซียมที่เพียงพอในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน ที่มีระดับแคลเซียมต่ำ สามารถป้องกันการลดลงของมวลกระดูกได้ Reid IR และคณะ [32] พบว่าการให้แคลเซี่ยม1,000 mg ต่อวัน เป็นเวลา 4 ปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือน 86 คน สามารถเพิ่ม total-body BMD เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะ BMD ของ lumbar-spine และ proximal femur ในช่วง 1 ปีแรก มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุม อย่างชัดเจน Recker RR และคณะ[33] พบว่าการให้รับประทานแคลเซียม 1200 mg ต่อวัน เป็นเวลา 4 ปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือนอายุมากกว่า 60 ปี สามารถป้องกันการลดลงของมวลกระดูกของ forearm และลด vertebral fracture ได้ 59%

ผลของวิตามินดี ต่อกระดูกจากหลายการศึกษา [24-26, 70] พบว่าการให้ วิตามินดี ในรูป Calcitriol หรือ 1α-hydroxy vitamin D สามารถลดอัตราการหักของกระดูกได้ จากผลของระดับแคลเซียมที่เพิ่มขึ้น และผลของ วิตามินดี ต่อเซลกระดูก โดยตรง แต่อย่างไรก็ตามการให้แคลเซี่ยม และ วิตามิน ดี อย่างเดียวอาจไม่เพียงพอในการป้องกันการหักของกระดูก Tilyard MW และคณะ [28] พบว่าการรับประทานวิตามินดีหรือ แคลเซี่ยม เป็นเวลา 3 ปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือน ที่เคยมีการหักของกระดูกสันหลัง จำนวน 622 คน โดย พบว่ากลุ่มที่ได้ วิตามินดี ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของอัตราการหักของกระดูกสันหลัง ส่วนกลุ่มที่ได้แคลเซี่ยม กลับมีการเพิ่มขึ้นของอัตราการหักของกระดูกสันหลัง อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้วัด BMD ซึ่งทำให้ประเมินความแตกต่างของผลการศึกษาได้ยาก

Beverly S และคณะ[71] ได้รวบรวมการศึกษา แบบ Meta analysis ถึงผลการรับประทานแคลเซี่ยม ในการป้องกันภาวะกระดูกพรุน ในหญิงวัยหมดประจำเดือน โดยวัดผลของ vertebral fracture จาก 5 การศึกษา [33,72-74] พบว่า pooled RR ไม่มีความสำคัญทางสถิติต่อการลดลงของ vertebral fracture ในกลุ่มรับประทานแคลเซี่ยม (RR 0.77 , 95% CI 0.54 – 1.09 , P = 0.14) และ non-vertebral fracture จาก 2 การศึกษา [72,75] พบว่า pooled RR ไม่มีความสำคัญทางสถิติต่อการลดลงของ non-vertebral fracture ใน calcium group (RR 0.86 , 95% CI 0.43-1.72 , P = 0.66) แต่ผลของการวัดการเปลี่ยนแปลง BMD โดยเฉพาะที่ Lumbar spine หลังให้แคลเซียมเสริมเป็นเวลา 2 ปี พบว่ามีการเพิ่ม BMD (Mean difference 1.66 , 95% CI 0.92-2.39 , P < 0.01) ดังนั้นการให้แคลเซียมเสริมอย่างเดียวในระยะยาวอย่างน้อย 2 ปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือน สามารถป้องกันการลดลงของ BMD ของกระดูกได้

จากหลักฐานข้างต้น การได้รับแคลเซียมที่เพียงพอ เป็นพื้นฐานสำคัญในการป้องกันการลดลงของ BMD ของกระดูกทั้ง vertebral และ non – vertebral ทำให้ลดภาวะเสี่ยงของการเกิดภาวะกระดูกพรุนในหญิงวัยหมดประจำเดือน ซึ่งมี Recommendation of the 1984 Consensus Development conference on Osteoporosis [76] แนะนำให้แคลเซียมเสริมในผู้สูงอายุ 1,500 mg (37.7 mmol) ต่อวัน และยังมี Recommendation of the 1994 NIH Consensus Development Conference on Optimal Calcium Intake [77] โดยแนะนำให้แคลเซียมในผู้สูงอายุในปริมาณที่เท่ากัน จาก meta analysis of calcium supplementation for the Prevention of Postmenopausal Osteoporosis [71] พบว่าการให้ แคลเซี่ยม อย่างเดียวไม่ลดอัตราการหักของกระดูก ทั้ง vertebral และ non-vertebral แต่ช่วยป้องกันการลดลงของ BMD ดังนั้นการให้ antiresorptive drugs อื่น นอกจากแคลเซียมเสริมดังกล่าวข้างต้นมีความสำคัญต่อการลดลงของ อัตราการหักของกระดูก

จากการศึกษาหลายๆ การศึกษา [29,30,33,72] พบว่าการให้แคลเซี่ยม ร่วมกับวิตามิน ดี ในผู้สูงอายุ สามารถลดอัตราการหักของกระดูก ทั้ง vertebral และ non-vertebral รวมทั้งเพิ่ม BMD ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นใน Recommendation of the 1997 DRIs from Food and Nutrition board (IOH) ได้แนะนำให้วิตามินดีเสริมปริมาณ 800 IU ต่อวันในผู้สูงอายุ ร่วมกับแคลเซียมเสริมปริมาณ 1500 mg ต่อวัน ตาม Recommendation of the 1994 NIH Consensus Development Conference on Optimal Calcium Intake แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวเป็นการแนะนำจากการศึกษาในชาวตะวันตก ซึ่งอาจมีปัจจัยเสี่ยงต่อการขาดวิตามินดีมากกว่าในชาวไทย (Asian) ซึ่งมีปัจจัยเสี่ยงต่อการขาดวิตามินดีต่ำเนื่องจากมักได้รับแสงแดดที่เพียงพอ รวมทั้งลักษณะอาหารที่มีวิตามินดีเพียงพอ ดังนั้นการให้วิตามินดีเสริมในคนไทยสูงอายุ (โดยเฉพาะหญิงวัยหมดประจำเดือน) อาจ

เลือกพิจารณาให้เฉพาะรายที่มีปัจจัยเสี่ยงสูงต่อการขาดวิตามินดี เช่น โรคการดูดซึมทางเดินอาหารผิดปกติ, โรคไตวาย, ไม่สามารถรับแสงแดดได้เพียงพอ และได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ

การได้รับแคลเซียม นอกจากในสารอาหารประจำวันแล้ว ยังมีแคลเซียมเสริมในรูปแบบของยาหลายชนิด เช่น calcium carbonate , calcium citrate , calcium acetate , calcium lactate ซึ่งแต่ละชนิดมีขนาดของ calcium element ต่อเม็ดต่างกัน นอกจากนั้นในเรื่องราคาและการดูดซึมของแคลเซี่ยมแต่ละชนิดยังแตกต่างกัน การเลือกแคลเซี่ยมแต่ละชนิดเพื่อให้ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน มีความจำเป็นที่ต้องรับประทานระยะเวลานาน เพื่อป้องกันการลดลงของ BMD ของกระดูก และความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะกระดูกพรุนนั้น ควรพิจารณาถึงความคุ้มค่าของราคาที่ใช้จ่ายด้วย นอกเหนือจากการดูดซึมของ แคลเซี่ยมแต่ละชนิด Bendich และคณะ [78] พบว่าการให้แคลเซียมเสริม 1,200 mg ต่อวัน ในหญิงชาวอเมริกาที่อายุมากกว่า 65 ปี มีความคุ้มค่าของค่าใช้จ่ายในการให้แคลเซียมเสริม เมื่อเทียบกับการหักของกระดูกสะโพก มีการศึกษาโดย Heller และคณะ [79,80] พบว่าการดูดซึมของ calcium citrate ดีกว่า calcium carbonate แต่ผลการศึกษาของอีกหลายการศึกษา [81-83] พบว่าการดูดซึมของแคลเซี่ยม ทั้งสองชนิดนี้ไม่มีความแตกต่างกัน ทางสถิติ

นอกจากนี้ Heaney RP และคณะ[84] ได้ทำการศึกษาแบบ randomized control trail เปรียบเทียบผลการดูดซึมของแคลเซี่ยม ระหว่าง calcium carbonate และ calcium citrate โดยได้รับวิตามิน ดี ร่วมด้วย ใน กลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน จำนวน 24 คน โดยวัดผล ของ urine calcium พบว่ากลุ่มที่ได้รับ calcium citrate มีค่า urine calcium สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ calcium carbonate แต่ไม่มีความสำคัญทางสถิติ จากผลของการศึกษานี้เมื่อประเมินความคุ้มค่าของค่าใช้จ่าย พบว่ากลุ่มที่ได้รับ calcium carbonate มีความคุ้มค่าของค่าใช้จ่าย ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ calcium citrate อย่างชัดเจน ในขณะที่ bioavailability ของ แคลเซี่ยม ทั้งสองชนิดนี้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ดังนั้น เมื่อพิจารณาถึงความคุ้มค่าของราคาที่ต้องรับประทานแคลเซียมเป็นระยะเวลานาน ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน เพื่อป้องกันการลดลงของมวลรวมกระดูก น่าจะเลือกใช้ calcium carbonate ตามหลักฐานดังกล่าวข้างต้น

เนื่องจากภาวะหญิงวัยหมดประจำเดือน มีภาวะเสี่ยงต่อการเกิดภาวะกระดูกพรุน และอัตราการหักของกระดูก ที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในช่วง 15 ปีแรก หลังหมดประจำเดือน เนื่องจากผลของเอสโตรเจน ที่ลดลงเป็นหลัก ร่วมกับ PTH ที่สูงขึ้นตามอายุที่มากขึ้น ทำให้มีผลต่อการลดลงของมวลกระดูกในส่วน trabecular โดยเฉพาะกระดูกสันหลัง และกระดูกสะโพก ทำให้เสี่ยงต่ออัตราการหักของกระดูกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Reinhold Veith และคณะ [85] ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง PTH ในช่วงกลุ่มอายุต่างๆ 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 อายุ ≤ 50 ปี, กลุ่ม 2 อายุ 51-70 ปี และกลุ่ม 3 อายุ >70 ปี พบว่าในกลุ่ม 1 มีระดับ PTH น้อยกว่า กลุ่มที่ 2 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระหว่างกลุ่มที่ 2 และ 3 ไม่

มีความแตกต่างของระดับ PTH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น จึงเป็นที่มาของการกำหนดกลุ่มอายุของประชากรที่จะศึกษา ที่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มของระดับ PTH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นในการวิจัยของผู้เขียน จึงเลือกกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน ในช่วงอายุ 60-70 ปี และมีภาวะกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน ตามหลักฐานข้อมูลดังกล่าวข้างต้น

Delmas PD [86] แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของ BMD และการเพิ่มขึ้นของอัตราการหักของกระดูก ทั้ง vertebral และ non-vertebral ในหญิงวัยหมดประจำเดือน ดังนั้นการวัด BMD สามารถใช้พยากรณ์ถึงอัตราการหักของกระดูกได้ แต่ข้อเสียของการใช้ BMD ติดตามการเปลี่ยนแปลงของกระดูกหลังการรับประทานแคลเซี่ยมนั้น ต้องใช้เวลานานอย่างน้อย 1-2 ปี เนื่องจากการวัด BMD เป็นค่า Z score และ T score เพื่อประเมินความหนาบางของกระดูกโดยเทียบกับคนในอายุเดียวกัน และวัยหนุ่มสาวตามลำดับโดยเครื่องวัด Dual-energy X-ray absorptionmetry (Dexa scan) นั้น มีความผิดพลาดของเครื่องมือเองประมาณ ± 1-2% และการวัดการเปลี่ยนแปลงของ BMD หลังการให้รับประทานแคลเซี่ยม จะพบการเปลี่ยนแปลงโดยอัตราเฉลี่ยประมาณ1.5-2.0% ต่อปี ดังนั้นในทางวิจัยมักนิยมใช้ bone marker ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของกระดูก หลังการให้รับประทานแคลเซี่ยม ซึ่งใช้เวลาเร็วกว่า โดยเฉพาะ bone resorption markers สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงได้เร็วภายใน 1-3 เดือน

จากการศึกษาของ Cliford J. Rosen และคณะ [87] ได้แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนของ bone markers ต่อการเปลี่ยนแปลงของ BMD ของกระดูก ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน การศึกษานี้พบการเปลี่ยนแปลงของ bone markers ทั้ง bone resorption และ formation markers [Urinary N-telopeptide (NTx) และ Osteocalcin (OC)] ที่ 3, 6 และ 12 เดือนหลังการให้รับประทานแคลเซียมเสริม นอกจากนั้นยังพบว่า มีความสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของ BMD ของกระดูก (ทั้งกระดูกสันหลัง และกระดูกสะโพก) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.005$ และ $P=0.02$ ตามลำดับ ดังนั้นในทางวิจัยจึงใช้ bone markers โดยเฉพาะ bone resorption markers ติดตามการเปลี่ยนแปลงภายใน 1-3 เดือน ซึ่งเร็วกว่า bone formation marker ที่ใช้เวลานาน 4-6 เดือน

การศึกษาของ Blumsohn A และคณะ[88] ได้แสดงถึงผลของการให้แคลเซียมเสริมโดยเปรียบเทียบการให้แคลเซียมช่วงกลางคืน และช่วงเช้า เป็นเวลา 14 วัน ต่อผลของการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption พบว่าการให้ช่วงเวลากลางคืนได้ผลดีกว่า โดยการศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ randomized control trial ศึกษาในหญิงวัยก่อนหมดประจำเดือนผิวขาว ที่มีอายุช่วง 20-47 ปี (อายุเฉลี่ย 36 ปี) โดยให้รับประทาน calcium citrate (1,000 mg elemental calcium / day) เป็นเวลา 14 วัน โดยการสุ่มแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 คน กลุ่มแรกได้รับแคลเซียมช่วงเช้า (8.00น.) และกลุ่มสองได้รับแคลเซียมช่วงกลางคืน (23.00น.) แล้ววัดผลการเปลี่ยนแปลงของระดับ bone resorption marker

[Urinary deoxypyridinoline (Dpd) และ Cross-linked N-telopeptide of type 1 collagen (NTx)] และระดับ PTH ผลของการศึกษาพบว่า การให้แคลเซียมเสริมช่วงกลางคืน สามารถลดระดับ U-Dpd, NTx และ PTH ในช่วงเวลากลางคืน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.001$ เมื่อเทียบกับการให้แคลเซียมเสริมช่วงเช้า นอกจากนั้นยังพบว่าการให้แคลเซียมเสริมกลางคืนสามารถสามารถลดระดับของ U-Dpd ระหว่างวันได้ 20.1% ($P = 0.03$) และ NTx ระหว่างวันได้ 18.1% ($P = 0.03$) จากข้อสรุปของการศึกษานี้ การรับประทานแคลเซียมอย่างน้อย 14วัน มีผลเพียงพอกับภาวะสมดุลของแคลเซี่ยมในร่างกายต่อการลดระดับของ bone resorption และระดับ PTH [89] นอกจากนี้ การให้รับประทานแคลเซียมในช่วงเวลากลางคืนสามารถลดระดับของ bone resorption ได้ดีกว่าการให้ช่วงเช้า
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามหลักฐานดังกล่าวข้างต้น

การศึกษาของ Said kamel และคณะ[90] ได้เปรียบเทียบผลของ bone resorption markers หลายชนิด หลังรับประทานแคลเซียมในหญิงวัยหมดประจำเดือน พบว่า CTx มี sensitivity ดีที่สุด การศึกษานี้เป็น randomized control trail ให้ calcium carbonate 1,200 mg ต่อวัน เทียบกับกลุ่มควบคุม แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption markers ชนิดต่างๆ คือ Urinary total pyridinoline (T-Pyd) , total deoxypyridinoline (T-Dpd) , free deoxypyridinoline (I – F – Dpd) , N – and
C – telopeptide fragments of type 1 collagen (NTx และ CTx) พบว่า CTx มี sensitivity ดีสุดเมื่อเทียบกับ bone resorption markers ตัวอื่น การศึกษาของ Garnero และคณะ [91] ได้เปรียบเทียบ bone resorption markers ระหว่าง Serum CTx (S-CTx) โดยวัดที่ 8.00 น. หลังงดอาหารข้ามคืน กับ Urinary CTx (U-CTx) และติดตามการเปลี่ยนแปลงของ BMD และอัตราการหักของกระดูก ในหญิงวัยหมดประจำเดือน พบว่า S-CTx มีความไว และความจำเพาะ ที่ดีกว่า นอกจากนี้ยังมีความแปรปรวน ระหว่างวันของ assay น้อยกว่า เนื่องจาก U-CTx ถูกกระทบได้หลายปัจจัย นอกจากการทำงานของไต แล้วยังมีมื้ออาหารและระดับ calcium ในเลือด จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นผู้วิจัยจึงเลือก S-CTx โดยวัดที่ 8.00 น. หลังงดอาหารข้ามคืน เป็น bone resorption marker ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงหลังการให้รับประทานแคลเซี่ยมเป็นเวลา 14 วันในหญิงวัยหมดประจำเดือน

การศึกษาของ Rubinacci และคณะ [92] พบว่าการให้รับประทานแคลเซี่ยมในช่วงสั้นๆ สามารถยับยั้งการทำงานของ osteoclast ได้ การศึกษานี้เลือกศึกษาคนกลุ่มอายุช่วง 24-78 ปี (อายุเฉลี่ย 44 ปี) ให้รับประทาน calcium carbonate (1,000 mg calcium elemental / day) แล้ววัดการลดลงของ bone resorption markers [Urinary total และ free deoxypyridinoline (T-Dpd และ F-Dpd)] พบว่ามีการลดลงของ bone resorption markers ที่ 2 และ 4 ชั่วโมง หลังการให้รับประทานแคลเซี่ยม การศึกษาของ Zinkan V และคณะ[93] พบว่าการให้รับประทานแคลเซี่ยมในช่วงสั้นๆ สามารถลดระดับของ bone resorption marker (S-CTx) และ PTH ได้ที่ 5 ชั่วโมง การศึกษานี้ศึกษาในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน

โดยให้รับประทาน calcium carbonate (1,000 mg calcium elemental / day) แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงของ serum C-terminal telopeptide cross links [S-CTx (Elecsys beta-cross laps , Roche)] และ intact PTH (i-PTH) พบว่ามีการลดลงของทั้ง S-CTx และ iPTH ที่ 5 ชั่วโมง หลังให้ calcium ดังนั้นจากหลักฐานดังกล่าวข้างต้น สนับสนุนการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption markers (S-CTx และ U-T-Dpd.) หลังรับประทานแคลเซี่ยม ที่ 2-5 ชั่วโมง ดังนั้นในการศึกษาของผู้วิจัย ที่วัดผลการเปลี่ยนแปลงของ serum C-terminal telopeptide cross links (S-CTx) และ i-PTH หลังการให้แคลเซี่ยม เป็นเวลาสองสัปดาห์ น่าจะเพียงพอต่อการวัดผลการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวข้างต้น

มีหลักฐานของ Heany RP. [94] พบว่าหญิงวัยหมดประจำเดือนมีระดับ PTH ในช่วงเวลากลางคืนสูงเมื่อเทียบกับหญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน นอกจากนั้นยังมีหลักฐานจากหลายการศึกษา[95,96] ที่สนับสนุนการให้รับประทานแคลเซี่ยม ในช่วงก่อนนอน สามารถลดระดับ PTH และ bone resorption markers ได้ อย่างไรก็ตาม การรับประทานแคลเซียมยังนิยมให้รับประทานหลังอาหาร เนื่องจากภาวะกรดจากกระเพาะอาหารจะช่วยเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมได้ดีขึ้น ดังนั้น การเลือกเวลาที่เหมาะสมในการให้รับประทานแคลเซียม จึงมีความสำคัญเพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีกระดูกบางเสี่ยง Merja UM Karkkainen และคณะ [97] ได้ศึกษาผลของการรับประทานแคลเซี่ยมครั้งเดียว ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ PTH และ bone resorption markers ในกลุ่มหญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน ที่มีอายุน้อย โดยเปรียบเทียบการให้รับประทานแคลเซี่ยม ในช่วงกลางคืน (23.00 น) และตอนเช้า (8.00 น) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้ศึกษาในกลุ่มหญิงวัยหมดระดูที่มีอายุมากและมีความเสี่ยงของกระดูกพรุน นอกจากนั้นยังให้รับประทานแคลเซี่ยมแค่ครั้งเดียว อาจทำให้ระดับแคลเซี่ยมในเลือดไม่เพียงพอต่อการลดระดับของ PTH และ bone resorption markers

เนื่องจากภาวะหมดประจำเดือนมีผลต่อการลดลงของความหนาแน่นกระดูก (BMD) ทำให้เสี่ยงต่ออัตราการหักของกระดูก โดยเฉพาะกระดูกสันหลังและกระดูกสะโพก จากหลักฐานดังกล่าวข้างต้น พบว่าการให้แคลเซี่ยมเสริมและวิตามินดี สามารถป้องกันการลดลงของมวลรวมของกระดูกได้ แต่ไม่เพียงพอในการป้องกันการหักของกระดูก โดยเฉพาะรายที่มีกระดูกหักก่อนหน้านี้แล้ว ดังนั้นจำเป็นต้องได้รับ antiresorptive drugs อื่น เพิ่มเติมดังกล่าวข้างต้น อย่างไรก็ตามการให้แคลเซี่ยมเสริมโดยเฉพาะในวัยสูงอายุยังมีความสำคัญเบื้องต้น นอกเหนือจากการให้ antiresorptive drugs และผลการศึกษาจากหลายๆการศึกษาดังกล่าวข้างต้น สนับสนุนการให้แคลเซี่ยมเสริมในระยะยาวในหญิงวัยหมดระดู เพื่อป้องกันภาวะกระดูกพรุน แต่ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการให้แคลเซี่ยมเสริม ยังไม่มีข้อสรุปชัดเจน เนื่องจากการดูดซึมของแคลเซี่ยมได้ดีในภาวะกรด ดังนั้นจึงมีความนิยมที่ให้แคลเซี่ยมขนาดต่ำๆหลังอาหารหลายๆครั้งต่อวัน เพื่อให้ระดับของแคลเซี่ยมในเลือดระหว่างวันสูงพอที่จะลดระดับของ PTH และ

bone resorption markers นอกจากนั้นยังคาดว่าจะลดผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซี่ยมในช่วงท้องว่าง เช่นอาการคลื่นไส้ อาเจียนและท้องผูก

อย่างไรก็ตามหลักฐานจากหลายการศึกษาดังกล่าวข้างต้น พบว่าในหญิงวัยหมดประจำเดือนมีระดับ PTH ในช่วงกลางคืนสูงกว่าหญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน นอกจากนี้ยังมีหลักฐานสนับสนุนการให้แคลเซี่ยมในช่วงกลางคืน ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน เพื่อผลต่อการลดระดับ PTH และ bone resorption แต่ยังไม่มีการศึกษาแบบ randomized control trial เปรียบเทียบผลของการให้แคลเซี่ยมระหว่างหลังอาหาร กับ ก่อนนอน ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ PTHและ bone resorption markers ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยต้องการศึกษาเปรียบเทียบผลของการให้รับประทานแคลเซี่ยมระหว่างก่อนนอน กับ หลังอาหาร สองมื้อ ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ PTH และ bone resorption markers (S-CTx) เพื่อพิจารณาเป็นแนวทางในการให้รับประทานแคลเซี่ยม ในเวลาที่เหมาะสม และเกิดประโยชน์สูงสุด ในคนไทยกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือนช่วงอายุ 60-70 ปี ที่มีกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

วัสดุและวิธีการ

รูปแบบการวิจัย (Research design)

Prospective randomized crossover placebo control trial.

ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างการให้รับประทานแคลเซียมหลังอาหารสองมื้อ และก่อนนอน ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ ซี – เทอร์มินอล เทลโลเปปไทด์ ครอสลิงค์ ในเลือด (C-terminal telopeptide crosslinks) และระดับพาราธัยรอยด์ฮอร์โมน (PTH) ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีกระดูกบางเสี่ยง ในช่วงอายุ 60-70 ปี โดยผู้ป่วยต้องได้รับประทานแคลเซียมเป็นเวลาอย่างน้อย 14 วัน ซึ่งเพียงพอต่อภาวะสมดุลของการเปลี่ยนแปลงต่อการปรับเปลี่ยนวงจรของกระดูกโดยการสลายและการสร้างกระดูก (bone remodeling) และจะมีช่วงเวลาอย่างน้อย 14 วัน ในช่วงที่ไม่ได้รับประทานแคลเซียม (washout phase) ซึ่งเพียงพอต่อการขับระดับแคลเซียมที่ได้รับออกจากร่างกายก่อนการได้รับประทานแคลเซียมในช่วงที่สามของการศึกษาเพื่อ cross over ในผู้ป่วยคนเดียวกัน การวัดผลของการเปลี่ยนแปลงต่อการปรับเปลี่ยนวงจรของกระดูก (bone remodeling) ใช้การวัดดัชนีของการสลายกระดูก (bone resorption marker) และการวัดระดับพาราธัยรอยด์ฮอร์โมน (PTH) ต่อระดับแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นในเลือด (calcium loading)

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (Operational definition)

1. Osteoporosis คือ ภาวะที่มีความหนาแน่นของกระดูก (Bone mineral density : BMD) โดยมีค่า T score น้อยกว่า 2.5
2. Osteopenia คือ ภาวะที่มีความหนาแน่นของกระดูก (Bone mineral density : BMD) โดยมีค่า T score อยู่ระหว่าง -2.0 ถึง -2.5
3. Serum C-terminal telopeptide crosslinks (S-CTx) : เป็นการวัดดัชนีการย่อยสลายกระดูก (Bone resorption marker) บอกถึงการทำงานของ osteoclast ต่อการ ปรับเปลี่ยนวงจรของกระดูก (Bone remodeling) หลังให้รับประทานแคลเซียม
4. Parathyroid hormone (PTH) : เป็นฮอร์โมนที่ถูกควบคุมโดยตรงกับระดับแคลเซียมในเลือด โดยหลังการรับประทานแคลเซียม จะทำให้ระดับ PTH ในร่างกายลดลง

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. ประชากรและตัวอย่าง (Population and Sample)

1.1 หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง

- ประชากรเป้าหมาย (Target Population) ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนอายุตั้งแต่ 60 ถึง 70 ปี
- ประชากรตัวอย่าง (Sample Population) ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนอายุตั้งแต่ 60 ถึง 70 ปี ที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัยที่แผนกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- เกณฑ์การคัดเลือกประชากรเข้ามาศึกษา (Inclusion Criteria)
  1. ผู้หญิง อายุ 60-70 ปี
  2. เข้าร่วมการศึกษาวิจัยด้วยความสมัครใจ และให้ความยินยอม
  3. มีภาวะกระดูกบางเสี่ยงหรือกระดูกพรุน (osteopenia หรือ osteoporosis) โดยมีความหนาแน่นของกระดูก (Bone mineral density : BMD) ระหว่าง -2.0 ถึง -3.0 จากการวัดด้วยเครื่องมือ Dexa scan บริเวณสะโพกและกระดูกสันหลัง
- เกณฑ์การคัดเลือกประชากรออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)
  1. อายุน้อยกว่า 60 ปี หรือมากกว่า 70 ปี
  2. มีภาวะ secondary osteoporosis จากสาเหตุอื่นๆ เช่น ได้รับสารสเตียรอยด์ ธัยรอยด์ฮอร์โมน เป็นต้น
  3. รับประทานแคลเซียมเสริมเป็นประจำในระยะเวลา 3 เดือน ก่อนเข้าร่วมโครงการ
  4. ได้รับยาที่เพิ่มมวลกระดูก เช่น ฮอร์โมนเอสโตเจน บิสฟอสฟอเนต แคลซิโตนิน ภายในระยะเวลา 3 เดือน ก่อนเข้าร่วมโครงการ
  5. มีโรคเกี่ยวกับ ตับ, ไต และการดูดซึมอาหารของลำไส้
  6. เคยมีประวัติกระดูกหักในระยะเวลา 3 เดือน ก่อนเข้าร่วมโครงการ

1.2 เทคนิคการสุ่มตัวอย่าง (Sampling Techniques)

การคัดเลือกตัวอย่างใช้แบบ non probability sampling ชนิด purposes sampling โดยพิจาณาตาม criteria ในการรับเข้าศึกษา

1.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample Size Determination)

$n = [(Z\alpha + Z\beta)\ SD / \delta]^2$

α type I error = 0.05

β type II error = 0.10

$Z\alpha$ (two - tailed) = 1.96

$Z\beta$ (two - tailed) = 1.28

SD = Standard deviation of the within difference = 7.61

δ = the value of the mean difference = 5.86

N = 18 ราย

2. การสังเกตและการวัด (Observational and Measurement)

- บันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย ซักประวัติ ตรวจร่างกาย เจาะเลือด ตรวจการทำงานของตับและไต ตรวจปัสสาวะ ตรวจความหนาแน่นของกระดูก (bone mineral density : BMD) ว่าอยู่ในช่วง -2.0 ถึง -3.0 ตาม criteria ก่อนเข้าร่วมโครงการ

- วัดการเปลี่ยนแปลงระดับ PTH ใน 24 ชั่วโมง โดยการตรวจเลือดเพื่อวัดระดับฮอร์โมน PTH ก่อนรับประทานอาหารเช้า (8.00 น.) และเย็น (18.00 น.) 1 ชั่วโมง และภายหลังรับประทานอาหารเช้าและเย็น 1 ชั่วโมง และตรวจระดับฮอร์โมน PTH ช่วงนอนหลับที่เวลา 24.00 น. , 2.00 น. , 4.00 น. และ 6.00 น. รวมทั้งสิ้น 8 ครั้งต่อวัน

- วัดระดับของ Serum C-terminal telopeptide crosslinks (S-CTx) หลังงดอาหารข้ามคืน 8 ชั่วโมง โดยวัดช่วงเช้า 8.00 น.

- บันทึกอาการข้างเคียงของการได้รับแคลเซียมเสริมที่เกิดขึ้นระหว่างการศึกษา โดยมีการบันทึกจากสมุดบันทึกประจำตัว และการสอบถามในช่วงนัดติดตามผู้ป่วย

3. วิธีการหรือสิ่งแทรกแซง (Intervention)

- ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การศึกษา หลังจากการตรวจสอบเบื้องต้นโดยการซักประวัติ , ตรวจร่างกาย, ผลทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น และการตรวจความหนาแน่นของกระดูก (BMD ของ vertebral และ hip) โดยเครื่องมือ Dual-energy X-ray absorptiometry (Dexa scan) อยู่ในช่วง -2.0 ถึง -3.0 จะได้รับการสุ่มโดย randomized double – placebo เพื่อรับแคลเซียมเสริมช่วงหลังอาหาร 2 มื้อ หรือ ก่อนนอน ในช่วงแรกของการศึกษา แล้ว crossover ในคนเดียวกัน ในช่วงที่สามของการศึกษา หลังจากผ่านช่วงที่สองของการศึกษา ซึ่งทั้งสองกลุ่มจะได้รับยาหลอก ทั้งหลังอาหารและก่อนนอน เพื่อให้ระดับแคลเซี่ยมที่ได้รับใน

ช่วงแรกของการศึกษาถูกขับออกจากร่างกาย ก่อนเริ่มรับประทานแคลเซี่ยมในช่วงที่สามของการศึกษา (ตามแผนภาพที่แสดง ในหัวข้อวิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ)

- ชนิดของ Calcium ที่ผู้ร่วมการวิจัยจะได้รับ

1. Calcium carbonate tablets

(Chalk cap® 835 mg = elemental calcium 334 mg/tab)

2. Placebo tablets (ยาหลอก)

(มีลักษณะภายนอกเหมือน Chalk cap® ทุกประการ แต่ภายในบรรจุแป้งให้มีน้ำหนักเท่า Chalk cap®)

ผู้ร่วมโครงการวิจัยจะได้รับ Chalk cap® 835 mg หลังอาหารเช้า 1 เม็ด และหลังอาหารเย็น 1 เม็ด **ส่วนก่อนนอนจะได้รับ** 2 เม็ด

- ก่อนเริ่มโครงการ ผู้ร่วมโครงการจะได้รับการอธิบายวิธีการปฏิบัติตัว และการบันทึกอาหารที่รับประทาน รวมทั้งอาการข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซียม ในสมุดบันทึกประจำตัว โดยในแต่ละครั้งที่นัดติดตาม ผู้ป่วยจะได้รับการสอบถามอาการข้างเคียง และลักษณะอาหารประจำวันที่รับประทาน เพื่อควบคุมปัจจัยของอาหารต่อการดูดซึมของแคลเซียม โดยกำหนดให้อาหารแต่ละช่วงของการศึกษามีลักษณะใกล้เคียงกัน (การศึกษามี 3 ช่วง ของการศึกษาแต่ละช่วงใช้เวลา 14 วัน)

- ผู้ร่วมโครงการจะได้รับแคลเซียม โดยการสุ่มแบบ randomized double placebo ว่าจะได้รับแคลเซียมช่วงหลังอาหาร 2 มื้อ เช้า (8.00น.) และเย็น (18.00 น.) หรือก่อนนอน (23.00 น.) เป็นเวลา 14 วัน ในช่วงแรกของการศึกษา

- หลังจบช่วงแรกของการศึกษา ผู้ร่วมโครงการจะต้องเข้านอนพักในโรงพยาบาล เพื่อตรวจ S-CTx หลังงดอาหารข้ามคืน 8 ชั่วโมง ที่เวลา 8.00 น. (เช้า) และตรวจ PTH ใน 24 ชั่วโมงคือ ก่อนรับประทานอาหารเช้า (8.00 น.) และเย็น (18.00 น.) 1 ชั่วโมง และหลังรับประทานอาหารเช้าและเย็น 1 ชั่วโมง และในช่วงนอนหลับที่เวลา 24.00 น. , 2.00 น. , 4.00 น. และ 6.00 น. รวมทั้งสิ้น 8 ครั้งต่อวัน

- ช่วงที่สองของการศึกษา ผู้ร่วมโครงการทั้งสองกลุ่มจะได้รับยาหลอก ทั้งหลังอาหาร และก่อนนอน เป็นเวลา 14 วัน เพื่อให้ผลของแคลเซียมที่ได้รับในช่วงแรก ถูกขับออกจากร่างกายหมด ก่อนที่จะเริ่มรับประทานแคลเซี่ยมในช่วงที่สามของการศึกษา

- ช่วงที่สามของการศึกษา ผู้ร่วมโครงการทั้งสองกลุ่มจะ crossover ในคนเดียวกัน โดยถ้าได้รับแคลเซียมหลังอาหารในช่วงแรก จะได้รับก่อนนอนแทนในช่วงที่สาม และถ้าได้รับแคลเซียมก่อนนอนในช่วงแรก จะได้รับหลังอาหารในช่วงที่สาม เป็นเวลา 14 วันทั้งสองกลุ่ม

- หลังจบช่วงที่สามของการศึกษา ผู้ร่วมโครงการจะต้องนอนพักในโรงพยาบาล และปฏิบัติตัวเหมือนกับนอนโรงพยาบาลหลังช่วงแรกของการศึกษา

- เมื่อครบ 14 วัน ในแต่ละช่วงของการศึกษา จะนัดติดตามโดย ถามอาการข้างเคียงจากการรับประทานยาจากสมุดบันทึกและการสอบถามยืนยันจากผู้ร่วมโครงการ

- เมื่อครบ 6 สัปดาห์ หลังจบโครงการ จะมีการนับเม็ดยา เพื่อดูความร่วมมือในการรับประทานยาในช่วงที่ผ่านมา

- การตรวจ Serum C-terminal telopeptide crosslinks โดยวิธี Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) [Roche Elecsys 2010 β-CrossLaps / serum immunoassay analyzers, Roche Diagnostics GmbH , Mannheim , Germany]

- การตรวจ PTH โดยวิธี Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) [Roche Elecsys 2010 PTH immunoassay analyzers, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim , Germany]

การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

ข้อมูลจะได้รับการบันทึกในแบบฟอร์ม และเก็บข้อมูลลงในคอมพิวเตอร์ เพื่อนำมาตรวจสอบและวิเคราะห์โดยผลอยู่ในรูป Mean ±SD

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

การสรุปข้อมูล (Summarization of Data) ใช้ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 (95% confidence interval)

การนำเสนอข้อมูล (Data Presentation)

ใช้ตาราง (Table)

แผนภูมิแท่ง (Bars)

แผนภูมิวงกลม (Pies)

การทดสอบสมมติฐาน (Hypothesis Testing)

1. Describe ผู้เข้าร่วมโครงการตาม inclusion criteria เป็นค่า mean, minimal และ maximal
2. เปรียบเทียบค่า PTH, Serum CTx ระหว่างการให้แคลเซียม หลังอาหาร 2 มื้อ และก่อนนอน ว่าแตกต่างกันหรือไม่
   - ถ้า difference ~ normal distribution ใช้ Paired T-test
   - ถ้า difference abnormal distribution ใช้ Wilcoxon signed Rank test
   - ใช้ MC. Nema X^2
3. ผลข้างเคียงจากการรับประทานยาแคลเซียม จะวิเคราะห์เป็น percentage , frequency

การใช้สถิติทั้งหมด ใช้โปรแกรม SPSS 10.0 for windows

บทที่ 6

ผลการวิจัย

ได้เริ่มทำการรวบรวมผู้ร่วมโครงการตั้งแต่เดือนตุลาคม 2545 ถึงเดือนเมษายน 2546 เป็นระยะเวลา 7 เดือน มีผู้เข้าร่วมโครงการทั้งหมด 38 ราย ในระหว่างการศึกษามีผู้ออกจากโครงการ 2 คน โดยทั้ง 2 คนออกจากการศึกษาขณะอยู่ในช่วงที่สองของการศึกษา ซึ่งเป็นช่วงรับยาหลอกทั้งหลังอาหารและก่อนนอน คนแรกที่ออกจากการศึกษา อยู่ในกลุ่มที่ได้รับยาแคลเซียมในช่วงหลังอาหาร มีอายุ 61 ปี เหตุผลที่ออกเนื่องจากมีโรคหอบหืด และระหว่างร่วมโครงการมีอาการหอบเกิดขึ้น จึงไม่สะดวกในการร่วมโครงการ คนที่สองที่ออกจากการศึกษา อยู่ในกลุ่มที่ได้ยาแคลเซียมในช่วงก่อนนอน มีอายุ 70 ปี เหตุผลที่ออกเนื่องจากมีโรคเส้นเลือดหัวใจขาดเลือด และระหว่างร่วมโครงการมีอาการเจ็บแน่นหน้าอก ไม่สามารถมาตามนัดหมายของโครงการวิจัยได้

ในระหว่างโครงการวิจัยได้วัด compliance ของการรับประทานยา ในแต่ละช่วงของการศึกษา ซึ่งมีทั้งหมดสามช่วงของการศึกษา คือช่วงที่หนึ่ง ผู้ร่วมโครงการทั้งหมด 36 ราย จะได้รับการสุ่มให้รับประทานแคลเซี่ยมเสริมหลังอาหาร สองมื้อ หรือก่อนนอน เป็นระยะเวลาสองสัปดาห์ หลังจากนั้นอีกสองสัปดาห์ในช่วงที่สองเป็นระยะ wash out และในช่วงที่สามของการศึกษา ผู้ร่วมโครงการแต่ละคนจะ cross over เพื่อรับยา โดยถ้าในช่วงแรกได้รับแคลเซี่ยมเวลาก่อนนอน ในช่วงสุดท้ายจะสลับเป็นเวลาหลังอาหารแทน และถ้าในช่วงแรกได้รับแคลเซี่ยมเวลาหลังอาหาร ในช่วงสุดท้ายจะสลับเป็นเวลาก่อนนอนเช่นกัน ในการศึกษานี้ถ้าผู้ร่วมโครงการรายใดที่มี poor compliance ซึ่งเมื่อนับยาแล้วไม่ได้รับประทานยาเกิน 4 เม็ดจะตัดออกจากโครงการ เนื่องจากมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแคลเซี่ยมต่อ PTH และ S-CTx ที่จะทำการวัด ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ไม่พบว่ามีผู้ร่วมโครงการรายใดที่มี poor compliance

ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการวางแผนป้องกัน เช่น การพิมพ์คำเตือนบนซองยาทุกซอง การพิมพ์เน้นช่วงเวลาของการรับประทานยา และการใช้ตัวอักษรขนาดใหญ่ เนื่องจากผู้ร่วมโครงการเป็นผู้สูงอายุ และมีการติดตามอย่างใกล้ชิด ด้วยการติดต่อทางโทรศัพท์กับผู้ร่วมโครงการหรือญาติที่ดูแลผู้ร่วมโครงการให้ปฏิบัติตามกรอบของโครงการวิจัย นอกจากนั้นผู้ทำวิจัยยังจัดทำสมุดประจำตัวของผู้ร่วมโครงการทุกรายซึ่งมีรายละเอียดในการปฏิบัติตน ในระหว่างร่วมโครงการ โดยให้นำกลับไปบ้านเพื่อใช้เป็นคู่มือในการบันทึกการรับประทานอาหาร บันทึกความผิดปกติที่ผู้ร่วมโครงการสังเกต หรือรู้สึกได้ในระหว่างร่วมโครงการ และมีตารางการนัดพบ กับผู้ทำวิจัยในแต่ละช่วงเวลา

การวิจัยครั้งนี้ยังต้องการเปรียบเทียบ compliance ระหว่างการรับประทานแคลเซี่ยมเสริมหลังอาหาร สองมื้อ กับก่อนนอน โดยนับเม็ดยาแต่ละกลุ่ม พบว่าในกลุ่มหลังอาหารทั้งหมด 36 ราย มียาเหลือจำนวน 40 เม็ด ส่วนกลุ่มก่อนนอนทั้งหมด 36 ราย มียาเหลือจำนวน 35 เม็ด

จากข้อมูลดิบ (ไม่ได้แสดงไว้) พบว่า จำนวนเม็ดยาแคลเซี่ยมที่เหลือในแต่ละช่วงการศึกษาระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาแคลเซี่ยมหลังอาหาร 2 มื้อ ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับยาแคลเซี่ยมก่อนนอน นอกจากนี้ยังพบว่า การลืมรับประทานยาสัมพันธ์กับบุคคลมากกว่าช่วงมื้อหลังอาหารหรือก่อนนอน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ร่วมการศึกษามีอายุเฉลี่ย 63.84±3.62 ปี โดยอายุน้อยที่สุดคือ 60 ปี และอายุมากที่สุดคือ 70 ปี ระยะเวลาที่หมดประจำเดือนโดยเฉลี่ย 17±4.1 ปี โดยระยะเวลาน้อยที่สุดคือ 9 ปี และระยะเวลามากที่สุดคือ 25 ปี ความหนาแน่นของกระดูกบริเวณสะโพก มีค่าเฉลี่ย –2.87±0.75 กรัม/ ซม.^{2} โดยค่าต่ำสุด – 4.80 กรัม/ ซม.^{2} และค่าสูงสุด –1.40 กรัม/ ซม.^{2} ความหนาแน่นของกระดูกบริเวณ
สันหลัง ระดับที่ 1 ถึง 4 มีค่าเฉลี่ย –2.78±0.86 กรัม/ ซม.^{2} โดยค่าต่ำสุด - 4.70 กรัม/ ซม.^{2} และค่าสูงสุด –1.30 กรัม/ ซม.^{2} การตรวจผลทางห้องปฏิบัติการพื้นฐาน เช่น ระดับแคลเซียม , ฟอสฟอรัส และครีตินิน อยู่ในเกณฑ์ปกติ ดังแสดงในตารางที่ 9 (ได้แสดงรายละเอียดพื้นฐานของผู้ร่วมโครงการวิจัยทั้งหมด 38 ราย)

ตารางที่ 9 แสดงลักษณะพื้นฐานของผู้ร่วมโครงการวิจัย จำนวน 38 ราย

ลักษณะพื้นฐานของผู้ร่วมโครงการ	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าพิสัย
อายุ (ปี)	63.84 ± 3.62	60-70
ระยะเวลาที่หมดประจำเดือน (ปี)	17 ± 4.1	9 - 25
ความสูง (เมตร)	1.65 ± 0.08	1.54 - 1.82
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	58.89 ± 8.48	47.0 - 75.0
ค่ามวลดัชนีน้ำหนัก (กก./เมตร^2)	21.55 ± 2.32	15.45 - 26.45
ความหนาแน่นของกระดูก (กรัม/ซม.^{2})		
สะโพก	-2.87 ± 0.75	(-4.80) - (-1.40)
กระดูกสันหลัง (ระดับที่ 1-4)	-2.78 ± 0.86	(-4.70) - (-1.30)
ผลทางชีวเคมี		
ระดับแคลเซียม (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	8.74 ± 0.40	8.10 - 9.60
ระดับฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	3.46 ± 0.44	2.80 - 4.20
ระดับครีตินิน (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	0.56 ± 0.31	0.10 - 1.30

ผลการศึกษานี้ต้องการเปรียบเทียบ ผลของการให้แคลเซียม หลังอาหาร 2 มื้อ เช้า (8.00 น.) และเย็น (18.00 น.) กับก่อนนอน (23.00 น.) โดยวัดผลของการลดลงของระดับ parathyroid hormone (PTH) และ Serum C-terminal telopeptide Crosslinks (S-CTx) ผลการเปรียบเทียบของการเปลี่ยนแปลงระดับ PTH ของทั้ง 2 กลุ่ม จะเปรียบเทียบที่เวลาต่างๆ 8 ค่า คือ 24.00 น., 2.00 น., 4.00 น., 6.00 น., 8.00 น., 9.00 น., 17.00 น. และ 19.00 น.. ส่วนผลการเปรียบเทียบของการเปลี่ยนแปลงระดับ S-CTx ของทั้ง 2 กลุ่ม จะเปรียบเทียบที่เวลาเดียวคือ 8.00 am. (หลังงดอาหารข้ามคืน 8 ชั่วโมง) การเปรียบเทียบระหว่าง กลุ่มที่ได้รับแคลเซียมหลังอาหาร และก่อนนอน โดยใช้ Paired t-test และแสดงค่าความสำคัญทางสถิติด้วย 95% CI ที่ $P < 0.05$ ของการลดลงของระดับ PTH และ S-CTx ที่เวลาต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 10 (ได้แสดงข้อมูลของผู้ร่วมโครงการทั้งหมดโดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัย)

ตารางที่ 10 แสดงค่า PTH และ CTx ในช่วงเวลาต่างๆ โดยแยกเป็น 2 กลุ่ม (กลุ่มได้รับแคลเซียมหลังอาหารและก่อนนอน)

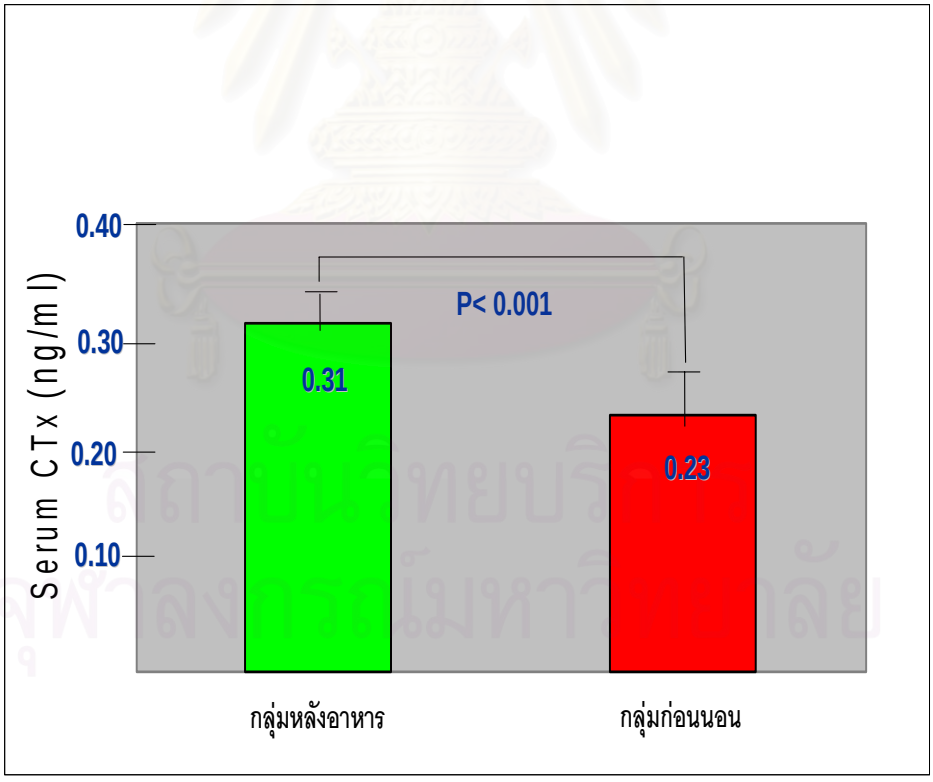
เวลาต่าง ๆ	การให้แคลเซียมเสริม				Paired t-test (1)		
	กลุ่มหลังอาหาร 2 มื้อ		กลุ่มก่อนนอน		95% CI		P value
PTH levels	Mean ± SE	Range	Mean ± SE	Range	Lower	Upper	
24.00 น.	29.99 ± 2.39	12.36 - 77.03	21.12 ± 1.99	6.69 - 70.50	5.99	11.75	p < 0.001
2.00 น.	30.77 ± 2.96	12.55 - 97.24	23.68 ± 2.21	6.01 - 81.96	3.05	11.14	p = 0.001
4.00 น.	33.38 ± 3.07	13.15 - 108.30	25.64 ± 2.49	8.62 - 89.68	2.97	12.52	p = 0.002
6.00 น.	33.57 ± 2.79	14.67 - 95.67	30.26 ± 2.82	10.63 - 105.50	-0.73	7.37	p = 0.106
8.00 น.	33.29 ± 2.52	15.05 - 93.98	28.60 ± 2.46	12.61 - 82.85	1.01	8.36	p = 0.014
9.00 น.	34.73 ± 2.81	14.86 - 82.80	30.88 ± 2.39	11.93 - 82.73	-0.11	7.81	p = 0.056
17.00 น.	33.93 ± 2.97	13.35 - 100.80	35.83 ± 2.81	15.76 - 85.63	-5.64	1.84	p = 0.309
19.00 น.	37.46 ± 3.37	14.94 - 100.50	39.71 ± 3.31	12.48 - 104.60	-6.38	1.87	p = 0.275
CTx level							
8.00 น.	0.313 ± 0.027	0.046 – 0.816	0.227 ± 0.025	0.010 - 0.617	0.06	0.11	p < 0.001

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าพิสัย

(1) เปรียบเทียบค่า PTH / CTx ระหว่างกลุ่มหลังอาหารและกลุ่มก่อนนอน

ผลของการเปลี่ยนแปลงของระดับ S-CTx โดยเปรียบเทียบระหว่าง กลุ่มที่ได้รับแคลเซียมหลังอาหาร และกลุ่มที่ได้รับแคลเซียมก่อนนอน โดยวัดระดับของ S-CTx ที่เวลา 8.00 น. (หลังงดอาหารข้ามคืน 8 ชั่วโมง) พบว่ากลุ่มที่ได้รับแคลเซียมก่อนนอน มีค่าเฉลี่ยของ S-CTx (จำนวน 36 ราย) น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับแคลเซียมหลังอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.001$ ดังแสดงในแผนภูมิแท่งที่ 1 (เป็นกราฟแท่งแสดงระดับ S-CTx โดยเฉลี่ย 36 ราย โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับแคลเซียมก่อนนอนและหลังอาหาร ที่เวลา 8.00 น.)

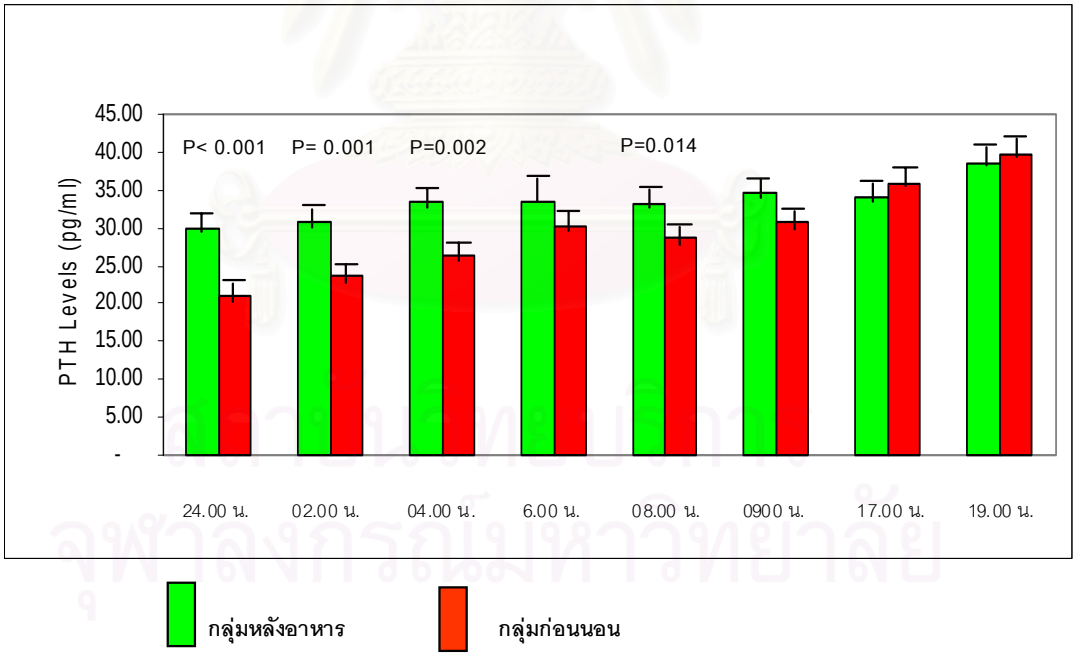
แผนภูมิแท่งที่ 1 : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับ Serum CTx ระหว่างกลุ่มที่ได้รับแคลเซียมหลังอาหารและก่อนอาหาร



* เก็บเลือดเวลา 8.00 น. (เช้า) หลังงดอาหารข้ามคืน

ผลของการเปลี่ยนแปลงของระดับ PTH โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับแคลเซียมหลังอาหาร และกลุ่มที่ได้รับแคลเซียมก่อนนอน โดยวัดระดับของ PTH ที่เวลา 12.00 am , 02.00 am ,4.00 am , 06.00 am , 08.00 am , 09.00 am , 05.00 pm และ 07.00 pm พบว่ากลุ่มที่ได้รับแคลเซียมก่อนนอนมีค่าเฉลี่ยของ PTH (จำนวน 36 ราย) น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับแคลเซียมหลังอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.001$, $P = 0.001$ และ $P = 0.002$ ที่เวลา 12.00 am , 02.00 am และ 04.00 am ตามลำดับ ดังแสดงในแผนภูมิแท่งที่ 2 (เป็นกราฟแท่งแสดงระดับ PTH โดยเฉลี่ย 36 ราย โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับแคลเซียมก่อนนอนและหลังอาหาร ที่เวลา 12.00 am , 02.00 am , 04.00 am , 06.00 am , 08.00 am , 09.00 am , 05.00 pm และ 07.00 pm. ตามลำดับ)

แผนภูมิแท่งที่ 2 : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับ PTH ระหว่างกลุ่มที่ได้รับแคลเซียมหลังอาหาร และก่อนนอน



การศึกษาวิจัยนี้ มีผู้ร่วมโครงการทั้งหมด 36 คน โดยจะ randomized double placebo รับแคลเซียมหลังอาหาร 2 มื้อ หรือ ก่อนนอน ในช่วงแรกของการศึกษา และจะ crossover ในคนเดียวกันในช่วงที่สามของการศึกษา โดยถ้าได้รับแคลเซียมหลังอาหารในช่วงแรก จะได้รับแคลเซียมก่อนนอนในช่วงที่สาม และตรงข้ามถ้าได้รับแคลเซียมก่อนนอนในช่วงแรก จะได้รับแคลเซียมหลังอาหาร ในช่วงที่สาม จากผลการวัดเหตุการณ์ข้างเคียงที่เกิดขึ้น ในช่วงรับประทานแคลเซียมหลังอาหารและก่อนนอน พบว่าในช่วงรับประทานแคลเซียมหลังอาหาร 2 มื้อ มีเหตุการณ์ข้างเคียงเกิดขึ้น 3 ราย คิดเป็น 7.5% โดยมี 2 เหตุการณ์ คิดเป็น 5% เกิดขึ้นจากการรับประทานแคลเซียมหลังอาหาร 2 มื้อ (อาการคลื่นไส้อาเจียน 1 ราย และอาหารท้องผูก 1 ราย ส่วนอีก 1 เหตุการณ์สุดท้ายคิดเป็น 2.5% เป็นเหตุการณ์ที่ต้องออกจากโครงการ เนื่องจาก โรคประจำตัวคือโรคหอบหืด ซึ่งมีอาการหอบเกิดขึ้นระหว่างร่วมโครงการ จึงไม่สะดวกที่จะร่วมโครงการวิจัยต่อ ส่วนเหตุการณ์ข้างเคียงในช่วงได้รับประทานแคลเซียมก่อนนอน มี 2 เหตุการณ์ คิดเป็น 5% โดยเหตุการณ์แรกคิดเป็น 2.5% เกิดจากการรับประทานแคลเซียมก่อนนอน (อาการคลื่นไส้อาเจียน) ส่วนเหตุการณ์ที่สองคิดเป็น 2.5% เป็นเหตุการณ์ที่ต้องออกจากโครงการ เนื่องจากโรคประจำตัว คือ โรคเส้นเลือดหัวใจขาดเลือด ซึ่งมีอาการเจ็บแน่นหน้าอกเกิดขึ้นระหว่างร่วมโครงการ ทำให้ไม่สามารถมาตามนัด และปฏิบัติตัวระหว่างร่วมโครงการได้ ตารางที่ 11 ได้แสดงเหตุการณ์ข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ทั้งหมดของผู้ร่วมโครงการ 38 คน โดยแยกเหตุการณ์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในช่วงรับประทานแคลเซียมหลังอาหาร 2 มื้อ และก่อนนอน

ตารางที่ 11 แสดงค่าเหตุการณ์ข้างเคียงที่เกิดขึ้น

	กลุ่มหลังอาหาร n = 38	**กลุ่มก่อนนอน** n = 38
เหตุการณ์ข้างเคียงทั้งหมด	3 (7.5%)	2(5%)
ผลข้างเคียงจากยา	2 (5%)	1 (2.5%)
ผลข้างเคียงรุนแรง	0	0
ผลข้างเคียงรุนแรงจากยา	0	0
เหตุการณ์ข้างเคียงที่ออกจากโครงการ	1 (2.5%)	1 (2.5%)
ผลข้างเคียงจากยาที่ออกจากโครงการ	0	0
ผลข้างเคียงรุนแรงที่ออกจากโครงการ	0	0
ผลข้างเคียงรุนแรงจากยาที่ออกจากโครงการ	0	0

ผลข้างเคียงของการรับประทานแคลเซี่ยมเสริมของผู้ร่วมโครงการทั้งหมด 38 ราย โดยจำแนกตามอาการต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงผลข้างเคียงของการรับประทานแคลเซี่ยมเสริม โดยจำแนกตามอาการ

	กลุ่มหลังอาหาร n = 38	**กลุ่มก่อนนอน** n = 38
คลื่นไส้อาเจียน	1 (2.5%)	1(2.5%)
ท้องผูก	1 (2.5%)	0
ท้องเสีย	0	0
แน่นท้อง	0	0
ปวดท้อง	0	0
นิ่ว	0	0
อื่น ๆ	0	0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 7

อภิปรายผลการวิจัย

มีหลักฐานจากหลายการศึกษา[98-100] พบว่าการให้แคลเซียมรับประทานขนาดมากกว่า 1 กรัม สามารถลดระดับ PTH และเพิ่มระดับแคลเซียมในเลือดรวมทั้งเพิ่มระดับแคลเซียมในปัสสาวะ อย่างไรก็ตาม การดูดซึมแคลเซียมที่ดีต้องอาศัยภาวะกรดจากกระเพาะอาหาร ดังนั้นการได้รับแคลเซียม หลังมื้ออาหารปริมาณน้อยๆ (< 500 mg)หลายครั้งในระหว่างวัน น่าจะมีผลต่อการลดระดับ PTH ระหว่างวันได้ดีกว่า Liu CC และคณะ[101] พบว่าการให้แคลเซียมขนาด 200 mg สามารถลดระดับ PTH ได้ นอกจากนี้ระดับ PTH ยังมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างวัน โดยขึ้นกับระดับแคลเซียมในเลือดและมื้ออาหารด้วย และการเปลี่ยนแปลงระดับ PTH เอง มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกระดูก ดังนั้นการให้แคลเซียมปริมาณน้อยๆหลายครั้งหลังอาหาร น่าจะควบคุมระดับ PTH ระหว่างวันให้คงที่[101] หรือการได้รับแคลเซียมปริมาณมากครั้งเดียว จะลดระดับ PTH โดยรวมได้ดีกว่า[98-100] จากหลักฐานดังกล่าวข้างต้นยังไม่มีข้อสรุปชัดเจนในการเปรียบเทียบผลของการลดระดับของ PTH โดยรวม ระหว่างการให้รับประทานแคลเซี่ยมเสริมหลังอาหาร ปริมาณน้อยๆหลายๆครั้งต่อวัน เพื่อให้เกิดการดูดซึมแคลเซี่ยมและมีระดับของแคลเซี่ยมในเลือดที่สูงตลอดเวลา เพื่อลดระดับของ PTH ในระหว่างวันให้คงที่ตลอดเวลา โดยหวังผลการลดลงของระดับ PTH โดยรวมระหว่างวันได้ดี ซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ bone markersและกระดูกด้วยเช่นกัน

Herfarth K และคณะ[102] พบว่าระดับ PTH มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างวัน และมักมีระดับสูงในช่วงกลางคืน นอกจากนั้น Hassager C และคณะ[103] พบว่าระดับของ bone resorption markers (CTx และ NTx) มีระดับที่สูงขึ้นในช่วงกลางคืนด้วย Heany RP[94] พบว่าหญิงวัยหมดประจำเดือนมีระดับ PTH ช่วงกลางคืนที่สูงกว่าหญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน จากหลักฐานดังกล่าวข้างต้นน่าจะสนับสนุนว่า การให้แคลเซียมในปริมาณที่สูงครั้งเดียวในช่วงกลางคืน น่าจะมีผลต่อการลดระดับของ PTH ที่สูงในช่วงกลางคืนและมีผลควบคุม PTH โดยรวมระหว่างวันด้วยเช่นกัน ซึ่งจะมีผลควบคุมการเปลี่ยนแปลงของ bone markersและกระดูกด้วยเช่นกัน ดังนั้นการเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสม ในการให้แคลเซี่ยมโดยเฉพาะในหญิงวัยหมดประจำเดือน ยังต้องการข้อสรุปทางการวิจัยเพิ่มเติม ในการเปรียบเทียบผลของการให้แคลเซี่ยมเสริมปริมาณสูงครั้งเดียวก่อนนอน เพื่อลดระดับ PTH ที่สูงในช่วงกลางคืนกับการให้แคลเซี่ยมเสริมปริมาณน้อยๆ หลังอาหาร เพื่อลดระดับ PTH ระหว่างวัน โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone markers และมวลรวมของกระดูก ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ต้องการเปรียบเทียบผลของการให้แคลเซี่ยมเสริม ระหว่างการให้แคลเซี่ยมหลังอาหารสองมื้อ กับการให้

แคลเซี่ยมก่อนนอน โดยวัดผลการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption markers (S-CTx) และ PTH ในหญิงวัยหมดประจำเดือนช่วงอายุ 60-70 ปี ที่มีกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน การศึกษานี้วัดผลการเปลี่ยนแปลงของ S-CTx และ PTH แล้วให้แคลเซี่ยมเสริมในช่วงเวลาสั้นๆ สองสัปดาห์ โดยออกแบบการศึกษาเปรียบเทียบแบบ double placebo-controlled crossover เพื่อตอบคำถามการวิจัยดังกล่าวข้างต้น และเป็นแนวทางในการเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสม ในการให้รับประทานแคลเซี่ยม ในประชากรกลุ่มนี้ โดยเกิดประโยชน์สูงสุด ในการป้องกัน การลดลงของมวลรวมกระดูก และภาวะกระดูกพรุน

การศึกษาของ Herfarth K และคณะ[104] เปรียบเทียบการให้แคลเซียมขนาดที่สูง ระหว่าง 1,000 mg และ 2,000 mg พบว่าสามารถลดระดับ PTH ไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องจากผลอิ่มตัวต่อการดูดซึมของแคลเซียม และสมดุลของระดับแคลเซียมในเลือด[105] ดังนั้นการได้รับแคลเซี่ยมอย่างน้อย 1,000 mg น่าจะเพียงพอต่อการลดระดับของ PTH ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกให้แคลเซี่ยมในปริมาณ 1,670 mg เพื่อให้มีระดับของแคลเซี่ยมในเลือดที่สูง เพียงพอต่อการลดระดับของ PTH เมื่อระดับของแคลเซี่ยมในเลือดอยู่ในภาวะสมดุล

การวัดระดับของแคลเซียมในปัสสาวะที่ขับออกจากไต ไม่ได้เท่ากับปริมาณของแคลเซียมที่ดูดซึมจากลำไส้โดยตรง เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงตามระดับของแคลเซียมในเลือด ซึ่งได้จากอาหารและการดูดซึมทางลำไส้ รวมทั้งผลกระทบจากการทำงานของไต และปริมาณปัสสาวะที่เก็บว่าครบหรือไม่ อย่างไรก็ตามในภาวะสมดุลของแคลเซียมในเลือด การวัดระดับแคลเซียมในปัสสาวะ สามารถเป็นตัวแทนในการวัดผลการดูดซึมของแคลเซี่ยม จากลำไส้ได้เช่นกัน [106] การศึกษาของ Harvey JA และคณะ [107] ได้แสดงว่าระดับแคลเซียมที่ถูกขับทางปัสสาวะ มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณของแคลเซียมที่ถูกดูดซึมจากลำไส้ จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นพบว่า ระดับของแคลเซี่ยมในเลือด เปลี่ยนแปลงตามชนิดของอาหารที่รับประทาน การดูดซึมของลำไส้ และการทำงานของไต ซึ่งมีความแตกต่างระหว่างบุคคล และเชื้อชาติต่างๆ ดังนั้นผลการศึกษาจากหลายๆการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่ศึกษาในชาวตะวันตก ถึงผลการเปลี่ยนแปลงของ bone markers และความหนาแน่นของกระดูก หลังให้รับประทานแคลเซี่ยมเสริม อาจจะนำมาสรุปใช้ในประชากรไทยไม่ได้ เนื่องจากระดับของแคลเซี่ยมในเลือดมีผลจากระดับแคลเซี่ยมในอาหารที่รับประทานประจำวัน การดูดซึมของลำไส้เล็ก และการทำงานของไต นอกจากนี้ในแต่ละเชื้อชาติลักษณะอาหารประจำวันมีความแตกต่างกันมาก โดยอาหารของชาวตะวันตกจะมีลักษณะมีเส้นใยอาหารต่ำ ซึ่งต่างจากชาวเอเชีย โดยเฉพาะชาวไทย ลักษณะอาหารที่รับประทานจะมีเส้นใยอาหารสูง โดยพบว่าอาหารที่มีเส้นใยอาหารสูง จะลดการดูดซึมของแคลเซี่ยมจากลำไส้ ซึ่งมีผลต่อระดับแคลเซี่ยมในเลือดเช่นกัน การศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยเลือกศึกษาในกลุ่มประชากรไทย เป็นหญิงวัยหมดประจำเดือน ช่วงอายุ 60-70 ปี ที่มีภาวะกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน โดยศึกษาเปรียบเทียบผลการลดลงของระดับ PTH และ ระดับ S-CTx ระหว่างการให้แคลเซี่ยมหลังอาหารสองมื้อ และก่อนนอน ซึ่งยังไม่มีการศึกษาแบบนี้ใน

ประชากรไทยกลุ่มนี้ นอกจากนั้นการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยยังเลือกวิธีวิจัยแบบ crossover ในคนเดียวกัน เพื่อตัดผลกระทบระหว่างบุคคล รวมทั้ง confound factors ต่างๆ ที่ควบคุมได้ยาก ระหว่างบุคคล เช่น ชนิดของอาหาร การดูดซึมของลำไส้ และปัจจัยอื่นๆ เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ถูกต้องยิ่งขึ้น

จากหลักฐานของ Heany RP.[21] พบว่าหญิงวัยหมดประจำเดือน มีระดับ PTH ช่วงกลางคืนสูงกว่า หญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน ดังนั้นการให้แคลเซี่ยมขนาดที่สูงก่อนนอน น่าจะลดระดับ PTH ที่สูงในช่วงกลางคืน และอาจมีผลควบคุมระดับ PTH โดยรวมได้ด้วย อย่างไรก็ตามการดูดซึมแคลเซี่ยมได้ดี มักอาศัยภาวะกรดจากกระเพาะอาหาร ดังนั้นการให้แคลเซี่ยมหลังอาหาร จะช่วยเพิ่มการดูดซึมของแคลเซี่ยม และลดระดับ PTH ระหว่างวันได้ นอกจากนั้นในคนสูงอายุ พบว่าภาวะกรดของกระเพาะอาหารลดลง เมื่อเทียบกับ วัยหนุ่มสาว ดังนั้นการให้รับประทานแคลเซี่ยมในคนสูงอายุ โดยเฉพาะหญิงวัยหมดประจำเดือน เพื่อป้องกันภาวะกระดูกพรุน ซึ่งพบว่ามีระดับ PTH ที่สูงในช่วงกลางคืนนั้น การให้รับประทานแคลเซี่ยมในช่วงก่อนนอน เพื่อหวังผลการลดระดับ PTH ที่สูงในช่วงกลางคืน แต่อาจทำให้ระดับแคลเซี่ยมไม่เพียงพอ ถ้าให้ขนาดแคลเซี่ยมที่ต่ำ เนื่องจากขาดภาวะกรดจากกระเพาะอาหาร ซึ่งมีส่วนช่วยการดูดซึมแคลเซี่ยม หรือมีประสิทธิภาพด้อยกว่าเมื่อเทียบกับวัยหนุ่มสาว นอกจากนี้มีการศึกษาหลายๆ การศึกษา [95-96] ที่สนับสนุนการให้แคลเซียมช่วงกลางคืน โดยพบว่าการให้แคลเซี่ยมช่วงกลางคืนสามารถลดระดับของ PTH และ bone resorption markers ได้ ซึ่งการศึกษาเหล่านี้ศึกษาในคนสูงอายุ พบว่าถ้าให้แคลเซี่ยม ปริมาณสูงก่อนนอน ซึ่งเป็นช่วงที่ภาวะกรดจากกระเพาะอาหารน้อยนั้น สามารถลดระดับ PTH และ bone resorption makers ได้ รวมทั้งป้องกันการลดลงของมวลรวมกระดูก ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยคาดว่า การให้แคลเซี่ยมขนาดสูงก่อนนอน น่าจะลดระดับ PTH ที่สูงในช่วงกลางคืน ของคนกลุ่มนี้ รวมทั้งอาจมีผลควบคุม PTH โดยรวมได้ดีกว่า การให้แคลเซี่ยมหลังอาหาร ซึ่งการวิจัยครั้งนี้จะเปรียบเทียบระหว่างการให้รับประทานแคลเซี่ยมก่อนนอน กับ หลังอาหารสองมื้อ โดยวัดผลการลดลงของ bone resorption markers (S-CTx) และ PTH เพื่อเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสมในการรับประทานแคลเซี่ยมในคนกลุ่มนี้ อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาโดย Meria UM Karkkainen และคณะ [97] ได้ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของ PTH และ bone makers ทั้ง bone formation และ bone resorption markers หลังการให้แคลเซียม โดยเปรียบเทียบการให้แคลเซียมในช่วงเวลา 8.00 น. และก่อนนอนเวลา 23.00 น. พบว่าไม่มีความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงระดับของ PTH และ bone marker อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าการศึกษานี้จะให้ผลขัดแย้งกับสมมติฐานที่ผู้วิจัยตั้งไว้ แต่ผู้วิจัยคาดว่าผลในทางลบนั้น อาจเนื่องมาจากงานวิจัยนี้ศึกษาในหญิงวัยก่อนหมดประจำเดือนและอายุน้อย นอกจากนั้นยังให้รับประทานแคลเซี่ยมเพียงครั้งเดียว ซึ่งระยะเวลาและขนาดของแคลเซี่ยมอาจไม่เพียงพอ ต่อการการเปลี่ยนแปลงของระดับ PTH และ bone resorption markers ดังนั้นการศึกษาของผู้วิจัยครั้งนี้ จึงออกแบบให้รับประทานแคลเซี่ยมเป็นเวลาสองสัปดาห์ และมีขนาดยาปริมาณสูง 1,670 mg เพื่อให้ระยะเวลา และระดับ

แคลเซี่ยมในเลือดสูงพอ หลังเข้าสู่ภาวะสมดุลของแคลเซี่ยม ซึ่งน่าจะเพียงพอในการวัดผลการเปลี่ยนแปลงของระดับ PTH และ bone resorption markers ตามหลักฐานดังกล่าวข้างต้น

การเปลี่ยนแปลงของ bone markers โดยเฉพาะ bone resorption markers พบว่ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงของระดับแคลเซี่ยมและ PTH ในเลือด โดยพบว่าระดับแคลเซี่ยมที่สูง จะลดระดับของ PTH และ bone resorption markers ซึ่งจะมีผลต่อการลดลงของความหนาแน่นของกระดูก (bone mineral density, BMD) และลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะกระดูกพรุน นอกจากนั้นการลดลงของ BMD กระดูก ยังพยากรณ์ถึงอัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูกด้วยเช่นกัน ดังหลักฐานที่จะกล่าวต่อไปนี้ ดังนั้นในทางการวิจัย การวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone markers หลังให้แคลเซี่ยม จะใช้เป็นแนวทางในการวัดการเปลี่ยนแปลงของ BMD กระดูกและอัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูก เนื่องจากใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่า ส่วนการวัดผลการเปลี่ยนแปลงของ BMD กระดูกนั้น ต้องใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 1-2 ปี เนื่องจากอัตราการลดลงของ BMD กระดูกต่อปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือน 15 ปีแรก ประมาณ 1.5-2.0% ต่อปี และความผิดพลาดของเครื่องมือ Dexa-scan ±1.0 ถึง 2.0% ต่อปี ดังนั้นในทางวิจัยจึงนิยมใช้ bone markers วัดการเปลี่ยนแปลงหลังให้แคลเซี่ยม อย่างไรก็ตามควรจะได้มีการศึกษาต่อไปอีกระยะยาว เพื่อวัดผลการเปลี่ยนแปลงของ BMD กระดูก และอัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูก เพื่อสรุปใช้ในทางปฏิบัติด้วยเช่นกัน

การศึกษาที่เป็น prospective study หลายๆการศึกษา [108,109] พบว่า bone resorption marker มีความสัมพันธ์โดยตรง กับการเปลี่ยนแปลงของ BMD และอัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูกสะโพก ในหญิงวัยหมดประจำเดือน จากการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ bone resorption markers คือ U-CTx, U-fd-Pyr และ S-CTx พบว่าระดับของ bone resorption markers เหล่านี้ที่สูงขึ้น สัมพันธ์กับการลดลงของ BMD ของกระดูกสะโพก และมีอัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูกสะโพก มากกว่าคนปกติทั่วไป 4-5 เท่า นอกจากนี้ the OFELY study ของ Gernero P และคณะ[109] พบว่าระดับของ S-CTx ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการลดลงของ BMD กระดูก และการพยากรณ์ถึงอัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูกในระยะเวลา 5 ปีที่เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับระดับของ S-CTx ที่ต่ำกว่า

การใช้ bone markers (bone resorption และ bone formation) ในเวชปฏิบัติทางคลินิก เพื่อวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone remodeling นั้น ยังไม่เป็นที่นิยม เนื่องจาก bone markers เหล่านี้ ยังไม่มีค่าอ้างอิงมาตรฐานชัดเจนและเปลี่ยนแปลงได้ในหลายๆภาวะ[110-118] เช่น ช่วงอายุต่างๆ, ภาวะการตั้งครรภ์ ภาวะการหมดประจำเดือน, ช่วงฤดูต่างๆ, ภาวะที่กระทบต่อ clearance ของ markers เหล่านี้จากการทำงานของตับและไต รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงต่อพยาธิสภาพต่างๆของกระดูก อย่างไรก็ตามการใช้ bone markers เหล่านี้ มีความสำคัญในทางการวิจัย โดยเฉพาะการวัดผลการเปลี่ยนแปลงหลังการ

ได้รับยา เนื่องจากสามารถวัดผลการเปลี่ยนแปลงในระยะเวลาสั้นๆได้ เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกและปรับเปลี่ยนผลของการรักษาด้วยยาชนิดต่างๆในทางวิจัย โดยเฉพาะ bone resorption markers สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงได้ตั้งแต่ 3-6 เดือน [47] นอกจากนั้น Zinkan V และคณะ [93] พบว่าการให้แคลเซี่ยมขนาด 1,000 mg ในหญิงวัยหมดประจำเดือน สามารถลดระดับของ bone resorption markers (S-CTx) และ PTH ได้ที่ 5 ชั่วโมงหลังให้รับประทานแคลเซี่ยม ดังนั้นในการศึกษาของผู้วิจัยครั้งนี้ต้องการวัดการเปลี่ยนแปลง ของ bone resorption markers (S-CTx) หลังการให้รับประทานแคลเซี่ยมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ น่าจะเพียงพอต่อการวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone marker นี้ หลังภาวะสมดุลของแคลเซี่ยมในร่างกาย นอกจากนี้ยังมีหลักฐานจากหลายๆ การศึกษา [119-120] พบว่าการให้แคลเซี่ยมเป็นเวลา 1 ปี ในหญิงวัยหมดประจำเดือน มีความสัมพันธ์ต่อการลดลงของระดับ bone resorption markers (NTx, Dpd) ในระยะเวลา 2-12 สัปดาห์ และสามารถพยากรณ์อัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูกสันหลังที่เวลา 1 ปีได้เช่นกัน

การเลือกใช้ bone markers ชนิดใดในทางการวิจัยนับว่ามีความสำคัญเช่นกัน เนื่องจาก bone markers มีความไวและความจำเพาะที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ระดับของ bone markers ระหว่างวันยังเปลี่ยนแปลงได้จากหลายปัจจัย เช่น การเปลี่ยนแปลงของระดับแคลเซี่ยมในเลือด การรับประทานอาหารและการทำงานของไต ในทางปฏิบัติการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption markers หลังการให้แคลเซี่ยมสามารถวัดการเปลี่ยนแปลงได้เร็วกว่า bone formation markers จากหลักฐานดังกล่าวข้างต้นที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้การเลือก bone resorption markers ชนิดใดนั้น ยังมีความแตกต่างของความไวและความจำเพาะ ของ bone markers แต่ละชนิดด้วย

นอกจากนี้ Chapurlat RD และคณะ[121] พบว่า serum CTx (S-CTx) มีความไว และความจำเพาะที่ดีกว่า Urine CTx โดยการเปรียบเทียบ bone markers ทั้งสองชนิดนี้หลังการให้รับประทานแคลเซียม ในหญิงวัยหมดประจำเดือน จากการศึกษานี้พบว่า S-CTx มีความไว 86.9% และความจำเพาะ 88.6% , positive predictive value 95.6% และ negative predictive value 70.5% ตามลำดับ จากหลักฐานดังกล่าวข้างต้นทำให้ผู้วิจัยเลือก S-CTx หรือ serum C-terminal telopeptide crosslinks โดยทำการวัดระดับ S-CTx นี้ตอนเวลา 8.00 น. หลังงดอาหารข้ามคืน 8 ชั่วโมง ซึ่งพบว่ามีความไวและความจำเพาะสูง ในการวัดผลการเปลี่ยนแปลงของกระดูก หลังการให้รับประทานแคลเซี่ยมแทนการวัด BMD ของกระดูก เนื่องจากใช้เวลาสั้นกว่าในการวัดผลการเปลี่ยนแปลง ส่วนผลการเปลี่ยนแปลง ระยะยาวจากการเปลี่ยนแปลง BMD หรืออัตราเสี่ยงต่อการหักของกระดูก ต้องใช้เวลาศึกษาที่มากกว่านี้อย่างน้อย 1-2 ปี ซึ่งผู้วิจัยเองมีข้อจำกัดในเรื่องระยะเวลาของการทำวิจัย ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption marker (S-CTx) น่าจะเป็นแนวทางเบื้องต้นต่อการสรุปผลของการให้แคลเซี่ยมเสริมต่อการเปลี่ยนแปลงของกระดูกที่เกิดขึ้น

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ ที่จะศึกษาเปรียบเทียบผล ของการให้แคลเซียมเสริมระหว่างก่อนนอน และหลังอาหารสองมื้อ ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ bone resorption marker (S-CTx)และ PTH เพื่อพิจารณาเป็นแนวทางการให้แคลเซียมเสริม ในเวลาที่เหมาะสม และเกิดประโยชน์สูงสุดในประชากรไทย กลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือนช่วงอายุ 60-70 ปี ที่มีกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้ มีผู้ร่วมโครงการทั้งหมด 38 คน ในระหว่างการศึกษามีออกจากโครงการ 2 คน เนื่องจากโรคประจำตัวทำให้ไม่สะดวกที่จะปฏิบัติตัวและมาตามนัดหมายของโครงการได้ (สาเหตุของการออกจากโครงการ ไม่ได้เกี่ยวกับผลข้างเคียงของการรับประทานแคลเซียม หรือพยาธิสภาพจากโรคกระดูกบาง) จำนวนผู้ที่เหลือในโครงการ 36 คน มีปริมาณเพียงพอต่อการคำนวณทางสถิติ เนื่องจากการคำนวณ N จากวิธีการ double blinded placebo-controlled crossover study ใช้ N = 18 และผู้ร่วมโครงการทั้งหมดมีจำนวนมากกว่าที่คำนวณไว้ถึง 36 คน โดยผู้ร่วมโครงการทั้งหมดจะถูก randomized double placebo trial ให้รับประทานแคลเซียม หลังอาหารหรือก่อนนอน ในช่วงแรกของการศึกษาและจะ crossover ในคนเดียวกันในช่วงที่สามของการศึกษา การวัดผลของการวิจัยครั้งนี้วัดการลดลงของระดับ PTH และ Serum CTx โดยเฉลี่ยจำนวน 36 ราย โดยเปรียบเทียบระหว่างการให้แคลเซียมหลังอาหารและก่อนนอน พบว่าผลการลดลงของระดับ S-CTx โดยเฉลี่ยของการให้แคลเซียมก่อนนอนลดลงมากกว่าการให้แคลเซียมหลังอาหาร 2 มื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.001$ และผลการลดลงของระดับ PTH โดยเฉลี่ยของการให้แคลเซียมก่อนนอนลดลงมากกว่าการให้แคลเซียมหลังอาหาร 2 มื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.001$, $P = 0.001$ และ $P = 0.002$ ที่เวลา 24.00 น., 02.00 น. และ 04.00 น. ตามลำดับ เนื่องจากการให้รับประทานแคลเซียมในช่วงกลางคืนอาจมีผลข้างเคียงจากยา เช่น อาการคลื่นไส้อาเจียน, ท้องผูก มากกว่าการให้แคลเซียมในช่วงหลังอาหาร การศึกษาครั้งนี้จึงวัดอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้น พบว่าการรับประทานแคลเซียมในช่วงกลางคืนไม่ได้มีผลข้างเคียงจากยา มากกว่าการรับประทานช่วงหลังอาหาร ดังนั้นจากผลสรุปของการวิจัยครั้งนี้ควรพิจารณาให้รับประทานแคลเซียมกลางคืน เพื่อลดระดับของ PTH และ bone resorption markers (S-CTx) มากกว่าการให้รับประทานแคลเซี่ยมหลังอาหารสองมื้อ เพื่อป้องกันการลดลงของ BMD กระดูก และภาวะกระดูกพรุน ในหญิงวัยหมดประจำเดือน

อย่างไรก็ตามผลของการศึกษาวิจัยของผู้วิจัยครั้งนี้ พบว่าได้ผลขัดแย้งกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้โดย Meria UM Karkkainen และคณะ [97] ซึ่งศึกษาโดยวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone markers (ทั้ง bone resorption และ bone formation markers) และ PTH หลังรับประทานแคลเซี่ยมครั้งเดียว โดยเปรียบเทียบการรับประทานแคลเซี่ยมในช่วงเช้า 8.00น. กับ ช่วงก่อนนอน 23.00น. พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างการให้แคลเซี่ยมทั้งสองเวลา การศึกษานี้ได้ผลขัดแย้งกับการศึกษาของผู้วิจัยในครั้งนี้ อาจเนื่องมาจากเหตุผลที่แตกต่างกันหลายไปประการ ดังนี้ ประการแรก กลุ่มประชากรที่ใช้ศึกษาเป็นกลุ่ม หญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน อายุน้อยในช่วง 21-34ปี ซึ่งระดับ PTH ช่วงกลางคืนไม่สูงมากเมื่อเทียบกับ หญิงวัยหลังหมดประจำเดือน และจำนวนประชากรที่ใช้ศึกษามีเพียง

15คน ในแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบ ซึ่งจำนวน N น้อย อาจไม่เห็นผลความแตกต่าง ประการที่สอง การให้แคลเซียมเพื่อวัดผลการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption และ PTH ให้รับประทานแคลเซี่ยมเพียงครั้งเดียวนั้น อาจไม่เพียงพอต่อการวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone marker และ PTH นอกจากนี้ผลการศึกษาก่อนหน้านี้ [93,95,96] ที่สนับสนุนผลของการให้แคลเซียมกลางคืน ว่าสามารถลดระดับ PTH และ bone resorption marker ในหญิงวัยหมดประจำเดือน จะให้รับประทานอย่างน้อย 14 วัน ซึ่งได้ผลเหมือนการศึกษาของผู้วิจัยเอง ประการที่สาม แคลเซียมที่ให้อยู่ในรูป Calcium Sandoz (6,810 mg calcium lactate gluconate, 300 mg calcium carbonate, 1,350 mg acid citrate anhydrous และ 40 mg aspartame) ซึ่งมีองค์ประกอบของแคลเซียมหลายชนิด รวมทั้งการดูดซึมของแคลเซียมแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ทำให้ระดับแคลเซี่ยมในเลือดไม่สูงพอที่จะลดระดับ PTH ที่สูงในช่วงกลางคืน ดังนั้นจึงอาจทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลง bone resorption markers และ PTH ระหว่างการรับประทานแคลเซี่ยมในช่วงเวลา 8.00 น. และ 23.00 น. ประการสุดท้าย การวัด bone resorption marker ของการศึกษานี้ใช้ Urinary total pyridinoline (U–T–Pyd) ซึ่งเป็น bone resorption markers ที่มีความไวไม่ดีพอ มีหลักฐานการศึกษาก่อนหน้านี้ [92,95,96] ที่สนับสนุนการให้ รับประทานแคลเซี่ยม ในหญิงวัยหมดประจำเดือน สามารถลดระดับ bone resorption markers ได้โดยการศึกษาเหล่านั้นใช้ Urinary total และ free deoxypyridinoline (U-T-Dpd และ U-F-Dpd) เป็น bone resorption marker ซึ่งมีความไวที่ดีกว่า

นอกจากนั้นการศึกษาโดย Said kamet และคณะ[90] ได้ศึกษาเปรียบเทียบความไว ของ bone resorption markers ชนิดต่างๆ (U-T-Pyd , U-T-Dpd , U-F-Dpd , NTx และ CTx) หลังการให้แคลเซียมในหญิงวัยหมดประจำเดือน พบว่า CTx เป็น bone resorption marker ที่มีความไวที่ดีที่สุด เมื่อเทียบกับ markers อื่นๆ

มีการศึกษาโดย Garnero และคณะ[91] ได้วัดการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption markers หลังให้รับประทานแคลเซี่ยม ในหญิงวัยหมดประจำเดือน โดยเปรียบเทียบระหว่าง S-CTx (Serum CTx) ตอน 8.00 น. (หลังงดอาหาร 8 ชั่วโมง) เทียบกับ U-CTx (Urinary CTx) พบว่า S-CTx มีความไว และความจำเพาะ ดีกว่า เนื่องจาก S-CTx มี inter และ intra CV ระหว่างวันน้อย นอกจากนี้ U-CTx ยังถูกกระทบจากหลายๆ ปัจจัย เช่น การทำงานของไต, ปริมาณปัสสาวะที่เก็บได้ครบหรือไม่ รวมทั้งผลกระทบของมื้ออาหาร และระดับแคลเซียมในเลือดระหว่างวัน ดังนั้นการเลือกใช้ S-CTx ในการศึกษาของผู้วิจัย ซึ่งพบว่า สามารถลดระดับ bone resorption marker (S-CTx) หลังให้รับประทานแคลเซี่ยมนั้น อาจเป็นจาก S-CTx มีความไว ที่ดีกว่า Urinary total Pyridinoline (U–T–Pyd)

ผลการวิจัยของผู้วิจัยในครั้งนี้ พบว่าการรับประทานแคลเซี่ยมก่อนนอน ลดระดับ bone resorption marker (S-CTx) และ PTH ในหญิงวัยหมดประจำเดือน ได้ดีกว่าการรับประทานแคลเซี่ยมหลังอาหาร สองมื้อ ดังนั้นน่าจะสรุปเป็นแนวทางในการเลือกรับประทานแคลเซี่ยมก่อนนอน ในหญิงวัยหมดประจำเดือน เพื่อป้องกันการลดลงของ BMD กระดูกและภาวะกระดูกพรุน มากกว่า การรับประทานแคลเซี่ยมหลังอาหารสองมื้อ อย่างไรก็ตาม ในผลการวิจัยของผู้วิจัย พบว่าการรับประทานแคลเซียมหลังอาหาร ก็ลดระดับ S-CTx และ PTH ด้วยเช่นกัน ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า การรับประทานแคลเซี่ยมทั้งช่วงหลังอาหารสองมื้อและก่อนนอน น่าจะมีผลลดระดับ bone resorption marker (S-CTx) และ PTH ดีกว่าการรับประทานแคลเซี่ยมช่วงหลังอาหารสองมื้อ หรือก่อนนอน เพียงอย่างเดียว ซึ่งข้อสรุปในประเด็นนี้ ยังต้องการศึกษาวิจัยเปรียบเทียบต่อไป นอกจากนี้การรับประทานแคลเซี่ยมหลายครั้งระหว่างวัน ในปริมาณที่สูง อาจต้องพิจารณาถึง compliance และผลข้างเคียงของการรับประทานแคลเซี่ยมด้วย นอกจากการพิจารณาผลต่อการลดลงของระดับ bone resorption marker (S-CTx) และ PTH ซึ่งในทางเวชปฏิบัติ เรื่อง compliance ของการรับประทานแคลเซี่ยมหลายๆครั้ง อาจน้อยกว่าในทางวิจัย เนื่องจากมีการติดตาม ผู้ร่วมโครงการอย่างใกล้ชิด เช่น มีมาตรการต่างๆ เพื่อลดการลืมรับประทานยา มีค่าตอบแทนในการปฏิบัติตนขณะร่วมโครงการ นอกจากนี้การศึกษาวิจัยนั้นใช้ระยะเวลาที่สั้นซึ่งต่างกับทางเวชปฏิบัติที่ต้องรับประทานแคลเซี่ยมเป็นระยะเวลาที่ยาวนาน ทำให้น่าจะมีผลต่อ compliance ในการรับประทานยาได้ไม่ดีเท่ากับการศึกษาวิจัย นอกจากนั้น ผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซี่ยมปริมาณที่สูง ในระยะยาว อาจมีความแตกต่างจากผลการศึกษาวิจัยในระยะสั้นๆ นอกจากนี้การศึกษาของผู้วิจัยซึ่งออกแบบ randomized crossover placebo control trial นั้น พบว่ามีข้อดีหลายๆประการ เช่น ตัด confound factors ซึ่งควบคุมยาก, ตัดปัจจัยกระทบระหว่างบุคคล ซึ่งมีผลต่อผลการทดลองที่วัดได้ และใช้จำนวนศึกษาน้อย ซึ่งเหมาะสมกับการศึกษาที่มีปัจจัยจำกัดเรื่องเวลา อย่างไรก็ตามการออกแบบการศึกษาแบบ crossover study ก็มีข้อเสียเช่นกัน เนื่องจากความแตกต่างของตัววัดในทางสถิติในปริมาณน้อย (อาจไม่มีความแตกต่างทางคลินิก) เมื่อคำนวณในทางสถิติโดย Paired t-test แล้วมีความสำคัญทางสถิติ

ดังนั้นโดยสรุป ผลการวิจัยของผู้วิจัยครั้งนี้น่าจะใช้เป็นแนวทางเบื้องต้น ในการเลือกช่วงเวลาที่เหมาะสม เพื่อรับประทานแคลเซี่ยมในกลุ่มประชากรที่ศึกษานี้ แต่ก็มีคำถามของการวิจัยเพิ่มเติมดังกล่าวข้างต้น รวมทั้งการวัดประสิทธิภาพของการรับประทานแคลเซี่ยมในระยะยาว ต่อการเปลี่ยนแปลงของ BMD กระดูก และผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซี่ยม ซึ่งต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

บทที่ 8

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ได้ผลสรุปว่า การให้รับประทานแคลเซียมช่วงก่อนนอนในระยะเวลาสองสัปดาห์ สามารถลดระดับ bone resorption marker (S-CTx) และระดับของ PTH ได้มากกว่า การให้แคลเซียมช่วงหลังอาหารสองมื้อ ในประชากรไทยกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน ในช่วงอายุ 60-70 ปี และมีภาวะกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน

ข้อคิดเห็นของผู้วิจัย

1. การศึกษานี้ได้ออกแบบวิจัย โดย double blinded placebo-controlled crossover study ซึ่งสามารถตัดปัจจัยกระทบระหว่างบุคคล ในการวัดระดับของแคลเซียม , PTH และ Serum CTx เนื่องจากเป็นการศึกษาเปรียบเทียบในคนเดียวกัน น่าจะให้ผลที่ถูกต้องดีกว่า จากการตัด confound factors ต่างๆ ที่ควบคุมยากระหว่างบุคคลออกไป

2. จากผลวิจัยนี้พบว่าผลแทรกซ้อนจากการรับประทานยา และความสะดวกในการรับประทานยา มีปัจจัยจากบุคคลมากกว่ามื้อของการรับประทานยา อย่างไรก็ตามในทางเวชปฏิบัติอาจได้ผลของความสะดวกในการรับประทานยาต่างจากผลที่ได้จากการศึกษาวิจัย เนื่องจากในการศึกษาวิจัยนั้นใช้ระยะเวลาสั้นๆ มีการติดตามผู้ร่วมโครงการอย่างใกล้ชิด มีมาตรการป้องกันการลืมกินยา ซึ่งต่างจากเวชปฏิบัติจริง

3. การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของยาแคลเซียม ต่อการเปลี่ยนแปลงของ กระดูกในระยะเวลาสั้นๆ โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone resorption markers ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงที่ไว ส่วนผลของยาแคลเซียมต่อการเปลี่ยนแปลงของกระดูกในระยะยาว โดยวัดการเปลี่ยนแปลง ของความหนาแน่นของมวลกระดูก (BMD) และอัตราการหักของกระดูก รวมทั้งผลข้างเคียงจากยาในระยะยาว ไม่สามารถสรุปได้จากการศึกษานี้ จำเป็นต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของการให้รับประทานแคลเซียมในระยะเวลาที่ยาวนานต่อไป

ข้อเสนอแนะในโอกาสต่อไป

- ควรจะมีการวัดทั้ง bone resorption และ bone formation markers หลายๆ ชนิด โดยเพิ่มระยะเวลาการศึกษานานขึ้น 4 ถึง 6 เดือน หลังให้รับประทานแคลเซียม เพื่อวัดการเปลี่ยนแปลงของ bone markers ในระยะยาวกว่านี้ และเพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือก bone markers ที่มีความไวที่สุดในการติดตามผลหลังรับประทานแคลเซียม ในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน ที่มีกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน

- ควรจะมีการศึกษาในระยะยาวต่อไป (อย่างน้อย 1-2 ปี) โดยวัดผลการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นของมวลกระดูก (BMD) และอัตราการหักของกระดูก รวมทั้งความสะดวก และผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซียมในระยะยาว เพื่อเป็นข้อสรุปถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัย ในการรับประทานแคลเซี่ยมในกลุ่มหญิงวัยหมดประจำเดือน ที่มีกระดูกบางเสี่ยงถึงกระดูกพรุน

- ควรมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง การรับประทานแคลเซี่ยมทั้งหลังอาหารสองมื้อ และก่อนนอน เทียบกับ การรับประทานแคลเซี่ยมหลังอาหารสองมื้อ หรือก่อนนอนอย่างเดียว รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบความสะดวกในการรับประทานแคลเซี่ยม และผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซียมด้วย ซึ่งน่าจะเป็นแนวทางในการเลือกเวลา ในการรับประทานแคลเซี่ยมหลายแบบ โดยพิจารณาทั้งข้อดีและข้อเสีย ที่อาจเกิดขึ้นนอกจากผลดี ต่อการป้องกันการลดลงของมวลกระดูก (BMD) และภาวะกระดูกพรุนอย่างเดียว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. Yasuda H, Shima N, Nakagawa K, et al. A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. **Bone** 1999 ; 25 : 109-113.
2. Littlewood - Evans A, Kokubo T, Ishibashi O, et al. Localization of cathepsin K in human osteoclasts by in situ hybridization and immunohistochemisty. **Bone** 1997 ; 20 : 81-86.
3. Eriksen EF. Normal and pathological of human trabecular bone : Three – dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normal and metabolic bone disease. **Endocrine Rev** 1986 ; 7 : 379-408.
4. Seama U. and Flanagan AM. Macrophage – colony stimulating factors (M-CSF) induces substantial osteoclast generation and bone resorption in human marrow cultures. **Blood** 1996 ; 88 : 2531-2540.
5. Bonewald LF, Mundy GR. Role of transforming growth factor beta in bone remodeling. **Clin Orthop Ralat Res** 1990 ; 250 : 261-276.
6. Pfeilschifter J , Diel I, Scheppach B, et al. Concentration of transforming growth factor beta in human bone tissue: Relation to age , menopause , bone turnover and bone volume. **J Bone Miner Res** 1998 ; 13 : 716-730.
7. Brazel US. The skeleton as an ion exchange system : Implication for the role of acid-base imbalance in the genesis of osteoporosis. **J Bone Miner Res** 1995 ; 10 : 1431-1436.
8. Concensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. **Am J Med** 1993 ; 94 : 646-650.
9. Kanis JA, Melton LJ III , Christiansen C, et al. The diagnosis of osteoporosis. **J Bone Miner Res** 1994 ; 9 : 1137-1141.
10. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta – analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. **Br Med J 1996** ; 312 : 1254 - 1259.
11. Jones G, Nguyen T, Sambrook PN, et al. Symptomatic fracture incidence in elderly men and women: The Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (DOES). **Osteoporosis Int** 1994 ; 4 : 277-282.

12. Melton LJ III. Perspectives: How many women have osteoporosis now? **J Bone Miner Res 1995 ; 10 : 175-177.**

13. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, et al. Bone density at various site for prediction of hip fractures. The study of Osteoporotic Fractures Research Group. **Lancet 1993 ; 341 : 72-75.**

14. Greenspan SL, Maitland LA, Myers ER, et al. Femoral bone loss progress with age: A longitudinal study in women over age 65. **J Bone Miner Res 1994 ; 9 : 1959-1965.**

15. Albright F & Reifenstein EC Jr. The Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease : Selected Studies, p.162. Baltimore : **Williams and Wikins Co. 1948.**

16. Riggs BL, Wahner HW, Seeman E et al. Changes in bone mineral density of the proximal femur and spine with aging. Differences between the postmenopausal and senile osteoporosis syndromes. **Journal of Clinical Investigation** 1982 ; 70 : 716-723.

17. Katzman DK. Bachrach LK, Carter DR & Marcus R. Clinical and anthropometric correlates of bone mineral acquisition in healthy adolescent girls. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** 1991 ; 73 : 1332-1339.

18. Lindsay R, Hart DM, Forrest C, Baird C. Prevention of spinal osteoporosis in oophoretomised women. **Lancer** 1980 ; 2 : 1151-4.

19. Lufkin EG, Wahner HW, O'Fallon WM, et al. Treatment of postmenopausal osteoporosis with transdermal estrogen. **Ann Intern Med** 1992 ; 117 : 1-9.

20. Storm T, Thamsborg G, Steiniche T, Genant HK, Sorensen OH, Effect of intermittent cyclical etidronate therapy on bone mass and fracture rate in women with postmenopausal osteoporosis. **N Engl J Med** 1990 ; 322 : 1265-71.

21. Watts NB, Harris ST, Genant HK, et al. Intermittent cyclical etidronate treatment of postmenopausal osteoporosis. **N Engl J Med** 1990 ; 323 : 73-9.

22. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. **N Engl J Med** 1995 ; 333 : 1437-43.

23. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures: Fracture Intervention Trial Research Group. **Lancet** 1996 ; 348 : 1535-41.

24. Orimo H, Shiraki M, Hayashi T, Nakamura T. Reduced occurrence of vertebral crush fractures in senile osteoporosis treated with 1 alpha (OH)-vitamin D_3. **Bone Miner** 1987 ; 3 : 47-52.

25. Orimo H, Shiraki M, Hayashi Y, et al. Effects of 1 alpha-hydroxyvitamin D3 on lumbar bone mineral density and vertebral fractures in patients with postmenopausal osteoporosis. **Calcif Tissue Int** 1994 ; 54-370-6.

26. Gallagher JC, Goldgar D. Treatment of postmenopausal osteoporosis with high doses of synthetic calcitriol :a randomized controlled study. **Ann Intern Med.** 1990 ; 113 : 649-55.

27. Heikinheimo RJ, Inkovaara JA, Harju EJ, et al. Annual injection of vitamin D and fractures of aged bones. **Calcif Tissue Int** 1992 ; 51 : 105-10.

28. Tilyard MW, Spears GFS, Thomson J, Dovey S. Treatment of postmenopausal osteoporosis with calcitriol of calcium. **N Engl J Med** 1992 ; 326 : 357-62.

29. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F et al. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly woman. **New England Journal of Medicine** 1992 ; 327 : 1637-1642.

30. Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA & Dallal GE. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. **New England Journal of Medicine** 1997 ; 337 : 670-676.

31. Lips P, Graafmans WC, Ooms ME, Bezemer PD, Bouter LM. Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons: a randomized, placebo-controlled clinical trial. **Ann Intern Med** 1996 ; 124 : 400-6.

32. Reid IR, Ames RW, Evans MC et al. Long-term effects of calcium supplementation on bone loss and fractures in postmenopausal women: a randomized controlled trial. **American Journal of Medicine** 1995 ; 98 : 331-335.

33. Recker RR, Hinders S, Davies KM et al. Correcting calcium nutritional deficiency prevents spine fractures in elderly women. **Journal of Bone and Mineral Research** 1996 ; 11 : 1961-1966.

34. Overgaard K, Hansen MA, Jensen SB, Christiansen C. Effect of salcatonin given intranasally on bone mass and fracture rates in established osteoporosis: a dose-response study. **BMJ** 1992 ; 305 : 556-61

35. Rico H, Revilla M, Hermandez ER, Villa LF, Alvarez de Buergo M. Total and regional bone mineral content and fracture rate in postmenopausal osteoporosis treated with salmon calcitonin: a prospective study. **Calcif Tissue Int** 1995 ; 56 : 181-5.

36. Mamelle N, Meunier PJ, Dusan R, et al. Risk benefit ratio of sodium fluoride treatment in primary vertebral osteoporosis. Lancet 1988 ; 2 : 361-5.

37. Riggs BL, Hodgson SF, O'Fallon WM, et al. Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis. **N Engl J Med** 1990 ; 322 : 802-9.

38. Meunier PJ, Sebert JL, Reginster JY, et al. Fluoride salts do not better prevent new vertebral fractures than calcium-vitamin D in postmenopausal osteoporosis: the Favos study. **Osteoporosis Int (in press).**

39. Kleerekoper M, Peterson EL, Nelson DA, et al. A randomized trial of sodium fluoride as a treatment for postmenopausal osteoporosis. **Osteoporos Int** 1991 ; 1 : 155-67.

40. Pak CY, Sakhaee K, Adams-Huet B, Piziak V, Peterson RD, Poindexter JR. Treatment of postmenopausal osteoporosis with slow-release sodium fluoride: final report of a randomized controlled trial. **Ann Intern Med** 1995 ; 123 : 401-8.

41. Lindsay R, Nieves J, Formica C, et al. Randomised controlled study of effect of parathyroid hormone on vertebral-bone mass and fracture incidence among postmenopausal women on oestrogen with osteoporosis. **Lancet** 1997 ; 350 : 550-5.

42. Eastell R, Assessment of bone density and bone loss. **Osteoporos Int** 1996 ; 6 Suppl 2 : S3-S5.

43. Effects of hormone therapy on bone mineral density: results from the Postmenopausal Estrogen / Progestin Interventions (PEPI) trial: the Writing Group for the PEPI. **JAMA** 1996 ; 276 : 1389-96.

44. Pors Nielsen S, Barenholdt O, Hermansen F, Munk-Jensen N. Magnitude and pattern of skeletal response to long term continuous an cyclic sequential oestrogen / progestin treatment. **Br J Obstet Gynaecol** 1994 ; 101 : 319-24.

45. Parfitt AM, Morphologic basis of bone mineral measurements: transient and steady state effects of treatment in osteoporosis. **Miner Electrolyte Metab** 1980 ; 4 : 273-87.

46. Robert H. Christensan. Biochemical markers of bone metabolism. **Clin Biochem** 1997 ; 30 (8) : 573-593.

47. Nelson B. Watts. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. **Clin Chem** 1999 ; 45 : 1359-1368.

48. Eyre DR. Collagen cross-linking amino acids. **Methods Enzymol** 1987 ; 144 : 114-39.

49. Deacon AC, Hulme P, Hesp R, Green JR, Tellez M, Reeve J. Estimation of whole body bone resorption rate: comparison of urinary total hydroxyproline excretion with two radioisotopic tracer methods in osteoporosis. **Clin Chim Acta** 1997 ; 166 : 297-306.

50. Colwell A, Russell RGG, Eastell R. Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption. **Eur J Clin Investig** 1993 ; 23 : 341-9.

51. Ubelhart D, Gineyts E, Chapuy M-C, Delmas PD. Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease. **Bone Miner** 1990 ; 23 : 241-9.

52. Rosano TG, Peaston RT, Bone HG, Woitge HW, Francis RM, Seibel MJ. Urinary free deoxypyridinoline by chemiluminescence immunoassay: analytical and clinical evaluation. **Clin Chem** 1998 ; 44 : 2126-32.

53. Seyedin SM, Kung VT, Daniloff YN, Hesley RP, Gomez B, Nielsen LA, et al. Immunoassay for urinary pyridinoline: a new marker of bone resorption. **J Bone Miner Res** 1993 ; 8 : 635-42.

54. Robins SP, Woitge H, Hesley R , Ju J , Seyedin S, Seibel MJ. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. **J Bone Miner Res** 1994 ; 9 : 1643-9.

55. Garnero P , Gineyts E, Riou JP , Delmas PD. Assessment of bone resorption with a new marker of collagen degradation in patients with metabolic bone disease. **J Clin Endocrinol Metab** 1994 ; 79 : 780-5.

56. Hanson DA, Weis MAE, Bollen A-M, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. **J Bone Miner Res** 1992; 7: 1251-8.

57. Bonde M, Garnero P, Fledelius C, Rlis BJ. Christiansen C. Application of an enzyme immunoassay for a new marker of bone resorption (CrossLaps): follow-up on hormone replacement therapy and osteoporosis risk assessment. **J Clin Endocrinol Metab** 1995 ; 80 : 864-8.

58. Bonde M, Gernero P, Fledelius C, Qvist P, Delmas PD, Christiansen C. Measurement of bone degradation products in serum using antibodies reactive with an isomerized form of an 8 amino acid sequence of the C-telopeptide of type I collagen. **J Bone Miner Res 1997** ; 12 : 1028-34.

59. Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnason NH, Ravn P, Fledelius C, et al. Clinical evaluation of the serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides. **Clin Chem** 1998 ; 44 : 2290-300.

60. Gertz BJ, Clemens JD, Holland SD, Yuan W, Greenspan S. Application of a new serum assay for type I collagen cross-linked N-telopeptides: assessment of diurnal change in bone turnover with and without alendronate treatment. **Calcif Tissue Int** 1998 ; 63 : 102-6.

61. Scariano JK, Glew RH, Bou-Serhal CE, Clemens JD, Garry PJ, Baumgartner RN. Serum levels of cross-linked N-telopeptides and aminoterminal propeptides of type I collagen indicate low bone mineral density in elderly women. **Bone** 1998 ; 23 : 471-7.

62. Hassage C, Ristell J, Ristell L, Jensen SB, Christiansen C. Diurnal variation in serum markers of type I collagen synthesis and degradation in healthy premenopausal women. **J Bone Miner Res** 1992 ; 7 : 1307-11.

63. Melkko J, Kaupplla S, Niemi S, Risteli L , Haukipuro K , Jukkola A , Risteli J. Immunoassay for intact amino-terminal propeptide of human type I procollagen. **Clin Chem** 1996 ; 42 : 947-54.

64. Jensen CH, Hansen M, Barndt J, Rasmussen HB, Jensen PB, Tiesner B. Quantification of the N-terminal propeptide of human procollagen type I (PNP): comparison of ELISA and RIA with respect to different molecular forms. **Clin Chim Acta** 1998 ; 269 : 31-41.

65. Cheng S, Kovanen V, Heikkinen E, Suominen H. Serum and urine markers of type I collagen metabolism in elderly women with high and low bone turnover. **Eur J Clin Investig** 1996 ; 26 : 186-91.

66. Heaney RP. Nutrition and risk for osteoporosis. In : Marcus R, Feldman D, Kelsey I (eds) Osteoporosis. **Academic Press, San Diego ,** 1996 : 483-505.

67. Cooper C, Campion G, Melton LJ III. Hip fractures in the elderly: A world-wide projection. **Osteo Int** 1992 ; 2 : 285-9.

68. Riggs BL, Melton LJ. Age related incidence of osteoporotic fracture. **New Engl J Med** 1986 ; 314 : 1676-86.

69. Dawson-Hughes B, Dallal GE, Krall EA, Sadowski L, Sahyoun N, Tannenbaum S. A controlled trial of the effect of calcium supplementation on bone density in postmenopausal women. **N Engl J Med** 1990 ; 323 : 878-83.

70. Gallagher JC, Riggs BL, Recker RR, Goldgar D. The effect of calcium of on patients with postmenopausal osteoporosis with special reference to fracture frequency. **Proc Soc Exp Biol Med** 1989 ; 191 : 287-92.

71. Beverley Shea, George Wells, Ann Cranney. Meta-Analysis of calcium supplementation for the prevention of Postmenopausal Osteoporosis. **End Rev** 2002 ; 23(4):552-559.

72. Chevalley T, Rizzoli R, Nydegger V et al. Effects of calcium supplements on femoral bone mineral density and vertebral fracture rate in vitamin-D-replete elderly patients. **Osteoporosis International** 1994 ; 4 : 254-252.

73. Reid JR, Ames RW, Evans MC, et al. Effect of calcium supplementation on bone loss in postmenopausal women. **N Engl J Med** 1993 ; 328 : 460-464.

74. Hansson T, Roos B. The effect of fluoride and calcium on spinal bone mineral content : a controlled, prospective (3 years) study. **Calcif Tissue Int** 1987 ; 40 : 315-317.

75. Riggs BL, O'Fallon MW, Muhs J, et al. Long term effects of calcium supplementation on serum parathyroid hormone levels, bone turnover, and bone loss in elderly women. **J Bone Miner Res** 1998 ; 13 : 168-174.

76. NIH Consensus Conference : Osteoporosis. **JAMA** 1984 ; 252 : 799-802.

77. NIH Consensus Conference : Optimal calcium intake. **JAMA** 1994 ; 272 : 1942-1948.

78. Bendich A, Leader S, Muhuri P : Supplemental calcium for the prevention of hip fracture: potential health-economic benefits. **Clin Ther** 1999 ; 21 : 1058-1072.

79. Heller HJ, Stewart A, Haynes S, Pak CYC: Pharmacokinetics of calcium absorption from two commercial calcium supplements. **J Clin Pharmacol** 1999 ; 39 : 1151-1154.

80. Heller HJ, Greer LG, Haynes SD, Poindexter JR, Pak CYC: Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of two calcium supplements in postmenopausal women. **J Clin Pharmacol** 2000 ; 40 : 1237-1244.

81. Heaney RP, Dowell MS, Barger-Lux MJ: Absorption of calcium as the carbonate and citrate salts, with some observations on method. **Osteoporos Int** 1999 ; 9 : 19-23.

82. Sheikh MS, Santa Ana CA, Nicar MJ, Schiller LR, Fordtran JS: Gastrointestinal absorption of calcium from milk and calcium salts. **N Engl J Med** 1987 ; 317 : 532-536.

83. Recker RR: Calcium absorption and achlorhydria. **N Engl J Med** 1985 ; 313 : 70-73.

84. Heaney RP, Susan Dowell H., Bierman June, et al. Absorbability and Cost Effectiveness in Calcium Supplementation. **J Ann Coll Nutr** 2001 ; 20 : 239-246.

85. Reinhold Vieth, Yasmin Ladak, and Pual G wolfish. Age-related changes in the 25-hydroxyvitamin D versus parathyroid hormone relationship suggest a different reason why older adults require more vitamin D. **J Clin Endocrinal Metab** 2003 ; 88 : 185-191.

86. Delmas P.D. Markers of Bone Turnover for Monitoring Treatment of Osteoporosis with Antiresorptive Drugs. **Osteoporos Int** 2000 ; Suppl. 6 : S66-77.

87. Cliford J. Rosen, Charles H., Chesnul III. The Predictive Value of Biochemical Markers of Bone Turnover for Bone Mineral Density in Early Postmenopausal women Treated with Hormone Replacement or Calcium Supplementation. **J Clin Endocrinal Metab** 1997 ; 82 : 1904-1910.

88. Blumsohn A., Herrington K., Hannon R.A, The effect of calcium Supplementation on the Circadian Rhythm of Bone Resorption. **J Clin Endocrinal Metab** 1994 ; 79 : 730-735.

89. Parfitt AM. Calcium hormeostasis. In : Mundy GR, Martin TJ, end. Physiology and pharmacology of bone. **Berlin : Springer Verlag,** 1993 : 1-65.

90. Said Kamel, Patrice Fardellone, Boumedienne Meddah, et al. Response of several markers of bone collagen degradation to calcium supplementation in postmenopausal women with low calcium intake. **Clin Chem** 1998 ; 44(7) : 1437-42.

91. Garneo. Evaluation of a Fully Automated Serum Assay for C-terminal Cross-linking Telopeptide of Type I Collagen in osteoporosis. **Clin Chem** 2001 ; 47 : 694-702.

92. Rubinacci A., Melzi R., Zampino M., et al. Total and Free Deoxypyridinoline after acute osteoclast activity Inhibition. **Clin Chem** 1999 ; 45 : 1510-1516.

93. Zikan V., Haas T., Stepan IJ. Acute effects in healthy women of oral calcium on the calcium-parathyroid anis and bone resorption as assessed by serum beta-CrossLabs. **Calcif Tissue Int** 2001 ; 68 : 352-7.

94. Heaney RP, Recker RR & Saville PD. Calcium balance and calcium requirements in middle-aged women. **American Journal of Clinical Nutrition** 1977 ; 1603-1611.

95. McKane WR, Khosha S, Egan KS, et al. Role of Parathyroid hormone in mediation nocturnal and age-related increase in bone resorption. **J Clin Endrocrinol Metab** 1996 ; 81 : 1699-1703.

96. Ledger GA, Burritt MF, Rao PC, et al. Role of Parathyroid hormone in mediating nocturnal and age-related increase in bone resorption. **J Clin Endrocrinol Metab** 1195 ; 80 : 3304-10.

97. Merja UM Karkkainen, Christel JE Lamberg-Allardt, Suvi Ahonen, et al. Does it make difference how and when you take your calcium? The acute effects calcium on calcium and bone metabolism. **Am J Clin Nutr** 2001 ; 74 : 335-42.

98. Reid IR, Schooler BA. Hannan SF, Ibbertson HK. The acute biochemical effects of four proprictary calcium preparation. **Aust N Z J Med** 1986 ; 16 : 193-7.

99. Herfarth K, Drechsler S. Imhoff W , et al. Calcium regulation hormones after oral and intravenous calcium administration. **Eur J Clin Chem Clin Biochem** 1992 ; 37 : 511-9.

100. Horowiz M, Wishart JM. Goh D, Morris HA, Need AG, Nordin BEC. Oral calcium suppresses biochemical markers of bone resorption in normal men. **Am J Clin Nutr** 1994 ; 60 : 965-8.

101. Liu CC, Kalu DN. Human parathyroid hormone (1-34) prevents bone loss and augments bone formation in sexually mature ovaricetomized rats. **J Bone Miner Res** 1990 ; 5 : 973-82.

102. Herfarth K, Schmidt-Gayk H, Graf S, Maier A. Circadian rhythm and pulsatility of parathyroid hormone secretion in man. **Clin Endocrinol** 1992 ; 37 : 511-9.

103. Hassager C, Risteli J, Risteli L, Jensen SB, Christiansen C. Diumal variation in serum markers of type I collagen synthesis and degradation in healthy premenopausal women. J Bone Miner Res 1992 ; 7 : 1307-11.

104. Herfarth K, Drechsler S, Imhoff W, et al. Calcium regulating hormones after oral and intravenous calcium administration. **Eur J Clin Chem Clin Biochem** 1992 ; 30 : 815-22.

105. Johnson JA, Kumar R. Renal and intestinal calcium transport: roles of vitamin D and vitamin D-dependent calcium binding proteins. **Semin Nephrol** 1994 ; 14 : 119-28.

106. Mortensen L, Charles P. Bioavailability of calcium supplements and the effect of vitamin D : comparisons between milk, calcium carbonate, and calcium carbonate plus vitamin D. **Am J Clin Nutr** 1996 ; 63 : 354-7.

107. Harvey JA. Zobitz MM, Pak CYC. Dose dependency of calcium absorption: a comparison of calcium carbonate and calcium citrate. **J Bone Miner Res** 1988 ; 3 : 253-8.

108. Garnero P, Hausher E, Chapuy MC, et al. Markers of bone resorption predict hip fraction in elderly women: The Epidos prospective study. **J Bone Minor Res** 1996 ; 11 : 1531-8.

109. Gernero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. **J Bone Miner Res** 2000 ; 15 : 1526-36.

110. Eastell R, Calvo MS, Burritt MF, Offord KP, Russell RGG, Riggs BL. Abnormalities in circadian patterns of bone resorption and renal calcium conservation in type I osteoporosis. **J Clin Endocrinol Metab** 1992 ; 74 : 487-94.

111. Blumsohn A, Herrington K, Honnon RA, Shao P, Eyre DR, Eastell R. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. **J Clin Endocrinol Metab** 1994 ; 79 : 730-5.

112. Nielsen HK, Brixen K, Mosekilde L. Diurnal rhythm in serum activity of wheat-germ lectin-precipitable alkaline phosphatase: temporal relationships with the diurnal rhythm of serum osteocalcin. **Scand J Clin Lab Investig** 1990 ; 50 : 851-6.

113. Nielsen HK, Brixen K, Mosekilde L, Diurnal rhythm and 24-hour integrated concentrations of serum osteocalcin in normals; influence of age, sex, season, and smoking habits. **Calcif Tissue Int** 1990 ; 47 : 284-90.

114. Schiemmer A, Hassager C, Pedersen BJ, Christiansen C. Posture, age, menopause, and osteopenia do not influence the circadian variation in the urinary excretion of pyridinium crosslinks. **J Bone Miner Res** 1994 ; 9 : 1883-8.

115. Nielsen HK, Brixen K, Bouillon R, Mosekilde L. Changes in biochemical markers of osteoblastic activity during the menstrual cycle. **J Clin Endocrinol Metab** 1990 ; 70 : 1431-7.

116. Woitge HW, Schneidt-Nave C, Kissling C, Ledig-Bruckner G, Mayer K, Grauer A, et al. Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: results of a population-based study. **J Clin Endocrinol Metab** 1998 ; 83 : 68-75.

117. Karisson R, Eden S, Eriksson L, Von Schoultz B. Osteocalcin 24-hour profiles during normal pregnancy. **Gynecol Obstet Investig** 1992 ; 34 : 197-201.

118. Smith SM, Nillen JL, Leblanc A, Demers LM, Lane HW, Leach CS. Collagen cross-link excretion during space flight and bed rest. **J Clin Endocrinol Metab** 1998 ; 83 : 3584-91.

119. Chesnut CH III, Bell NH, Clark GS, Drinkwater BL, English SC, Johnson CC Jr, et al. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: urinary N-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. **Am J Med** 1997 ; 102 : 29-37.

120. Hirsch L, Watts N, McIlwain H, Rodriguez J, Romanowicz A, Daifotis A, et al. Efficacy of alendronate is similar irrespective of baseline bone turnover, BMd, and age [Abstrct]. **J Bone Miner Res** 1995 ; 10(Suppl 1) : S350.

121. Chapurlat RD, Garnero P, Breart G, Meunier PJ, Delmas PD. Afternoon sampled serum type I collagen breakdown product (serum CTX) predicts hip fracture in elderly women: results of the Epidos study. **Bone** 2000 ; 27 : 283-6.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

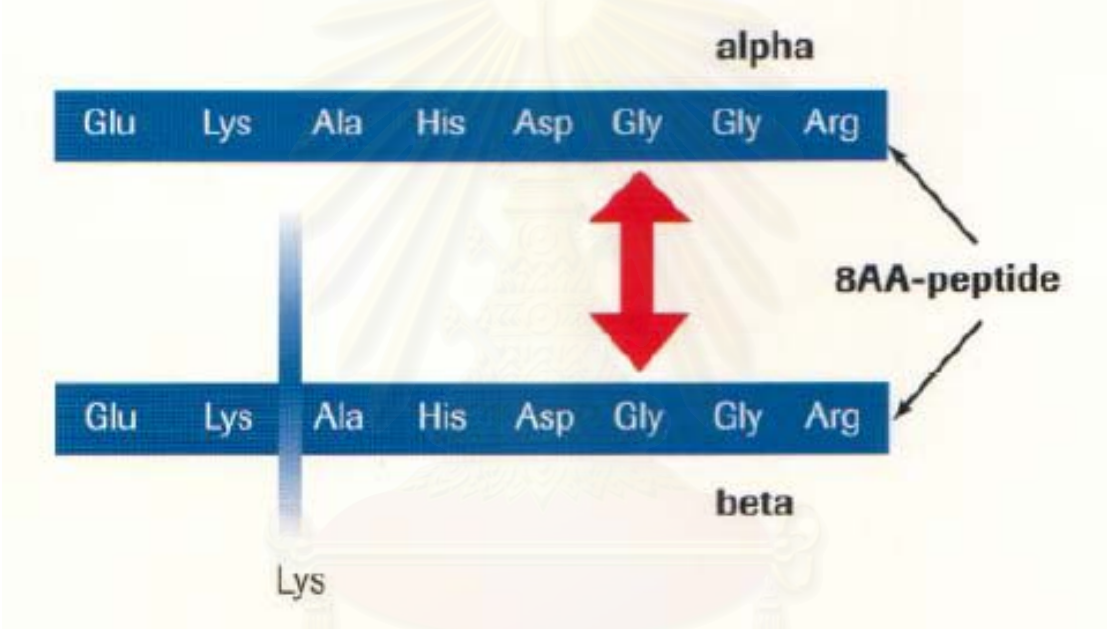
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

วิธีการวัด Serum C-terminal telopeptide crosslinks (S-CTx)

การวัด S-CTx เป็นการวัด β-CrossLaps fragments ซึ่งเป็นส่วนของ type I collagen ที่ถูกย่อยสลายโดย osteoclast การวัดใช้ monoclonal antibody ที่มีความเฉพาะต่อ octapeptide (β 8 AA) บน C-terminal และของ αI – chain ของ type I collagen ดังนั้นการวัด C-telopeptide (CTx , ซึ่งเป็น C-terminal marker ที่สัมพันธ์กับการย่อยสลายของ type I collagen โดย osteoclast)

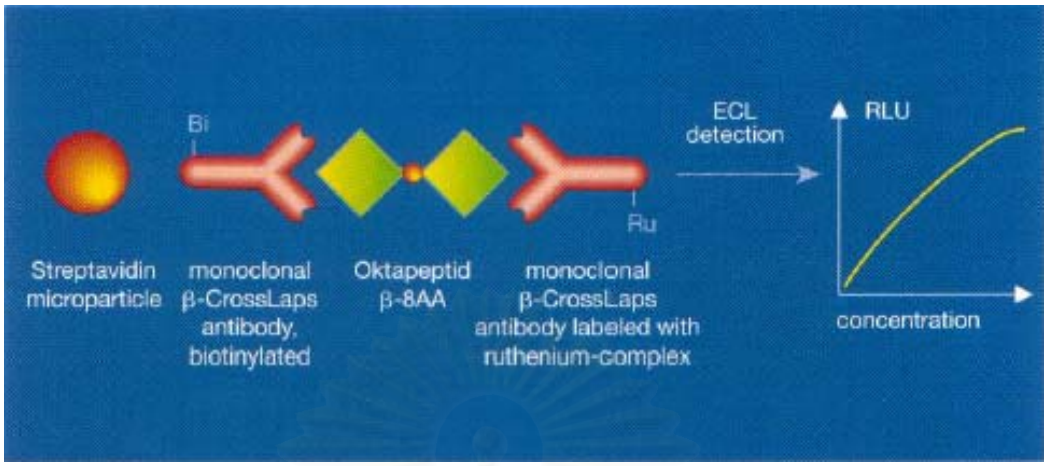
ภาพแสดงโครงสร้างทาง Biochemical ของ C-terminal Crosslinks



ข้อมูลนี้นำมาจาก Roche (Elecsys β-CrossLaps / Serum 2010) Diagnostic Company.

Elecsys β-CrossLaps immunoassays ใช้หลักการ double sandwich method โดยใช้ monoclonal β-CrossLaps antibody ต่อ octapeptide β-8 AA แล้ววัดปฏิกิริยาโดย electrochemiluminescence ด้วยคลื่น photon ความยาว 620 nm. โดยใช้เครื่องมือ photomultiplier ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่า 2 วินาที

ภาพแสดงหลักการ sandwich assay ของ Elecsys β-CrossLaps / Serum immunoassay



ข้อมูลนี้นำมาจาก Roche (Elecsys β-CrossLaps / Serum 2010) Diagnostic Company.

การวัด Elecsys β-CrossLaps / Serum ในการวิจัยนี้ใช้ automated assay ซึ่งเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่ใช้เวลาสั้นเพียง 18 นาที และมีความสะดวกที่สามารถเก็บ sample ไว้ที่ 37^{0}C มีการทดสอบ correlation ระหว่างวิธี automate กับวิธี manual เดิม (ELISA) พบว่ามี correlation = 0.955 (n = 60) นอกจากนั้นวิธี automated assay นี้ยังมี inter และ intra-assay CV ต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 10 นอกจาก นี้ยังไม่ถูกรบกวนด้วยภาวะต่างๆ เหล่านี้เช่น icterus (bilirubin < 65 mg / dl) , hemolysis (Hb < 0.5 gm / dl) , lipemia (intralipid < 1500 mg / dl) และ biotin < 90 ng / ml. ภาวะ Hook effect จาก high dose β-cross laps concentration ที่มากกว่า 150 ng / ml หรือ 150,000 pg / ml. จะไม่เกิดขึ้น

ตารางแสดงคุณสมบัติต่างๆ ของ Elecsys β-CrossLaps automated assay

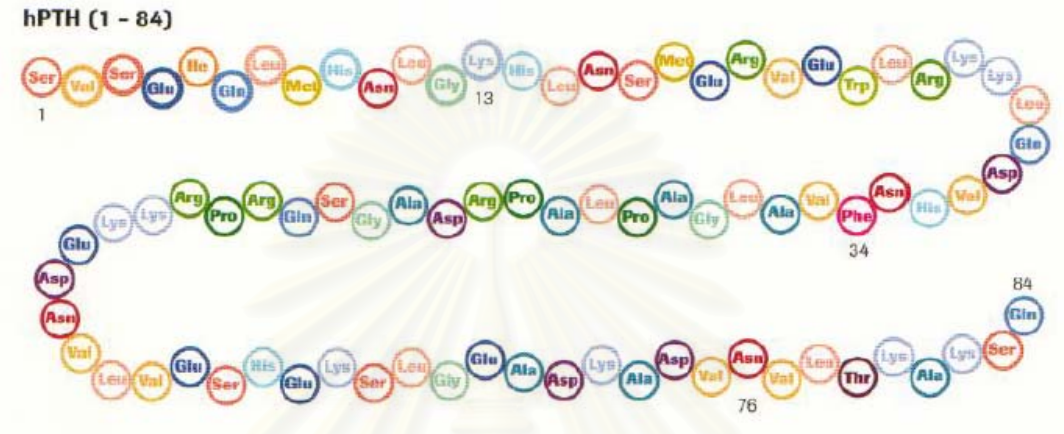
Dynamic Range	0 – 10000 pg/mL	Intra-Assay CV	< 100 pg/mL 20%
Detection Limit	10 pg/mL	Intra-Assay CV	≥ 250 pg/mL 5%
Function. Sens. (20% CV interassay)	100 pg/mL	Inter-Assay CV	< 200 pg/mL 15%
Sample Volume	50µL	Inter-Assay CV	≥ 500 pg/mL 5%
Sample	Serum	Ref. Method	serum CTx EIA
TAT	18 min	Correlation	0.955 (n = 60)
Incubation 37°C	2 x 9 min.	Intercept	10 pg/mL
Hook Effect	no interference	Slope	1.4

ข้อมูลนี้นำมาจาก Roche (Elecsys β-CrossLaps / Serum 2010) Diagnostic Company.

วิธีการวัด Parathyroid hormone (PTH)

PTH เป็นฮอร์โมนที่หลั่งจาก parathyroid gland. และถูกควบคุมโดยตรงจากระดับแคลเซียมในเลือด มีโครงสร้างโมเลกุลเป็น polypeptide สายเดี่ยว 84 amino acids มีน้ำหนักโมเลกุล 9500 ดาลตัน ปลายสายแต่ละข้างของโมเลกุลมีโครงสร้างของ NH_2 Group และ COOH group

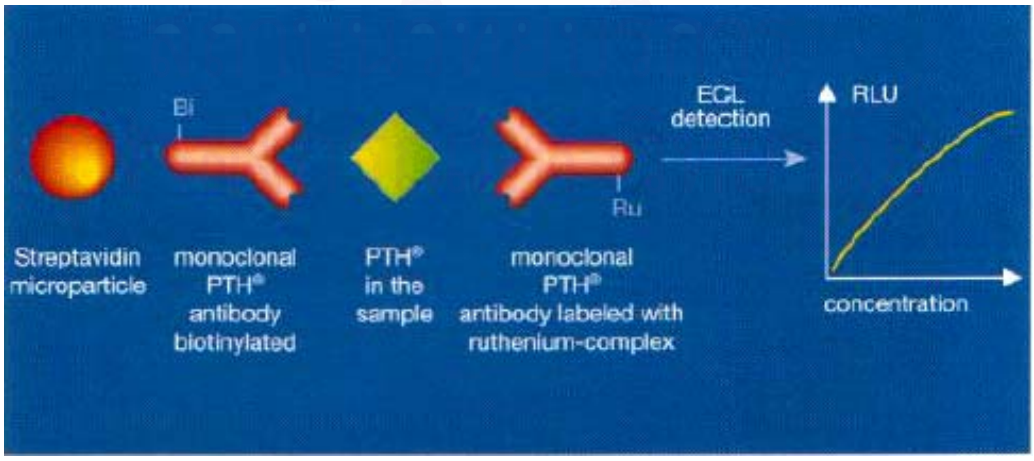
ภาพแสดงโครงสร่างโมเลกุลของ parathyroid hormone (PTH)



ข้อมูลนี้นำมาจาก Roche (Elecsys intact PTH 2010) Diagnostic Company.

Elecsys PTH immunoassay จะวัดส่วนของ intact PTH โดยใช้ double antibody sandwich method (ซึ่งจะจับเฉพาะ mid molecule และ NH_2 terminal epitope) ทำให้มี specificity สูง และ Sensitivity สูง (สามารถวัด PTH ที่ระดับความเข้มข้นได้ถึง picomolar) รวมทั้งไม่ถูกกระทบต่อภาวะไตวายเรื้อรัง (เนื่องจากวัดในส่วน NH_2 terminal epitope)

ภาพแสดงหลักการ sandwich assay ของ Elecsys intact PTH immunoassay



ข้อมูลนี้นำมาจาก Roche (Elecsys β-CrossLaps / Serum 2010) Diagnostic Company.

การวัดโดย Elecsys intact PTH assay ใช้วิธีการ ECL (electrochemiluminescence) มี specificity สูง เนื่องจากใช้ double antibody sandwich method และมี sensitivity สูงสามารถวัดระดับ PTH มีความเข้มข้นต่ำ (picomolar) นอกจากนั้นยังมี inter และ intra assay CV ต่ำ ดังแสดงในตาราง ที่ 11 นอกจากนี้ยังไม่ถูกรบกวนด้วยภาวะต่างๆ เหล่านี้ เช่น icterus (bilirubin < 65 mg / dl) , hemolysis (Hb < 1.5 g / dl) , lipemia (Intralipid < 1500 mg / dl) , biotin (< 50 ng / ml) และ rheumatoid factor (< 1500 U / ml) ภาวะ Hook effect จาก high dose PTH concentration ที่มากกว่า 17,000 pt/ml. หรือ 1802 pmol / L จะไม่เกิดขึ้น

ตารางแสดงคุณสมบัติต่างๆ ของ Elecsys intact PTH immunoassay

Dynamic Range	0 – 4000 pg/mL	Intra-Assay CV	> 3 pg/mL 4%
Detection Limit	0.5 pg/mL	Intra-Assay CV	> 11 pg/mL 3%
Function. Sens. (20% CV interassay)	1.5 pg/mL	Inter-Assay CV	> 3 pg/mL 5%
Sample Volume	50µL	Inter-Assay CV	> 11 pg/mL 3%
Sample	Serum/plasma	Ref. Method	RIA
TAT	20 min	Correlation	0.973 (n = 162)
Incubation 37 C	2 x 9 min.	Intercept	0.6 pg/mL
Hook Effect	> 10000 pg/mL	Slope	1.01

ข้อมูลนี้นำมาจาก Roche (Elecsys β-CrossLaps / Serum 2010) Diagnostic Company.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใบคำยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของการให้ยาแคลเซียมเสริมหลังอาหาร 2 มื้อ กับการให้ก่อนนอนครั้งเดียวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ C-terminal telopeptide crosslinks และระดับ PTH Levels ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกบางอายุ 60-70 ปี

<u>คำชี้แจงเกี่ยวกับงานวิจัย</u>

ภาวะกระดูกพรุนนับว่าเป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญของประเทศ โดยเฉพาะสาเหตุของโรคกระดูกพรุน จากภาวะชราภาพร่วมกับภาวะพร่องฮอร์โมนเพศในหญิงวัยหมดประจำเดือน ในระยะแรกของโรคนี้(ช่วงอายุ 60-70 ปี) ดังนั้นการป้องกันและการรักษาโรคกระดูกพรุน จึงมีความสำคัญโดยเฉพาะภาวะพร่องฮอร์โมนเพศในหญิงวัยหมดประจำเดือนช่วงอายุ 60 ปีขึ้นไป โดยพบว่าในภาวะนี้จะมีการลดลงของมวลกระดูก ซึ่งสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณแคลเซี่ยมในกระดูก ซึ่งนำมาถึงปัญหากระดูกหัก ที่เป็นปัญหาสำคัญของคนวัยนี้ การป้องกันควรเน้นที่การดูแลรักษาให้ความหนาแน่นของกระดูกก่อนวัย 60 ปี ให้มีมวลของกระดูกอยู่ในเกณฑ์ปกติอันเป็นพื้นฐานสำคัญ ส่วนผู้ที่อยู่หลังวัยอายุ 60 ปีจะมีการลดลงของมวลกระดูก เนื่องจากภาวะพร่องฮอร์โมนเพศนั้น การรักษาพบว่ามีความสำคัญ โดยมีการศึกษาถึงยาหลายชนิดในการรักษาภาวะกระดูกพรุนในวัยหมดประจำเดือน เช่น แคลเซี่ยม, เอสโตรเจน, แคลซิโตนิน, บิสฟอสฟอเนต, วิตามินดี

เนื่องจากแคลเซียมเป็นสารอาหารที่สำคัญในการเสริมสร้างเนื้อเยื่อกระดูก และมีผลต่อ peak bone mass รวมทั้งมีความสำคัญในการยับยั้งหรือลดอัตราการลดลงของมวลกระดูกทั้งก่อนและหลังวัยหมดระดู ดังนั้นการให้แคลเซี่ยมเสริม (Calcium supplement) จึงมีความสำคัญในหญิงวัยหมดระดู เนื่องจากการได้รับแคลเซียมที่เพียงพอเป็นพื้นฐานของการป้องกันและรักษาภาวะกระดูกพรุน นอกจากการให้ยาเสริมตัวอื่น ทั้งนี้พบว่าระดับของแคลเซี่ยมมีผลต่อการควบคุมระดับฮอร์โมน PTH ที่จะควบคุมภาวะกระดูกพรุนและพบว่าระดับฮอร์โมน PTH จะสูงสุดในช่วงเที่ยงคืน ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงต้องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน PTH ในเลือดหลังจากการให้แคลเซี่ยมเสริม โดยเปรียบเทียบการให้แคลเซี่ยมหลังอาหารเทียบกับก่อนนอน ซึ่งผู้เข้าร่วมโครงการจะได้รับประโยชน์จากการได้รับแคลเซี่ยมเสริมและการตรวจความหนาแน่นของกระดูกและการตรวจร่างกายเบื้องต้นโดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆ รวมทั้งข้อมูลของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์และเป็นแนวทางของการให้แคลเซี่ยมเสริมในหญิงวัยหมดประจำเดือนช่วงอายุ 60 ปีขึ้นไป

<u>คำชี้แจงเกี่ยวกับขั้นตอน วิธีการ ผลข้างเคียง และการปฏิบัติตัวในขณะเข้าร่วมการวิจัย</u>

ท่านที่สนใจจะเข้าร่วมการวิจัย โดยถ้าท่านเป็นหญิงวัยหมดประจำเดือนช่วงอายุ 60-70 ปี ท่านสามารถเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ได้ โดยแพทย์ของท่านจะอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยและให้เอกสารชุดนี้แก่ท่าน

ในช่วงที่ทำการวิจัย จะได้รับการนัดมาพบแพทย์ในตอนเช้า แพทย์ของท่านจะซักประวัติการเจ็บป่วยในอดีตและให้ท่านตอบแบบสอบถามเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงของโรคกระดูกพรุน ต่อจากนั้นท่านจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 10 mL เพื่อนำไปตรวจหาค่าระดับน้ำตาลในเลือด, ค่าการทำงานของไตและตับ, ระดับ
แคลเซี่ยมและฟอสฟอรัส ได้รับการตรวจปัสสาวะเบื้องต้น หลังจากนั้นท่านจะได้รับการตรวจร่างกายจากแพทย์โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆ และจะได้รับการตรวจวัดปริมาณความหนาแน่นของมวลกระดูกในวันเดียวกัน โดยใช้เวลาประมาณ 30 นาที ซึ่งมีผลต่อรังสีในปริมาณน้อยมากและไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย หลังจากนั้นผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะต้องเข้าร่วมโครงการแบ่งเป็น 3 ช่วง โดยแต่ละช่วงจะใช้ระยะเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ โดยแต่ละช่วงจะปฏิบัติเหมือนกันดังนี้โดยจะได้รับยาแคลเซี่ยมเสริม กลับไปรับประทานที่บ้าน หลังอาหารเช้า ,เย็น และก่อนนอนเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พร้อมกับนัดให้กลับมาพบแพทย์ 3 ครั้ง หลังรับยาแคลเซี่ยมเสริมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ นอกจากนี้จะมีการนัดให้มานอนโรงพยาบาล 2 ครั้ง โดยครั้งแรกหลังจากได้รับยาแคลเซียมเสริมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และครั้งที่สอง หลังจากได้รับยาแคลเซี่ยมเสริมหลังจากครั้งแรกเป็นเวลา 4 สัปดาห์ การนัดมานอนโรงพยาบาลเพื่อเจาะเลือดตรวจระดับฮอร์โมน PTH 24 hr. โดยมีการเจาะเลือดที่เวลา ก่อนอาหาร 1 ชั่วโมง 3 เวลา (8.00 น ,12.00 น , 18.00 น) และหลังอาหาร 1 ชั่วโมง 3 เวลา และ ช่วงนอนหลับที่เวลา 24.00 น , 2.00 น , 4.00 น และ 6.00 น รวมทั้งสิ้น 10 ครั้งต่อวัน นอกจากนั้นต้องมีการเก็บปัสสาวะทุกครั้งที่ถ่ายปัสสาวะใน 24 ชั่วโมง เพื่อดูระดับ collagen cross-link และ calcium ในปัสสาวะ 24 ชั่งโมง

ทั้งนี้การนอนโรงพยาบาลจะมีพยาบาลดูแล ในส่วนการตรวจระดับฮอร์โมน PTH 10 ครั้งต่อวัน จะทำการเจาะเส้นเลือดเพียงครั้งแรกครั้งเดียว หลังจากนั้นจะให้ Heparin lock เพื่อเลี้ยงเส้นเลือดไว้ เพื่อไม่ต้องเจาะเส้นเลือดทุกครั้ง การดำเนินการจะอยู่ในความดูแลของแพทย์และพยาบาล

<u>ประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับ</u>

1.ได้รับแคลเซี่ยมเสริมเพื่อรักษาภาวะกระดูกพรุน

2.ได้ทราบข้อมูลสุขภาพเบื้องต้นของท่านรวมทั้งความหนาแน่นของมวลกระดูกของท่าน

3.ข้อมูลจากการวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับแนวทางและวิธีการให้แคลเซี่ยมในการรักษาภาวะกระดูกพรุนในหญิงวัยหมดประจำเดือนช่วงอายุ 60-70 ปี

<u>คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิของผู้ป่วย</u>

การที่ท่านร่วมมือในโครงการนี้เป็นไปด้วยความสมัครใจของท่าน ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมการวิจัยถ้าหากไม่พึงประสงค์ และการตัดสินใจไม่เข้าร่วมโครงการวิจัยของท่านจะไม่มีผลกระทบต่อทัศนคติของแพทย์ที่มีต่อท่านและต่อการรักษาอื่นที่ท่านได้รับ ท่านจะได้รับการตรวจทุกชนิดโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ถ้าท่านสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัย ท่านต้องลงนามเพื่อยืนยันการเข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยและทั้งนี้ท่านสามารถถอนตัวจากการศึกษาวิจัยเมื่อใดก็ได้โดยข้อมูลส่วนตัวของท่านที่ได้ในระหว่างการวิจัยจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ ท่านจะได้รับแบบสำเนาแสดงความยินยอม หากท่านมีปัญหาหรือมีข้อสงสัยประการใด กรุณาติดต่อ แพทย์หญิงสมลักษณ์ จึงสมาน หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-256-4101 หรือที่เบอร์ 01-836-7528 ซึ่งยินดีให้คำตอบแก่ท่านทุกเมื่อ

<u>คำยินยอมของผู้ป่วย</u>

ข้าพเจ้าได้อ่านและได้รับคำอธิบายเกี่ยวกับโครงการวิจัยด้วยภาษาที่ข้าพเจ้าสามารถเข้าใจ พร้อมกันนี้ ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเกี่ยวกับเอกสารข้อมูลสำหรับผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัย และคำยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ข้าพเจ้าเข้าใจถึงลักษณะวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย พร้อมทั้งได้รับการอธิบายเกี่ยวกับขั้นตอนและประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

ข้าพเจ้าเข้าใจว่าการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เป็นไปด้วยความสมัครใจ ซึ่งข้าพเจ้าได้มีเวลาที่จะพิจารณาตัดสินใจในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ และข้าพเจ้ายินดีที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ จึงลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน

อาสาสมัคร ลงนาม_____วันที่_____/_____/_____

ชื่อและนามสกุลอาสาสมัคร_____ (กรุณาเขียนตัวบรรจง)

พยาน (เช่นญาติของอาสาสมัคร) ลงลายมือชื่อในนามของอาสาสมัคร

ข้าพเจ้า _____ เป็นพยานว่า

อาสาสมัครชื่อ _____ ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้

เมื่อวันที่ _____/_____/_____

เกี่ยวข้องกับอาสาสมัครในฐานะ _____

แพทย์ผู้ทำการวิจัย_____

แบบฟอร์มเก็บข้อมูลการวิจัย

ข้อมูลที่_____

1.ข้อมูลทั่วไป

เพศ_____ อายุ _____ ปี อาชีพ _____ ภูมิลำเนา _____

เหตุผลที่เข้าร่วมการศึกษาวิจัย _____

2.ข้อมูลส่วนตัว

โรคประจำตัว _____ เคยเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล _____

ยารักษาโรคที่ใช้ประจำ _____

สูบบุหรี่ _____ ดื่มสุรา _____

การรับประทานอาหารบางชนิด เช่น นม ไข่ ผักสด _____ วิตามินและอาหารเสริม_____

การออกกำลังกาย _____ จำนวนครั้งต่อสัปดาห์ _____

3. ข้อมูลที่ได้จากการตรวจร่างกาย

น้ำหนัก _____ กิโลกรัม ส่วนสูง _____เซนติเมตร BMI _____

ผลการตรวจร่างกาย_____

4.ข้อมูลจากผลทางห้องปฏิบัติการ

FBS _____ BUN/Cr _____ Calcium _____ Phosphorus_____

TB/DB _____ Albumin_____ SGOT/SGPT_____

U/A _____

BMD at Lumbar spine _____

Femoral neck _____

5.ข้อมูลจากการวิจัย

<u>ครั้งที่ 1 (เมื่อทานยาครบ 2 สัปดาห์แรก)</u>

PTH level (24 hr.) _____

ระดับ C-terminal telopeptide crosslinks (24 hr.) _____

ระดับ urinary calcium secretion (24 hr.) _____

ผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซียม _____

<u>ครั้งที่ 2 (เมื่อทานยาครบ 4 สัปดาห์)</u>

ระดับ C-terminal telopeptide crosslinks (24 hr.) _____

ระดับ urinary calcium secretion (24 hr.) _____

ผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซียม _____

<u>ครั้งที่ 3 (เมื่อทานยาครบ 6 สัปดาห์แรก)</u>

PTH level (24 hr.) _____

ระดับ C-terminal telopeptide crosslinks (24 hr.) _____

ระดับ urinary calcium secretion (24 hr.) _____

ผลข้างเคียงจากการรับประทานแคลเซียม _____

ใบเสร็จรับเงินค่าพาหนะ

ข้าพเจ้า……..…….…….. ได้เข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยเรื่องการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของการให้ยาแคลเซียมเสริมหลังอาหาร 2 มื้อ กับการให้ก่อนนอนครั้งเดียวเป็นเวลา 2 สัปดาห์ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ C–TERMINAL TELOPEPTIDE CROSSLINKS และ ระดับ PTH LEVELS ในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีภาวะกระดูกบางอายุ 60-70 ปี จนสิ้นสุดการศึกษาวิจัยเรียบร้อยแล้ว และได้ค่าพาหนะในการเดินทางมาร่วมการศึกษาวิจัย เป็นจำนวน …….. บาท (…….) ไว้ถูกต้องแล้ว

วันที่…….

ลงชื่อ……

(……..)

ผู้รับเงิน

ลงชื่อ……

(……..)

ผู้จ่ายเงิน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสมลักษณ์ จึงสมาน เกิดเมื่อวันที่ 14 กรกฎาคม พ.ศ. 2514 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี แพทยศาสตร์บัณฑิต จากคณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2539 แล้วเข้ารับราชการเป็นแพทย์ใช้ทุน ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุข ณ. รพ.สรรพสิทธิประสงค์ และ รพ. เขมราฐ จ. อุบลราชธานี ตามลำดับ ในปี พ.ศ. 2541 ได้เข้าศึกษาต่อ เป็นแพทย์ประจำบ้าน ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้รับวุฒิบัตรสาขาอายุรศาสตร์ในปีการศึกษา 2543 จากนั้นกลับไปรับราชการในสังกัดทบวงมหาวิทยาลัย ณ โรงพยาบาลศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขตองครักษ์ และได้เข้าศึกษาต่อในสาขาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาอายุรศาสตร์) และแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2545 ปัจจุบัน เป็นแพทย์ประจำบ้านต่อยอด ชั้นปีที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย