



# วารสาร เทคนิคการแพทย์ และกายภาพบำบัด

ISSN 0857-6653

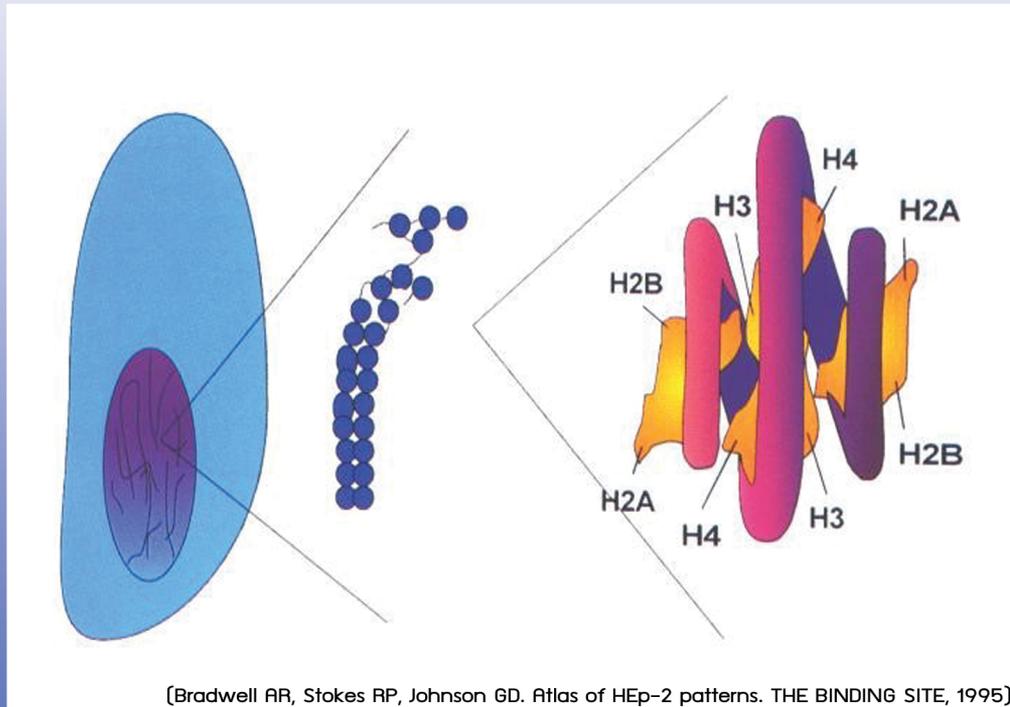
VOLUME 30 NUMBER 1 JANUARY - APRIL 2018

<http://www.tci-thaijo.org/index.php/ams>

**\*\*\* วารสารวิชาการระดับชาติที่ได้รับการรับรองคุณภาพจาก TCI และ สกว. \*\*\***

ปีที่ 30 ฉบับที่ 1

มกราคม - เมษายน 2561



[Bradwell AR, Stokes RP, Johnson GD. Atlas of HEp-2 patterns. THE BINDING SITE, 1995]

ภาพวาดแสดง “Histones” รวมอยู่ใน “DNA”



## วารสาร

# เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

### วัตถุประสงค์

1. เป็นสื่อกลางเผยแพร่วิชาการทางด้านเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด วิทยาศาสตร์การแพทย์ และสาขาอื่นที่เกี่ยวข้อง
2. ส่งเสริมความเข้าใจอันดีระหว่างนักเทคนิคการแพทย์ นักกายภาพบำบัด และบุคลากรทางการแพทย์

### เจ้าของและสำนักงาน

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

โทรศัพท์/โทรสาร 0-4320-2399, 0-4334-7482

### ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร. พิชรี เจียรนัยกูร

คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์

### กองบรรณาธิการ

บรรณาธิการ รศ.ดร. จูรีรัตน์ ดาดวง  
รองบรรณาธิการ ผศ.ดร. พลลพภูมิ์ ยงฤทธิปกรณ์  
กองบรรณาธิการ ศ.ดร. วีระระ กสิณฤกษ์  
รศ.ดร. สมชาย สันติวัฒนกุล  
รศ.ดร. อธิระชัย ธนานันต์  
รศ.ดร. อรุณวดี ชนะวงศ์  
ศ.ดร. เต็มดวง ลิ้มไพบูลย์  
รศ.ดร. วีชรินทร์ ลอยลม  
รศ.ดร. อาทิตย์ พวงมะลิ  
รศ.ดร. วิมลวรรณ เหียงแก้ว  
รศ.ดร. วิชัย อิงพินิจพงศ์  
รศ.ดร. สุภัทยา อมตฉายา  
ผศ.ดร. อุไรวรรณ ชัชวาลย์  
ผศ.ดร. อลงกต เอมะสิทธิ์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ  
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

### International Editorial Board

Assoc. Prof. Dr. Xingze Wang

Gannan Normal University, China

### กองจัดการ

ผู้จัดการ นางสาวชลธิศา พลทองมาก  
กรรมการ นางสาวสุทธิลักษณ์ พัดเพ็ง  
นายศุภกร ขรรค์แก้ว

### กำหนดออก ปีละ 3 ฉบับ

ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน

ฉบับที่ 2 พฤษภาคม – สิงหาคม

ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม

### พิมพ์ที่

โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

โทรศัพท์/โทรสาร 0-4320-2100



## วารสาร

# เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

### OBJECTIVES

1. To serve as a medium for propagating knowledge, technology and research in medical technology, physical therapy and health sciences.
2. To promote better understanding among medical technologists, physical therapists and other health personnels.

### OWNER AND OFFICE

Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University 40002

Tel./Fax. 0-4320-2399, 0-4334-7482

### ADVISORY

Assoc. Prof. Dr. Patcharee Jearanaikoon Dean, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

### EDITORIAL BOARD

<b>Editor</b>	Assoc. Prof. Dr. Jureerut Daduang	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
<b>Deputy Editor</b>	Assis. Prof. Dr. Ponlapat Yonglitthipagon	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
<b>Members</b>	Prof. Dr. Wachara Kasinrer	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
	Assoc. Prof. Dr. Somchai Santiwatanakul	Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University
	Assoc. Prof. Dr. Theerachai Thanananta	Faculty of Science and Technology, Thammasat University
	Assoc. Prof. Dr. Aroonwadee Chanawong	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
	Prof. Dr. Temduang Limpai boon	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
	Assoc. Prof. Dr. Watcharin Loilome	Faculty of Medicine, Khon Kaen University
	Assoc. Prof. Dr. Aatit Paungmali	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
	Assoc. Prof. Dr. Vimonwan Hiengkaew	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
	Assoc. Prof. Dr. Wichai Eungpinichpong	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
	Assoc. Prof. Dr. Sugalya Amatachaya	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
	Assis. Prof. Dr. Uraiwon Chatchawan	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
	Assis. Prof. Dr. Alongkot Emasithi	Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University

### International Editorial Board

Assoc. Prof. Dr. Xingze Wang Gannan Normal University, China

### MANAGEMENT BOARD

<b>Manager</b>	Chontisa Ponthongmak
<b>Members</b>	Sutthilak Phatpheng
	Supakorn Khankaew

### Publication 3 issues per year

Issue 1: January – April

Issue 2: May – August

Issue 3: September – December

### PRINTED AT

KKU Printing House, Khon Kaen University

Naimuang, Muang, Khon Kaen 40002 Thailand

Tel./Fax 0-4320-2100



## วารสาร

# เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

ปีที่ 30 ฉบับที่ 1 มกราคม - เมษายน 2561

## สารบัญ

หน้า

### บทความปริทัศน์

- แอนติบอดีต่อนิวเคลียสที่สำคัญทางคลินิกในปัจจุบัน 1  
วิญญู วงศ์ประทุม

### นิพนธ์ต้นฉบับ

- การขยายตัวของทรวงอกและท้องสัมพันธ์กับสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจในเด็กสมองพิการ 18  
นิตยา ทันรังกา, วัฒนทา ศิริธราธิวัตร, วนิดา ดรปัญญา, จตุรรัตน์ กันต์พิทยา, สุรัสวดี เบนเน็ตต์
- การสำรวจความชุกของปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบนและการจัดการทางการยศาสตร์ในผู้ใช้คอมพิวเตอร์ 29  
อรรพรรณ บุราณรักษ์, วิชัย อิงพินิจพงศ์, ศุภศาสตร์ คนหาญ, นิสาสล พลวาปี, ปัทมวรรณ ฉินตะเคียน
- การเดินบนพื้นผิวต่างๆ ทำทลายความสามารถของผู้สูงอายุในชุมชน 39  
ดลยา พรหมแก้ว, ลักขณา มาทอ, ทิวาพร ทวีวรรณกิจ, ปรีดา อารยาวิชานนท์, วิไลรัตน์ แสนสุข, และ สุกัลยา อมตฉายา
- การตรวจวัดความยาวของเทโลเมียร์จาก Pap smear ในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกด้วยเทคนิค SYBR-green quantitative real time PCR 47  
กนกอร จันทรัมย์, อรอนงค์ กฤษเพชรรัตน์, ณัฐยา แซ่อึ้ง, ยุพิน อนิวรรณอังกูร, สุทธิพรรณ กิจเจริญ, สุวิทย์ วงษ์เชียงขวาง, และ ภาณุพรรณณ์ กฤษเพชรรัตน์,
- ความสัมพันธ์ระหว่างการเข้าด้านจุลชีพต่อความเสี่ยงในการติดเชื้อ Klebsiella pneumoniae สายพันธุ์สร้างเอนไซม์ Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases 57  
นันทิพัฒน์ พัฒนโชติ, ทรงสิทธิ์ หอมไกร, ณรงค์ชัย สังชา, ศรีกฤต ภาควินาศ, วงษ์กลาง กุดวงษา, และ พงษ์เดช สารการ
- การเปรียบเทียบความสามารถทางกายระหว่างผู้สูงอายุที่กลัวและไม่กลัวการล้ม 70  
จิราภรณ์ วรรณปะเช, ปฎิเวธ คงไฟจิตรวงศ์, สิริพร ล้อมสมบุญ, อภิญญา ทองประสาท
- ปัจจัยที่มีผลต่อความไวในการตรวจวิเคราะห์ Dual Luciferase Reporter Assay เพื่อตรวจหาการควบคุมการแสดงออกของยีนในเซลล์ 293T 81  
วิภาพร วงศ์เพียง, กรรณิการ์ กัวหา, อมรรรัตน์ จำเนียรทรง, และ ชาญวิทย์ ลีลาวัฒน์



## วารสาร

# เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

ปีที่ 30 ฉบับที่ 1 มกราคม - เมษายน 2561

## สารบัญ

	หน้า
● การเปรียบเทียบคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดระหว่างผู้ที่สูบบุหรี่ระดับเล็กน้อยและระดับปานกลางโดยใช้ CALSA: การศึกษานำร่อง <i>ศิริมล กาจ, พลลพัฏฐ์ ยงฤทธิปกรณ์, วนิดา ตรีปัญหา, สุรัสวดี เบนเน็ตต์</i>	93
● ผลของการฝึกเต้นรณรงค์แบบประยุกต์ต่อการทรงตัวในผู้สูงอายุในชุมชน <i>เทอดขวัญ ปลุทวงษ์ชื่น, จุติมา แซ่ฮ้อ, ณัฐชยา มิ่งแก้ว</i>	108
● การตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในทารกแรกเกิดด้วยวิธีฟลูออเรสเซนส์สปีดและการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทีวิตีเปรียบเทียบกับ การตรวจหาการกลายพันธุ์ยีนจี-6-พีดี <i>ลัมฤทธิ์ แดงวิบูลย์, นพมาศ เข้มทองกลาง, และสุทธิพรรณ กิจเจริญ</i>	118



วารสาร

เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

VOLUME 30 NUMBER 1 JANUARY - APRIL 2018

## CONTENTS

	page
<b>REVIEW ARTICLE</b>	
● Up-to-date in Anti-Nuclear Abs for clinical use <i>Winyou Wongpratoom</i>	2
<b>ORIGINAL ARTICLE</b>	
● Chest wall and abdominal expansions are related to pulmonary function and respiratory muscle strength in children with cerebral palsy <i>Nittaya Tanrangka, Wantana Siritaratiwat, Wanida Donpunha, Jaturat Kanpittaya, Surussawadi Bennett</i>	19
● A survey of musculoskeletal disorder at neck and upper extremities and ergonomics management in computer users <i>Orawan Buranruk, Wichai Eungpinichpong, Kurusart Khonharn, Nisachon Ponwapi, Pattamawan Chintakian</i>	30
● Walking on different surfaces challenged ability of community-dwelling elderly <i>Donlaya Promkeaw, Lugkana Mato, Thiwabhorn Thaweewannaki, Preeda Arrayawichanon, Wilairat Saensook, Sugalya Amatachaya</i>	40
● Detection of telomere length from Pap smear in cervical cancer patients by SYBR-green quantitative real time PCR <i>Kanokorn Janngam, Onanong Kritpetcharat, Nattaya Sae-ung, Yupin Aniwat-agkoom, Suttiphan Kitcharoen, Suwit Wongchiangkhwang, Panutas Kritpetcharat</i>	48
● Association between antibiotics used and risk of extended-spectrum $\beta$ -lactamases Klebsiella pneumoniae Infection <i>Nuntiput Putthanachote, Songsith Homkrai, Norongchai Sangsa, Srikrit Pakmaruek, Wongklang Kudwongsa, Pongdech sarakarn</i>	58
● Comparison of physical abilities in elderly with and without fear of fall <i>Jirabhorn Wannapakhe, Patiweth Kongpijitwong, Siriporn Lomsomboon, Apinya Thongprasart</i>	71
● Factors affecting sensitivity of dual luciferase reporter assay for detection	82



วารสาร

เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

VOLUME 30 NUMBER 1 JANUARY - APRIL 2018

of gene regulation in 293T cells

*Wipaporn Wongfien, Kunnika Kuaha, Amonrat Jumnainsong, Chanvit Leelayuwat*

---

## CONTENTS

	page
● Comparison of crackle characteristics in the lungs between mild and moderate smokers using CALSA: a pilot study <i>Siwimon Kaju, Ponlapat Yonglitthipagon, Wanida Donpunha, Surussawadi Bennett</i>	95
● Effect of modified Ronggeng practice on dynamic balance in community-dwelling elderly people <i>Theardkwan Plukwongchuen, Thitima Senghora, Natchaya Mingkaew</i>	109
● Comparison of fluorescent spot test and G-6-PD activity assay versus G-6-PD mutation analysis for detection of <i>G-6-PD</i> deficiency in newborns <i>Samrit Dangwibul, Noppmats Khemtonglang, Suttiphan Kitcharoen</i>	119



## แอนติบอดีต่อนิวเคลียสที่สำคัญทางคลินิกในปัจจุบัน

วิญญู วงศ์ประทุม<sup>1\*</sup>

Received: September 28, 2017

Revised: March 13, 2018

Accepted: March 14, 2018

### บทคัดย่อ

แอนติบอดีต่อนิวเคลียส หรือ LE factor ในอดีตเมื่อกว่า 60 ปีที่ผ่านมาถือเป็นภูมิคุ้มกันต้านทานต่อตัวเองชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อโรคตามอวัยวะต่าง ๆ มากมาย อาทิ ในโรค SLE ซึ่งแต่เดิมมีความเข้าใจโดยทั่วไปว่าหมายถึงกลุ่มแอนติบอดีต่อของตัวเฉพาะในส่วนต่าง ๆ ที่อยู่ในนิวเคลียส แต่ในปัจจุบันข้อมูลการตรวจทางคลินิกมากขึ้น ได้รวมเอาแอนติบอดีต่อสารต่าง ๆ บริเวณไซโตพลาสซึมของเซลล์ตามอวัยวะต่าง ๆ เข้าไปด้วย โดยในส่วนที่มีความสำคัญและนำไปใช้ประโยชน์เพื่อประกอบการวินิจฉัย รักษา และพยากรณ์โรครูมาติกที่พบบ่อย ได้แก่ Anti-dsDNA Ab ออโต้แอนติบอดีในกลุ่ม Anti-ENA Ab โดยเฉพาะ Anti-Sm Ab Anti-U1-RNP Ab Anti-SSA/Ro Ab Anti-SSB/La Ab Anti-centromere Ab และ Anti Scl-70 Ab และสำหรับออโต้แอนติบอดีต่อสารในไซโตพลาสซึมที่สำคัญ ได้แก่ Anti-Ribosomal P Ab Anti-Jo-1 Ab Anti-Mitochondria Ab และ Anti-Actin Ab แอนติบอดีเหล่านี้มีลักษณะและองค์ประกอบสำคัญหลายประการ มีเทคนิคการตรวจที่จำเพาะและมีความไวที่ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในการนำไปใช้ประโยชน์ทางคลินิกก็มีข้อควรระวัง และข้อจำกัดมากขึ้น ดังนั้น การตรวจแอนติบอดีในกลุ่ม ANA จึงได้กำหนดเป็นแนวปฏิบัติคือให้ตรวจ IF-ANA เป็นการตรวจกรองเบื้องต้น หากพบผลเป็นบวกตามลักษณะรูปแบบ (pattern) จะนำไปตรวจ Anti-dsDNA Ab ด้วยวิธี IF และตรวจ Anti-ENA Ab ด้วยวิธี LIA และ/หรือ EIA/ELISA แล้วแต่กรณีต่อไป

แม้ผลการตรวจ ANA จะมีความถูกต้องมากขึ้น แต่ก็ยังถือเป็นข้อมูลหนึ่งในคำแนะนำ (Guideline) สำหรับประกอบการวินิจฉัย ดังนั้นเพื่อความถูกต้อง และเป็นประโยชน์ทางคลินิกอย่างสูงสุด ยังคงต้องใช้พิจารณาร่วมกับข้อมูลอื่นของผู้ป่วยแต่ละรายด้วยเช่นเดิม

**คำสำคัญ :** แอนติบอดีต่อนิวเคลียส, แอนติบอดีต่อตัวเอง, โรครูมาติก

<sup>1</sup> สหายวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\* ผู้รับผิดชอบบทความ



## Up-to-date in Anti-Nuclear Abs for clinical use

Winyou Wongpratoon<sup>1\*</sup>

### Abstract

Anti-Nuclear Ab (ANA) or LE factor in the past 60 year is a group of autoantibodies involved in the pathology of many organs in rheumatic diseases particular in SLE. Regarding to several accumulated clinical datas from CTD, nowadays it is accepted that they compose of antibodies against not only to nuclear components but also to many substances in cytoplasm of cell. The anti-dsDNA Ab, many antibodies in Anti-ENA Ab particular Anti-Sm Ab, Anti-U1-RNP Ab, Anti-SSA/Ro Ab, Anti-SSB/La Ab, Anti-centromere Ab and Anti Scl-70 Ab are the most clinical significant autoantibodies. Anti-Ribosomal P, anti-Jo-1 Ab, anti-Mitochondria Ab and anti-Actin Ab are autoantibodies against cytoplasmic components. All can be detected by IF-ANA, IF-Anti dsDNA Ab, Line Immunoassay (LIA) and/or EIA/ELISA. However, the use must carefully applied in clinical laboratory i.e, IF-ANA as found initially positive, the proper LIA and EIA/ELISA will be selected along with algorithmic approach for ANA testing. Even ANA results are more validity than ever, it is still accepted as a data criteria for guideline of the clinical diagnosis, follow-up and prognosis for CTD in the present.

**Keywords :** Anti-Nuclear Antibody, Autoantibodies, Rheumatic diseases

---

<sup>1</sup> Division of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

\* Corresponding author (e-mail : winyou@kku.ac.th)

## บทนำ

Anti-Nuclear Ab (ANA) เป็นแอนติบอดีต่อตัวเองที่พบมานานกว่า 60 ปี โดยพบร่วมกับกลุ่มโรคเกี่ยวกับเนื้อเยื่อ (Connective tissue diseases) และ ในปี ค.ศ. 1948 หรือ พ.ศ. 2491 Hargraves และคณะ<sup>(1)</sup> ได้ค้นพบปรากฏการณ์ LE cell ในไขกระดูกของผู้ป่วยในกลุ่มโรคนี้ เป็นครั้งแรกซึ่งเกิดจากการกินเศษนิวเคลียสของเม็ดเลือดขาวตัวเอง โดยให้สมมุติฐานว่า ปรากฏการณ์นี้มีปัจจัยเป็นสารบางอย่างในผู้ป่วย ซึ่งในครั้งนั้นให้ชื่อว่า “LE factor” และต่อมาในภายหลัง นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการค้นคว้าวิจัยเพิ่มเติม สรุปได้ว่า “LE factor” ดังกล่าวนั้นคือ แอนติบอดีต่อนิวเคลียส หรือ Anti-nuclear antibodies หรือ ANA นั่นเอง และใช้การทดสอบการเกิด “LE phenomenon” ในห้องปฏิบัติการเป็นหลักฐานประกอบการวินิจฉัยโรคในกลุ่มนี้ว่ามีผลจากภูมิคุ้มกันต่อตัวเอง

ตั้งแต่ปี 1957 เป็นต้นมา การตรวจ ANA ใช้วิธี Indirect immunofluorescent (IFA) และมีการพัฒนาแอนติเจน หรือสับสเตรตในการวิเคราะห์ให้ดีขึ้นเป็นลำดับ จนในปัจจุบันได้รับการยอมรับให้เป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard) เพื่อใช้วินิจฉัยสาเหตุของโรคดังกล่าว เพราะมีความไว และความจำเพาะสูงชันกว่า LE phenomenon ผลบวกที่พบยังมีได้หลายลักษณะ (patterns) สามารถนำมาใช้วินิจฉัยแยกโรคต่าง ๆ ในกลุ่มนี้ได้หลากหลาย นอกจากนั้นระดับไตเตอร์ยังสามารถใช้เพื่อความมั่นใจในการวินิจฉัยโรคได้มากขึ้นอีกด้วย อย่างไรก็ตามบางห้องปฏิบัติการอาจตรวจวัดด้วยวิธี Enzyme linked immunoassay (ELISA) แทนได้ แต่ไม่สามารถบอกรูปแบบผลบวก และอาจพบผลบวกปลอมได้มากกว่าเทคนิค IFA ในยุคเริ่มแรกเข้าใจว่า ANA หมายถึงกลุ่มแอนติบอดีต่อองค์ประกอบต่างๆ ของนิวเคลียสในเซลล์ของตัวเองเท่านั้น แต่หลังจากมีการใช้ IFA เรื่อยมาจนในปัจจุบัน แอนติบอดีต่อองค์ประกอบของเซลล์แต่อยู่ในส่วนไซโตพลาสซึม (Cytoplasmic components) ก็ให้ถือรวมเป็น ANA ด้วยเช่นกันเพราะสามารถนำมาวินิจฉัย และประกอบการรักษาโรคในกลุ่ม Connective tissue diseases ได้อีกหลายโรค ดังนั้นบทความนี้จึงขอกล่าวทบทวนถึง ANA ที่แบ่งเป็น

กลุ่มย่อยตามแอนติเจนที่เป็นองค์ประกอบของนิวเคลียส และไซโตพลาสซึมได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) ได้แก่ แอนติบอดีต่อส่วนแอนติเจน (Antigenic sites) บนกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Anti-deoxyribonucleic acid antibodies; Double-stranded หรือ Single-stranded DNA) และแอนติบอดีต่อกรดไรโบนิวคลีอิก (Anti-ribonucleic acid antibody ; RNA )

กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนเบสในนิวเคลียส (Basic nuclear proteins) ได้แก่ แอนติบอดีต่อโปรตีนฮิสโตน (Histone protein)

กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนกรดในนิวเคลียส (Acidic nuclear proteins) ได้แก่แอนติบอดีต่อโปรตีนที่ไม่ใช่ฮิสโตน (Non-histone protien) หรือ โปรตีนที่สามารถสกัดจากเซลล์ได้โดยง่ายด้วยน้ำเกลืออนอร์มัลหรือปัจจุบันนิยมเรียกโปรตีนรวมๆในกลุ่มนี้ว่า “Extractable nuclear antigens” หรือ “ENAs” ซึ่งแอนติบอดีต่อโปรตีนส่วนนี้มีหลายชนิด แต่ที่มีความสำคัญทางการแพทย์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มได้แก่

กลุ่มที่เรียกตามชื่อผู้ป่วยรายแรกที่ค้นพบ อาทิ แอนติบอดีต่อส่วนแอนติเจนสมิท (Anti-Smith antibody; Anti-Sm Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน Sjögren syndrome-A/Ro (Anti-SS-A antibody, Anti-Ro Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน Sjögren syndrome-B/La (Anti-SS-B antibody, Anti-La Ab) เป็นต้น

กลุ่มที่เรียกตามองค์ประกอบของเซลล์ หรือชื่อโรค ได้แก่ แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนไรโบนิวคลีอิก (Anti-ribonucleoprotein antibody; Anti-RNP Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน เอส ซี แอล เจ็ดสิบ (Anti-Scl-70 Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนบนเซ็นโตรเมียร์ (Anti-centromere Ab) แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน พี เอ็ม เอส ซี แอล (Anti-PM-Scl Ab) ฯลฯ เป็นต้น

กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนไซโตพลาสซึม (Cytoplasmic components) ได้แก่ แอนติบอดีต่อไมโทครอนเดียร์ (Mitochondria) แอนติบอดีต่อสาร Jo-1 หรือ แอนติเจนที่เกิดใหม่ขณะที่ t-RNA เกาะกับฮิสติดีน (Histidyl

cognated t-RNA) แอนติบอดีต่อไรโบโซม (Ribosome) ในผู้ป่วย SLE และแอนติบอดีต่อสาร filament ต่าง ๆ ที่มีบทบาทสำคัญในระบบ cytoskeleton ของเซลล์ ฯลฯ เป็นต้น

แอนติบอดีแต่ละชนิดในแต่ละกลุ่มที่กล่าวมา ส่วนมากเป็น IgG แต่อาจพบเป็น IgM ได้บ้าง ทุก class มีบทบาทสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยเกิดพยาธิอาการ สามารถพบได้เสมอในผู้ป่วยกลุ่มโรคภูมิตก หรือโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ฯลฯ (ตารางที่ 1) แต่อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันแม้จะมีงานค้นคว้าวิจัยโรคต่าง ๆ ในกลุ่มนี้มากมาย แต่ก็ยังไม่ทราบสาเหตุของกลไกการสร้างที่แน่ชัดได้

ตารางที่ 1 แสดง ANA ชนิดต่างๆ กับอัตราการตรวจพบด้วยวิธี IFA ในโรคภูมิตกแต่ละโรคที่พบบ่อย

Antibody Specificity	Active SLE	MCTD	PSS	CREST	1° Sjögren syndrome	RA	Drug Induced LE
ANA	> 95%	> 95%	70-90%	60-90%	> 70%	40-50%	100%
Anti-ds DNA Ab	60%	neg	neg	neg	neg	rare	neg
Anti-Sm Ab	30%	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Anti-RNP Ab	30%	> 95% (high titer)	common (low titer)	neg	Rare (low titer)	rare	10-20% (low titer)
Anti-Centromere Ab	rare	rare	10-15%	60-90%	neg	neg	neg
Anti-Ro (SS-A) Ab	30%	rare	rare	neg	70%	rare	neg
Anti-La (SS-B) Ab	15%	rare	rare	neg	60%	rare	neg
Anti-Nucleolar Ab	occas.	neg	common	neg	occas.	rare	neg
Anti-Scl-70 Ab	neg	neg	10-20%	neg	neg	neg	neg
Anti-Histone Ab	60%	neg	occas.	occas.	neg	20%	95%

Common = พบได้บ่อยเป็นธรรมดา Occas. = พบได้บ้างบางครั้งโอกาส Rare = โอกาสพบได้ยาก

แม้โดยทั่วไปจะเข้าใจว่า แอนติบอดีเหล่านี้จัดเป็นแอนติบอดีที่ไม่ปกติ เป็นอันตรายต่อตัวเอง แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ในคนปกติ โดยเฉพาะผู้สูงอายุ หรือสตรีบางคน และในผู้ป่วยโรคอื่นที่ไม่ใช่โรคในกลุ่มภูมิตกที่มีสาเหตุจากกลไกผิดปกติทางภูมิคุ้มกันตนเอง ก็สามารถตรวจพบแอนติบอดีเหล่านี้ได้บ้างเช่นกัน แต่จะพบในปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

### 1. กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid)

ตามหลักการโดยทั่วไปแล้ว หากเปรียบเทียบสารที่มีคุณสมบัติทางชีวเคมีต่างๆ กับคุณสมบัติความเป็นแอนติเจน (Antigenicity) แล้ว สารที่เป็นกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) จะมีคุณสมบัติต่ำสุด ในขณะที่สารในกลุ่มไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนจะแสดงคุณสมบัติดังกล่าว

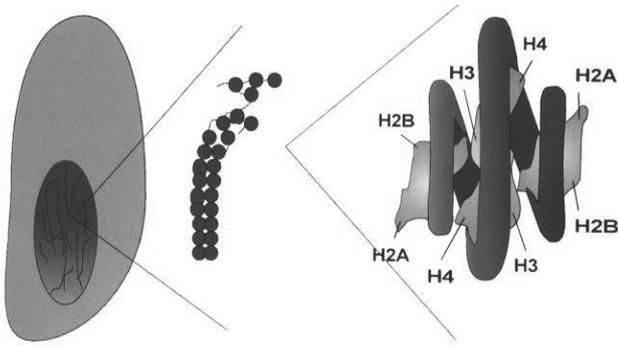
มากขึ้นเป็นลำดับ ในธรรมชาติ กรดนิวคลีอิกจะเป็นสารที่อยู่ส่วนในสุดของเซลล์ ถ้าเป็นเซลล์พวก Eukaryotic cells หรือเซลล์ในสัตว์ชั้นสูง จะถูกห่อหุ้มด้วยผิวเมมเบรนของเซลล์ก่อตัวเป็นออร์แกเนล (Organelle) ที่เรียกว่า “นิวเคลียส” ไว้ภายในอีกชั้นหนึ่ง ดังนั้น โอกาสที่กรดนิวคลีอิกจะออกมานอกเซลล์ สัมผัสกับเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เพื่อให้เกิดภูมิคุ้มกันทางาน จึงมีความเป็นไปได้ค่อนข้างน้อย แต่จะด้วยกลไกใดก็ตาม เมื่อเกิดภูมิคุ้มกันต่อสารนี้แล้ว แอนติเจนบนกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกจะสามารถกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีได้มากกว่ากรดไรโบนิวคลีอิก และสามารถกระตุ้นได้โดยลำพัง ไม่เหมือนกรดไรโบนิวคลีอิกที่จะต้องร่วมกับโปรตีนอื่นๆ จึงจะสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อตัวมันเองได้ ซึ่งจะได้กล่าวในรายละเอียดร่วมกับกลุ่มแอนติบอดีอื่นอีกต่อไป

แอนติบอดีต่อกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก หรือ Anti-double stand DNA Ab; Anti-dsDNA Ab หรือ Anti-native DNA Ab; Anti-nDNA Ab เป็นแอนติบอดีที่พบมากที่สุดของผู้ป่วยโรค SLE สามารถตรวจได้ด้วยเทคนิค IFA คล้ายการตรวจ ANA แต่ใช้เชื้อโปรโตซัว คือ *Cristhedia luciliae* ที่มี organelle คือ Kinetoplast ซึ่งเป็น native DNA แทน จากวิธีดังกล่าวมีงานวิจัยบางแห่งพบผู้ป่วย SLE มี Anti-dsDNA Ab ได้เกือบ 100 %<sup>(2)</sup> แต่โดยทั่วไปจะพบในช่วง 25-85%<sup>(3)</sup> แล้วแต่กลุ่มประชากรที่ศึกษา ระดับไตเตอร์ของ Anti-dsDNA Ab ยังถือว่ามีความสำคัญตามพยาธินาการ SLE ด้วย กล่าวคือระดับไตเตอร์สูงจะเป็นเครื่องบ่งชี้ชัดเจนว่าผู้ป่วยกำลังเป็น active SLE โดยเฉพาะถ้าพบมีระดับคอมพริเมนต์ C3 ต่ำร่วมด้วย<sup>(4)</sup> และนอกจากนั้น Anti-dsDNA Ab ที่ไตเตอร์สูงมักพบใน SLE ที่มีอาการทางไตร่วมด้วยเสมอ เพราะ Anti-dsDNA Ab มักเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross reactive) สามารถจับได้กับสารแอนติเจนบน Glomerular basement membrane ของไต ได้แก่ Heparan sulphate สาร Collagen V สาร Fibronectin และสาร Laminin จากนั้นจะเกิดขบวนการ internalized โดยเซลล์ที่สามารถทำให้ T cell เข้าไปก่ออาการอักเสบ (inflammation) ที่อาจทำให้ไตล้มเหลวได้ (Renal failure)

สำหรับ Anti-single-stranded DNA (ssDNA) Ab นั้น ตำแหน่งเบส purine และ pyrimidine จะเป็นบริเวณที่แอนติบอดีสามารถเข้าจับได้ โดยเฉพาะในกรณีที่กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิกไม่อยู่ในสภาพปรกติ (Denatured DNA) ยกตัวอย่างเช่น ในกรณีผู้ป่วยได้รับผลข้างเคียงจากยาบางชนิดแล้วมีอาการลูปัส เป็นต้น แอนติบอดีนี้ไม่สำคัญทางคลินิกนัก เพราะเมื่อผู้ป่วยหยุดยา ก็จะหายจากอาการเหล่านี้ไปได้เอง

## 2. กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนเบสในนิวเคลียส (Basic nuclear proteins)

ได้แก่ แอนติบอดีต่อโปรตีนฮิสโตน (Histones) ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญในการยึดตรึงสายเกลียวคู่ของ ดีเอ็นเอไว้ (รูปที่ 1) โปรตีนนี้ประกอบด้วยส่วนแอนติเจน (Antigenic sites หรือ Epitopes) หลายส่วนคือ H2A H2B H3 และ H4 แต่ส่วนที่มีความสำคัญคือส่วน H2A-H2B ซึ่งเมื่อรวมกับสายดีเอ็นเอ จะประกอบกันเป็น [H2A-H2B]-DNA complex หรือ Deoxyribonucleoprotein (DNP) สามารถจับกับแอนติบอดีที่จำเพาะ คือ Anti-DNP Ab ได้ ตามปรกติแอนติบอดีต่อโปรตีนเหล่านี้จะไม่มีในเลือด แต่จะมีโอกาสพบได้มากขึ้นในกรณีผู้ป่วยใช้ยาบางชนิด โดยเฉพาะยา Procainamide และ Hydralazine ฯลฯ แอนติบอดีชนิดนี้ไม่สามารถกระตุ้นคอมพริเมนต์ได้ดีเหมือน Anti-dsDNA Ab ดังนั้นผู้ป่วยจะมีพยาธินาการเป็นโรคลูปัสที่เรียกว่า “Drug induced SLE” ได้เท่านั้น ซึ่งจากการศึกษาพบได้ 75- 95 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผู้ป่วยนี้ อย่างไรก็ตาม Anti-DNP Ab ยังพบได้อีกในผู้ป่วยที่เป็น idiopathic SLE ถึง 75% พบใน Rheumatoid arthritis 20% ใน Juvenile chronic arthritis และใน Progressive systemic sclerosis ได้ด้วย<sup>(5, 6)</sup>



รูปที่ 1 ภาพวาดแสดง “Histones” รวมอยู่ใน “DNA” <sup>(10)</sup>

### 3. กลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนกรดในนิวเคลียส (Acidic nuclear proteins)

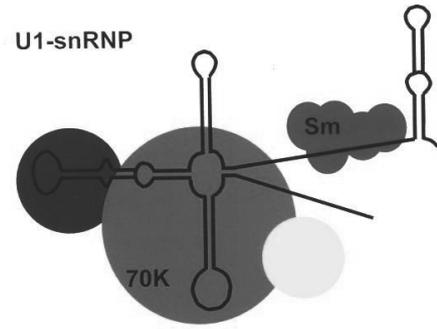
ดังเช่นที่กล่าวข้างต้น แอนติบอดีเหล่านี้คือกลุ่มแอนติบอดีต่อโปรตีนที่ไม่ใช่ฮิสโตน (Non-histone protien) หรือ “Anti-Extractable nuclear antigens (Anti-ENA Abs)” ได้แก่

#### 3.1 แอนติบอดีต่อส่วนแอนติเจนสมิทท์

##### (Anti-Smith antibody; Anti-Sm Ab)

“Smith antigen” หรือ “Sm Antigen” เป็นแอนติเจนที่พบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1966 <sup>(7)</sup> ในผู้ป่วย SLE หญิงสกุล “สมิทท์” แอนติเจนนี้เป็นส่วน core units ของกลุ่ม “small nuclear ribonucleoproteins (snRNP; RNA with core units termed A-G Proteins)” โดยจะอยู่ร่วมกับ Uridine-rich RNA ซึ่ง U-snRNA นี้ยังสามารถแบ่งได้อีกเป็น 5 ชนิดย่อยๆ (Species) คือ U1-snRNA U2-snRNA U4-snRNA U5-snRNA หรือ U6-snRNA อย่างไรก็ตาม Anti-Sm Ab มักพบว่าจับกับ B B’ และ D unit ของ U1-snRNP เป็นส่วนใหญ่ เพราะมีลักษณะบางส่วนคล้ายโปรตีนแอนติเจนของเชื้อไวรัส Epstein-Barr ที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุชักนำให้เกิดโรค SLE ตามกลไกการเกิดภูมิคุ้มกันตัวเองแบบ molecular mimicry <sup>(8, 9)</sup>

ตามปกติ Sm antigen ที่อยู่ร่วมกับ U1-snRNP (รูปที่ 2) จะก่อตัวเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ “Spliceosome” ซึ่งมีความสำคัญในขบวนการสร้างแมสเซนเจอร์อาร์เอ็นเอให้สมบูรณ์ (Mature messenger RNA)



รูปที่ 2 ภาพวาดแสดง “Sm antigen” รวมอยู่ใน “U1-snRNP complex” <sup>(10)</sup>

ในผู้ป่วย SLE บางคน โดยเฉพาะในกลุ่มนิโกรหรือ ผิวดำ (Blacks) มักจะมีโอกาสพบแอนติบอดีต่อ Sm antigen (Anti-Sm Ab) ได้มาก แต่จากการศึกษาในภาพรวม พบว่า มีผู้ป่วย SLE มากถึง 20-30 เปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบ Anti-Sm Ab (ขึ้นอยู่กับเทคนิคการตรวจของห้องปฏิบัติการนั้นๆ) การตรวจพบ Anti-Sm Ab จัดว่าเป็นการตรวจที่มีความจำเพาะต่อผู้ป่วย SLE เป็นอย่างมากคือพบความจำเพาะสูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ <sup>(3)</sup> เพราะยังไม่เคยพบ Anti-Sm Ab ในผู้ป่วยอื่นอีกเลย นอกจากนั้น การตรวจพบ Anti-Sm Ab ยังเป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะ SLE ที่เกี่ยวข้องกับอาการทาง Central nervous system ภาวะทางไต ภาวะผังพืดที่ปอด (Lung fibrosis) ภาวะอักเสบของกล้ามเนื้อหัวใจ (Pericarditis) แต่ไม่มีหลักฐานยืนยันเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรค (Severity)

#### 3.2 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนไรโบนิวเคลียส (Anti-Ribonucleoprotein antibody; Anti-RNP Ab)

##### (Anti-Ribonucleoprotein antibody; Anti-RNP Ab)

RNP เดิมเคยเรียกแอนติเจนนี้ว่า “Mo” หรือ “nRNP” แต่ในความหมายของการตรวจแอนติบอดีต่อนิวเคลียสในปัจจุบันนี้ จะหมายถึงไรโบนิวคลีโอโปรตีนที่เป็น “U1-snRNP” กับ A และ C core units รวมกันอยู่ และทั้งหมดนี้จะประกอบกันเป็นส่วนหนึ่งของ Sm-snRNP complex (รูปที่ 2) <sup>(11)</sup> และมีบางส่วนเหมือนแอนติเจนของ EBV ชักนำให้เกิด Anti-RNP Ab ได้ด้วยกลไก molecular mimicry คล้ายการเกิด Anti-Sm Ab สาร

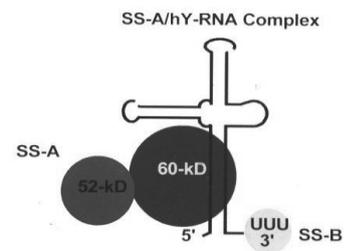
U1-snRNP เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในขั้นตอนแรกของ ขบวนการ “mRNA splicing” บน Spliceosome

แม้ว่า Sm Antigen และ RNP antigen ใน U1-snRNP complex จะอยู่ร่วมกัน แต่ในผู้ป่วยที่มี Anti-RNP Ab แต่เพียงอย่างเดียว จะมีผลทำให้โปรตีนส่วน “Sm” ไม่แสดงสถานะเป็นแอนติเจน

Anti-RNP Ab พบได้มากในผู้ป่วยเกือบทุกราย ที่มีกลุ่มอาการของโรครูมาติก โดยเฉพาะผู้ป่วยที่เป็น Mixed connective tissue diseases (MCTD) กล่าวคือ พบได้มากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย และสามารถตรวจพบได้ในปริมาณไตเตอร์สูงๆ (ตารางที่ 1) แต่อย่างไรก็ตาม ในผู้ป่วยอื่นก็สามารถตรวจพบได้เช่นกัน แต่จะพบในปริมาณต่ำๆ และมีบทบาทในการพยาธิอาการของโรค เหล่านั้นน้อยมาก ตัวอย่างเช่น ในผู้ป่วย SLE พบได้เพียง ประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ผู้ป่วยโรค Scleroderma Dermatomyositis Sjögren syndrome และ Rheumatoid arthritis (RA) จะมีโอกาสตรวจพบ ในจำนวนเปอร์เซ็นต์ที่น้อยลงไป

### 3.3 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน Sjögren syndrome-A/Ro (Anti-SS-A antibody, Anti-Ro Ab)

แอนติเจน SS-A หรือ “Ro” เป็นโปรตีน ขนาด 45 kDa 52 kDa 54 kDa และ 60 kDa แต่ 60 kDa และ 52 kDa ร่วมกับ small Y-RNA จำนวน 5 ชุด (Y = cytoplasmic) จัดเป็นแอนติเจนที่ชักนำให้เกิด Anti-SS-A Ab ได้มากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 3 แอนติเจนนี้จะอยู่ร่วมกับ small Y-RNA เดียวกันกับ แอนติเจน SS-B หรือ “La” ที่อยู่ด้าน 3'-end ของ small Y-RNA รวมตัวเป็น “SS-A/SS-B complex” ซึ่งส่วนใหญ่พบกระจายอยู่ตามส่วนไซโตพลาสซึมของเซลล์ แต่อย่างไรก็ตาม ในบริเวณนิวเคลียส ก็พบได้เช่นกัน ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่การทำงานของโปรตีนแอนติเจน SS-A นี้อย่างแน่ชัด



รูปที่ 3 ภาพวาดแสดง “SS-A/SS-B complex”<sup>(10)</sup>

แอนติเจน SS-A นี้มีคุณสมบัติละลายได้ง่ายใน เมทิลแอลกอฮอล์ (Methanol) ดังนั้นในการตรวจ ANA ด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ (จะกล่าวในภายหลัง) ที่อาศัยซับสเตรดที่ถูกรีด (fixed) ด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ โดยมากมักจะตรวจไม่พบ หรือให้ผลตรวจ ANA เป็นลบปลอมเสมอ

ความสำคัญในทางคลินิกพบว่า ในผู้ป่วยที่เป็นโรค Sjögren syndrome ในระยะเริ่มแรก (Primary) จะตรวจพบ Anti-SS-A Ab หรือ Anti-Ro Ab ได้มากถึง 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังพบได้ในผู้ป่วย SLE กล่าวคือ พบมากถึง 40 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผู้ป่วย การพบ Anti SS-A Ab ในผู้ป่วย SLE นี้ นับว่ามีความสำคัญในทาง คลินิกอยู่ 3 ประการ คือ 1. มักพบในราย SLE ที่มีอาการทางผิวหนัง หรือ Subacute cutaneous lupus 2. ในราย SLE ที่มีคอมพริเมนต์ C2 และ C4 ต่ำ (deficiency) และ 3. ในราย SLE ที่อยู่ระหว่างตั้งครรภ์ ซึ่งหากตรวจพบใน ปริมาณมากๆ และพบร่วมกับ Anti-SS-B Ab ด้วยแล้ว จะเป็นสัญญาณบ่งชี้ถึงโอกาสเกิดลูปัสในเด็ก (neonatal lupus syndrome) ที่อาจถึงแก่ชีวิตด้วยภาวะ Congenital heart block ได้ หรือหากเด็กเกิดมาแล้วรอดชีวิต อาจจะมีอาการของลูปัสทางผิวหนังที่ไวต่อแสงแดดร่วมด้วย (Photosensitive dermatitis in the newborn)

Anti-SS-A Ab สามารถตรวจพบในกลุ่มโรครูมาติกอื่นได้บ้าง เช่น MCTD Scleroderma และ RA ฯลฯ แต่จะพบในปริมาณที่น้อย ไม่มีความสำคัญถึงการแสดงทางพยาธิอาการแต่อย่างใด

### 3.4 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน Sjögren syndrome-B/La (Anti-SS-B antibody, Anti-La Ab)

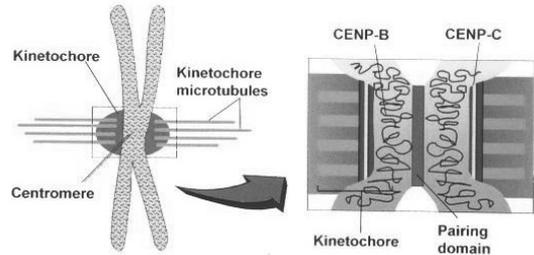
แอนติเจน SS-B หรือ “La” เป็นฟอสโฟโปรตีนในนิวเคลียส (Nuclear phosphoprotein) ขนาด 45-47 kDa พบทางด้าน 3'-end ของ small Y-RNA (รูปที่ 3) มีหน้าที่หยุดการ Transcription ของ RNA polymerase III จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า องค์ประกอบบางส่วนของ SS-B มีลักษณะคล้าย Retroviral gag protein สามารถชักนำให้เกิด Anti-SS-B Ab ได้ด้วยกลไก Molecular mimicry<sup>(12, 13)</sup>

แอนติบอดีต่อ SS-B หรือ Anti-SS-B Ab หรือ Anti-La Ab พบได้มากถึง 60 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย Sjögren syndrome รองลงไปคือผู้ป่วย SLE พบประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ และ Scleroderma พบประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ความสำคัญทางคลินิกอื่นนอกจากที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคที่กล่าวแล้ว การตรวจพบ Anti-SS-B Ab ยังใช้ประโยชน์ในกรณีการวินิจฉัยแยกโรค Sjögren syndrome และ SLE กล่าวคือ ในกรณีผู้ป่วย Sjögren syndrome มักตรวจพบ Anti-SS-B Ab ร่วมกับ Anti-SS-A Ab เสมอ ในขณะที่ผู้ป่วย SLE มักพบแต่ Anti-SS-A Ab เพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม ในผู้ป่วย SLE บางรายที่มี Anti-SS-B Ab ด้วย จะมีประโยชน์ยิ่งต่อการบ่งชี้การเกิด Neonatal lupus syndrome หรือ Congenital heart block ฯลฯ เช่นที่กล่าวข้างต้น

### 3.5 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนบนเซ็นโตรเมียร์ (Anti-centromere Ab)

เซ็นโตรเมียร์ (Centromere) เป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในระหว่างที่เซลล์มีการแบ่งตัว (Mitosis) โปรตีนนี้พบอยู่ในชั้นภายในและภายนอกของ Kinetochore plates ซึ่งเชื่อมโยงกับสาย Mitotic spindle ที่จะทำหน้าที่ดึงโครโมโซมแยกออกจากกันต่อไป (รูปที่ 4) ในทางวิทยามุมนี้เซ็นโตรเมียร์ประกอบไปด้วยส่วนแอนติเจนอยู่ประมาณ 6 ส่วน คือ CENP- A ถึง F แต่ที่พบมีได้บ่อยที่สุดคือ CENP-B (80kDa) เป็น DNA binding protein รองลงไปคือ CENP-A (17 kDa, Histone

H3-like protein) และ CENP-C (140 kDa protein involved in kinetochore assembly) ส่วนที่เหลือคือ CENP-D (50kDa) CENP-E (312kDa) และ CENP-F (367kDa) นั้นยังไม่ทราบในรายละเอียดมากนัก



รูปที่ 4 ภาพวาดแสดง “CERP-B-C” รวมอยู่ใน “เซ็นโตรเมียร์”<sup>(10)</sup>

ในผู้ป่วย Scleroderma ที่มีการแสดงออกทางผิวหนังแบบจำกัด (Limited cutaneous disease) หรือแต่ก่อนเรียกว่า กลุ่มอาการ “CREST” (Calcinosis, Raynaud’s phenomenon, oEsophageal dysmotility, Sclerodactyly และ Telangiectasias) ซึ่งเป็น mild variant แบบหนึ่งของโรค Progressive systemic sclerosis (PSS) พบมีแอนติบอดีต่อเซ็นโตรเมียร์ได้ประมาณ 60 %<sup>(14-16)</sup> และจากการศึกษาในผู้ป่วยต่างเผ่าพันธุ์ และเชื้อชาติ พบว่า ผู้ป่วยที่แสดงกลุ่มอาการ CREST ที่เป็น Caucasians จะมีโอกาสตรวจพบ Anti-centromere Ab ได้มากกว่า African-American Hispanics หรือ คนชาวเอเชีย ตามลำดับ แต่จากประสบการณ์ของผู้เขียนเอง พบแอนติบอดีต่อเซ็นโตรเมียร์ได้บ่อยในผู้ป่วยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือบางพื้นที่เช่นกัน แต่คงต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมอีก เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่แน่นอนต่อไป

การตรวจพบแอนติบอดีต่อเซ็นโตรเมียร์ในผู้ป่วย Scleroderma มักไม่พบร่วมกับการตรวจพบแอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน เอส ซี แอล เจ็ดสิบ (Anti-Scl-70 Ab) ที่จะกล่าวต่อไป เนื่องจากแอนติบอดีชนิดหลังนี้มักจะแสดงออกเมื่อผู้ป่วยเป็น Scleroderma แบบกระจาย (Diffuse cutaneous Scleroderma)

### 3.6 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีน เอส ซี แอล เจ็ดสิบ (Anti-Scl-70 Ab)

โปรตีน เอส ซี แอล “เจ็ดสิบ” จัดเป็นผลิตภัณฑ์ของนิวเคลียร์โปรตีนท้ายสุดที่ขัดเกลามาจาก เอนไซม์ ดี เอ็น เอ โทโปไอโซเมอเรส I (a degradation product of DNA topoisomerase I) ซึ่งโดยปกติจะมีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 110 kDa แต่จะถูกย่อยต่อให้เล็กลงเป็น 110 kDa 87 kDa และสุดท้ายคือ 70 kDa ซึ่งก็คือโปรตีน เอส ซี แอล 70 นั่นเอง หน้าที่ของเอนไซม์นี้มีความสำคัญในขบวนการตัด และเชื่อมต่อด้าน DNA ซึ่งจะพบอยู่มากในบริเวณ Nucleoplasm และ Nucleolus

เช่นที่กล่าวข้างต้น แอนติบอดีต่อโปรตีน เอส ซี แอล 70 สามารถตรวจพบในผู้ป่วย Scleroderma ได้มากถึง 25-75 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับอาการของโรค เทคนิคการตรวจ และกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา กล่าวคือ มักพบแอนติบอดีนี้ในผู้ป่วย Scleroderma ที่แสดงอาการทางผิวหนังแบบกระจาย (Diffuse cutaneous) นอกจากนั้นการตรวจพบ ยังเป็นเครื่องบ่งชี้ และทำนายโรคได้ (Prognosis) โดยพบว่าผู้ป่วยจะมีความรุนแรงของโรคนี้นั้นมากกว่าแบบ Limited cutaneous Scleroderma และมีโอกาสเกิด Interstitial pulmonary fibrosis ได้ง่าย

เป็นที่น่าสังเกตว่าในการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยต่างเชื้อชาติ และเผ่าพันธุ์ พบว่า โอกาสตรวจพบแอนติบอดีต่อโปรตีน เอส ซี แอล 70 ในผู้ป่วยที่เป็น African-American นั้นจะมีมากที่สุด ในขณะที่พบได้น้อยในกลุ่มผู้ป่วย Caucasians

### 3.7 แอนติบอดีต่อส่วนโปรตีนต่างๆ ใน นิวคลีโอลาร์ (Anti-nucleolar Abs)

โปรตีนในนิวคลีโอลาร์มีอยู่หลายชนิด แต่ที่มีความสำคัญกับโรครุนแรง ได้แก่

#### 3.7.1 PM-Scl

แอนติเจน PM-Scl เป็น Nucleolin complex ซึ่งประกอบด้วยสายโพลีเพปไทด์อย่างน้อย 10 สาย แต่ที่พบแอนติบอดีในผู้ป่วยที่มีอาการคาบเกี่ยว (Overlap syndrome) ระหว่าง Polymyositis-Scleroderma ได้เฉลี่ยประมาณ 50% มี 8 ชนิด ได้แก่ PM/Scl-100

(70-80%) PM/Scl-75(46-80%) hRrp4 (50 %) hRrp42 (21%) hRrp46 (18%) hCs14 (14 %) hRrp41 (10%) และ hRrp40 (7%) ทั้งหมดนี้จะรวมตัวเป็นส่วนแอนติเจนใหญ่ๆ ได้ 2 ขนาดคือ 75 kDa และ 100 kDa<sup>(17)</sup> โดยเฉพาะในรายที่มีอาการ ผิวน้ำ หรือ Primary pulmonary hypertension ร่วมด้วย อย่างไรก็ตาม แอนติบอดีนี้สามารถตรวจพบได้บ้างในผู้ป่วย Dermatomyositis หรือ Scleroderma อย่างเดียว

แอนติบอดีต่อ PM-Scl (Anti-PM-Scl Ab) จัดเป็นแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางพยาธิวิทยา เพราะสามารถทำให้เกิดภาวะอักเสบของกล้ามเนื้อ (Inflammatory myopathy) ซึ่งจะก่อให้เกิดอาการ Scleroderma ต่อไป

#### 3.7.2 U3-snRNP (Fibrillar)

แอนติเจน Fibrillar เป็นโปรตีน Fibrous ขนาด 34 kDa ซึ่งเป็นหนึ่งในหกโปรตีนย่อยภายใน U3-snRNP โปรตีนนี้มีหน้าที่สำคัญในขบวนการ ribosomal RNA processing

จากการศึกษาในปัจจุบันพบแอนติบอดีต่อ Fibrillar เฉพาะในผู้ป่วย Scleroderma เพียง 4-8 เปอร์เซ็นต์ และมักพบได้บ่อยในรายที่มีอาการค่อนข้างรุนแรง (Severe diffuse disease) เกี่ยวข้องกับ Skeletal muscle และ Pulmonary hypertension โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเชื้อสาย African-American

#### 3.7.3 RNA polymerase I-III

RNA polymerase ประกอบไปด้วยสายโพลีเพปไทด์หลายสาย ซึ่งสามารถแสดงคุณสมบัติเป็นแอนติเจนได้

แอนติบอดีต่อ RNA polymerase I เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะมากกับโรค Systemic sclerosis กล่าวคือ สามารถพบได้มากถึง 30 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย การตรวจพบแอนติบอดีนี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการ diffuse scleroderma อย่างรวดเร็ว (rapidly progressive) และในรายที่มีพยาธิวิทยาเกี่ยวข้องกับอวัยวะต่างๆ ภายใน (Internal organ involvement) นอกจากนั้นยังสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ RNA polymerase III ได้บ้างในรายที่แสดงอาการแบบ Diffuse cutaneous scleroderma ทั่วไป

### 3.7.4 Th To RNP

จากการศึกษาในปัจจุบันยังไม่ทราบรายละเอียดของแอนติเจนนี้มากนัก แต่พบว่า ผู้ป่วย Scleroderma ที่มีพยาธิอาการแสดงออกทางผิวหนังแบบจำกัด (Limited cutaneous disease) จะตรวจพบแอนติบอดีต่อแอนติเจนดังกล่าว หรือ Anti-Th To Ab

แม้ว่าโปรตีนต่างๆ ในนิวเคลียโอลาร์ที่กล่าวมาจะสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีได้ แต่ในผู้ป่วยโรครุมตัก โดยเฉพาะผู้ป่วย Scleroderma แต่ละราย จะตรวจพบแอนติบอดีต่อโปรตีนเพียงส่วนใดส่วนหนึ่งเท่านั้น การตรวจพบแอนติบอดีต่อหลายส่วนพร้อมๆ กัน มีโอกาสพบได้น้อยมาก (Rare and uncommon case)

## 4. กลุ่มแอนติบอดีต่อส่วนไซโตพลาสซึม

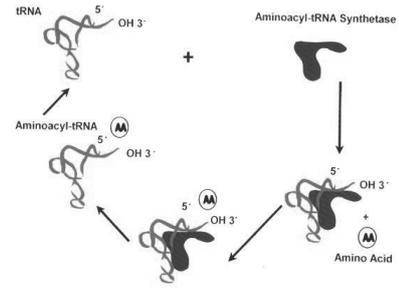
### (Cytoplasmic components)

จากการศึกษาในระยะแรกได้ให้ความสนใจและความสำคัญต่อแอนติบอดีต่อนิวเคลียสของเซลล์ตัวเองเป็นส่วนใหญ่ แต่ต่อมาพบว่า แอนติบอดีต่อส่วนนอกนิวเคลียส หรือบริเวณไซโตพลาสซึม ก็สามารถมีได้ และพบมีความจำเพาะที่หลากหลายมากมาย มีความสำคัญในโรครุมตัก และโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของกล้ามเนื้อเกี่ยวพันหลายชนิดเช่นกัน ดังนั้น ในที่นี้จะขอกกล่าวเพิ่มเติมเฉพาะที่สำคัญ และมักพบร่วมได้บ่อยในขณะตรวจ ANA ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ดังนี้

4.1 แอนติบอดีต่อส่วนแกรนูลในไซโตพลาสซึม (granular cytoplasmic components) ได้แก่

4.1.1 แอนติบอดีต่อแกรนูลแบบละเอียด (Fine granular cytoplasmic Ab)

ได้แก่แอนติบอดีต่อเจ โอ 1 (Anti-Jo-1 Ab) เจ โอ 1 (Jo-1) เป็นแอนติเจนบริเวณ Reactive site ของ เอนไซม์ histidyl-tRNA synthetase (50-52 kDa) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในบริเวณไซโตพลาสซึมของเซลล์ มีหน้าที่ในการนำพากรดอะมิโน Histidine ให้กับกรดโรโบนิคลีอิกที่เกี่ยวข้อง (its cognate transfer RNA; tRNA) **ดังรูปที่ 6**



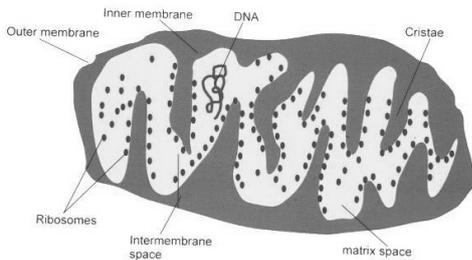
รูปที่ 5 ภาพวาดแสดงการทำงานของ “Aminoacyl-tRNA Synthetase” (10)

โดยธรรมชาติแล้ว ส่วนแอนติเจนที่พบใน Aminoacyl-tRNA synthetase อื่นจะมีแอนติเจนในลักษณะนี้เช่นกัน แต่จะมีโครงสร้างต่างกันและมีชื่อเรียกแอนติเจนเหล่านี้ต่างกันไปด้วย อาทิ PL7 ใน Threonyl-tRNA synthetase หรือ PL12 ใน Alanine-tRNA synthetase หรือ EJ ใน Glycyl-tRNA synthetase หรือ OJ ใน Isoleucyl-tRNA synthetase เป็นต้น แต่ Jo-1 จะเป็นแอนติเจนที่มีความสำคัญทางคลินิกมากที่สุด ซึ่งในผู้ป่วยที่เป็น Polymyositis ที่ลุกลาม(Aggressive) จะสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ Jo-1 นี้ได้มากถึง 20-40 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนผู้ป่วย จากการศึกษพบว่าแอนติบอดีนี้มีความจำเพาะต่อโรคนี้นมากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ และพบร่วมกับผู้ป่วย Polymyositis ที่มีพยาธิอาการทางปอดและข้อต่อ (Arthralgia) นอกจากนั้น ปริมาณแอนติบอดีที่พบจะสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคนี้นด้วย

4.1.2 แอนติบอดีต่อแกรนูลแบบหยาบ (Coarse granular cytoplasmic Ab)

ได้แก่แอนติบอดีต่อไมโทคอนเดรีย (Anti-mitochondria Ab) ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่มีความสำคัญต่อเซลล์ในขบวนการหายใจ และให้พลังงานในทางวิทยาคู่กัน บริเวณผิวด้านใน (Inner membrane) **(รูปที่ 5)** พบโปรตีนที่สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อไมโทคอนเดรียได้ถึง 9 ชนิด คือ M1-M9 แต่ที่สำคัญคือ M2 M4 และ M8 ซึ่งจากการศึกษารายละเอียดพบว่า M2 คือกลุ่มของโปรตีนในผิวชั้นภายในที่มีเอนไซม์ไพรูเวต ดีไฮโดรจีเนส (Pyruvate dehydrogenase complex หรือ PDC) ร่วมกับแอนติเจน E2 ของ

เอนไซม์ไดไฮโดรไลโปเอมีท อะเซทิลทรานเฟอร์เรส (Dihydrolipoamide acetyltransferase, 70-74 kDa) เป็นตำแหน่งที่จะถูกจับด้วยแอนติบอดีที่เกิดขึ้นพร้อมพยาธิอาการโรค Primary biliary cirrhosis (PBC) ในทางคลินิกทั่วไปจะตรวจพบแอนติบอดีต่อไมโทคอนเดรียได้ถึง 80-95 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย PBC และจะพบในระดับไตเตอร์สูง ส่วนในโรคอื่นจะพบได้บ้างเช่นกัน แต่จะพบในปริมาณน้อยๆ อาทิ ในผู้ป่วย Chronic active hepatitis โรค Drug-induced hepatitis หรือ Collagen disease ฯลฯ



**รูปที่ 6** ภาพวาดแสดง “Inner membrane” ใน “ไมโทคอนเดรีย”<sup>(10)</sup>

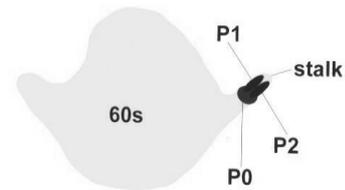
ในปัจจุบันการตรวจแอนติบอดีอื่นเพื่อช่วยยืนยันการวินิจฉัย PBC สามารถตรวจหา Anti-sp100 Ab Anti-gp210 Ab และ Anti-p62 Ab ซึ่งเป็นแอนติบอดีต่อ Sp-100 Ag ในนิวเคลียส และสารไกลโคโปรตีนบริเวณ Nuclear pore ของ Nuclear membrane ตามลำดับได้โดยพบในกลุ่มโรค PBC ได้ถึง 25-30%<sup>(18-20)</sup>

4.1.3 แอนติบอดีต่อส่วนไซโตพลาสซึมของนิวโทรฟิล (Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA))<sup>(21)</sup>

เป็นกลุ่มของ autoantibodies ซึ่งส่วนใหญ่เป็น IgG ต่อ antigens ในไซโตพลาสซึมของนิวโทรฟิล และโมโนไซต์ มีอยู่ 2 ชนิด คือ c-ANCA antigen ซึ่งจำเพาะกับ Proteinase 3 (PR3) และ p-ANCA antigens ซึ่งจำเพาะกับ Myeloperoxidase (MPO) แอนติบอดีทั้งสองพบได้ประมาณ 35-50% ในผู้ป่วย Systemic vasculitis ที่มักเรียกว่า ANCA-associated vasculitides

แอนติบอดีต่อสารละลายในไซโตพลาสซึม (Homogeneous cytoplasmic components) ได้แก่ แอนติบอดีต่อโปรตีนไรโบโซม พี (Anti-Ribosomal P Ab)

ไรโบโซม พี เป็น Phosphoprotein อย่างน้อย 3 ชนิด คือ P0 P1 และ P2 (**รูปที่ 7**) ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนหนึ่งบนไรโบโซม ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่การทำงานอย่างแน่ชัด แต่โปรตีนทั้ง 3 นี้จะรวมตัวกันเป็นหน่อ (Stalk) ของไรโบโซมซึ่งพบแสดงคุณสมบัติของเอนไซม์ GTPase



**รูปที่ 7** ภาพวาดแสดง “Ribosomal P Antigens” และส่วนหน่อ (Stalk)<sup>(10)</sup>

ในผู้ป่วย SLE จะตรวจพบแอนติบอดีต่อไรโบโซมพีได้ถึง 10-15 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วย ซึ่งในบางรายอาจพบแอนติบอดีนี้โดยไม่มีแอนติบอดีต่อ dsDNA ร่วมด้วย ความสำคัญทางคลินิกคือ แอนติบอดีต่อ ไรโบโซม พีนี้ มักพบสัมพันธ์กับผู้ป่วย SLE ที่มีอาการทางประสาท (Neuropsychiatric symptom) และมีพยาธิอาการของไตร่วมด้วย นอกจากนั้น ปริมาณแอนติบอดีนี้ยังมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงตามพยาธิอาการของโรคด้วยเช่นกัน ดังนั้น บางครั้งอาจใช้การตรวจแอนติบอดีนี้แทนการตรวจแอนติบอดีต่อ dsDNA ในการติดตามพยาธิอาการของโรค SLE ได้

4.3 แอนติบอดีต่อส่วน Filaments ในไซโตพลาสซึม (Filamentous cytoplasmic components) ได้แก่<sup>(22)</sup>

4.3.1 แอนติบอดีต่อ Actin (Anti-Actin Ab) Actin เป็นแอนติเจนที่สำคัญในการสร้างความแข็งแรงของเซลล์ เมื่อเกิด apoptosis โปรตีนนี้สามารถกระตุ้นให้เกิด Anti-Actin Ab ได้ พบมากในผู้ป่วย Autoimmune chronic active hepatitis (CAH) ประมาณ 30-40%

4.3.2 แอนติบอดีต่อ Tropomyosin (Anti-Tropomyosin Ab) คล้ายกับโปรตีน actin แต่ยังไม่มียารายงานการค้นพบที่เชื่อมโยงกับโรคในกลุ่ม CTD

4.3.3 แอนติบอดีต่อ Vimentin (Anti-Vimentin Ab) Vimentin เป็นสารที่เชื่อว่ามีแอนติเจนชนิด Citrullinated peptide ซึ่งมีความสำคัญในการกระตุ้นให้เกิด Anti-CCP Ab ในผู้ป่วย early RA แต่ยังไม่มียารายงานวิจัยเชื่อมโยงกันมากนักในปัจจุบัน

### เทคนิคการตรวจหา Anti-Nuclear Ab ในปัจจุบัน

ในขั้นตอนตรวจเบื้องต้น (Screening) มีอยู่ 2 เทคนิคคือ

#### 1. IF-ANA

เป็น Gold standard technic ที่มีการพัฒนาสืบเสาะให้ดีขึ้น และในห้องปฏิบัติการบางแห่งได้พัฒนาเทคนิคการย้อม และใช้ Combination substrates หลายชนิดเพื่อลด variation ของการอ่านผลของผู้ทำการวิเคราะห์ให้น้อยลงได้ และเมื่อนำมาวินิจฉัยในกลุ่มผู้ป่วย CTD ทำให้ความไวในการวิเคราะห์ตามตารางต่อไปนี้<sup>(29-34)</sup>

#### 2. EIA/ELISA

มี 2 แบบที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน คือ แบบ Generic assay หมายถึงการใช้แอนติเจนรวม ๆ คล้ายแอนติเจนจากสับสเตรตที่ใช้ทำ IF-ANA ที่เป็นวิธีมาตรฐาน และแบบที่สอง คือใช้แอนติเจนแต่ละชนิดเพื่อให้ออโต้แอนติบอดีที่ต้องการตรวจหาทำปฏิกิริยา เช่น dsDNA SSA/Ro SSB/La Scl70 Sm Sm/RNP ฯลฯ สามารถเลือกทำได้เฉพาะแอนติเจนหนึ่ง ๆ หรือจัดทำเป็นชุดแอนติเจน (Multiple Ags) ตัวอย่างชุด Combination ELISA ที่ประกอบด้วย SSA/Ro SSB/La Sm และ U1-RNP หรืออาจมี Jo-1 และ Scl-70 รวมมาด้วย การใช้เทคนิค EIA/ELISA มีข้อดีคือสามารถใช้กับเครื่องอัตโนมัติตรวจหลายตัวอย่างพร้อมกันได้ ไม่มีผลกระทบจากผู้อ่านผล สามารถเลือกชุดแอนติเจนที่เกี่ยวข้องกับโรค CTD ที่สนใจได้ นอกจากนั้นยังสามารถวัดเชิงปริมาณที่ชัดเจนได้

ตารางที่ 2 แสดงความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของการตรวจ IF-ANA ที่ได้ปรับปรุง และพัฒนามากขึ้นในปัจจุบัน และนำมาตรวจในกลุ่มผู้ป่วย CTD

Autoantibodies	Associated CTD	Sensitivity	Specificity
ANA	SLE	93	57
	Sjogren's syndrome	48	52
	SS	85	54
	PM/dermatomyositis	61	63
	Raynaud phenomena	64	41
Specific ANA			
Anti-dsDNA	SLE	57	97
Anti-Sm	SLE	25-30	High*
Anti-SSA/Ro	Sjogren's syndrome, subacute cutaneous SLE, Neonatal lupus syndrome	8-70	87
Anti-SSB/La	Sjogren's syndrome, subacute cutaneous SLE, Neonatal lupus syndrome	16-40	94
Anti-U3-RNP	SS	12	96
Anticentromere	Limited cutaneous SS	65	99.9
Scl-70	SS	20	100
Jo-1	PM	30	95

Precise data not available.

จากการศึกษาเปรียบเทียบกับวิธี IF-ANA ที่ใช้เป็น Gold standard<sup>(22)</sup> พบผลบวกมีความสอดคล้องกันถึง 87-95 % และ ศักยภาพของ ELISA ที่ใช้แอนติเจนแต่ละชนิด มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ระหว่าง 69-98 % และ 81-98 % ตามลำดับ ทั้งนี้ กำหนดผลบวก IF-ANA ที่ไต่เตอร์ 160 เพราะถ้าไต่เตอร์ต่ำกว่านี้ ELISA จะมีศักยภาพต่ำกว่านี้

EIA/ELISA อาจพบมีผลบวก<sup>(24, 25)</sup> และผลลบปลอมได้มาก ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีการเตรียมแอนติเจนของผู้ผลิต และในกรณี SSA/Ro แม้ EIA/ELISA จะใช้เทคนิค Recombinant technology ในการเตรียม แต่ก็ยังคงพบผลมีลบปลอมได้เหมือน IF-ANA ดังนั้นการนำ EIA/ELISA มาใช้ตรวจตัวอย่างผู้ป่วยของห้องปฏิบัติการแต่ละที่ จึงควรศึกษาเพิ่มเติมถึงความเหมาะสมก่อนนำมาใช้ต่อไป<sup>(26)</sup>

### 3. Line blot Immunoassay (LIA) <sup>(26, 27)</sup>

เป็นวิธีใช้ตรวจหาอโต้แอนติบอดีแต่ละชนิดแบบ qualitative โดยเคลือบแอนติเจนแต่ละชนิดลงในช่องต่างๆ ของแผ่น nitrocellulose แล้วให้ทำปฏิกิริยาแบบ Indirect ELISA ซึ่งคอนจูเกตที่มีเอนไซม์ Alkaline phosphatase จากนั้นทำให้เกิดเส้นแถบสีน้ำเงินในช่องดังกล่าวด้วยการเติมซับสเตรตคือ 5-bromo-4-chloro-3-iodolylphosphate/nitroblue tetrazolium

LIA เป็นการทดสอบที่ทำได้ง่าย ใช้เวลาตรวจอโต้แอนติบอดีต่างๆ พร้อมกันได้ด้วยเวลาไม่นาน และสามารถเลือกชุดแอนติเจนที่สนใจได้ ที่สำคัญคือให้ค่าความไว และความจำเพาะเท่ากับวิธี EIA/ELISA จึงถูกนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการมากมายโดยใช้ตรวจร่วมกับการตรวจ IF-ANA ข้างต้น

การตรวจ ANA ในปัจจุบันยังมีอีกหลายเทคนิค อาทิ Flow cytometry และ Microarray ฯลฯ แต่ยังคงอยู่ในขั้นพัฒนาปรับปรุง และยังต้องประเมินศักยภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้ทางคลินิกต่อไป <sup>(29-44)</sup>

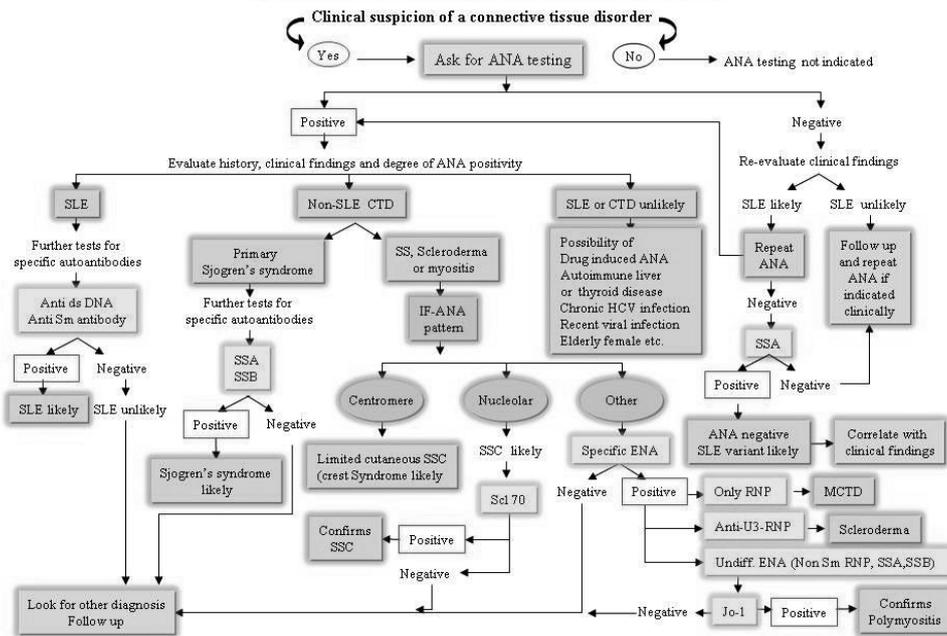
### แนวปฏิบัติเพื่อตรวจ ANA ในปัจจุบัน (Guideline for detection of ANA)

การตรวจขั้นต้นจะใช้ IF-ANA แล้วดูผลการทดลองเพื่อใช้ LIA และ/หรือ EIA/ELISA ตรวจหา Specific autoantibody ต่างๆ ในลำดับต่อไปตามตารางที่ 3 และขั้นตอน (Algorithmic) ในรูปที่ 8

ตารางที่ 3 ลักษณะรูปแบบของ IF-ANA ชนิดแอนติเจนต่าง ๆ ที่สามารถพบในโรค CTD ต่าง ๆ

ANA pattern	Antigen	Associated diseases
Speckled	ENA, RNP, Sm, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, Jo-1, ribosomal-P	SLE, Mixed CTD, SS, Primary Sjogren's syndrome, PM
Homogenous	dsDNA, Histones	SLE, Drug induced SLE
Peripheral (rim)	RNP, Sm, SSA/Ro	SLE, SS
Nucleolar	Anti-PM-Scl, anti-RNA polymerase I-III, anti-U3-RNP, To RNP	SS, PM
Centromere	CENP A-E	Limited SS

**Guidelines of ANA and specific autoantibody testing**



รูปที่ 8 Algorithmic approach for ANA testing (26, 27)

**บทสรุป**

ANA เป็นกลุ่มแอนติบอดีที่ต่อเนิวเคลียสของตัวเอง แต่ในปัจจุบัน แอนติบอดีต่อสารต่าง ๆ บริเวณไซโตพลาสซึม ก็จัดรวมอยู่ในกลุ่มนี้ด้วย เพราะมีความสำคัญทางคลินิก กับโรครวมอีกอื่นอีกมากมาย

การตรวจ ANA ยังใช้ IF-ANA เป็น “Gold standard” เพราะสามารถให้ผลการตรวจที่สามารถนำไปวินิจฉัยแยกโรคได้ เนื่องจากลักษณะผลบวก (patterns) มีอยู่หลายแบบ คือ กลุ่มแรกที่ทำให้ผลบวกในตำแหน่ง นิวเคลียสได้บ่อยตามลำดับ ได้แก่ Speckle Homogenous Nucleolous และ Peripheral หรือ Rim กลุ่มหลังที่ทำให้ผลบวกบริเวณไซโตพลาสซึมมี 3 กลุ่มย่อยตามลำดับที่ พบบ่อย คือ Ganular cytoplasmic pattern Homogenous cytoplasmic pattern และ Filamentous cytoplasmic pattern

การตรวจ IF-ANA มีข้อควรระวังในด้านการประเมินผลการตรวจ แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบัน สามารถใช้เทคนิคการทดสอบ IF-ANA ที่มีสับสเตรทที่หลากหลาย ทำให้ผลการตรวจมีความถูกต้องไปในแนวเดียวกันมากขึ้น กล่าวคือ ถ้าพบผลบวกเป็น Speckle type ที่บ่งชี้จะว่ามี Anti-Sm Ab Anti-RNP Ab Anti-SSA/Ro Ab หรือ

Anti-SSB/La Ab สามารถนำไปวินิจฉัยความไว และความจำเพาะโดยรวมของโรค SLE Mixed CTD SS Primary Sjogren’s syndrome หรือ PM ได้ชัดเจนขึ้น ถ้าพบผลบวกเป็น Homogenous type สามารถนำไปวินิจฉัยโรค SLE และโรค Drug induced lupus และโรคอื่นได้ง่ายขึ้น ถ้าพบผลบวกเป็น Nucleolous type สามารถนำไปวินิจฉัยโรค SS ทั้งแบบ Diffuse SS Limited SS หรือ Cutaneous SS ได้ชัดเจนขึ้น ถ้าพบผลบวกเป็น Peripheral type สามารถนำไปวินิจฉัยโรค SLE ว่ามี Anti-dsDNA Ab เกี่ยวข้องได้อย่างถูกต้อง

ในกรณีที่ทำให้ผลบวกเป็น Cytoplasmic pattern ที่พบบ่อยได้แก่ Granular Homogenous และ filamentous ซึ่งสอดคล้องกับโรค PBC SLE และ CAH

การตรวจ Anti-dsDNA Ab ปัจจุบันตรวจได้ทั้งวิธี IF และ LIA สามารถใช้เป็นหลักฐานยืนยันได้ว่า ถ้าพบในโรค SLE มักจะเป็นรายที่มีอาการทางไตร่วมด้วยเสมอ เพราะ Anti-dsDNA Ab สามารถทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับสารต่าง ๆ บริเวณ Glomerular basement membrane อาทิ Heparan sulphate Collagen IV Fibronectin หรือ Laminin ได้

ANA เป็นแอนติบอดีที่พบมีความหลากหลายในแต่ละคนซึ่งจะเป็นโรคเดียวกันในกลุ่ม Rheumatism ก็ตาม และการตรวจที่จะให้ประโยชน์สูงสุดแก่ผู้ป่วยจะต้องอาศัยข้อมูลทางคลินิกเป็นสำคัญ พร้อมกับคำแนะนำ (Guideline) การตรวจทางห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ที่กล่าวข้างต้น

### เอกสารอ้างอิง

1. Hargraves MM, Richmond H and Morton R. Presentation of two bone marrow elements : the “tart” cell the “LE” cell. Proceedings of the Staff Meetings of the Mayo Clinic 1948 ; 23: 25-28.
2. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. Archives of pathology & laboratory medicine. 2000; 124 (1): 71-81.
3. Anti-nuclear antibody. From Wikipedia, the free encyclopedia. edited on 23 January 2018, Available from : [https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-nuclear\\_antibody](https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-nuclear_antibody)
4. Weinstein A, Bordwell B, Stone B, Tibbetts C, Rothfield NF. Antibodies to native DNA and serum complement (C3) levels. Application to diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. The American Journal of Medicine. 1983; 74 (2): 206–16.
5. Vasoo S. Drug-induced lupus: an update. Lupus. 2006; 15 (11): 757–61
6. Katz U, Zandman-Goddard G. Drug-induced lupus: an update. Autoimmunity reviews. 2010; 10 (1): 46–50.
7. Tan EM, Kunke HG : Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. J Immunol. 1966; 96: 464
8. Zieve GW, Khusial PR. The anti-Sm immune response in autoimmunity and cell biology. Autoimmunity reviews. 2003; 2 (5): 235-40
9. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. “Anti-Sm and anti-RNP antibodies”. Autoimmunity. 2005 ; 38 (1): 47-54
10. AR Bradwell, RP Strokes and GD Johnson. Atlas of HEp-2 patterns (AR Bradwell supported by The binding site LTD.) England, USA and Germany ; 1995
11. Venables PJ. Mixed connective tissue disease. Lupus. 2006 ; 15(3): 132-7
12. Yamamoto K. Pathogenesis of Sjögren’s syndrome. Autoimmun Rev. 2003; 2(1): 13-8
13. Venables PJ. Sjögren’s syndrome. Best practice & research. Clinical rheumatology. 2004 ; 18 (3): 313-29.
14. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. Arthritis Research & Therapy. 2003 ; 5(2): 80-93
15. Rattner JB, Mack GJ, Fritzler MJ. Autoantibodies to components of the mitotic apparatus. Molecular biology reports. 1998 ; 25 (3): 14-55
16. Renz Harald. Autoimmune diagnostics. Kindle edition. Walter de Gruyter & Co : Germany ; 2012
17. Mahler M, Raijmakers R. Novel aspects of autoantibodies to the PM/Scl complex: clinical, genetic and diagnostic insights. Autoimmunity reviews. 2007; 6 (7): 432-7

18. Worman HJ, Courvalin JC. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. *Autoimmunity reviews*. 2003 ; 2(4): 211-7
19. Hu T, Guan T, Gerace L. Molecular and functional characterization of the p62 complex, an assembly of nuclear pore complex glycoproteins. *The Journal of Cell Biology*. 1996 ; 134 (3): 589-601
20. Mackay IR, Whittingham S, Fida S, Myers M, Ikuno N, Gershwin ME, et al. The peculiar autoimmunity of primary biliary cirrhosis. *Immunological reviews*. 2000; 174: 226-37
21. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody. From Wikipedia, the free encyclopedia. edited on 30 October 2017, Available from : [https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-neutrophil\\_cytoplasmic\\_antibody](https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-neutrophil_cytoplasmic_antibody)
22. Cytoplasmic pattern. From ICAP international consensus on ANA patterns 2017, Available from : [https://www.anapatterns.org/cytoplasmic\\_patterns.php](https://www.anapatterns.org/cytoplasmic_patterns.php)
23. Jaskowski TD, Schroder C, Martins TB, Mouritsen CL, Litwin CM, Hill HR. Screening for antinuclear antibodies by enzyme immunoassay. *Am J Clin Pathol*. 1996 ; 105: 468-473.
24. Charles PJ, van Venrooij WJ, Maini RN. The Consensus Finding Group for Auto antibodies: The consensus workshops for the detection of auto antibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases: 1989–1992. *Clin Exp Rheum*. 1992 ; 10: 507-511
25. Bizzaro N, Tozzoli R, Tonutti E, Piazza A, Manoni F, Ghirardello A, et al. Variability between methods to determine ANA, anti- dsDNA and anti-ENA auto antibodies: a collaborative study with the biomedical industry. *J Immunol Methods*. 1998; 219: 99-107
26. Mutasim DF, Adams BB. A practical guide for serologic evaluation of autoimmune connective tissue diseases. *J Am Acad Dermatol*. 2000; 42: 159-174.
27. Yashwant K, Alka B and Ranjana WM. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases. *Diagnostic Pathology* Available from : <https://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-1596-4-1>
28. Damoiseaux J, Boesten K, Giesen J, Austen J, Tervaert JWC. Evaluation of a Novel Line-Blot Immunoassay for the Detection of Antibodies to Extractable Nuclear Antigens. *Ann NYA Sci*. 2006; 1050: 340-347.
29. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 2010; 69:1420.
30. Aryeh MA, Micha A. The Clinical Utility of a Positive Antinuclear Antibody Test Result . Methodology of Testing for Antinuclear Antibodies. 3 December 2013. Available at: [http://www.rheumatology.org/practice/ana\\_position\\_stmt.pdf](http://www.rheumatology.org/practice/ana_position_stmt.pdf)
31. Papadakis MA, et al. *Current Medical Diagnosis & Treatment* 2013. 52nd ed. New York, N.Y.: The McGraw-Hill Companies; 8 Feb 2013. Available from : <http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=1>
32. Mandl LA, et al. Clinical manifestations and diagnosis of adult Still’s disease. Feb. 8, 2013 Available from : <http://www.uptodate.com/home>. Accessed Feb. 8, 2013
33. Antinuclear antibodies (ANA). American College of Rheumatology. 2018 Available from : [http://www.rheumatology.org/Practice/Clinical/Patients/Diseases\\_And\\_Conditions/Antinuclear\\_Antibodies\\_%28ANA%29/](http://www.rheumatology.org/Practice/Clinical/Patients/Diseases_And_Conditions/Antinuclear_Antibodies_%28ANA%29/)

34. Schur PH. Measurement and clinical significance of antinuclear antibodies. UpToDate® 26 June 2014 Available from : <http://www.uptodate.com/home>
35. Copple SS, Jaskowski TD, Giles R, Hill HR. Interpretation of ANA indirect immunofluorescence test outside the darkroom using NOVA view compared to manual microscopy. *Journal of Immunology Research* 2014; Article ID 149316 : 1-7
36. Tozzoli R, Bonaguri C, Melegari A, Antico A, Bassetti D, Bizzaro N. Current state of diagnostic technologies in the autoimmunology laboratory. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2013; 51(1) : 129–138
37. Bizzaro N, Antico A, Platzgummer S, et al. Automated antinuclear immunofluorescence antibody screening: a comparative study of six computer-aided diagnostic systems. *Autoimmunity Reviews* 2014 ; 13(3) : 292–298
38. Krause C, Ens K, Fechner K, et al. EURO Pattern-Suite technology for computer-aided immunofluorescence microscopy in autoantibody diagnostics. *Lupus* 2015; 24(4-5) 516–529
39. Buzzulini F, Rigon A, Soda P, et al. The classification of *Crithidia luciliae* immunofluorescence test (CLIFT) using a novel automated system. *Arthritis Research and Therapy* 2014; 6(2): article R71
40. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014; 73:17.
41. Donald BB. Measurement and clinical significance of antinuclear antibodies. UpToDate® 26 June 2014 Available from : [http://admin.mabiotech.com/Produits/products/Brochure/AtheNA\\_Brochure.pdf](http://admin.mabiotech.com/Produits/products/Brochure/AtheNA_Brochure.pdf)
42. Zheng W, He L. Multiplexed immunoassays. In: *Advances in Immunoassay Technology*, Chiu NHL, Christopoulos TK (Eds), InTech, 2012 : 143-165
43. Bruner BF, Guthridge JM, Lu R, et al. Comparison of autoantibody specificities between traditional and bead-based assays in a large, diverse collection of patients with systemic lupus erythematosus and family members. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 3677.
44. Op De Beck K, Vermeersch P, Verschueren P, et al. Antinuclear antibody detection by automated multiplex immunoassay in untreated patients at the time of diagnosis. *Autoimmun Rev* 2012; 12:137.



## การขยายตัวของทรวงอกและท้องสัมพันธ์กับสมรรถภาพปอด และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจในเด็กสมองพิการ

นิตยา ทันรังกา<sup>1,2</sup>, วัฒนา ศิริธราวิตร<sup>2</sup>, วนิดา ดรปัญญา<sup>2</sup>, จตุรรัตน์ กันต์พิทยา<sup>3</sup>, สุรัสวดี เบนเน็ตต์<sup>2\*</sup>

Received: August 24, 2017

Revised: October 20, 2017

Accepted: November 24, 2017

### บทคัดย่อ

แม้ว่าการประเมินสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจนิยมนำมาใช้ตรวจประเมินการทำงานของระบบหายใจอย่างแพร่หลาย แต่กระบวนการตรวจประเมินดังกล่าวมีความซับซ้อนและยากต่อการทำตามโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กสมองพิการ ในทางตรงข้ามการวัดการขยายตัวของทรวงอกและท้อง (cirtometry) เป็นอีกวิธีการวัดที่ราคาถูก ใช้งานง่าย และให้ข้อมูลที่เพียงพอของการขยายตัวของทรวงอกและท้อง ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องที่วัดโดย cirtometry กับสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจในเด็กสมองพิการ ศึกษาในเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็งจำนวน 36 คน อายุเฉลี่ย  $13.39 \pm 2.95$  ปี ทำการประเมินสมรรถภาพปอดด้วยสไปโรเมตรี การขยายตัวของทรวงอกและท้องถูกวัดด้วยสายวัดทั้งหมด 3 ระดับ ได้แก่ ทรวงอกส่วนบน ทรวงอกส่วนล่าง และท้อง และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจถูกวัดด้วยเครื่องวัดความดันสูงสุดขณะหายใจเข้าและหายใจออก ผลการศึกษาพบว่า ปริมาตรอากาศสูงสุดที่หายใจออกอย่างรวดเร็วและแรงเต็มที่ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการขยายตัวของทรวงอกและท้องในทุก ๆ ระดับ ( $r=0.63, p<0.001$  สำหรับทรวงอกส่วนบน,  $r=0.69, p<0.001$  สำหรับทรวงอกส่วนล่าง และ  $r=0.76, p<0.001$  สำหรับท้อง) และพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างปริมาตรของอากาศที่ถูกขับออกในวินาทีแรกของการหายใจออกอย่างรวดเร็วและแรงเต็มที่กับการขยายตัวของทรวงอกและท้องในทุก ๆ ระดับ ( $r=0.63, p<0.001$  สำหรับอกทรวงส่วนบน,  $r=0.67, p<0.001$  สำหรับทรวงอกส่วนล่าง และ  $r=0.75, p<0.001$  สำหรับท้อง) นอกจากนี้ยังพบว่าการขยายตัวของท้องมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้า ( $r=0.41, p<0.05$ ) และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจออก ( $r=0.36, p<0.05$ ) การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ในระดับปานกลางถึงสูงระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องกับปริมาตรปอด นอกจากนี้ยังพบว่ามีความสัมพันธ์ในระดับต่ำระหว่างการขยายตัวของท้องกับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการขยายตัวของทรวงอกและท้องที่วัดโดย Cirtometry สามารถนำมาใช้ในการตรวจประเมินการทำงานของระบบหายใจเบื้องต้นในเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็งได้

**คำสำคัญ:** Cirtometry, สมองพิการ, การขยายตัวของทรวงอก, การทดสอบสมรรถภาพปอด, ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาโท สาขากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup> ศูนย์วิจัยปวดหลัง ปวดคอ ปวดข้ออื่น ๆ และสมรรถนะของมนุษย์ (BNOJPH) สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>3</sup> ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*ผู้รับผิดชอบบทความ



## Chest wall and abdominal expansions are related to pulmonary function and respiratory muscle strength in children with cerebral palsy

Nittaya Tanrangka<sup>1,2</sup>, Wantana Siritaratiwat<sup>2</sup>, Wanida Donpunha<sup>2</sup>,  
Jaturat Kanpittaya<sup>3</sup>, Surussawadi Bennett<sup>2\*</sup>

### Abstract

Although pulmonary function and respiratory muscle strength testing are widely used to examine respiratory function, their processes are complicated and difficult to follow, especially in children with cerebral palsy. In contrast, cirtometry is cheap, easy to apply and provides useful data of chest expansion. Thus the aim of this study was to examine the correlation between chest wall and abdominal mobility measured by cirtometry and pulmonary function and respiratory muscle strength in children with cerebral palsy. Thirty-six children (age  $13.39 \pm 2.95$  years) with spastic cerebral palsy were included into the study. Pulmonary function testing was performed by spirometry. Chest wall and abdominal mobility were measured at three levels (upper, lower and abdomen) using a tape measure, while respiratory muscle strength was examined by respiratory muscle testing devices. The results showed that there were significant correlations between forced vital capacity and chest wall and abdominal expansion at all levels ( $r=0.63$ ,  $p<0.001$  for upper chest,  $r=0.69$ ,  $p<0.001$  for lower chest and  $r=0.76$ ,  $p<0.001$  for abdomen). There were also significant correlations between forced expiratory volume in one second and chest wall and abdominal expansion at all levels ( $r=0.63$ ,  $p<0.001$  for upper chest,  $r=0.67$ ,  $p<0.001$  for lower chest and  $r=0.75$ ,  $p<0.001$  for abdomen). Moreover, abdominal expansion correlated significantly with both MIP ( $r=0.41$ ,  $p<0.05$ ) and MEP ( $r=0.36$ ,  $p<0.05$ ). The results of this study demonstrated that there were high to moderate correlations between chest wall and abdominal expansion and lung volume in spastic cerebral palsy. There was also a weak correlation between abdominal expansion and respiratory muscle strength. These results indicate that chest wall and abdominal expansion measured by cirtometry could be used to assess basic respiratory function in children with spastic cerebral palsy.

**Keywords:** Cirtometry, Cerebral palsy, Chest expansion, Pulmonary function test, Respiratory muscle strength

<sup>1</sup>Master Degree Student, School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

<sup>2</sup>Research Center in Back, Neck, Other Joint Pain and Human Performance (BNOJPH), School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

<sup>3</sup>Department of Radiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

\*Corresponding author (e-mail: surmac@kku.ac.th)

## บทนำ

สมองพิการ (cerebral palsy: CP) เป็นความผิดปกติทางระบบประสาทที่พบได้บ่อยมากที่สุดในเด็กทั่วโลก ความชุกของการเกิดสมองพิการมีประมาณ 1-2 คนต่อ 1,000 คนของอัตราการเกิดรอดชีวิตของเด็ก<sup>(1-2)</sup> โดยพบเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็งมากที่สุดประมาณร้อยละ 75 จากเด็กสมองพิการทั้งหมด<sup>(3)</sup> ความบกพร่องในเด็กสมองพิการส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับระบบประสาทและกล้ามเนื้อ และระบบกล้ามเนื้อและกระดูก<sup>(4)</sup> อย่างไรก็ตามก็ตามความผิดปกติทางระบบหายใจก็เป็นปัญหาหนึ่งที่เป็นสาเหตุของความพิการและการเสียชีวิตในเด็กสมองพิการ<sup>(4-5)</sup> ซึ่งความผิดปกติของระบบทางหายใจที่พบบ่อยในเด็กสมองพิการ ได้แก่ ปอดอักเสบจากการสำลัก (aspiration pneumonia) การหายใจล้มเหลว (respiratory failure) และภาวะปอดแฟบ (atelectasis)<sup>(6-8)</sup> ดังนั้นการติดตามการทำงานของระบบหายใจในเด็กสมองพิการจึงเป็นสิ่งสำคัญ

การวัดสมรรถภาพปอด (pulmonary function testing: PFT) เป็นการวัดเพื่อการวินิจฉัยโรคปอดอุดกั้นและโรคปอดจำกัดการขยายตัวซึ่งพบบ่อยในเด็กสมองพิการ<sup>(9-11)</sup> อย่างไรก็ตามขั้นตอนการวัดเพื่อให้ได้ซึ่งข้อมูลของสมรรถภาพปอดโดยใช้สไปโรเมตริย์เป็นการวัดที่ซับซ้อน อีกทั้งยังต้องอาศัยความร่วมมือและการกระตุ้นอย่างเหมาะสม<sup>(10-11)</sup> ซึ่งวิธีการวัดที่ใช้งานง่ายและมีประสิทธิภาพในการประเมินการทำงานของระบบหายใจยังคงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการปฏิบัติงานในภาคสนาม

การทดสอบความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ (respiratory muscle strength test: RMT) เป็นอีกวิธีการที่ใช้ในการวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้าและหายใจออกผ่านความดันสูงสุดทางปากหรือทางจมูก แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบมีขั้นตอนที่ค่อนข้างซับซ้อนและต้องการความร่วมมือเป็นอย่างดีจากอาสาสมัครเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ดีเช่นเดียวกับการวัดสมรรถภาพปอด<sup>(12-15)</sup> ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจจะบ่งชี้ความสามารถของกล้ามเนื้อหายใจในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาตรปอด เพื่อการแลกเปลี่ยนก๊าซที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย การวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ

หายใจทำได้โดยวัดความดันสูงสุดขณะหายใจเข้า (maximum inspiratory pressure: MIP) และวัดความดันสูงสุดขณะหายใจออก (maximum expiratory pressure: MEP) เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของความดันและปริมาตรปอด (pressure-volume curve) จะพบว่าหากความดันมีค่าเพิ่มขึ้น (ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเพิ่มขึ้น) จะส่งผลให้ปริมาตรปอดเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน<sup>(14-15)</sup> การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าปริมาตรปอดมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่า MIP และ MEP ทั้งในอาสาสมัครสุขภาพดีและผู้ป่วยโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง<sup>(16-17)</sup> อย่างไรก็ตามการศึกษาความสัมพันธ์ดังกล่าวในเด็กสมองพิการยังมีจำกัด

การวัดการขยายตัวของทรวงอกและท้อง (cirtometry) เป็นการวัดที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในทางคลินิก เพื่อวัดการเคลื่อนไหวของผนังทรวงอกในผู้ใหญ่สมองพิการ<sup>(5)</sup> โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง<sup>(17)</sup> โรคข้อสันหลังอักเสบชนิดติดยึด (ankylosing spondylitis)<sup>(18)</sup> และโรคไฟโบรมัยอัลเจีย (fibromyalgia)<sup>(19)</sup> นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้เพื่อตรวจหาการเปลี่ยนแปลงการขยายตัวของทรวงอกและท้องหลังจากได้รับโปรแกรมการฟื้นฟูสมรรถภาพปอด<sup>(20)</sup> cirtometry คือการวัดการขยายตัวของทรวงอกและท้องจากความจุปอดทั้งหมด (total lung capacity) จนถึงปริมาตรปอดที่คงค้างอยู่โดยใช้สายวัด แต่วิธีนี้ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวัดที่ระดับท้องเพื่อแสดงให้เห็นถึงการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อกะบังลมได้ด้วย<sup>(20)</sup> ดังนั้น cirtometry จึงอาจเป็นเครื่องมือที่สามารถประเมินการเปลี่ยนแปลงการขยายตัวของปอดและการทำงานของกล้ามเนื้อกะบังลมได้ นอกจากนี้ความน่าเชื่อถือของการวัดยังอยู่ในระดับที่สูงทั้งในระหว่างผู้วัด (inter-rater reliability) และภายในผู้วัด (intra-rater reliability) อีกทั้งยังเป็นวิธีที่ใช้งานง่ายและราคาถูกลง<sup>(17, 20)</sup>

การศึกษาของ Ozgocmen และคณะในปี ค.ศ. 2002 พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างการเคลื่อนไหวของผนังทรวงอกและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจในอาสาสมัครกลุ่มโรคไฟโบรมัยอัลเจีย (MIP,  $r=0.49$ ,  $p<0.01$ ; MEP,  $r=0.57$ ,  $p<0.001$ )<sup>(19)</sup> ขณะที่การศึกษาอื่นๆ พบค่าความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่าง

การเคลื่อนไหวของผนังทรวงอก และปริมาตรปอดในอาสาสมัครกลุ่มผู้ใหญ่สมองพิการ<sup>(6)</sup> โรคข้อสันหลังอักเสบชนิดติดยึด<sup>(18)</sup> อาสาสมัครสุขภาพดี<sup>(16)</sup> และโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง<sup>(17)</sup> จากการศึกษาเหล่านั้นแสดงความสัมพันธ์เชิงบวกที่อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการวัดการขยายตัวของทรวงอกและท้องสามารถบ่งชี้ให้เห็นถึงการทำงานของระบบหายใจในผู้ป่วยประเภทต่าง ๆ ข้างต้น แต่ยังไม่พบการศึกษาใดที่ตรวจหาความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องกับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อและสมรรถภาพปอดในเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็ง ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องที่วัดโดย cirtometry กับสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจในเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็ง

## วิธีการศึกษา

### อาสาสมัคร

การศึกษานี้เป็นการวิจัยแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) ดำเนินการระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2560 ณ โรงเรียนศรีสังวาลย์ขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น โครงการวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE592301) ศึกษาในเด็กสมองพิการจำนวน 36 คน อายุระหว่าง 8-18 ปี มีเกณฑ์การคัดเลือกคือ ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นสมองพิการประเภทแข็งเกร็งที่มีระดับความสามารถด้านการเคลื่อนไหว (Gross Motor Function Classification System: GMFCS) ตั้งแต่ระดับที่ 1-5 ไม่มีความผิดปกติทางสติปัญญาและไม่มีโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ เช่น ตาบอดหรือหูหนวก และมีความยินดีเข้าร่วมงานวิจัย เกณฑ์การคัดออกคือ มีประวัติการติดเชื้อทางเดินหายใจเฉียบพลันและโรคอื่น ๆ ที่ไม่สามารถให้การรักษาได้ด้วยวิธีมาตรฐาน เช่น การแนะนำการปฏิบัติตัว การให้ยาบรรเทาและรักษาอาการ และการรักษาด้วยวิธีทางกายภาพบำบัดทรวงอก เป็นต้น หากอาสาสมัครที่มีอายุต่ำกว่า 18 ปี ต้องมีผู้ปกครองหรือผู้ดูแลลงนามยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย

## ขั้นตอนการวิจัย

ก่อนการเก็บข้อมูลในอาสาสมัครเด็กสมองพิการ ผู้วิจัยที่ทำหน้าที่วัดสมรรถภาพปอด การขยายตัวของทรวงอกและท้อง และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจได้ทำการทดสอบซ้ำ (test-retest) ของการตรวจประเมินในการวัดทั้ง 3 วิธีเพื่อหาความเที่ยงภายในตัวเอง (intra-class reliability) โดยทำการทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 10 คน อายุระหว่าง 8-18 ปี ผลการทดสอบพบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (intra-class correlation coefficient: ICC) ของตัวแปรทั้งหมดจากการวัดทั้ง 3 วิธีอยู่ระหว่าง 0.95-0.98 ดังนั้นจึงมั่นใจได้ว่าผู้ที่ทำหน้าที่วัดตัวแปรทั้งหมดของการศึกษานี้มีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ดีเยี่ยม จากนั้นทำการเก็บข้อมูลในอาสาสมัครเด็กสมองพิการโดยบันทึกข้อมูลพื้นฐานซึ่งประกอบด้วย เพศ อายุ ส่วนสูง น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย ระดับความสามารถด้านการเคลื่อนไหว ชนิดของสมองพิการและลักษณะของทรวงอกและอาสาสมัครแต่ละคนจะได้รับการสุ่มลำดับของการทดสอบทั้ง 3 วิธี โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel

### การตรวจประเมิน

อาสาสมัครจะได้รับการวัดสมรรถภาพปอดโดยใช้สไปโรเมทรีแบบหิ้วถือ (Pony FX, US) ตามวิธีการมาตรฐานของ American Thoracic Society (ATS) / European Respiratory Society (ERS)<sup>(22)</sup> โดยอาสาสมัครนั่งบนเก้าอี้ที่มีพนักพิงอมท่อนซึ่งต่อกับเครื่องวัดสมรรถภาพปอดโดยไม่ให้มีรูรั่วระหว่างปากและท่อ และใช้คลิปหนีบจมูกไว้ จากนั้นให้อาสาสมัครเริ่มการทดสอบด้วยการหายใจเข้า-ออกให้ได้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ผ่านทางปาก และหายใจเข้าเต็มที่และหายใจออกสุดอย่างรวดเร็วและแรงเต็มที่เป่าค้างไว้ 6 วินาที จากนั้นให้หายใจปกติพร้อมกับผ่อนคลาย อาสาสมัครจะได้รับการฝึกจนกระทั่งทำได้ถูกต้องก่อนการทดสอบจริงโดยผู้วิจัยจะทำเป็นตัวอย่างและให้อาสาสมัครทำตาม การทดสอบจะทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง เลือกค่าที่ดีที่สุดนำมาวิเคราะห์ข้อมูล ระหว่างการทดสอบแต่ละครั้งอาสาสมัครได้รับการพักเป็นเวลา 1 นาที หรือจนกว่าจะหายใจเหนื่อย ตัวแปรที่บันทึกประกอบไปด้วย ปริมาตรสูงสุดของอากาศที่หายใจออกอย่างรวดเร็วและแรงเต็มที่ (force vital capacity: FVC) ปริมาตรของอากาศที่

ถูกขับออกในวินาทีแรกของการหายใจออกอย่างรวดเร็วและแรงเต็มที่ (forced expiratory volume in one second: FEV<sub>1</sub>) และอัตราส่วนของปริมาตรของอากาศที่เป่าออกมาได้ในวินาทีแรกของการหายใจออกอย่างรวดเร็วและแรงเต็มที่ต่อปริมาตรของอากาศที่เป่าออกมาได้มากที่สุดอย่างรวดเร็วแรง (FEV<sub>1</sub>/FVC ratio)

การทดสอบความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจทำตามวิธีการมาตรฐานของ ATS/ERS<sup>(23)</sup> อาสาสมัครนั่งบนเก้าอี้ที่นั่งสบายและสวมท่อเป่าที่ต่อเข้ากับเครื่อง RMT ชนิดพกพา (MicroRPM, UK) และใส่คลิปหนีบจมูก หลังจากนั้นวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้า โดยให้หายใจออกจนสุดแล้วให้ดูดลมหายใจเข้าทางปากเต็มที่ค้างไว้อย่างน้อย 1.5 วินาที จากนั้นวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจออก โดยให้หายใจเข้าลึกทางจมูกแล้วเป่าออกทางปากค้างไว้อย่างน้อย 1.5 วินาที ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้งต่อการทดสอบ พักระหว่างการทดสอบเป็นเวลา 1 นาที หรือจนกว่าจะหายใจเหนื่อย และเลือกค่าที่ดีที่สุดมาวิเคราะห์ข้อมูล

การขยายตัวของทรวงอกและท้องถูกวัดโดยใช้สายวัดซึ่งอธิบายไว้ในการศึกษาของ Lanza และคณะในปี ค.ศ. 2013<sup>(16)</sup> โดยวัดการขยายตัวของทรวงอกและท้องใน 3 ระดับคือ 1) ทรวงอกส่วนบนที่ระดับใต้รักแร้ (axillary level) 2) ทรวงอกส่วนล่างที่ระดับลิ้นปี่ (xiphoid process) และ 3) ส่วนท้องที่ระดับสะดือ (umbilicus) อาสาสมัครหายใจเข้าลึกให้ทรวงอกหรือท้องบริเวณที่ต้องการวัดขยายออกให้มากที่สุดค้างไว้ 5 วินาที วัดทั้งหมด 3 ครั้งต่อระดับ โดยพักระหว่างการวัดแต่ละระดับเป็นเวลา 1 นาที หรือจนกว่าจะหายใจเหนื่อย และเลือกค่าที่ดีที่สุดมาวิเคราะห์ข้อมูล

## การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้ทดสอบการแจกแจงข้อมูลของตัวแปรที่ได้จากการวัดทั้งหมดโดยสถิติ Shapiro-Wilk test และฮิสโตแกรม (Histogram plot) พบว่า ทุกตัวแปรมีการแจกแจงข้อมูลแบบปกติ (normal distribution) จากนั้นใช้สถิติพรรณนาเพื่ออธิบายลักษณะข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครและนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD) ใช้สถิติ Pearson correlation เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องทั้ง 3 ระดับและสมรรถภาพปอด (FVC, FEV<sub>1</sub> และ FEV<sub>1</sub>/FVC) และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้า (MIP) และหายใจออก (MEP) โดยหาค่า r น้อยกว่า 0.50 ถือว่ามีความสัมพันธ์ในระดับต่ำ r อยู่ระหว่าง 0.50-0.70 ถือว่ามีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง และ r มากกว่า 0.70 ถือว่ามีความสัมพันธ์ในระดับสูง<sup>(24)</sup> ใช้สถิติ multiple regression (สถิติแบบถดถอยเชิงเส้นพหุ) สำหรับทำนายการเปลี่ยนแปลงของสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจจากการขยายตัวของทรวงอกและท้องทั้งสามระดับ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทั้งหมดโดยใช้โปรแกรม SPSS version 17 โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$

## ผลการศึกษา

ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครแสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่าร้อยละ 81 ของอาสาสมัครทั้งหมดเป็นเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็งแบบ diplegia มีเด็กสมองพิการจำนวน 18 คน (ร้อยละ 50) มีระดับความสามารถด้านการเคลื่อนไหวระดับที่ 4 นอกจากนี้พบว่ามีเด็กสมองพิการจำนวน 7 คน (ร้อยละ 19) มีความผิดปกติของผนังทรวงอกแบบอกนูน (funnel shape chest)

**ตารางที่ 1** ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของเด็กสมองพิการ ประเภตแข็งเกร็ง จำนวน 36 คน

ข้อมูลพื้นฐาน (ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ข้อมูล
อายุ (ปี)	13.39±2.95
เพศ (ชาย/หญิง)	19/17
ส่วนสูง (เมตร)	1.40±0.12
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	36.49±10.68
ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/ตารางเมตร)	18.37±3.46
ระดับความสามารถด้านการเคลื่อนไหว (GMFCS) (จำนวนคน) [ร้อยละ]	
I	3 (8)
II	5 (14)
III	10 (28)
IV	18 (50)
ชนิดของสมองพิการ (จำนวนคน) [ร้อยละ]	
Diplegia	29 (81)
Quadriplegia	3 (8)
Hemiplegia	4 (11)
ลักษณะของทรวงอก (จำนวนคน) [ร้อยละ]	
Normal chest shape	29 (81)
Funnel chest shape	7 (19)

ข้อมูลของการทดสอบสมรรถภาพปอด ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ และการขยายตัวของทรวงอกและท้อง แสดงไว้ใน**ตารางที่ 2** ผลการศึกษาพบว่าตัวแปรเหล่านี้มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานของเด็กปกติสุขภาพดีที่อายุใกล้เคียงกัน<sup>(25-26)</sup>

ความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้อง สมรรถภาพปอด และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจแสดงใน**ตารางที่ 3** ผลการศึกษาพบว่าการขยายตัวของทรวงอกและท้องมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระดับปานกลางถึงระดับสูงกับค่า FVC, FEV<sub>1</sub>, FVC% และ FEV<sub>1</sub>% แต่พบความสัมพันธ์แบบมีนัยสำคัญทางสถิติในระดับต่ำระหว่างการขยายตัวของท้องกับ MIP และ MEP

**ตารางที่ 2** ข้อมูลของการทดสอบสมรรถภาพปอด ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ และการขยายตัวของทรวงอกและท้อง

ตัวแปร (ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ข้อมูล	ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่าเฉลี่ย
1. สมรรถภาพปอด		
FVC (ลิตร)	1.41±0.41	1.27-1.55
FVC (% predicted)	60.97±12.34	56.80-65.15
FEV <sub>1</sub> (ลิตร)	1.40±0.39	1.27-1.53
FEV <sub>1</sub> (% predicted)	61.56±13.86	56.87-66.24
FEV <sub>1</sub> /FVC ratio	91.61±5.50	98.75-93.47
2. ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ (cmH <sub>2</sub> O)		
MIP	38.40±13.69	33.76-43.02
MEP	39.36±14.21	34.55-44.17
3. การขยายตัวของทรวงอกและท้อง (เซนติเมตร)		
ทรวงอกส่วนบน	3.22±0.61	3.01-3.43
ทรวงอกส่วนล่าง	2.70±0.65	2.48-2.92
ท้อง	2.33±0.67	2.10-2.55

จาก**ตารางที่ 3** ได้นำค่าความสัมพันธ์ที่ระดับสูง มาวิเคราะห์สถิติแบบถดถอยเชิงเส้นพหุ ได้แก่ FVC, FEV<sub>1</sub> และการขยายตัวของทรวงอกส่วนล่างและท้อง พบว่าการขยายตัวส่วนท้องและทรวงอกส่วนล่างสามารถนำมาทำนายการเปลี่ยนแปลงของค่า FVC ( $R^2=0.63$ ,  $F=30.43$ ,  $p=0.001$ ) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังสมการถดถอยต่อไปนี้  $FVC = 0.042 + 0.329$  (การขยายตัวของท้อง) +  $0.224$  (การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ร้อยละ 63 ของความแปรปรวนใน FVC ในเด็กสมองพิการชนิดแข็งเกร็งของการศึกษาครั้งนี้สามารถอธิบายหรือทำนายได้ด้วยการขยายตัวของท้องและทรวงอกส่วนล่าง และเมื่อพิจารณาตัวแปร FEV<sub>1</sub> และการขยายตัวของทรวงอกและท้องทั้ง 3 ระดับ พบว่าการขยายตัวของท้องและทรวงอกส่วนล่างสามารถนำมาทำนายการ

เปลี่ยนแปลงของค่า FEV<sub>1</sub> (R<sup>2</sup>=0.60, F=27.66, p=0.001) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน ดังสมการถดถอยต่อไปนี FEV<sub>1</sub> = 0.13 + 0.31 (การขยายตัวของท้อง) + 0.199 (การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ร้อยละ 60 ของความแปรปรวนใน FEV<sub>1</sub> ในเด็กสมองพิการชนิดแข็งเกร็งของการศึกษาครั้งนี้สามารถอธิบายหรือทำนายได้ด้วยการขยายตัวของท้องและทรวงอกส่วนล่าง

### วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องที่วัดโดย cirtometry กับสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจในเด็กสมองพิการชนิดแข็งเกร็ง ผลการศึกษาพบว่าการขยายตัวของทรวงอกและท้องมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระดับปานกลางถึงสูงกับ ค่า FVC, FEV<sub>1</sub>, FVC% และ FEV<sub>1</sub>% เมื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยสถิติแบบถดถอยเชิงเส้นพหุ พบว่าการขยายตัวของทรวงอกส่วนล่างและท้องสามารถนำมาใช้ในการทำนายค่า FVC และ FEV<sub>1</sub> ได้มากที่สุด

**ตารางที่ 3** ความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องกับสมรรถภาพปอด และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ

ตัวแปร	r	p-value
การขยายตัวของท้อง และ FVC (ลิตร)	0.756	0.001
การขยายตัวของท้อง และ FEV <sub>1</sub> (ลิตร)	0.747	0.001
การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ FVC (ลิตร)	0.688	0.001
การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ FEV <sub>1</sub> (ลิตร)	0.669	0.001
การขยายตัวของทรวงอกส่วนบน และ FVC (ลิตร)	0.626	0.001
การขยายตัวของทรวงอกส่วนบน และ FEV <sub>1</sub> (ลิตร)	0.625	0.001
การขยายตัวของท้อง และ FEV <sub>1</sub> (% predicted)	0.528	0.001
การขยายตัวของทรวงอกส่วนบน และ FVC (% predicted)	0.520	0.001
การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ FVC (% predicted)	0.492	0.002
การขยายตัวของท้อง และ FVC (% predicted)	0.462	0.005
การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ FEV <sub>1</sub> (% predicted)	0.460	0.005
การขยายตัวของทรวงอกส่วนบน และ FEV <sub>1</sub> (% predicted)	0.437	0.008
การขยายตัวของท้อง และ MIP	0.41	0.012
การขยายตัวของท้อง และ MEP	0.36	0.032
การขยายตัวของทรวงอกส่วนบน และ FEV <sub>1</sub> /FVC ratio	0.187	0.274
การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ FEV <sub>1</sub> /FVC ratio	0.126	0.466
การขยายตัวของท้อง และ FEV <sub>1</sub> /FVC ratio	- 0.091	0.596
การขยายตัวของทรวงอกส่วนบน และ MIP	0.25	0.143
การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ MIP	0.24	0.153
การขยายตัวของทรวงอกส่วนบน และ MEP	0.16	0.353
การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ MEP	0.12	0.498

เมื่อนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้ของเด็กปกติที่มีช่วงอายุใกล้เคียงกันพบว่า สมรรถภาพปอด ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ และการขยายตัวของทรวงอกและท้องของเด็กสมองพิการมีค่าต่ำกว่าเด็กปกติ (25-26) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อลำตัวและกล้ามเนื้อท้องที่ทำหน้าที่เสริมความมั่นคงของลำตัวในเด็กสมองพิการ จึงส่งผลให้เกิดแนวกระดูกซี่โครงที่ผิดปกติไปจากเดิมในขณะที่หายใจของกระดูกซี่โครง (rib cage) กระดูกสันหลัง และกล้ามเนื้อกะบังลม (3,5,27-28) ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของชีวกลศาสตร์การทำงานของข้อต่อของระบบหายใจขณะหายใจเข้าและออก และเป็นสาเหตุทำให้ปริมาตรปอดลดลงตามมาในที่สุด (27-28)

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าสมรรถภาพปอด และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจในเด็กสมองพิการมีการลดลงเมื่อเทียบกับเด็กปกติ (25-26) และในระหว่างเด็กสมองพิการที่ต่างชนิดกัน โดยพบว่าเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็งแบบ Diplegia มีประสิทธิภาพการทำงานของระบบหายใจต่ำกว่าเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็งแบบ Hemiplegia (30) การศึกษานี้พบว่า อาสาสมัครส่วนใหญ่เป็นเด็กสมองพิการประเภทแข็งเกร็งแบบ Diplegia และระดับ GMFCS อยู่ในระดับที่ 4 (เคลื่อนไหวได้เองน้อย) ทำให้ค่าสมรรถภาพปอด ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจและการขยายตัวของทรวงอกและท้องลดลงกว่าค่าปกติมากทั้งนี้เนื่องจากเด็กสมองพิการแบบ Diplegia ร่วมกับระดับ GMFCS ในระดับที่สูงจะมีความผิดปกติของความตึงตัวและการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อรวมถึงความผิดปกติในการทรงท่าของร่างกายเกือบทุกส่วนได้แก่ ส่วนแขน ขา และลำตัวทำให้ระดับความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางชีวกลศาสตร์ในการหายใจมีมากกว่าเด็กสมองพิการแบบ Hemiplegia ซึ่งมีความผิดปกติต่างๆ ดังที่ได้กล่าวมาเพียงซีกใดซีกหนึ่งของร่างกาย

ผลการศึกษานี้พบความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับปานกลางถึงระดับสูง ( $r = 0.69-0.76$ ) ระหว่างการขยายตัวของท้องและทรวงอกส่วนล่างกับ FVC ซึ่งอาจจะสามารถอธิบายได้ว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาตรปอดส่วนใหญ่ในเด็กสมองพิการเกิดจากการทำงานของกะบังลม (20,27-29)

เนื่องจากการหดตัวของกะบังลมจะส่งผลให้เกิดการยกของกระดูกซี่โครงส่วนล่างและหน้าท้อง (29) นอกจากนี้ยังพบว่าเด็กสมองพิการมีการขยายตัวของท้องและทรวงอกส่วนล่างลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเด็กปกติที่มีช่วงอายุใกล้เคียงกัน (20) (ตารางที่ 2) จึงสันนิษฐานได้ว่าปริมาตรปอดของเด็กสมองพิการที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อกะบังลมเป็นหลัก ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อลำตัวและการเปลี่ยนแปลงทางชีวกลศาสตร์ของการหายใจที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นทำให้กล้ามเนื้อกะบังลมต้องทำงานเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อกะบังลมในที่สุด นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติของทรวงอกในเด็กสมองพิการที่ส่งผลต่อการจำกัดการขยายตัวของทรวงอกและท้องด้วยเช่นกัน (3,28-29,32-33) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าเด็กสมองพิการส่วนใหญ่มีรูปแบบการหายใจที่ผิดปกติ (28-31) โดยใช้กล้ามเนื้อทรวงอกช่วยในการหายใจเพื่อเพิ่มการขยายตัวของทรวงอกส่วนบนเพื่อชดเชยอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อกะบังลม (28-29) ซึ่งผลการศึกษานี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับผู้ใหญ่สมองพิการที่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการขยายตัวของทรวงอกส่วนล่าง และ FVC (5) แต่การศึกษาในผู้ใหญ่สมองพิการไม่ได้ทำการวัดการขยายตัวของท้อง

นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ในระดับปานกลางถึงระดับสูง ( $r=0.67-0.75$ ) ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกส่วนล่างและท้องกับ  $FEV_1$  สามารถอธิบายได้ว่าเนื่องจากจุดเกาะปลายของกล้ามเนื้อหายใจออกและกล้ามเนื้อกะบังลมอยู่บริเวณกระดูกซี่โครงส่วนล่าง และเมื่อกล้ามเนื้อดังกล่าวคลายตัวจะส่งผลทำให้ลดเส้นผ่าศูนย์กลางของทรวงอกขณะหายใจออก ทำให้มีผลโดยตรงต่อปริมาตรอากาศขณะหายใจออกอย่างรวดเร็วและแรงและคงไว้ซึ่งปริมาตรหายใจออกสำรอง (expiratory reserve volume) (16) ซึ่งผลดังกล่าวพบได้ในอาสาสมัครเด็กสุขภาพดี เมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์สถิติแบบถดถอยเชิงเส้น พบว่า การขยายตัวของทรวงอกส่วนล่างและท้องสามารถนำมาทำนายการเปลี่ยนแปลงของ FVC และ  $FEV_1$  ได้มากที่สุด ( $R^2=0.63$ ,  $p=0.001$  และ  $R^2=0.60$ ,  $p=0.001$  ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าการวัดการขยายตัวของทรวงอก

ส่วนล่างและท้องสามารถนำมาใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรปอดในเด็กสมองพิการชนิดแข็งเกร็งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งข้อดีของการใช้ cirtometry นี้คือ ใช้งานง่ายและมีราคาถูก สามารถนำไปใช้ตรวจประเมินการเปลี่ยนแปลงทางระบบหายใจของเด็กสมองพิการในภาคสนาม แต่ข้อจำกัดของการใช้ cirtometry คือต้องอาศัยความชำนาญของผู้วัดและสเกลการวัดมีความละเอียดต่ำ<sup>(16-20)</sup>

ผลการศึกษานี้ยังพบความสัมพันธ์ในระดับต่ำ ( $r = 0.36-0.41$ ) ระหว่างการขยายตัวของท้องกับ MIP และ MEP ซึ่งคาดว่าน่าจะมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแรงดันสูงสุดขณะหายใจเข้าและออกในเด็กสมองพิการที่นอกเหนือจากการทำงานของกล้ามเนื้อกะบังลม เช่น ความยืดหยุ่นของผนังทรวงอกและท้อง และแรงต้านทานการไหลของอากาศในท่อทางเดินหายใจ ซึ่งไม่ได้วัดในการศึกษาครั้งนี้ จากผลการศึกษานี้สามารถที่จะนำเอาการวัดการขยายตัวของทรวงอกส่วนล่างและท้องโดย cirtometry ไปติดตามการเปลี่ยนแปลงของ FVC และ FEV<sub>1</sub> ในเด็กสมองพิการชนิดแข็งเกร็งได้ นอกจากนี้ หากมีการฝึกเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อทรวงอกส่วนล่าง กล้ามเนื้อท้องและกะบังลมที่เหมาะสมอาจจะสามารถเพิ่มสมรรถภาพปอดในเด็กสมองกลุ่มนี้ได้ต่อไป

ข้อจำกัดของการศึกษาครั้งนี้คือ 1) ไม่มีการคำนวณขนาดตัวอย่างแต่ใช้ convenient sample ทำให้ข้อมูลที่ได้อาจจะไม่สามารถนำไปใช้อธิบายลักษณะประชากรได้ทั้งหมด 2) อาสาสมัครส่วนใหญ่เป็นเด็กสมองพิการวัยรุ่นประเภทแข็งเกร็งแบบ diplegia ที่มีระดับความสามารถด้านการเคลื่อนไหวระดับที่ 4 ดังนั้นผลการศึกษานี้จึงอาจไม่สามารถนำไปใช้ในเด็กสมองพิการประเภทอื่นหรือเด็กสมองพิการที่มีระดับความรุนแรงระดับอื่น ๆ ได้ ซึ่งการศึกษาต่อไปควรทำการคำนวณขนาดตัวอย่างและศึกษาในกลุ่มเด็กสมองพิการที่มีความหลากหลายของชนิดและระดับ GMFCS และพิจารณาหาความสัมพันธ์ระหว่างการขยายตัวของทรวงอกและท้องเปรียบเทียบกับเครื่องมือมาตรฐาน เช่น optoelectronic plethysmography เพื่อยืนยันผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนทุนค่าธรรมเนียมการศึกษาและทุนอุดหนุนการทำวิจัย ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ และศูนย์วิจัยปวดหลัง ปวดคอ ปวดข้ออื่น ๆ และสมรรถนะของมนุษย์ (BNOJPH) มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนในการทำวิจัย และขอบพระคุณนักกายภาพบำบัดจิตรลดา ประเสริฐชู ผู้อำนวยการโรงเรียนศรีสังวาลย์ขอนแก่น และสุดท้ายขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่านเสียสละเวลาที่เข้าร่วมงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

1. Cans C, De-la-Cruz J, Mermat M-A. Epidemiology of cerebral palsy. Paediatr Child Health 2008; 18: 393-8.
2. Odding E, Roebroek ME, Stam HJ. The epidemiology of cerebral palsy: Incidence, impairments and risk factors. Disabil Rehabil. 2006; 28: 183-91.
3. Beaman J, Kalisperis FR, Miller-Skomorucha K. "The infant and child with cerebral palsy." In: Tecklin JS, editor. Pediatric physical therapy. Lippincott Williams & Wilkins; 2015. 187-211.
4. Aisen ML, Kerkovich D, Mast J, Mulroy S, Wren TA, Kay RM, et al. Cerebral palsy: clinical care and neurological rehabilitation. Lancet Neurol 2011; 10: 844-52.
5. Lampe R, Blumenstein T, Turova V, Alves-Pinto A. Lung vital capacity and oxygen saturation in adults with cerebral palsy. Patient Prefer Adherence 2014; 8: 1691-7.
6. Seddon PC, Khan Y. Respiratory problems in children with neurological impairment. Arch Dis Child 2003; 88: 75-8.

7. Proesmans M. Respiratory illness in children with disability: a serious problem?. *Breathe* 2016; 12: e97-e103.
8. Fitzgerald DA, Follett J, Van Asperen PP. Assessing and managing lung disease and sleep disordered breathing in children with cerebral palsy. *Paediatr Respir Rev* 2009; 10: 18-24.
9. Choi JY, Rha DW, Park ES. Change in pulmonary function after incentive spirometer exercise in children with spastic cerebral palsy: a randomized controlled study. *Yonsei Med J* 2016; 57: 769-75.
10. Vogt B, Falkenberg C, Weiler N, Frerichs I. Pulmonary function testing in children and infants. *Physiol Meas* 2014; 35: R59-R90.
11. Hutzler Y, Chacham A, Bergman U, Szeinberg A. Effects of a movement and swimming program on vital capacity and water orientation skills of children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 1998; 40: 176-81.
12. Wang HY, Chen CC, Hsiao SF. Relationships between respiratory muscle strength and daily living function in children with cerebral palsy. *Res Dev Disabil* 2012; 33: 1176-82.
13. Stanojevic S, Wade A, Lum S, Stocks J. Reference equations for pulmonary function tests in preschool children: a review. *Pediatr Pulmonol* 2007; 42: 962-72.
14. Gibson GJ. "Lung volumes and elasticity." In: Hughes JM, Pride NB, editors. *Lung function tests: physiological principles and clinical applications*. Michigan: Saunders; 1999. 45-56.
15. Light RW. "Mechanics of respiratory." In: George RB, Light RW, Matthay MA, Matthay RA, editors. *Chest medicine: essential of pulmonary and critical care medicine*. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2005 26-38.
16. Lanza F de C, de Camargo AA, Archija LR, Selman JP, Malaguti C, Dal Corso S. Chest wall mobility is related to respiratory muscle strength and lung volumes in healthy subjects. *Respir Care* 2013; 58: 2107-12.
17. Malaguti C, Rondelli RR, Souza LM, Domingues M, Dal Corso S. Reliability of chest wall mobility and its correlation with pulmonary function in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Care* 2009; 54: 1703-11.
18. Fisher LR, Cawley MI, Holgate ST. Relationship between chest expansion, pulmonary function, and exercise tolerance in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 921-5.
19. Ozgocmen S, Cimen OB, Ardicoglu O. Relationship between chest expansion and respiratory muscle strength in patients with primary fibromyalgia. *Clin Rheumatol* 2002; 21: 19-22.
20. Kaneko H, Horie J. Breathing movements of the chest and abdominal wall in healthy subjects. *Respir Care* 2012; 57: 1442-51.
21. American Thoracic Society/European Respiratory Society. ATS/ERS statement on respiratory muscle testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 518-624.
22. Miller MR, Hankinson JA, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26: 319-38.
23. American Thoracic Society/European Respiratory Society. ATS/ERS statement on respiratory muscle testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 518-624.

24. Portney LG, Watkins MP. Foundations of clinical research application to practice. 3<sup>rd</sup> ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2009.
25. Silva RO, Campos TF, Borja RD, Macêdo TM, Oliveira JS, de Mendonça KM. Reference values and factors related to thoracic mobility in Brazilian children. *Rev Paul Pediatr* 2012; 30: 570-5.
26. Heinzmann-Filho JP, Vidal PC, Jones MH, Donadio MV. Normal values for respiratory muscle strength in healthy preschoolers and school children. *Respir Med* 2012; 106: 1639-46.
27. Massery M. "Multisystem consequences of impaired breathing mechanics and/or postural control." In: Frownfelter D, Dean E, editors. *Cardiovascular and Pulmonary physical therapy evidence and practice*. St. Louis: Elsevier health sciences; 2006: 695-717.
28. Massery M. "Multisystem consequences of impaired breathing mechanics and/or postural control." In: Frownfelter D, Dean E, editors. *Cardiovascular and Pulmonary physical therapy: evidence and practice*. St. Louis: Elsevier Health Sciences; 2014. 633-53.
29. Haji K, Royse A, Green C, Botha J, Canty D, Royse C. Interpreting diaphragmatic movement with bedside imaging, review article. *J Crit Care* 2016; 34: 56-65.
30. Kwon YH, Lee HY. Differences in respiratory pressure and pulmonary function among children with spastic diplegic and hemiplegic cerebral palsy in comparison with normal controls. *J Phys Ther Sci* 2015; 27: 401-3.
31. Kwon YH, Lee HY. Differences of respiratory function according to level of the gross motor function classification system in children with cerebral palsy. *J Phys Ther Sci* 2014; 26: 389-91.
32. El-Refaey BH, Abd-El Maksoud GM, Ali OI. Efficacy of feedback respiratory training on respiratory muscle strength and quality of life in children with spastic cerebral palsy: Randomized controlled trial. *Bulletin of Faculty of Physical Therapy* 2017; 22: 46-52.
33. Lee HY, Cha YJ, Kim K. The effect of feedback respiratory training on pulmonary function of children with cerebral palsy: a randomized controlled preliminary report. *Clin Rehabil* 2014; 28: 965-71.



## การสำรวจความชุกของปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน และการจัดการทางการยศาสตร์ในผู้ใช้คอมพิวเตอร์

อรวรรณ บุราณรักษ์<sup>1,2\*</sup>, วิชัย อิงพิณิจพงค์<sup>1,2</sup>, ศุภศาสตร์ คนหาญ<sup>1,2</sup>, นิสาชล พลวาปี<sup>3</sup>, ปัทมวรรณ ฉินตะเคียน<sup>3</sup>

Received: October 28, 2017

Revised: January 8, 2018

Accepted: January 11, 2018

### บทคัดย่อ

การใช้งานคอมพิวเตอร์ถือเป็นความจำเป็นสำหรับการทำงานในยุค 4.0 และจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์มีความเสี่ยงทางการยศาสตร์และมีโอกาสเกิดความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อ คอ ไหล่ แต่ยังมีข้อจำกัดในการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การพัฒนาวิธีการจัดการทางการยศาสตร์ และแนวทางการ ออกแบบหรือปรับปรุงระบบการทำงานหรือรูปแบบพฤติกรรมทางสุขภาพให้มีความสอดคล้องเหมาะสมกับผู้ปฏิบัติ และสถานที่ทำงาน ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน และการจัดการทางการยศาสตร์ในผู้ใช้คอมพิวเตอร์ โดยการวิจัยเชิงสำรวจแบบภาคตัดขวางในกลุ่มพนักงานมหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะเป็นประจำ โดยใช้แบบสอบถามแบบผสมมีทั้งเลือกตอบและปลายเปิด ซึ่งมีแบบสอบถามจำนวน 193 ฉบับ ที่สามารถนำมาประมวลผลได้ โดยใช้สถิติพรรณนา นำเสนอในรูปของตารางแจกแจง ความถี่ กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง อายุเฉลี่ย 38 ปี การศึกษาระดับปริญญาตรี มีประสบการณ์การทำงานโดยใช้ คอมพิวเตอร์เฉลี่ย 13 ปี มีความสามารถในการพิมพ์งานเฉลี่ย 7 หน้าต่อชั่วโมง ระยะเวลาการใช้งานคอมพิวเตอร์เฉลี่ย 7-9 ชั่วโมงต่อวัน ร้อยละ 84.9 มีการขยับเมาส์หรือทำงานที่ต้องกดปุ่มต่างๆ ในขณะที่ใช้งานคอมพิวเตอร์ ร้อยละ 65.8 มีอาการ ปวดเมื่อยบริเวณคอ และ/หรือบริเวณบ่าจากการใช้งานคอมพิวเตอร์ ในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา โดยตำแหน่งที่มีอาการ ปวดเมื่อยมากที่สุด 3 อันดับแรกคือ คอ (ร้อยละ 41.7) ไหล่ (ร้อยละ 22.8) และ ศีรษะ (ร้อยละ 19.7) กลุ่มตัวอย่าง ร้อยละ 27.5 คิดว่าที่ทำงานมีสิ่งแวดล้อมที่รบกวนต่อการใช้งานคอมพิวเตอร์ ร้อยละ 65.8 คิดว่าสภาพแวดล้อมในการ ทำงานเป็นสาเหตุหนึ่งของการทำให้เกิดอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อคอ คอ ไหล่ ร้อยละ 57.5 โต๊ะทำงานมีระยะห่างระหว่าง ขอบโต๊ะกับคีย์บอร์ดน้อยกว่า 15 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบร้อยละ 41.9 ไม่ทราบว่าการจัดการทางการยศาสตร์ในการ ทำงานคอมพิวเตอร์ที่ถูกต้องเป็นอย่างไร ดังนั้นผลการศึกษานี้จะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการจัดการทางการยศาสตร์ เพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพในการทำงาน ลดความเสี่ยงต่อการบาดเจ็บหรือความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อต่อไป

**คำสำคัญ:** การจัดการทางการยศาสตร์, ความชุก, ความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อ, คอมพิวเตอร์

<sup>1</sup>ศูนย์วิจัยปวดหลัง ปวดคอ ปวดข้ออื่นๆ และสมรรถนะของมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup>สายวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>3</sup>นักศึกษาปริญญาตรี สาขากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*ผู้รับผิดชอบบทความ



# A Survey of Musculoskeletal Disorder at Neck and Upper Extremities and Ergonomics Management in Computer Users

Orawan Buranruk<sup>1,2\*</sup>, Wichai Eungpinichpong<sup>1,2</sup>, Kurusart Khonharn<sup>1,2</sup>,  
Nisachon Ponwapi<sup>3</sup>, Pattamawan Chintakian<sup>3</sup>

## Abstract

Nowadays, the computer is one of the device which has been widely used for work in 4.0 era. Many computer users are suffering from musculoskeletal disorders at the neck and shoulder because of their inappropriate behaviors, poor ergonomics and other risk factors. Thus, this study aimed to explore the problems on the musculoskeletal system at neck and upper extremities, as well as ergonomic management in computer users. A cross-sectional descriptive study was applied to study the prevalence by collecting the data from 193 office workers from Khon Kean University. The questionnaire used in this study was consisted of demographic data. Descriptive statistics were also used for analyzing and identifying the obtained results of musculoskeletal problems. The results of this study revealed that the prevalence of pain at neck, shoulder and head were 40.65%, 21.14% and 17.9%, respectively. Most of them had moderate frequency of pain level (58.47%). In ergonomic management of computer users, most of the participants were rated poor on computer operations, including bend their trunks forward during the sitting position with insufficient rest period. Most of them (65.8%) believed that using smart phone during the day was one of major factors that caused their musculoskeletal disorders. Proper ergonomic training for office workers is suggested to reduce the magnitude and frequency of musculoskeletal disorders.

**Keywords:** Ergonomic management, Prevalence, Musculoskeletal disorder, Computer

<sup>1</sup> Research Center in Back, Neck, Other Joint Pain and Human Performance (BNOJPH) Khon Kaen University

<sup>2</sup> School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

<sup>3</sup> B.Sc. student, School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kean University

\* Corresponding author (e-mail: orawan@kku.ac.th)

## บทนำ

ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา เทคโนโลยีได้รับการพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็ว คอมพิวเตอร์เป็นหนึ่งในเครื่องมือที่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลาย เพื่ออำนวยความสะดวกให้สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น จากผลการสำรวจของสำนักงานสถิติแห่งชาติ ในปี พ.ศ. 2551-2553 พบว่าแนวโน้มของผู้ที่ใช้คอมพิวเตอร์ในที่ทำงานมีจำนวนเพิ่มขึ้นจาก 3.4 ล้านคน เป็น 4.7 ล้านคน และ 5.7 ล้านคน ตามลำดับ โดยเฉพาะผู้ที่ทำงานในสำนักงานซึ่งในปัจจุบันมีจำนวนประมาณ 3,865,100 คน และจากผลการสำรวจ ในปี พ.ศ. 2559 พบว่าแนวโน้มของผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์มีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 9.3 ล้านคน จากจำนวนผู้ใช้งานทั้งหมด 38.6 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 24.1 ของผู้ใช้งานทั้งหมด<sup>(1,2)</sup> จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าสาเหตุหลักที่ทำให้ผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์มีความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อ คือ ลักษณะการทำงานที่ไม่ถูกต้องตามหลักการยศาสตร์<sup>(3-6)</sup> นอกจากนี้การจัดการทางการยศาสตร์ที่ไม่ถูกต้องก่อให้เกิดความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อในผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์ได้แก่ การบาดเจ็บคือ เกิดภาวะตึงเครียดของกล้ามเนื้อ การฉีกขาดและการเสื่อม เกิดอาการ ปวด ล้า บวม ชา แสบร้อน และอ่อนแรง เช่น การอักเสบของเอ็น กลุ่มอาการอุโมงค์ข้อมือ และการเกิดกลุ่มอาการปวดกล้ามเนื้อและพังผืด เป็นต้น<sup>(7,8,9)</sup> ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ปัญหาของระบบโครงร่างกล้ามเนื้อสามารถรักษาได้ทั้งแบบที่ใช้ยา เช่น ยาแก้ปวด ยาคลายกล้ามเนื้อ เป็นต้น และแบบไม่ใช้ยา เช่น การประคบร้อน การฝังเข็ม เป็นต้น<sup>(10)</sup> ซึ่งเป็นการรักษาเมื่อเกิดเหตุแล้วทั้งสิ้น ทั้งที่ต้นเหตุของอาการดังกล่าวเกิดจากการจัดการทางการยศาสตร์ที่ไม่ถูกต้อง ดังนั้นหากสามารถออกแบบการจัดการทางการยศาสตร์ให้เหมาะสม ย่อมจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ และประสิทธิผลในการทำงาน<sup>(11)</sup> ดังที่ Hoe และคณะ<sup>(12)</sup> กล่าวว่าไว้ว่าการยศาสตร์ในสถานที่ทำงาน คือ ความสัมพันธ์ต่อสภาพแวดล้อมการทำงาน ซึ่งเป็นหลักเกี่ยวกับการปฏิบัติงาน มีองค์ประกอบที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เครื่องมือ (tool), สถานที่งานและสิ่งแวดล้อม (work & station & environment), และเนื้อหา (job content) และปัจจัยเสี่ยงทาง

การยศาสตร์ ได้แก่ ท่าทางการทำงาน (posture) น้ำหนักขึ้นงาน (weight/load) การออกแรง/แรงที่ใช้ (exertion / force) ความถี่ในการทำงาน (frequency) ระยะเวลา (durance) ความสั่นสะเทือน (vibration) และสภาพแวดล้อม (environment) เป็นต้น และจากการศึกษาความเสี่ยงทางการยศาสตร์ในกลุ่มพนักงานมหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์เป็นประจำ นานกว่า 4 ชั่วโมงต่อวัน ส่วนใหญ่มีความเสี่ยงระดับสูง (ร้อยละ 66.23) รองลงมาคือระดับปานกลาง (ร้อยละ 19.48) และระดับสูงมาก (ร้อยละ 13.85) และพบว่าบุคคลกลุ่มนี้มีความเสี่ยงต่อความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน<sup>(13,14)</sup> แต่การศึกษาที่ผ่านมายังมีข้อจำกัดในการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การพัฒนาวิธีการจัดการทางการยศาสตร์ และแนวทางการออกแบบหรือปรับปรุงระบบการทำงานหรือรูปแบบพฤติกรรมทางสุขภาพให้มีความสอดคล้องเหมาะสมกับผู้ปฏิบัติและสถานที่ทำงาน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการสำรวจความชุกของปัญหาของระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบนและการจัดการทางการยศาสตร์ในกลุ่มผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์เป็นประจำ เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปพัฒนาต่อยอด นำไปสู่แนวทางการป้องกันหรือลดความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน จากการจัดการทางการยศาสตร์ให้มีความเหมาะสมต่อกลุ่มผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์เป็นประจำต่อไป

## วัตถุประสงค์และวิธีการ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงสำรวจแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional descriptive study) ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่โครงการ HE582185 โดยใช้แบบสอบถามที่ผู้วิจัยพัฒนาขึ้นและผ่านการพิจารณาจากผู้เชี่ยวชาญ 3 ท่าน ทำการศึกษาในกลุ่มผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะเป็นประจำ ไม่จำกัดเพศ เชื้อชาติ ศาสนา ระดับการศึกษา ฐานะทางเศรษฐกิจ จำนวนทั้งสิ้น 504 คน โดยสุ่มแจกแบบสอบถามโดยตรงไปยังบุคลากรสาย ข หรือ ค ที่ทำงานในสำนักงานตามคณะ สำนัก หรือสถาบันต่างๆ สังกัด มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระยะเวลาในการดำเนินการ

เก็บรวบรวมข้อมูล คือ ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือน ธันวาคม 2558 โดยมีเกณฑ์การคัดเลือก เป็นกลุ่มผู้ใช้งาน คอมพิวเตอร์เป็นประจำที่ใช้คอมพิวเตอร์ในการทำงาน โดยรวมมากกว่า 4 ชั่วโมงต่อวัน อายุระหว่าง 18-59 ปี มีประสบการณ์ในการทำงานมากกว่า 1 ปี ให้ความยินยอม ในการเข้าร่วมงานวิจัยตามหลักการขอจริยธรรมงานวิจัย ในมนุษย์ โดยลงนามไว้เป็นหลักฐาน และมีเกณฑ์การ คัดออก จากข้อมูลในการตอบแบบสอบถามที่ไม่สมบูรณ์ มากกว่าร้อยละ 40 ของแบบสอบถาม โดยคำนวณจาก จำนวนข้อคำถามที่ไม่ตอบ

### การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ ตาม ID ของแบบสอบถามซึ่งมีการ ปกปิดชื่ออาสาสมัครที่ตอบแบบสอบถามและผ่านเกณฑ์ การคัดออกมาทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม คอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 17 ซึ่งมีข้อมูลที่ต้องวิเคราะห์ ได้แก่ ข้อมูลคุณลักษณะของประชากร วิธีการจัดการทางการพยาบาลและภาวะความผิดปกติของ ระบบโครงร่างกล้ามเนื้อเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน ใช้สถิติ พรรณนา (descriptive statistics) นำเสนอในรูปของ ตารางแจกแจงความถี่ ได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ามัธยฐาน และค่าสูงสุด-ต่ำสุด

### ผลการศึกษา

จากการศึกษาข้อมูลโดยใช้แบบสอบถามเป็น เครื่องมือในการศึกษาปัญหาในครั้งนี้ ประกอบด้วย แบบสอบถามข้อมูลทั่วไป เพื่อประเมินลักษณะของกลุ่ม ตัวอย่าง โดยเป็นคำถามแบบผสมมีทั้งเลือกตอบและ ปลายเปิด ซึ่งมีแบบสอบถามจำนวน 193 ฉบับ ที่สามารถ นำมาประมวลผลได้ คิดเป็นร้อยละ 38.29 จาก 504 ฉบับ ของอาสาสมัครกลุ่มผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์เป็นประจำ จำนวน 193 คน ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงร้อยละ 67.4 มีอายุ ระหว่าง 31-40 ปีมากที่สุด ร้อยละ 37.8 และร้อยละ 65.3 มีการศึกษาระดับปริญญาตรี ร้อยละ 47.1 มีสถานภาพโสด ร้อยละ 70.5 ไม่มีโรคประจำตัว ร้อยละ 44.5 ดัชนีมวลกาย ปกติ และร้อยละ 88.6 หนักขวามีประสบการณ์การทำงาน โดยใช้คอมพิวเตอร์อยู่ระหว่าง 6-10 ปี คิดเป็นร้อยละ 38.3

มีความสามารถในการพิมพ์งานเฉลี่ย 7 หน้าต่อชั่วโมง ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 1

กลุ่มตัวอย่างผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์ร้อยละ 46.6 มีระยะเวลาการใช้งานคอมพิวเตอร์เฉลี่ย 7 ชั่วโมงต่อวัน ร้อยละ 97.9 มีการหยุดพักขณะทำงานโดยเฉลี่ย 3 ครั้ง ต่อวัน เวลาเฉลี่ย 11.46 นาทีต่อครั้ง มีการออกกำลังกาย ระหว่างการทำงานเป็นบางครั้งร้อยละ 50.2 มีการ ขยับเมาส์หรือทำงานที่ต้องกดปุ่มต่างๆ ในขณะที่ทำงาน คอมพิวเตอร์ร้อยละ 84.9 มีการเอี้ยวหรือบิดตัวร่วมเป็น บางครั้งขณะนั่งทำงานใช้คอมพิวเตอร์ร้อยละ 63.2 โต๊ะทำงานมีระยะห่างระหว่างขอบโต๊ะกับคีย์บอร์ดน้อยกว่า 15 เซนติเมตรร้อยละ 57.5 ส่วนใหญ่ตอบว่าสภาพ แวดล้อมในที่ทำงานมีความถูกต้องตามหลักการยศาสตร์ ร้อยละ 45.1 ที่ทำงานไม่มีสิ่งแวดล้อมที่รบกวนต่อการ ทำงานคอมพิวเตอร์ร้อยละ 72.5 ร้อยละ 27.5 ของกลุ่ม ตัวอย่างคิดว่าที่ทำงานมีสิ่งแวดล้อมที่รบกวนต่อการใช้งาน คอมพิวเตอร์ ได้แก่ พื้นที่คับแคบ อากาศไม่ถ่ายเท เสียงดัง แสงไม่เพียงพอ แดดส่อง ในขณะที่ร้อยละ 65.8 ตอบว่า สภาพแวดล้อมในการทำงานเป็นสาเหตุหนึ่งของการทำให้เกิดอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อคอ บ่า ไหล่ ได้แก่ เก้าอี้ไม่มี พนักพิง เก้าอี้ที่ใช้กับโต๊ะวางคอมพิวเตอร์ไม่เหมาะสม เก้าอี้ไม่มีที่พักแขน แป้นคีย์บอร์ดไม่เหมาะสม ร้อยละ 57.5 โต๊ะทำงานมีระยะห่างระหว่างขอบโต๊ะกับคีย์บอร์ดน้อยกว่า 15 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบร้อยละ 41.9 ไม่ทราบ ว่าการจัดการทางการพยาบาลในการทำงานคอมพิวเตอร์ ที่ถูกต้องเป็นอย่างไร ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 2

จากข้อมูลเกี่ยวกับความผิดปกติทางระบบ โครงร่างกล้ามเนื้อเนื้อคอและรยางค์ส่วนบนของกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 193 คน พบว่า ร้อยละ 65.8 มีอาการปวดเมื่อย บริเวณคอ และ/หรือบริเวณบ่าจากการใช้คอมพิวเตอร์ ในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา โดยตำแหน่งที่มีอาการปวดเมื่อย มากที่สุด ในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน 3 อันดับ แรกคือ คอ (ร้อยละ 41.7) ไหล่ (ร้อยละ 22.8) และ ศีรษะ (ร้อยละ 19.7) และร้อยละ 7.3 แพทย์วินิจฉัยว่าเป็น โรคเรื้อรังเกี่ยวกับกล้ามเนื้อและกระดูกบริเวณ คอ บ่า ไหล่ ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 1** ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์ (n=193)

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน (คน)	ร้อยละ
<b>เพศ</b>		
ชาย	63	32.6
หญิง	130	67.4
<b>อายุ</b>		
<30 ปี	47	24.3
31-40 ปี	73	37.8
41-50 ปี	48	24.8
51-59 ปี	25	13.1
(Mean = 38.07 ปี S.D. = 9.47 ปี Min = 20 ปี Max = 59 ปี)		
<b>การศึกษา</b>		
มัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช.	3	1.6
อนุปริญญา/ปวส.	13	6.7
ปริญญาตรี	126	65.3
สูงกว่าปริญญาตรี	51	26.4
<b>สถานภาพสมรส</b>		
โสด	91	47.1
คู่	90	46.6
หม้าย/หย่าร้าง/แยกกันอยู่	12	6.3
<b>โรคประจำตัว</b>		
ไม่มี	136	70.5
มี	57	29.5
<b>ดัชนีมวลกาย (unit)</b>		
ผอม (<18.5)	18	9.3
น้ำหนักปกติ (18.5-22.9)	86	44.5
น้ำหนักเกิน (23-24.9)	34	17.6
อ้วน (>25.00)	55	28.6
<b>ความถนัดของมือ</b>		
ซ้าย	22	11.4
ขวา	171	88.6
<b>ประสบการณ์การทำงานโดยใช้คอมพิวเตอร์</b>		
ต่ำกว่า 5 ปี	26	13.5
6-10 ปี	74	38.3
11-20 ปี	67	34.7
มากกว่า 20 ปี	26	13.5
(Mean = 13.03 ปี S.D. = 7.32 ปี Min = 1 ปี Max = 31 ปี)		
<b>ความสามารถในการพิมพ์งานใน 1 ชั่วโมง</b>		
น้อยกว่า 10 หน้า	158	81.9
11-20 หน้า	14	7.3
21-30 หน้า	21	10.9
(Mean = 6.94 หน้า S.D. = 6.0 หน้า Min = 1 หน้า Max = 30 หน้า)		

**ตารางที่ 2** ข้อมูลสภาพการทำงานและการจัดการทางกายศาสตร์ของกลุ่มตัวอย่างผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์ (n=193)

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน (คน)	ร้อยละ
<b>ระยะเวลาการใช้งานคอมพิวเตอร์ขณะทำงานใน 1 วัน</b>		
4-6 ชั่วโมง	76	39.4
7-9 ชั่วโมง	90	46.6
มากกว่า 10 ชั่วโมง	27	14.0
(Mean = 7.03 ชั่วโมง S.D. = 2.02 ชั่วโมง Min = 2 ชั่วโมง Max = 14 ชั่วโมง)		
<b>การหยุดพักในขณะทำงานใน 1 วัน</b>		
ไม่หยุดพัก	4	2.1
หยุดพัก	189	97.9
<b>- โดยประมาณ (ครั้ง/วัน)</b>		
1-5 ครั้ง	160	82.9
6-10 ครั้ง	14	7.2
มากกว่า 10 ครั้ง	19	9.9
(Mean = 3.61 ครั้ง/วัน S.D. = 2.196 ครั้ง/วัน Min = 1 ครั้ง/วัน Max = 20 ครั้ง/วัน)		
<b>- เวลาที่พักแต่ละครั้ง (นาที/ ครั้ง)</b>		
1-10 นาที	121	62.6
11-20 นาที	36	18.7
21 นาทีขึ้นไป	36	18.7
(Mean = 11.46 นาที/ ครั้ง S.D. = 7.353 นาที/ ครั้ง Min = 2 นาที/ ครั้ง Max = 30 นาที/ ครั้ง)		
<b>การบริหารกายระหว่างการทำงาน</b>		
ไม่ได้ทำ	88	45.6
ทำเป็นบางครั้ง	97	50.2
ทำเป็นประจำ	8	4.2
(ได้แก่ ขยับเคลื่อนไหวไหล่ คอ และลำตัว, เดิน, แกว่งแขน และ ยืดกล้ามเนื้อ ฯลฯ)		
<b>การขยับเมาส์หรือทำงานที่ต้องกดปุ่มต่างๆ เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่ทำงานคอมพิวเตอร์</b>		
ไม่ใช่	29	15.1
ใช่	164	84.9
(ได้แก่ การบันทึกข้อมูล การคำนวณตัวเลข และ การออกแบบสื่อ ฯลฯ)		
<b>การเอี้ยวหรือบิดตัวร่วมด้วยขณะนั่งทำงานใช้คอมพิวเตอร์</b>		
ไม่มี	21	10.9
มีเป็นบางครั้ง	122	63.2
มีเป็นประจำ	50	25.9
(ได้แก่ หยิบสิ่งของ, มีอาการปวดเมื่อยลำหรือ เมื่อมีการสนทนา)		
<b>โต๊ะทำงานมีระยะห่างระหว่างขอบโต๊ะกับศีรษะน้อยกว่า 15 เซนติเมตร</b>		
ไม่ใช่	82	42.5
ใช่	111	57.5

**ตารางที่ 2** ข้อมูลสภาพการทำงานและการจัดการทางกายศาสตร์ของกลุ่มตัวอย่างผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์ (n=193) (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน (คน)	ร้อยละ
สภาพแวดล้อมในที่ทำงานมีความถูกต้องตามหลักกายศาสตร์		
ใช่	87	45.1
ไม่ใช่	25	13.0
ไม่ทราบ	81	41.9

(ได้แก่ เก้าอี้ไม่มีพนักพิง เก้าอี้ที่ใช้กับโต๊ะวางคอมพิวเตอร์ไม่เหมาะสม เก้าอี้ไม่มีที่พักแขน แป้นคีย์บอร์ดไม่เหมาะสม)

**ที่ทำงานมีสิ่งแวดลอมที่รบกวนต่อการทำงานคอมพิวเตอร์**

ใช่	53	27.5
ไม่ใช่	140	72.5
ได้แก่ - พื้นที่คับแคบอากาศไม่ถ่ายเท- เสียงดัง- แสงไม่เพียงพอ- แดดส่อง		
คิดว่าสภาพแวดล้อมในการทำงานเป็นสาเหตุหนึ่งของการทำให้เกิดอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อคอ บ่า ไหล่		
ไม่ใช่	66	34.2
ใช่	127	65.8

**ตารางที่ 3** ข้อมูลเกี่ยวกับความผิดปกติทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อของกลุ่มตัวอย่างผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์ (n=193)

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน (คน)	ร้อยละ
อาการปวดเมื่อยบริเวณคอ และ/หรือบริเวณบ่าจากการใช้คอมพิวเตอร์ ในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา		
ไม่มี	66	34.2
มี	127	65.8
ตำแหน่งที่มีอาการปวดเมื่อยมากที่สุด ในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน (N=127)		
คอ	53	41.7
ไหล่	29	22.8
ศีรษะ	25	19.7
หลังส่วนล่าง	11	8.7
อื่นๆ ได้แก่ เข่า, หลังส่วนบน และ มือ/ข้อมือ	9	7.1
มีอาการปวดบริเวณคอ และ/หรือ บริเวณบ่า ร่วมกับมีอาการปวดและ/หรือขา ร่วมกับอ่อนแรงที่แขน		
ไม่มี	135	69.9
มี	58	30.1
เคยได้รับบาดเจ็บหรือมีการหักที่กระดูกสันหลังระดับคอหรือระดับอก		
ไม่มี	180	93.3
มี	13	6.7
เคยเข้ารับการรักษาที่บริเวณกระดูกสันหลังระดับคอหรือระดับอก		
ไม่มี	193	100
เคยมีอาการวิงเวียนศีรษะ รู้สึกอยากเป็นลม พุดลำบาก กลืนลำบากหรือเห็นภาพซ้อนขณะที่เคลื่อนไหวคอ		
ไม่มี	156	80.8
มี	37	19.2
เคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเรื้อรังเกี่ยวกับกล้ามเนื้อและกระดูกบริเวณ คอ บ่า ไหล่		
ไม่มี	179	92.7
มี	14	7.3
ปัจจุบันกำลังมีอาการปวด บวม แดง ร้อน บริเวณคอ และ/หรือบริเวณบ่า		
ไม่มี	166	86.0
มี	27	14.0

## สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

เมื่อพิจารณาจากข้อมูลที่พบในการศึกษานี้ว่า กลุ่มตัวอย่างมีระยะเวลาการใช้งานคอมพิวเตอร์เฉลี่ย 7-9 ชั่วโมงต่อวัน จึงเป็นปัจจัยเสี่ยงทางกายศาสตร์ที่ควรคำนึงถึง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Klusmann และคณะ<sup>(15)</sup> พบผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญกับความถี่ของอาการปวดคอของผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะมากกว่า 4 ชั่วโมง ในการทำงานและมีการทำงานล่วงเวลา หลังจากนั้น โดยระยะเวลาของการทำงานที่ Visual display terminal (VDT) มากกว่า 6 ชั่วโมงต่อวัน รวมทั้งการศึกษาของ Evan และคณะ<sup>(16)</sup> ซึ่งศึกษาความชุกจากสำนักงาน 7 แห่งในฮ่องกงในผู้ที่มีปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน จำนวน 170 คน เป็นผู้ใช้คอมพิวเตอร์นานกว่า 2 ชั่วโมงต่อวัน พบว่ามีปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน ร้อยละ 65 ซึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดคือ ระยะเวลาในการทำงาน การนั่งพิมพ์งาน และปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม และจากการศึกษาของ Malchaire และคณะ<sup>(17)</sup> ในการทบทวนการศึกษาย้อนหลัง 15 ปี เกี่ยวกับปัจจัยที่ทำให้เกิดปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอ ทำท่างในการทำงาน ความหนักของงานและการทำงานในลักษณะเดิมซ้ำๆ รวมถึงการศึกษาของลาวัลย์ เวชกิจพาณิชย์และคณะ<sup>(18)</sup> พบสาเหตุหลักในผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์ที่มีปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอว่าเกิดจากการเคลื่อนไหวของอวัยวะส่วนต่างๆ อย่างจำกัด สายตาเพ่งมองที่จอแสดงภาพและต้องวางมือบนแป้นพิมพ์อยู่ตลอดเวลา และท่าท่างการทำงาน<sup>(1,7)</sup>

การศึกษานี้พบข้อมูลสำคัญเพิ่มเติมจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีการหยุดพักขณะทำงานโดยเฉลี่ย 3-4 ครั้งต่อวัน แต่ส่วนใหญ่พักน้อยกว่าสิบนาทีต่อครั้ง มีเพียงร้อยละ 4.2 ที่มีการขยับเคลื่อนไหวไหล่ คอ ลำตัว เดิน แกว่งแขน และยืดกล้ามเนื้อ ขณะพักเป็นประจำ และมีเพียงร้อยละ 25.9 ที่มีการเอี้ยวหรือบิดตัวร่วมด้วยขณะนั่งทำงานใช้คอมพิวเตอร์ ซึ่งอาจไม่เพียงพอต่อการลดปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อได้<sup>(1,19,20)</sup> สอดคล้องกับงานวิจัยของ ฐิติชญาและ พิมพ์ลดา<sup>(21)</sup> จากการศึกษาปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้อที่เกี่ยวข้องจากการทำงาน และพฤติกรรมการทำงานที่ปลอดภัยของ

พนักงานศูนย์บริการให้ข้อมูล พบว่า พนักงานมีพฤติกรรมการทำงานที่ปลอดภัยด้านการพักช่วงระหว่างการทำงานอยู่ในระดับปานกลาง ร้อยละ 52.30 และเมื่อพิจารณารายด้าน พบว่าพฤติกรรมความปลอดภัยในการทำงานด้านการพักระหว่างการทำงาน มีความสัมพันธ์กับปัญหาระบบโครงร่างกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสถาบันความปลอดภัยในการทำงาน กรมสวัสดิการและคุ้มครองแรงงาน กล่าวว่า งานคอมพิวเตอร์เป็นงานที่มีแนวโน้มที่จะทำให้ต้องอยู่ในอิริยาบถที่คงที่และดวงตาเมื่อยล้า ควรมีการจัดให้มีการหยุดพักช่วงสั้นๆ หลังการทำงาน เช่น ทุกหนึ่งชั่วโมง การได้เปลี่ยนอิริยาบถร่างกายและจุดในการมองของดวงตา จะช่วยลดความเหนื่อยล้าได้ การเปลี่ยนอิริยาบถจากการนั่ง เป็นการยืนทำงาน หรือเดินใกล้ๆ เพื่อไปหยิบของบางอย่าง หรือไปสนทนาพูดคุย หรือการยืดเหยียดกล้ามเนื้อ การหยุดพักช่วงสั้นๆ เป็นประจำ ทำให้ร่างกายและจิตใจสามารถฟื้นฟูพลังงานกลับคืนมา<sup>(19-22)</sup>

ดังนั้นผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์เพื่อนำไปสู่การพัฒนาต่อยอดวิธีการจัดการทางกายศาสตร์ และแนวทางการออกแบบหรือปรับปรุงระบบการทำงานหรือรูปแบบพฤติกรรมทางสุขภาพให้มีความสอดคล้องเหมาะสมกับผู้ปฏิบัติ และสถานที่ทำงาน โดยเฉพาะต่อพนักงานสำนักงานซึ่งเป็นผู้ใช้งานคอมพิวเตอร์เป็นประจำ รวมถึงหน่วยงานต่างๆ หรือผู้ที่มีความเสี่ยงของระบบโครงร่างกล้ามเนื้อคอและรยางค์ส่วนบน โดยมุ่งหมายเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงาน ความปลอดภัย รวมถึงลดความเสี่ยงต่อการบาดเจ็บหรือความผิดปกติของระบบโครงร่างกล้ามเนื้อได้ต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับผู้สนใจทำการศึกษาต่อในอนาคต

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะเทคนิคการแพทย์ และศูนย์วิจัยปวดหลัง ปวดคอ ปวดข้ออื่นๆ และสมรรถนะของมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่านในสำนักงานมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ยินดีให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถามงานวิจัย และด้วยความอนุเคราะห์จาก

บุคคลหลายท่านที่ได้ช่วยเหลือจนทำให้งานวิจัยประสบความสำเร็จ

### เอกสารอ้างอิง

1. Chuntum K. Prevalence and risk factors for musculoskeletal disorder among Chaiyaphum Rajabhat University workers. *Journal of nursing science and health* 2015; 9(3): 166-178.
2. National statistical office. Major statistical data analysis of Thailand 2016. Bangkok: The integrated statistics group of Forecast statistics office; 2016.
3. Wongchai P, Buranruk O, Rodjanapanurat N. Pain level and Chronic pain management of Upper trapezius muscles in basketwork Occupation. The 31<sup>st</sup> National graduate research conference; 21 August 2014; Bangkok; 2014. 235-244.
4. Buranruk O, Eungpinichpong W, Puntumetakul R, Wongwilairat K. Musculoskeletal Disorders among Rice Keeper Basketwork Workers. *Advances in Intelligent Systems and Computing* 2016, 83-91.
5. Chaikan W, Chanprasit C, Kaewthummanukul T. Ergonomic factors and prevalence rate of musculoskeletal pain among workers in semiconductor industry in the Northern Region Industrial Estate. *Journal of health science* 2005; 16(2): 226-233.
6. Thotsathit N, Puntumetakul R, Eungpinichpong W, Pungsuwan P. Prevalence of Musculoskeletal Disorders in Sewing Occupation in Khon Kaen Province. *J Med Tech Phy Ther* 2010; 32(3): 162-172.
7. Chaiear N, Buranruk O, Pinitsoonthorn S, Boonma M, Leelathanapipat S, Sujinprum C, Durongkhadet P, Leelamanotham S, Moonthawee K, et al. Health effects of computer use among Thai commercial bank workers, Khon Kaen, Thailand. *Srinagarind Med J* 2005; 20(1): 1-7.
8. Jezukaitis P, Kapur D. Management of occupation-related musculoskeletal disorders. *Best Pract Res ClinRheumatol* 2011; 25: 117-129.
9. McBeth J, Jones K. Epidemiology of chronic musculoskeletal pain. *Best Pract Res ClinRheumatol* 2007; 21(3): 403-425.
10. Saenlee K, Eungpinichpong W, Chatchawan U. The effects of Gna sha therapy on neck and shoulder pain associated with myofascial trigger points in computer users. *J Med Tech Phy Ther* 2014; 26(2): 169-179.
11. Peele PB, Xu Y, Colombi A. Medical care and lost work day costs in musculoskeletal disorders: Older versus younger workers. *International Congress Series* 2005; 1280: 214 – 218.
12. Hoe VCW, Kelsall H, Urquhart DM, Sim MR. Risk factors for musculoskeletal symptoms of the neck or shoulder alone or neck and shoulder among hospital nurses. *Occup Environ Med* 2012; 69(3): 198-204.
13. Krusun M, Chaiklieng S. Prevalence of Neck, Shoulder and Back Discomfort among University Office Workers Who Used Desktop Computers More Than 4 Hours Per Day. The 15<sup>st</sup> National graduate research conference; Khon Kaen: 2014. 1712-22.

14. Krusun M, Chaiklieng S. Prevalence of Neck, Shoulder and Back Discomfort among University Office Workers Who Used Desktop Computers More Than 4 Hours Per Day. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology* 2014; 19(5): 696-707.
15. Klusmann A, Gebhardt H, Liebers F, Rieger MA. Musculoskeletal symptoms of the upper extremities and the neck: A cross-sectional study on prevalence and symptom predicting factors at visual display terminal (VDT) workstations. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2008; 9: 96.
16. Evan O, Patterson K. Predictors of neck and shoulder pain in non-secretarial computer users. *Int J Ind Ergon* 2000; 26: 357-365.
17. Malchaire J, Cock N, Vergracht S. Review of the factors associated with musculoskeletal problems in epidemiology studies. *Int Arch Occup Environ Health* 2001; 74: 79-90.
18. Wechakitwanit L, Suputtitada A. Work-related neck and upper limb musculoskeletal disorders in computer users. *J Thai Rehabil* 2000; 9(3): 97-110.
19. Hedge A. Dynamic Sitting. *Proceedings of the Human Factors and Ergonomics Society Annual Meeting* 2003: 47(1): 947-951.
20. Peter W, Buckle J, Devereux J. The nature of work-related neck and upper limb musculoskeletal disorders. *Appl Ergon* 2002; 33(3): 207-17.
21. Chalardlon T, Anansirikasem P. Work - related musculoskeletal injuries and work safety behaviors among call center workers. *Nursing journal of the Ministry of Public health* 2013; 23(1): 44-59.
22. Occupational Safety and Health Administration (OSHA). The Ministry of Labour of Thailand. The guideline of working improvement in muscle fatigue conditions for worker. 1<sup>st</sup> ed. Bangkok: Riang-three graphic design CO., LTD; 2008.



## การเดินบนพื้นผิวต่างๆ ทำทายความสามารถของผู้สูงอายุในชุมชน

ดลยา พรหมแก้ว<sup>1,5</sup> ลักษณ์า มาทอ<sup>2,5</sup> ทิวาพร ทวีวรรณกิจ<sup>2,5</sup>  
ปรีดา อารยาวิชานนท์<sup>3,5</sup> วิไลรัตน์ แสนสุข<sup>3,5</sup> และ สุกัลยา อมตฉายา<sup>2,5\*</sup>

Received: November 21, 2017

Revised: January 15, 2018

Accepted: January 18, 2018

### บทคัดย่อ

การพัฒนาความสามารถของผู้สูงอายุในปัจจุบันมักใช้การออกกำลังกายแบบต่างๆ บนพื้นเรียบแข็ง โดยไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนเกี่ยวกับผลของพื้นต่อการเคลื่อนไหวของผู้สูงอายุ ดังนั้น การวิจัยนี้จึงต้องการเปรียบเทียบลักษณะการเดินบนพื้นต่างๆ ประกอบด้วยพื้นหินเทียม พื้นนุ่ม และพื้นหญ้า เปรียบเทียบกับการเดินบนพื้นเรียบแข็งในผู้สูงอายุจากชุมชนต่างๆ จำนวน 20 คน อาสาสมัครได้รับการประเมินลักษณะการเดินด้านต่างๆ ขณะเดินบนพื้นแต่ละแบบด้วยความเร็วปกติและความเร็วสูงสุด จำนวน 3 รอบ/พื้น ผู้วิจัยบันทึกลักษณะการเดินของอาสาสมัครเพื่อการวิเคราะห์การเดินแบบ 2 มิติ โดยใช้โปรแกรม Kinovea และใช้สถิติ ANOVA with repeated measure เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวแปรต่างๆ ขณะเดินบนพื้นแต่ละแบบ กำหนดระดับนัยสำคัญที่  $p < 0.05$  ผลการศึกษาพบว่าการเดินบนพื้นต่างๆ ทำทายความสามารถด้านการเดิน ทำให้อาสาสมัครเดินและก้าวขาช้าลง รวมถึงมีระยะรอบการเดินสั้นลงกว่าการเดินบนพื้นเรียบแข็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) ผลการศึกษาบ่งชี้ว่า นอกจากการออกกำลังกายประเภทต่างๆ การฟื้นฟูความสามารถของผู้สูงอายุอาจประยุกต์ใช้พื้นผิวลักษณะต่างๆ มาร่วมในการส่งเสริมความสามารถและความปลอดภัยในการเคลื่อนไหวของบุคคลกลุ่มนี้

**คำสำคัญ:** ผู้สูงอายุ, การเดิน, การฟื้นฟูความสามารถ, กายภาพบำบัด, การบริการสุขภาพชุมชน

<sup>1</sup> นักศึกษาหลักสูตรหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตการเคลื่อนไหวของมนุษย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

<sup>2</sup> สายวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

<sup>3</sup> ภาควิชาเวชศาสตร์ฟื้นฟู คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

<sup>4</sup> สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์และสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน จังหวัดนครราชสีมา

<sup>5</sup> กลุ่มวิจัยการพัฒนาความสามารถทางกายและคุณภาพชีวิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

\* ผู้รับผิดชอบบทความ



## Walking on different surfaces challenged ability of community-dwelling elderly

Donlaya Promkeaw<sup>1,5</sup>, Lugkana Mato<sup>2,5</sup>, Thiwabhorn Thaweewannaki<sup>2,5</sup>,  
Preeda Arrayawichanon<sup>3,5</sup>, Wilairat Saensook<sup>3,5</sup> and Sugalya Amatachaya<sup>2,5\*</sup>

### Abstract

The current methods to improve functional ability of elderly, involve with various types of exercises on a hard surface, have unclear evidence on the effects of surfaces on mobility of elderly. Therefore, this study aimed to compare gait characteristics while walking on different surfaces, including artificial pebble, soft, and grass surfaces, as compared to a firm ground in 20 community-dwelling elderly. Participants were assessed for their gait variables while walking at a self-selected and fastest speed for 3 trials/surface. Their walking characteristics were recorded for further two-dimensional analysis using the Kinovea program. Then the ANOVA with repeated measure was used to compare average findings of all parameters while walking on each surface. The level of significant difference was set at  $p < 0.05$ . The finding demonstrated that walking on different surfaces challenged walking ability. Thus, the participants walked at a significantly slower speed and cadence with a shorter stride length than those on a hard surface ( $p < 0.001$ ). Thus, apart from various types of exercises, rehabilitation programs may incorporate various surfaces to promote functional ability and safety issue in these individuals.

**Keywords:** Elderly, Walking, Rehabilitation, Physical Therapy, Community Health Service.

---

<sup>1</sup> Doctor of Philosophy Program in Human Movement Sciences, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen.

<sup>2</sup> School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen.

<sup>3</sup> Department of Rehabilitation Medicine, Faculty of Medicine, Khon kaen University, Khon Kaen.

<sup>4</sup> Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Rajamangala University of Technology Isan, Nakhon Ratchasrima.

<sup>5</sup> Improvement of physical performance and quality of life research group, Khon Kaen University, Khon Kaen.

\*Corresponding author (e-mail: samata@kku.ac.th)

## บทนำ

ปัจจุบันสัดส่วนประชากรผู้สูงอายุมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน<sup>(1,2)</sup> ซึ่งอายุมากขึ้นมักมาพร้อมกับความเสื่อมของระบบต่างๆ ที่ส่งผลต่อความสามารถทางการเคลื่อนไหว การเดิน และระดับการช่วยเหลือตนเอง รวมถึงความเสี่ยงต่อการล้ม ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อทั้งทางร่างกายและจิตใจของผู้สูงอายุเพิ่มเติมจากความเสื่อมเนื่องจากอายุมากขึ้น<sup>(3,4)</sup> ดังนั้น การหาแนวทางเพื่อพัฒนาและส่งเสริมความสามารถทางการเคลื่อนไหวของบุคคลกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญ

ปัจจุบัน การพัฒนาความสามารถของผู้สูงอายุ มักใช้การออกกำลังกายชนิดต่างๆ บนพื้นเรียบแข็ง เช่น รำไทย โยคะ และการเดิน เป็นต้น<sup>(5)</sup> จากการทบทวนวรรณกรรม คณะผู้วิจัยพบการนำพื้นผิวลักษณะต่างๆ ประกอบด้วย พื้นขรุขระ พื้นนุ่ม หรือพื้นทราย มาร่วมในการทำกายภาพบำบัดของกล้ามเนื้อ การทรงตัว การใช้พลังงาน รวมถึงรูปแบบการเดินและการรับรู้ความรู้สึกของอาสาสมัครกลุ่มต่างๆ เช่น ผู้ป่วยเบาหวาน นักกีฬา ผู้ป่วยตัดขาที่ใช้ขาเทียม เป็นต้น<sup>(6-11)</sup> แต่ยังไม่มีความชัดเจนในผู้สูงอายุ อย่างไรก็ตาม การเลือกใช้พื้นจริงทางคลินิกอาจทำได้ยากเนื่องจากข้อจำกัดของสถานที่และการดูแลรักษาความสะอาดในโรงพยาบาลและคลินิกทั่วไป ดังนั้น การวิจัยนี้จึงต้องการเปรียบเทียบลักษณะการเดินของผู้สูงอายุขณะเดินบนพื้นหินเทียม พื้นนุ่ม และพื้นหญ้าเทียมเปรียบเทียบกับพื้นเรียบแข็ง ผลการศึกษาที่ได้น่าจะช่วยยืนยันผลของพื้นต่อการทำกายภาพบำบัดด้านการเดินของผู้สูงอายุซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการใช้เป็นแนวทางการประยุกต์ใช้พื้นผิวลักษณะต่างๆ สำหรับการส่งเสริมความสามารถของบุคคลกลุ่มนี้ต่อไป

## วัสดุและวิธีการ

รูปแบบงานวิจัย อาสาสมัคร การวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) ในผู้สูงอายุที่ไม่มีปัญหาทางสุขภาพที่ส่งผลต่อการเดินจากชุมชนต่างๆ ในเขตจังหวัดขอนแก่น จากการคำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้สูตรสำหรับการเปรียบเทียบขนาดความแตกต่าง<sup>(12)</sup> พบว่าการศึกษานี้ต้องการอาสาสมัครอย่างน้อย 20 คน โดยอาสาสมัครเป็นผู้ที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป

ทั้งเพศชายและเพศหญิง ที่มีดัชนีมวลกายในช่วงปกติ (ระหว่าง 18.5-24.5 กิโลกรัม/ตารางเมตร) อาสาสมัครได้รับการคัดออกหากพบความผิดปกติต่างๆ เช่น มีอาการปวดหรือการอักเสบของขามากกว่า 5 คะแนน<sup>(13)</sup> มีความยาวขาแตกต่างกันอย่างชัดเจน (มากกว่า 1.4 เซนติเมตร)<sup>(14)</sup> หรือมีการผิดปกติของข้อต่อต่างๆ รวมถึงการรับรู้ความรู้สึกผิดปกติที่ส่งผลต่อการเคลื่อนไหวและการเดิน เป็นต้น การวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE591368) อาสาสมัครที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกได้รับการอธิบายวิธีการวิจัยและต้องลงนามยินยอมก่อนเข้าร่วมการวิจัย

วัสดุการวิจัย จากข้อมูลการศึกษานำร่อง<sup>(15)</sup> การศึกษานี้จึงเลือกใช้พื้นนุ่มจากฟองน้ำอัดที่มีความหนา 3 นิ้ว พื้นขรุขระที่ทำจากหินเทียม โดยมีความสูงประมาณ 1.5-3 เซนติเมตร ความกว้าง 4-6 เซนติเมตร และพื้นหญ้าเทียมที่มีความสูงของใบหญ้า 4 เซนติเมตร เพื่อให้ได้ความรู้สึกสัมผัสที่มีลักษณะใกล้เคียงกับหญ้าจริงมากที่สุด<sup>(16,17)</sup> โดยการศึกษานี้เลือกใช้พื้นเทียมเพื่อควบคุมลักษณะของพื้นให้เหมือนกันสำหรับการทดสอบความสามารถของอาสาสมัครแต่ละราย รวมถึงสามารถประยุกต์ใช้ได้ง่ายในสถานที่ต่างๆ

วิธีการดำเนินงานวิจัย อาสาสมัครได้รับการประเมินลักษณะการเดินขณะเดินบนพื้นแต่ละแบบ ประกอบด้วย พื้นเรียบแข็ง พื้นหินเทียม พื้นนุ่ม และพื้นหญ้าเทียม ตามทางเดินระยะทาง 10 เมตร ด้วยความเร็วปกติที่ใช้ในชีวิตประจำวัน (preferred speed) และความเร็วสูงสุดที่อาสาสมัครเดินได้อย่างปลอดภัย (fastest and safe speed)<sup>(18,19)</sup> ทำการทดสอบซ้ำจำนวน 3 รอบ/ความเร็ว/พื้น ตามลำดับโดยการสุ่มเพื่อลดผลการเรียนรู้และการล้าที่อาจเกิดขึ้นจากลำดับการทดสอบ โดยระหว่างการทดสอบแต่ละครั้งอาสาสมัครหยุดพักได้จนพร้อมที่จะทำการทดสอบต่อไป<sup>(19)</sup>

ขณะทำการทดสอบ ผู้วิจัยบันทึกภาพการเดินของอาสาสมัครในช่วง 4 เมตรตรงกลางของทางเดินทั้งหมด แล้วนำภาพวิดีโอที่ได้มาวิเคราะห์ลักษณะการเดินแบบ 2 มิติในด้านต่างๆ ประกอบด้วย ความเร็วในการเดิน (walking speed) ความถี่การก้าวขา (cadence) ความยาว

รอบการเดิน (stride length) และความสมมาตรของระยะก้าว (step symmetry)<sup>(15,20,21)</sup> ด้วยวิธี manual digitization และโปรแกรม Kinovea (version 0.8.24) โดยผู้วัดที่มีความเที่ยงภายในสูง (intra-class correlation coefficient [ICC] = 0.88-0.99)<sup>(15, 21-23)</sup> ตามสูตรดังนี้

- ความถี่การก้าวขา  
จำนวนก้าวใน 1 นาที (ก้าว/นาที)
- ความยาวรอบการเดิน  
ระยะก้าวของขาข้างขวาเฉลี่ย+ระยะก้าวของขาข้างซ้ายเฉลี่ย (เมตร)
- ความเร็วในการเดิน  
$$\frac{(\text{ความยาวรอบการเดินเฉลี่ย} \times \text{ความถี่การก้าวขาเฉลี่ย})}{120} \text{ (เมตร/วินาที)}$$
- ความสมมาตรของระยะก้าว  
$$\frac{\text{ระยะก้าวของขาข้างที่สั้นกว่า (shorter step length)}}{\text{ระยะก้าวของขาข้างที่ยาวกว่า (longer step length)}} \times 100$$

ใช้สถิติเชิงพรรณนาเพื่ออธิบายลักษณะของอาสาสมัครและผลการศึกษา ใช้สถิติ ANOVA with repeated measures เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลักษณะการเดินของอาสาสมัครขณะเดินบนพื้นแต่ละแบบ และใช้สถิติ post-hoc (Scheffe) tests ในการระบุความแตกต่างระหว่างคู่ โดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่  $p < 0.05$

## ผลการศึกษา

การศึกษานี้มีอาสาสมัครเข้าร่วมงานทั้งหมด 20 ราย เป็นเพศหญิง 13 ราย และชาย 7 ราย มีอายุเฉลี่ยประมาณ 73 ปี และดัชนีมวลกายอยู่ในเกณฑ์ปกติ (**ตารางที่ 1**) ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเดินบนพื้นหินเทียม พื้นนุ่ม และพื้นหญ้าเทียม อาสาสมัครเดินช้าลง โดยมี stride length และ cadence ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการเดินบนพื้นเรียบแข็ง ( $p < 0.001$ ) โดยการเดินบนพื้นหินเทียมทำให้อาสาสมัครเดินช้าที่สุด ร่วมกับมี stride length และ cadence น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับพื้นอื่นๆ (**รูปที่ 1 ก-ค**;  $p < 0.001$ ) โดยความแตกต่างของลักษณะการเดินระหว่างพื้นแต่ละแบบพบได้อย่างชัดเจนเมื่อเดินด้วยความเร็วปกติ (**รูปที่ 1 ก-ค**;  $p < 0.001$ ) อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างของ step symmetry ระหว่างการเดินบนพื้นแต่ละแบบทั้งเมื่อเดินด้วย preferred speed และ fastest and safe speed (**รูปที่ 1 ง**;  $p > 0.05$ )

## สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การวิจัยนี้ศึกษาลักษณะการเดินจากตัวแปรด้านระยะทางและเวลา ขณะอาสาสมัครผู้สูงอายุเดินบนพื้นหินเทียม พื้นนุ่ม และพื้นหญ้าเทียม เปรียบเทียบกับการเดินบนพื้นเรียบแข็ง ผลการศึกษาพบว่า การเดินบนพื้นเหล่านี้ทำให้อาสาสมัครมีลักษณะการเดินทั้ง walking speed, stride length และ cadence ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ การเดินบนพื้นเรียบแข็ง (**รูปที่ 1 ก-ค**) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของ step symmetry เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพื้นทั้ง 4 แบบ (**รูปที่ 1 ก-ง**) ซึ่งผลการศึกษาที่พบอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการเดิน โดยพื้นนุ่มมีความไม่มั่นคงที่ส่งผลต่อการทรงตัวและประสิทธิภาพการทำงานของกล้ามเนื้อ (กล้ามเนื้อมีประสิทธิภาพในการทำงานลดลง) ทำให้กล้ามเนื้อต้องช่วยกันทำงาน (muscle co-contraction) มากขึ้น โดยเฉพาะในช่วงที่ขารับน้ำหนักเพียงข้างเดียว (single leg support period)<sup>(24-26)</sup> ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้อาสาสมัครพยายามลดระยะเวลาในช่วงนี้ของขาแต่ละข้างให้สั้นลง ทำให้สามารถก้าวขาอีกข้างไปได้ระยะทางสั้นลงกว่าการเดินบนพื้นเรียบแข็ง (**รูปที่ 1 ก**) นอกจากนี้ พื้นนุ่มยังทำให้มีแรงปฏิกิริยาจากพื้น (ground reaction force) ลดลง<sup>(8)</sup> ทำให้มีแรงส่ง (propulsive force) ในช่วงท้ายของการเดินช่วงที่เท้ารับน้ำหนัก (stance phase) ลดลง อาสาสมัครจึงต้องใช้กล้ามเนื้อทำงานเพื่อยกและก้าวขาไปข้างหน้ามากขึ้น สิ่งต่างๆ เหล่านี้ทำให้อาสาสมัครต้องใช้พลังงานในการเดินบนพื้นนุ่มมากขึ้น<sup>(8,9)</sup> ทำให้มี cadence ลดลงและเดินช้าลงเมื่อเทียบกับการเดินบนพื้นเรียบแข็ง (**รูปที่ 1 ก-ค**)

ลักษณะของพื้นดังกล่าวนี้มีลักษณะคล้ายกับพื้นหญ้า (**รูปที่ 1 ก-ค**) แต่พื้นหญ้ามีความนุ่มน้อยกว่าจึงส่งผลต่อความมั่นคงในการเคลื่อนไหวน้อยกว่าพื้นนุ่ม แต่ความสูงของใบหญ้าทำให้อาสาสมัครต้องพยายามยกขาสูงขึ้นเพื่อให้ก้าวข้ามไปได้<sup>(9,11)</sup> การปรับเปลี่ยนนี้ทำให้เกิดจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายเคลื่อนสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดความท้าทายต่อการทรงตัวขณะเดินในช่วง single leg support period และการใช้พลังงานขณะเดิน ทำให้อาสาสมัครมี cadence และ walking speed ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ การเดินบนพื้นเรียบแข็ง (**รูปที่ 1 ก-ค**)

ตารางที่ 1 ลักษณะของอาสาสมัคร (จำนวน 20 ราย)

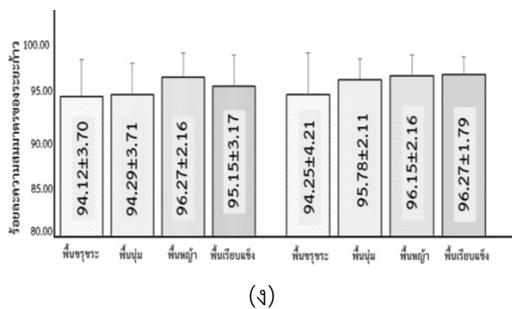
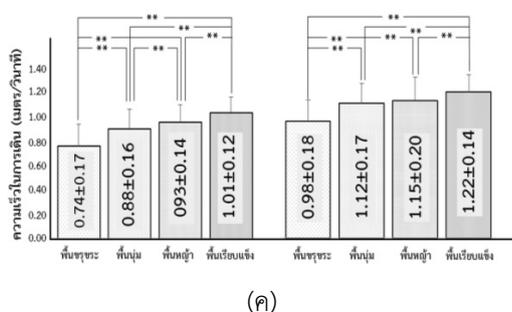
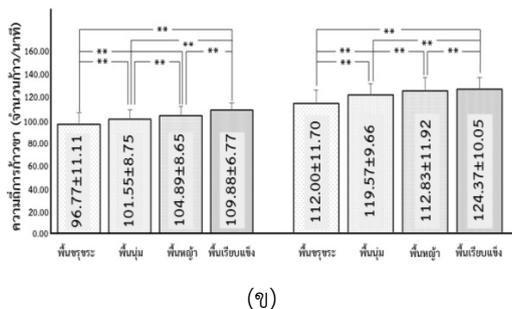
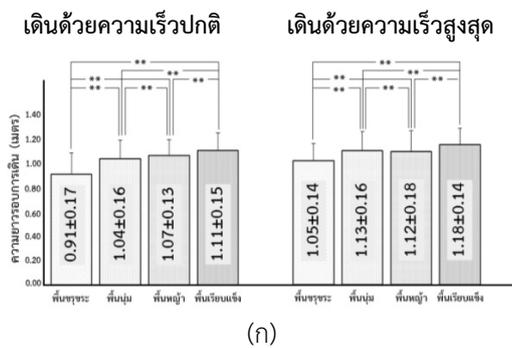
ตัวแปร	ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน [ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95]
อายุ (ปี)	73.30±6.35 [69.33-75.27]
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	53.88±11.68 [48.41-59.34]
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	156.55±7.56 [152.92-160.18]
ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/ตารางเมตร)	22.08±4.91 [19.78-24.38]

เมื่อเปรียบเทียบผลการเดินบนพื้นทั้งสามแบบ พบว่าการเดินบนพื้นหินเทียมส่งผลต่อลักษณะการเดินของอาสาสมัครมากที่สุดทั้งในด้านระยะทางและระยะเวลา (รูปที่ 1 ก-ค) ทั้งนี้อาจเกิดจากพื้นหินเทียมมีลักษณะขรุขระ ไม่สม่ำเสมอ ที่ส่งผลทำลายต่อความสามารถด้านการเดินทั้งในระยะ stance phase และระยะที่ก้าวขาไปด้านหน้า (swing phase) กล่าวคือ พื้นขรุขระ/ไม่สม่ำเสมอทำให้ขาข้างที่รับน้ำหนักเกิดความไม่มั่นคง โดยเฉพาะเมื่อเดินด้วย preferred speed ซึ่งส่งผลต่อระยะการก้าวของขาอีกข้างทำให้อาสาสมัครมี stride length สั้นลง (รูป 1ก) นอกจากนี้ ความสูงของก้นหินยังทำให้อาสาสมัครต้องยกขาข้างที่ก้าวไปข้างหน้าสูงขึ้น (increase toe clearance) เพื่อให้ก้าวพ้นก้นหินเทียมได้โดยไม่เกิดการสะดุด ลักษณะเช่นนี้อาจเป็นปัจจัยที่ทำให้อาสาสมัครก้าวขาและเดินได้ช้าลงอย่างชัดเจนมากกว่าพื้นนุ่มและพื้นหญ้า

ผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้นมีความชัดเจนมากที่สุดขณะอาสาสมัครเดินด้วย preferred speed ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจาก 2 ปัจจัยคือ ลำดับการทดสอบและลักษณะของอาสาสมัคร กล่าวคือ ในการศึกษาที่ผู้วิจัยให้อาสาสมัครเริ่มทดสอบการเดินบนพื้นแต่ละแบบด้วย preferred speed ซึ่งในการเผชิญกับพื้นนั้นๆ ครั้งแรกอาสาสมัครอาจให้ความสนใจกับลักษณะของพื้นและเพิ่มความระมัดระวังในขณะที่เคลื่อนไหว หลังจากทดสอบซ้ำ 3 รอบ อาสาสมัครซึ่งเป็นผู้ที่ไม่มีปัญหาทางการเคลื่อนไหว จึงเกิดการคุ้นชินหรือการเรียนรู้ และเมื่อให้เดินด้วย fastest and safe speed ในลำดับต่อมา อาสาสมัครจึงอาจให้ความสนใจกับการเพิ่มความเร็วในการเดินมากกว่าลักษณะของพื้น ทำให้เมื่อเดินด้วย fastest speed

ผลการศึกษาจึงพบความแตกต่างระหว่างพื้นน้อยกว่าการเดินแบบ preferred speed

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้พบว่าการเดินบนพื้นลักษณะต่างๆ ไม่ส่งผลต่อ step symmetry (รูป 1ง) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพื้นเหล่านี้ส่งผลต่อขาทั้งสองข้างของอาสาสมัครในลักษณะใกล้เคียงกัน ดังนั้น เมื่อพิจารณาสัดส่วนระยะก้าวของขาแต่ละข้างจึงไม่พบความแตกต่างกันระหว่างพื้นแต่ละแบบ (รูปที่ 1ง)



**รูปที่ 1** ลักษณะการเดินของอาสาสมัครขณะเดินบนพื้นแต่ละแบบด้วยความเร็วปกติและความเร็วสูงสุด  
 (ก) ความยาวรอบการเดิน  
 (ข) ความถึการก้าวขา  
 (ค) ความเร็วในการเดิน  
 (ง) ร้อยละความสมมาตรของระยะก้าว

\*\*แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.001$

ปัจจุบัน การพัฒนาหรือส่งเสริมความสามารถทางการเคลื่อนไหวของผู้สูงอายุมักใช้การออกกำลังกายแบบต่างๆ บนพื้นเรียบแข็ง ในขณะที่ในการดำเนินชีวิตประจำวัน ผู้สูงอายุอาจต้องเผชิญกับพื้นลักษณะต่างๆ กัน ผลการศึกษาที่พบนี้อาจสะท้อนให้เห็นประโยชน์ของการนำพื้นลักษณะต่างๆ มาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาความสามารถ และเตรียมความพร้อมให้กับผู้สูงอายุเพื่อเพิ่มความสามารถและความปลอดภัยทางการเคลื่อนไหวของบุคคลกลุ่มนี้ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้เป็นการศึกษาในผู้สูงอายุที่ไม่มีปัญหาทางการเคลื่อนไหวโดยใช้การศึกษาแบบภาคตัดขวาง ดังนั้นการศึกษาในอนาคตจึงควรใช้การศึกษาเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม (randomize control trials) และศึกษาในอาสาสมัครที่มีความบกพร่องทางการเคลื่อนไหวกลุ่มต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลยืนยันประโยชน์ของการประยุกต์ใช้ผลของพื้นในการฟื้นฟูและส่งเสริมความสามารถทางการเคลื่อนไหวต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการวิจัยได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) และมหาวิทยาลัยขอนแก่น

### เอกสารอ้างอิง

1. United Nations, department of Economic and Social Affairs, Population Division, Population Estimates and Projections Section. New York, NY: United Nations; 1999.
2. Jitapunkul S, Bunnag S, Ebrahim S. Health care for elderly people in developing countries: a case study of Thailand. Age Ageing 1993; 22(5):377-81.
3. Lord SR, Sturmeiks DL. The physiology of falling: Assessment and prevention strategies for older people. J Sci Med Sport 2005; 8(1): 35-42.

4. van Iersel MB, Munneke M, Esselink RA, Benraad CE, Olde Rikkert MG. Gait velocity and the Timed-Up-and-Go test were sensitive to changes in mobility in frail elderly patients. *J Clin Epidemiol* 2008;61(2):186-91.
5. Beauchamp MK, Lee A, Ward RF, Harrison SM, Bain PA, Goldstein RS, et al. Do Exercise Interventions Improve Participation in Life Roles in Older Adults? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Phys Ther* 2017 ;1:97 (10):964-74.
6. Thies SB, Richardson JK, Demott T, Ashton-Miller JA. Influence of an irregular surface and low light on the step variability of patients with peripheral neuropathy during level gait. *Gait Posture* 2005;22:40–5.
7. Gates DH, Wilken JM, Scott SJ, Sinitski EH, Dingwell JB. Kinematic strategies for walking across a destabilizing rock surface. *Gait Posture* 2012;35(1):36-42.
8. Lejeune TM, Willems PA, Heglund NC. Mechanics and energetics of human locomotion on sand. *J Exp Biol* 1998; 201(13):2071-80.
9. Pinnington HC, Dawson B. The energy cost of running on grass compared to soft dry beach sand. *J Sci Med Sport* 2001; 4(4): 416-30.
10. Morrison K, Braham RA, Dawson B, Guelfi K. Effect of a sand or firm-surface walking program on health, strength, and fitness in women 60-75 years old. *J Aging Phys* 2009; 17(2):196-209.
11. Allet L, Armand S, De Bie RA, Pataky Z, Aminian K, Herrmann FR, et al. Gait alterations of diabetic patients while walking on different surfaces. *Gait Posture* 2009;29(3):488-93.
12. Chirawatkul A. *Statistics for health science research*. Bangkok: Wittayapat; 2009.
13. Thaweewannakij T, Wilaichit S, Chuchot R, Yuenyong Y, Saengsuwan J, Siritaratiwat W, et al. Reference values of physical performance in Thai elderly people who are functioning well and dwelling in the community. *Phys Ther*. 2013;93:1312–1320.
14. Seeley M, Umberger B, Shapiro R. A test of the functional asymmetry hypothesis in walking. *Gait Posture* 2008;28:24–8.
15. Promkeaw D, Yam-ubon A, Saensook W, Amatachaya P, Thaweewannakij T, Amatachaya S. Gait characteristics of healthy individuals while walking on hard and soft surfaces with different levels of thickness. *Thai J Physical Ther* 2017;39(2):77-84
16. Anand Agrawal A, Kishor S, Sagar D, Nirankari KR. Techno, Economic, Feasibility Review of “Artificial Turf” in India. *Procedia CIRP* 2014; 24-8.
17. McLaren NJ, Fleming PR, Forrester SB. Artificial grass: A longitudinal study on ball roll and free pile height. *Procedia Engineer* 2014; 72:871–76.
18. Kim C, Eng J, Whittaker M. Level walking and ambulatory capacity in persons with incomplete spinal cord injury: relationship with muscle strength. *Spinal Cord* 2004; 42(3):156–62.
19. Bohannon RW. Comfortable and maximum walking speed of adults aged 20-79 years: reference values and determinants. *Age Ageing*. 1997;26:15-9.
20. Pramodhyakul N, Amatachaya P, Sooknuan T, Arayawichanon P, Amatachaya S. Visuotemporal cues clinically improved walking ability of ambulatory patients with spinal cord injury within 5 days. *J Spinal Cord Med* 2016; 39:405-11.

21. Kumprou M, Amatachaya P, Sooknuan T, Thaweewannakij T, Mato L, Amatachaya S. Do ambulatory patients with spinal cord injury walk symmetrically? *Spinal Cord* 2016; 55: 204-7.
22. Kumprou M, Amatachaya P, Sooknuan T, Thaweewannakij T, Amatachaya S. Is walking symmetry important for ambulatory patients with spinal cord injury? *Disabil Rehabil* 2017; 1-9
23. Said CM, Goldie PA, Patla AE, Sparrow WA. Effect of stroke on step characteristics of obstacle crossing. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; 82:1712-9.
24. Kirtley C. *Clinical gait analysis: theory and practice*. Edinburgh: Livingstone; 2006.
25. Menz HB, Lord SR, Fitzpatrick RC. Age-related differences in walking stability. *Age Ageing* 2003; 32:37-42.
26. Richardson JK. An Exploration of step time variability on smooth and irregular surfaces in older persons with neuropathy. *Clin Biomech* 2008; 23(3): 349-56.



## การตรวจวัดความยาวของเทโลเมียร์จาก Pap smear ในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก ด้วยเทคนิค SYBR-green quantitative real time PCR

กนกอร จันทรงาม<sup>1\*</sup> อรอนงค์ กฤษเพชรรัตน์<sup>2</sup> ญัฐยา แซ่อึ้ง<sup>3</sup> ยุพิน อนิวรรณตองกูร<sup>3</sup>  
สุทธิพรรณ กิจเจริญ<sup>3</sup> สุวิทย์ วงษ์เชียงขวาง<sup>4</sup> และ ภาณุพรรณ กฤษเพชรรัตน์<sup>3</sup>

Received: November 16, 2017

Revised: January 9, 2018

Accepted: January 19, 2018

### บทคัดย่อ

มีรายงานค่าความยาวของเทโลเมียร์แตกต่างกันในมะเร็งแต่ละชนิด ผู้วิจัยจึงทำการวัดค่าสัมบูรณ์ของความยาวของเทโลเมียร์ (absolute telomere length; aTL) ด้วยวิธี SYBR-green quantitative real time PCR (SYBR-green qRT-PCR) ในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก โดยใช้ตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกจาก Pap smear ของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma และชนิด adenocarcinoma รวม 71 ราย เทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีอายุเท่ากันเป็นคู่ ผลการศึกษาพบว่า ค่ามัธยฐานของ aTL (median of absolute telomere length) ในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกยาวกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1.50 kb/diploid genome, 95% CI = 1.11-1.81 และ 0.73 kb/diploid genome, 95% CI : 0.46-1.01 ตามลำดับ,  $p < 0.001$ ) อย่างไรก็ตามแม้ว่าค่ามัธยฐาน aTL ของผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma จำนวน 59 ราย จะยาวกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1.63 kb/diploid genome, 95% CI = 1.23-1.98 และ 0.57 kb/diploid genome, 95% CI = 0.41-0.93 ตามลำดับ,  $p < 0.001$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างของความยาวเทโลเมียร์ในผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกชนิด adenocarcinoma จำนวน 12 ราย เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (0.86 kb/diploid genome, 95% CI = 0.35-1.78 และ 1.18 kb/diploid genome, 95% CI = 0.74-2.12 ตามลำดับ,  $p = 0.62$ ) ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า สามารถนำเทคนิค SYBR-green qRT-PCR มาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาความยาวของเทโลเมียร์จากเซลล์เนื้อเยื่อปากมดลูกจาก Pap smear ได้ การวัดค่า aTL น่าจะมีประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma จึงควรมีการศึกษาจำนวนตัวอย่างเพิ่มมากขึ้นต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma มีแนวโน้ม aTL ยาวเมื่อระยะโรคเลวลง ขณะที่ adenocarcinoma จะมี aTL สั้นลง

**คำสำคัญ :** Cervical cancer, Cervical tissue, Absolute telomere length, SYBR-green qRT-PCR

<sup>1</sup> ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 6 จ.ขอนแก่น 40000

<sup>2</sup> ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

<sup>3</sup> ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

<sup>4</sup> โรงพยาบาลกาฬสินธุ์ จ.กาฬสินธุ์ 46000

\*ผู้รับผิดชอบบทความ



## Detection of telomere length from Pap smear in cervical cancer patients by SYBR-green quantitative real time PCR

Kanokorn Janngam<sup>1\*</sup>, Onanong Kritpetcharat<sup>2</sup>, Nattaya Sae-ung<sup>3</sup>, Yupin Aniwat-agkoom<sup>3</sup>, Suttiphan Kitcharoen<sup>3</sup>, Suwit Wongchiangkhwang<sup>4</sup> and Panutas Kritpetcharat<sup>3</sup>

### Abstract

There are several studies about the difference of telomere length in each type of cancers. Therefore, we aim to measure absolute telomere length (aTL) from cervical tissues by using SYBR-green Quantitative Real-time PCR (SYBR-green qRT-PCR) in cervical cancer patients. The cervical tissues of Pap smear samples were obtained from 71 cases of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma patients compare with age-match controls. The results showed that the median of aTL in cervical cancer patients was significantly longer compared to the controls (1.50 kb/diploid genome, 95% CI = 1.18-1.11 and 0.37 kb/diploid genome, 95% CI = 0.1-0.64, respectively,  $p < 0.001$ ). However, the aTL median of 59 squamous cell carcinoma patients was significantly longer compared to the controls (1.63 kb/diploid genome, 95% CI = 1.23-1.98 and 0.57 kb/diploid genome, 95% CI = 0.41-0.93, respectively,  $p < 0.001$ ) but there was no significant difference in 12 adenocarcinoma patients compared to the controls (0.86 kb/diploid genome, 95% CI = 0.35-1.78 and 1.18 kb/diploid genome 95% CI = 0.74-2.1, respectively,  $p = 0.62$ ). The results showed that SYBR-green qRT-PCR technique can be applied to measure aTL of cervical tissues from Pap smears. The aTL value might be a potential useful prognostic treatment for squamous cell carcinoma. The further study should be conducted in larger sample size. Moreover, longer aTL of squamous cell carcinoma and shorter adenocarcinoma patients tends to have poor prognosis.

**Keywords:** Cervical cancer, Cervical tissue, Absolute telomere length, SYBR-green qRT-PCR

<sup>1</sup> Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Khon Kaen 40002

<sup>2</sup> Department of Pathology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

<sup>3</sup> Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Khon Kaen 40002

<sup>4</sup> Kalasin Hospital, Kalasin 46000

\*Corresponding Author (e-mail: kanokorn.pi2820@gmail.com)

## Introduction

Situating at the end of the chromosome, telomere is noncoding DNA which is composed of six base-pair repetitive DNA sequences 5'-TTAGGG-3' and nucleoprotein.<sup>(1)</sup> The main function of telomeres is to protect the end of chromosome from enzyme and abnormal fusion reaction.<sup>(2)</sup> In somatic cells, telomere length is shortened by the time since there is some telomere lost from each cell division because of end replication problem from lagging strand synthesis.<sup>(3)</sup> At the critical point that the length of telomere is dramatically short, chromosome is unstable leading to p53 activation, cell senescence and apoptosis. Cancer cell is a cell that can escape from the senescence and apoptosis after cell reaches at the critical point. It has a mechanism that maintains the stability of telomere length. Some somatic gene mutation causes abnormal cell division and development of cancer cells eventually.<sup>(4)</sup>

Cervical cancer is the second most common cancer found (the first one is breast cancer) and is also the third causes of cancer deaths in women worldwide (the first and second causes of cancer deaths are breast and lung cancers, respectively).<sup>(5)</sup> The major cause of cervical cancer is human papillomavirus (HPV) infection, especially HPV type 16 and 18.<sup>(6)</sup> There are three types of cervical cancer based on pathological classification and frequency including, squamous cell carcinoma, adenocarcinoma and other epithelial tumors, respectively.<sup>(7)</sup> There are several studies about the changes of telomere length in various types of cancers. However, the results are unclear. Some researchers reported that the longer telomere length was associated with the risk of cancers,

while the others revealed that the shorter telomere length was related to cancers. Moreover, some studies reported that telomere length was not involved in some cancers.<sup>(8)</sup> It should be noted that investigation of telomere length with different samples and methods leads to different results.<sup>(8)</sup> However, there is no report about telomere length of cervical cancer patients. This is the first study using SYBR-green qRT-PCR technique to determine the telomere length from extracted DNA from Pap smear of cervical cancer patients compared to telomere length of normal control. Our findings provided the basic knowledge about the molecular changes in telomere length of cervical cancer patients to further cancer prognosis.

## Materials and methods

### *Study populations*

A retrospective case-control study of 142 females who were screened with Pap smear were derived from Kalasin Hospital, Thailand. There were 71 cervical cancer patients with Pap smear positive and all the cases were pathologically confirmed by Institute of Pathology, Department of medical Service of Ministry public Health, Bangkok, Thailand. In addition, the 71 women with Pap smear negative and no cancer were randomly selected. Controls were matched with cases according to age and were selected from the querying medical records.

### *DNA extraction from pap smear*

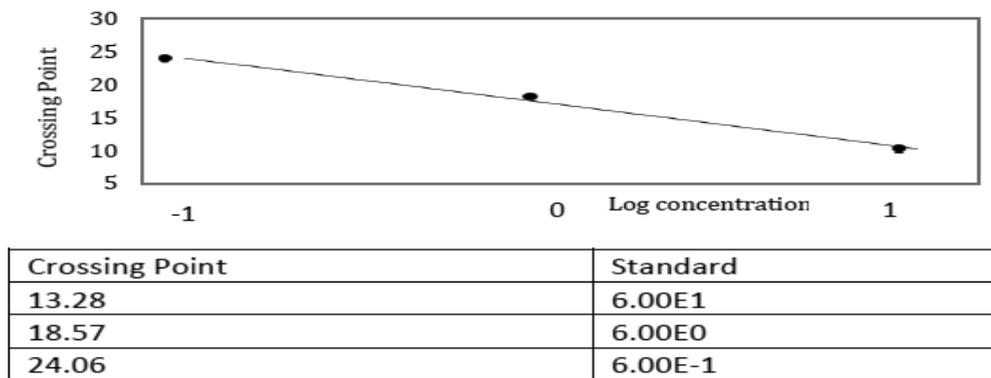
Cervical cells preparation was modified from deRoda Husman et al.<sup>(9)</sup> Pap smear were placed in xylene and left overnight until the coverslips could easily be removed. Then the cells were collected from Pap smear with a new sterile razor blade and transferred into a micro centrifuge



## Results

### *Demographic characteristics of 71 cervical cancer patients*

Demographic characteristics of 71 cases were shown in **Table 1**. From the 71 cervical cancer patients, the median age was 52 years with a range of 31 to 68 years. 59 (83.10%) and 12 (16.90%) patients were squamous cell carcinoma and adenocarcinoma, respectively.



**Figure 1.** Standard curve of SYBR Green qRT-PCR, generated by LightCycler® 480 real time PCR system (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), for telomere length determination by using known quantities of synthesized 84 mer oligonucleotide with a MW of 26667.3 consisted of TTAGGG repeats 14 times.

**Table 1.** Demographics and clinical characteristics of cervical cancer patients

Demographics	Patients	
	N (71)	%
<b>Age (years)</b>		
Median	52	
Range	31-68	
<30	-	-
30-34	3	4.23
35-39	4	5.63
40-44	3	4.23
45-49	11	15.50
50-54	27	38.03
55-59	11	15.50
60-64	10	14.08
65-69	2	2.82
>69	-	-
<b>Histology</b>		
Squamous cell carcinoma	59	83.10
Adenocarcinoma	12	16.90

### **The absolute telomere length**

The absolute telomere length (aTL) of cervical cancer patients and controls expressed total telomere length (kb per diploid genome). The median of aTL in cervical cancer patients was significantly longer compared to the controls (1.50 kb/ diploid genome, 95% CI = 1.11–1.81 and 0.37 kb/diploid genome, 95% CI = 0.46–1.01 in cases and controls, respectively,  $p < 0.001$ ). The median of aTL of 59 squamous cell carcinoma patients was also determined. The results showed that the median of aTL of squamous cell carcinoma patients was significantly longer compared to the controls (1.63 kb/diploid genome, 95% CI = 1.23-1.98 and 0.57 kb/diploid genome, 95% CI = 0.41-0.93, in cases and control, respectively,  $p < 0.001$ ). However, there was no significant difference in adenocarcinoma patients compared to the controls (0.86 kb/diploid genome, 95% CI = 0.35-1.78 and 1.18 kb/diploid genome 95% CI = 0.74-2.12 in cases and controls, respectively,  $p = 0.62$ ) (Table 2). The aTL was also determined based on clinical characteristics of cervical cancer patients as shown in Table 3. The results showed that in cervical cancer patients (squamous cell carcinoma), the aTL of moderate differentiated type (5.31 kb/diploid genome) was longer compared to the aTL of poorly differentiated (1.5 kb/diploid genome). The aTL of 2 cervical cancer patients stage IIB squamous cell carcinoma (2.15, 1.06 kb/diploid genome) were longer compared to the aTL of stage II adenocarcinoma (0.35 kb/ diploid genome). In addition, the aTL of stage II adenocarcinoma patients (0.35 kb/diploid genome) was shorter compared to stage I patients (0.88 kb/diploid genome).

**Table 2.** The median of absolute telomere length (aTL) of cervical cancer.

	All case / control (n = 71//71)	SCC <sup>1</sup> / control (n = 59/59)	Adeno <sup>2</sup> / control (n = 12/12)
Median of aTL (kb/diploid genome)	1.50 (1.11-1.81) / 0.73 (0.46-1.01) <sup>3</sup>	1.63 (1.23-1.98) / 0.57 (0.41-0.93) <sup>3</sup>	0.86 (0.35-1.78) / 1.18 (0.74-2.12) <sup>3</sup>
<i>p</i> -value	< 0.001	< 0.001	0.62

<sup>1</sup> SCC = Squamous cell carcinoma

<sup>2</sup> Adeno = Adenocarcinoma

<sup>3</sup> median of aTL /diploid genome (95%CI)

**Table 3.** Absolute telomere length (aTL) distribution by clinical characteristics of cervical cancer patients.

Cervical cancer type	n	aTL (kb /diploid genome)
<b>Squamous cell carcinoma</b>		
- poorly differentiated carcinoma non keratinizing type	1	1.5
- moderate differentiated (non-keratinized)	1	5.31
- Stage IIB	2	2.15, 1.06
<b>Adenocarcinoma</b>		
- Stage I	1	0.88
- Stage II	1	0.35

## Discussion

From the previous study, they reported that changes in the length of telomere, both longer and shorter, compared to the control were benefit for prognosis. The short telomere was a risk factor in bladder, esophageal, gastric, head and neck, ovarian, renal, and overall incident cancer patients.<sup>(8)</sup> Moreover, the long telomere was a risk factor and poorer outcome in prostate cancer<sup>(11)</sup>, breast cancer<sup>(12)</sup> non-Hodgkin lymphoma<sup>(13)</sup>

and hepatocellular carcinoma patients.<sup>(14)</sup> This is the first study investigating the aTL in cervical tissues. The results showed that cervical cancer patients had median of aTL longer compared to the control. Abnormal cervical cells which transform to cervical cancer cells has not been described clearly. However, it is well-known that E6 protein found in HPV type 16 and 18 and E7 protein found in HPV type 16 only are the cause of cervical cancer. HPV protein, E6 protein, binds with normal

cell p53 protein leading to *p53* gene mutation whereas E7 protein binds with pRb protein leading to retinoblastoma (*Rb*) gene mutation. The mutations of *p53* and *Rb* genes cause alteration of cell-cycle checkpoint. These abnormal cells have proliferation and growth continuously and develop to cervical cancer cells eventually.<sup>(15)</sup> According to types of cervical cells, we found that the aTL of 59 (83.10%) squamous cell carcinoma cases was significantly longer compared to the controls whereas the aTL of 12 (16.90%) adenocarcinoma was not seen significantly differences compared to the controls; however, the trend of aTL of adenocarcinoma was shorter compared to the controls. The difference of telomere length in these two types of cervical cells may be caused by different pathogenesis. There was a report revealed that telomere length was changed depending on types of cancers and body response for each cancer disease.<sup>(16)</sup> Squamous cell carcinomas begin from the squamocolumnar junction of extocervix. The lesions may be keratinizing or nonkeratinizing, while adenocarcinomas developed from the mucus-producing gland cells of the endocervix.<sup>(17)</sup> Moreover, the causative viruses of these two types of cervical cancer are also different. Bulk et al<sup>(18)</sup> reported that HPV-16 was a causative virus for squamous cell carcinoma and adenocarcinoma whereas HPV-18 was a causative virus for adenocarcinoma only. In addition, Yang et al<sup>(19)</sup> investigated the effect of the HPV genotype as a prognostic factor, the study showed that HPV-18 was a poor prognostic factor for in cervical cancer patients as stage I-IIA following primary surgical treatment. Lombard et al<sup>(20)31</sup> revealed that cervical cancer patients infected

with HPV-18 had 2.4 greater relative risk of death compared to cervical cancer patients infected with HPV-16. Patient data derived from Kalasin Hospital revealed that an adenocarcinoma stage II of cervical cancer patient had telomere length shorter compared to an adenocarcinoma stage I. This indicated that shorter telomere in adenocarcinoma was a poor prognosis. In contrast, longer telomere in squamous cell carcinoma was a poor prognosis. Moreover, a moderate differentiated of cervical cancer patient had telomere length longer compared to a poorly differentiated one. In addition, 2 cervical cancer patients stage II B had telomere length longer compared to an adenocarcinoma stage II. However, we need to collect more samples to increase reliable results. This is a retrospective study which has limitations about gathering patient data and controlling all factors that are involved in changes of telomere length.<sup>(21)</sup> In this study, we selected the same age of participate in case and control groups. Moreover, participants who had some underlying diseases were excluded. Moreover, the adenocarcinoma samples are not many. The further study should be conducted with more sample size to gather reliable results. For DNA extraction, cells from Pap smear samples should be placed on ¼ of slide to assure that the cells are adequate for investigation by PCR.

## Conclusion

We applied the SYBR Green qRT-PCR for measurement the aTL of Pap smear derived from cervical tissue samples for the first time which might be useful for cervical cancer prognosis.

## Acknowledgements

We thank the Kalasin Hospital for samples and data supporting in this study. We are grateful to Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University for funding.

## References

1. Palm W, de Lange T. How Shelterin Protects Mammalian Telomeres. *Annu Rev Genet.* 2008; 42(1): 301–34.
2. Hug N, Lingner J. Telomere length homeostasis. *Chromosoma.* 2006; 115(6): 413–25.
3. Allsopp RC, Chang E, Kashefi-Azham M, Rogaev EI, Piatyszek MA, Shay JW, et al. Telomere Shortening Is Associated with Cell Division in Vitro and in Vivo. *Exp Cell Res.* 1995; 220(1): 194–200.
4. Artandi SE, DePinho RA. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis.* 2010; 31(1): 9–18.
5. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015; 65(2): 87–108.
6. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189(1): 12–9.
7. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract | Robert J. Kurman | Springer [Internet]. [cited 2017 Sep 19]. Available from: <http://www.springer.com/us/book/9781475738896>
8. Wentzensen IM, Mirabello L, Pfeiffer RM, Savage SA. The Association of Telomere Length and Cancer: a Meta-analysis. *Cancer Epidemiol Prev Biomark.* 2011; 20(6): 1238–50.
9. de Roda Husman AM, Snijders PJ, Stel HV, van den Brule AJ, Meijer CJ, Walboomers JM. Processing of long-stored archival cervical smears for human papillomavirus detection by the polymerase chain reaction. *Br J Cancer.* 1995; 72(2): 412–7.
10. O'Callaghan N, Dhillon V, Thomas P, Fenech M. A quantitative real-time PCR method for absolute telomere length. *BioTechniques.* 2008; 44(6): 807–9.
11. Svenson U, Roos G, Wikström P. Long leukocyte telomere length in prostate cancer patients at diagnosis is associated with poor metastasis-free and cancer-specific survival. *Tumor Biol.* 2017; 39(2): 1010428317692236.
12. Gramatges MM, Telli ML, Balise R, Ford JM. Longer Relative Telomere Length in Blood from Women with Sporadic and Familial Breast Cancer Compared with Healthy Controls. *Cancer Epidemiol Prev Biomark.* 2010; 19(2): 605–13.
13. Lan Q, Cawthon R, Shen M, Weinstein SJ, Virtamo J, Lim U, et al. A Prospective Study of Telomere Length Measured by Monochrome Multiplex Quantitative PCR and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(23): 7429–33.
14. Liu H-Q, An J-Z, Liu J, Yang Y-F, Zhang H-X, Zhao B-Y, et al. Leukocyte telomere length predicts overall survival in hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemo-embolization. *Carcinogenesis.* 2012; 33(5): 1040–5.
15. Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, et al. Mechanisms of Human Papillomavirus-Induced Oncogenesis. *J Virol.* 2004; 78(21): 11451–60.

16. Svenson U, Roos G. Telomere length as a biological marker in malignancy. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis.* 2009; 1792(4): 317–23.
17. American Cancer Society. What Is Cervical Cancer [Internet]. [cited 2017 Nov 2]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/cervical-cancer/about/what-is-cervical-cancer.html>
- 18 Bulk S, Berkhof J, Bulkman NWJ, Zielinski GD, Rozendaal L, van Kemenade FJ, et al. Preferential risk of HPV16 for squamous cell carcinoma and of HPV18 for adenocarcinoma of the cervix compared to women with normal cytology in The Netherlands. *Br J Cancer.* 2006; 94(1): 171–5.
19. Yang S-H, Kong S-K, Lee S-H, Lim S-Y, Park C-Y. Human papillomavirus 18 as a poor prognostic factor in stage I-IIA cervical cancer following primary surgical treatment. *Obstet Gynecol Sci.* 2014; 57(6): 492–500.
20. Lombard I, Vincent-Salomon A, Validire P, Zafrani B, de la Rochefordière A, Clough K, et al. Human papillomavirus genotype as a major determinant of the course of cervical cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1998; 16(8): 2613–9.
21. Shammas MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011 Jan; 14(1): 28–34.



# ความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพต่อความเสี่ยงในการติดเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* สายพันธุ์สร้างเอนไซม์ Extended-spectrum $\beta$ -lactamases

นนทิพัฒน์ พัฒนโชติ<sup>1\*</sup> ทรงสิทธิ์ หอมไกร<sup>1</sup> ณรงค์ชัย สังชา<sup>2</sup>  
ศรียกฤต ภาคมฤค<sup>3</sup> วงษ์กลาง กุดวงษา<sup>4</sup> และ พงษ์เดช สารการ<sup>5</sup>

Received: August 12, 2017

Revised: December 28, 2017

Accepted: January 23, 2018

## บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* สายพันธุ์สร้างเอนไซม์ Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL-producing *K. pneumoniae*) เป็นปัญหาสำคัญทั่วโลก การรักษาผู้ป่วยติดเชื้อชนิดนี้จะมีความยุ่งยากซับซ้อน และอาจนำไปสู่การรักษาไม่ประสบผลสำเร็จ วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพต่อความเสี่ยงในการติดเชื้อ ESBL producing *K. pneumoniae* รูปแบบการศึกษาแบบ Case-control study (ใช้อัตราส่วน Case: Controls =1:2) โดยใช้ฐานข้อมูลจากโรงพยาบาลร้อยเอ็ด ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลและตัวแปรที่สนใจจากเวชระเบียนของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึงวันที่ 31 ตุลาคม พ.ศ. 2558 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ สถิติเชิงพรรณนา และสถิติเชิงวิเคราะห์ ประกอบด้วยการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงเดี่ยวและการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงพหุคูณโดยวิธีโลจิสติก โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่  $p$ -value <0.05 ผลการศึกษา กลุ่มศึกษาจำนวน 125 ราย เป็นเพศหญิง ร้อยละ 50.4 อายุเฉลี่ย 62.2 ปี ( $\pm$ SD=15.6) สถานภาพสมรสคู่ ร้อยละ 76.0 กลุ่มควบคุมจำนวน 250 ราย เป็นเพศชาย ร้อยละ 55.6 อายุเฉลี่ย 55.0 ปี ( $\pm$ SD=17.4) สถานภาพสมรสคู่ ร้อยละ 62.8 ผลการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงพหุ พบว่าผู้ป่วยที่มีประวัติการได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม carbapenems (OR<sub>Adj.</sub> =1.9, 95% CI: 1.25-2.98), glycopeptides (OR<sub>Adj.</sub> =4.1, 95% CI: 1.98-8.45), phenicals (OR<sub>Adj.</sub> =2.6, 95% CI: 1.09-6.10) และ quinolones (OR<sub>Adj.</sub> =5.6, 95% CI: 1.89-16.65) เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* สรุปผลการศึกษา จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าการใช้ยาต้านจุลชีพในกลุ่ม carbapenems, glycopeptides, phenicals และ quinolones เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae*

**คำสำคัญ:** *Klebsiella pneumoniae*, Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, ยาต้านจุลชีพ

<sup>1</sup> งานจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลร้อยเอ็ด จังหวัดร้อยเอ็ด

<sup>2</sup> กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลร้อยเอ็ด จังหวัดร้อยเอ็ด

<sup>3</sup> กลุ่มงานเวชระเบียน โรงพยาบาลร้อยเอ็ด จังหวัดร้อยเอ็ด

<sup>4</sup> โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลเหล่าบัวบาน อำเภอยางชุมน้อย จังหวัดมหาสารคาม

<sup>5</sup> ภาควิชาวิทยาการระบาดและชีวสถิติ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

\*ผู้รับผิดชอบบทความ



## Association between antibiotics used and risk of extended-spectrum $\beta$ -lactamases *Klebsiella pneumoniae* Infection

Nuntiput Putthanachote<sup>1\*</sup>, Songsith Homkrai<sup>1</sup>, Norongchai Sangsa<sup>2</sup>,  
Srikrit Pakmaruek<sup>3</sup>, Wongklang Kudwongsa<sup>4</sup> and Pongdech sarakarn<sup>5</sup>

### Abstract

The Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing *Klebsiella pneumoniae* (ESBL-producing *K. pneumoniae*) infection is a public health problem worldwide. The treatments of the infected patients were complicated and might lead to therapeutic failure. Objective of this study was to investigate the association between antibiotics used as a risk of ESBL-producing *K. pneumoniae* infection. A hospital based case-controls study (Case: Controls =1:2), data were collected from Roi Et Hospital data base and all variables of interest were retrieved from medical records. All data of patients and control groups were recorded at Roi Et Hospital between January 1, 2014 to October 31, 2015. Descriptive statistics, univariable analysis and multivariable analysis by multiple logistic regressions were used for statistical analysis. The statistically significant was set at  $p$ -value  $<0.05$ . Among 125 cases, 50.4% were female with mean age 62.2 years (SD=  $\pm 15.6$ ) and couple 76.0%. Whereas 250 controls, 55.6% were male with mean age 55.0 years (SD=  $\pm 17.4$ ) and couple was 62.8%. The multiple logistic regressions analysis revealed that patients who received carbapenems (OR<sub>Adj.</sub> =1.9, 95% CI: 1.25-2.98), glycopeptides (OR<sub>Adj.</sub> =4.1, 95%CI: 1.98-8.45), phenicals (OR<sub>Adj.</sub> =2.6, 95%CI: 1.09-6.10) and quinolones (OR<sub>Adj.</sub> =5.6, 95%CI: 1.89-16.65) for treatment, were at risk of ESBL-producing *K. pneumoniae* infection. In conclusion, this study revealed that carbapenems, glycopeptides, phenicals and quinolones were risk factors for ESBL-producing *K. pneumoniae* infection.

**Keywords:** *Klebsiella Pneumoniae*, Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, Antibiotics

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Roi Et Hospital, Roi Et Province, Thailand

<sup>2</sup>Department of medicine, Roi Et Hospital, Roi Et Province, Thailand

<sup>3</sup>Department of Medical Record, Roi Et hospital, Roi Et Province, Thailand

<sup>4</sup>Laobuaban Health Promoting Hospital, Chiang Yean District, Mahasarakham Province, Thailand

<sup>5</sup>Department of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Public Health, Khon Kaen University, Thailand

\*Corresponding author (e-mail: nuntiput101@gmail.com)

## บทนำ

โรคติดเชื้อฉวยโอกาสในโรงพยาบาลที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* สายพันธุ์สร้างเอนไซม์ Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL-producing *K. pneumoniae*) เป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุขในประเทศต่างๆ ทั่วโลก<sup>(1-4)</sup> การรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* มักมีความซับซ้อนเนื่องจากยาต้านจุลชีพที่จะใช้กับผู้ป่วยมีจำกัด และอาจเพิ่มความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้ ผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดนี้มักเป็นผู้ป่วยที่ครองเตียงนาน มีร่างกายที่อ่อนแอและมีภูมิคุ้มกันต่ำ โดยเฉพาะผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาดูแลในหอผู้ป่วยวิกฤตเป็นเวลานาน ผู้ป่วยที่ได้รับการสอดใส่สายสวน อุปกรณ์ทางการแพทย์ต่างๆ ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ ESBLKP เกี่ยวกับการได้รับยาต้านจุลชีพจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม fluoroquinolones, trimethoprim/sulfamethoxazole, aminoglycoside, gentamicin, tetracycline, second- and fourth-generation cephalosporin,  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations และ carbapenems เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ<sup>(5-7)</sup> โดยผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม  $\beta$ -lactam มาก่อนเข้ารับการรักษามีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ 28.1 เท่า ได้รับยาต้านจุลชีพ cefepime มาก่อนมีความเสี่ยง 22.7 เท่า<sup>(8)</sup> ได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม fluoroquinolones มีความเสี่ยง 16.0 เท่า ยาในกลุ่ม  $\beta$ -lactams มีความเสี่ยง 5.0 เท่า<sup>(9)</sup> ผู้ป่วยที่เคยได้รับยา piperacillin-tazobactam มีความเสี่ยง 6.2 เท่า oxymino-Cephalosporins มีความเสี่ยง 3.7 เท่า<sup>(10)</sup> และผู้ป่วยที่ได้รับยาในกลุ่ม cephalosporins มาก่อนมีความเสี่ยง 7.6 เท่า<sup>(11)</sup> โรงพยาบาลร้อยเอ็ดเป็นโรงพยาบาลศูนย์ ซึ่งการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* เป็นปัญหาสำคัญที่ของผู้ป่วยที่เข้ามารับบริการ จากข้อมูลห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลร้อยเอ็ด ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2557 มีจำนวนเชื้อ *K. pneumoniae* ที่แยกได้

จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยร้อยละ 12.15, 10.81 และ 11.13 ข้อมูลในปี พ.ศ. 2558 (1 มกราคม ถึงวันที่ 31 ธันวาคม) จากการตรวจเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจจำนวน 18,038 ตัวอย่าง พบว่าเชื้อเป็นเชื้อ *K. pneumoniae* จำนวน 1,718 isolates ซึ่งสูงเป็นลำดับที่ 1 และในจำนวนนี้เป็นเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* จำนวน 633 isolates จากการทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องจะเห็นว่าปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อชนิดนี้มีหลายปัจจัย และสถิติการติดเชื้อชนิดนี้โรงพยาบาลร้อยเอ็ดมีค่อนข้างสูงและถึงแม้จะมีงานวิจัยจากต่างประเทศที่อธิบายถึงปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ค่อนข้างมาก โดยการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพต่อความเสี่ยงในการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ในประเทศไทยยังมีน้อยซึ่งไม่สอดคล้องกับปัญหาที่เกิดขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาถึงความสำคัญดังกล่าว โดยมีวัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการให้ยาต้านจุลชีพต่อความเสี่ยงในการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ซึ่งผลที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้คือการนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนรักษาผู้ป่วยเพื่อป้องกันการติดเชื้อดื้อยาชนิดนี้ อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาในครั้งต่อไปในอนาคต

## วิธีการดำเนินการวิจัย

**รูปแบบการวิจัย** เป็นแบบกลุ่มศึกษา กลุ่มควบคุม (case-control study) โดยใช้อัตราส่วนระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมเป็น 1:2 ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมดได้มาจากฐานข้อมูลโรงพยาบาลร้อยเอ็ด โดยสืบค้นเก็บรวบรวมข้อมูล ประวัติการรักษาของผู้ป่วยย้อนหลังจากเวชระเบียนและจากผลการตรวจเพาะเชื้อจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลร้อยเอ็ด

**ประชากรศึกษา** คือ ผู้ป่วยทุกรายที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลร้อยเอ็ด ระหว่างวันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึงวันที่ 31 ตุลาคม พ.ศ. 2558 ส่วนกลุ่มตัวอย่าง คือ ผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลร้อยเอ็ด ระหว่างวันที่ 1 มกราคม 2557 ถึงวันที่ 31 ตุลาคม 2558 โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม โดยขนาดของกลุ่มตัวอย่างได้จากการคำนวณตามสูตรของ Schaesselman, 1982<sup>12</sup> โดยใช้อัตราส่วนระหว่างกลุ่มกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมเป็น 1 ต่อ 2 จากการคำนวณตามสูตรได้กลุ่มศึกษาทั้งหมด 125 ราย และกลุ่มควบคุม 250 ราย โดยแต่ละกลุ่มมีคุณสมบัติดังนี้

**กลุ่มศึกษา (Case)** คือ ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 15 ปีขึ้นไป นอนรักษาตัวในโรงพยาบาลมากกว่า 48 ชั่วโมง ได้รับการตรวจวินิจฉัยว่าติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* เป็นครั้งแรก โดยผู้ป่วยทุกรายได้รับการยืนยันการติดเชื้อจากแพทย์ผู้ทำการรักษาและทำการยืนยันจากข้อมูลกับกลุ่มงานควบคุมโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลร้อยเอ็ด และมีผลการตรวจเพาะเชื้อยืนยันจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก โดยทำการสุมด้วยวิธีการสุมอย่างง่ายจากจำนวนผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาในช่วงระยะเวลาที่กำหนด

**กลุ่มควบคุม (Control)** คือผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 15 ปีขึ้นไป นอนรักษาตัวในโรงพยาบาลมากกว่า 48 ชั่วโมง โดยทำการสุมจากผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาในช่วงระยะเวลาเดียวกันกับกลุ่มศึกษา เพื่อให้ทั้งสองกลุ่มมีคุณสมบัติใกล้เคียงกันมากที่สุด โดยกลุ่มควบคุมไม่ได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* โดยมีเกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria) ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีข้อมูลประวัติการรักษาไม่ครบ หรือข้อมูลผลการทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพไม่ครบถ้วนสมบูรณ์

**ตัวแปรที่ศึกษา (Variables of interest)** โดยตัวแปรที่ศึกษาในครั้งนี้ประกอบด้วย ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยได้แก่ เพศ อายุ สถานภาพสมรส อาชีพ หอผู้ป่วย ระยะเวลาครองเตียง การมีโรคป่วยร่วม และการมีภาวะแทรกซ้อน ส่วนข้อมูลประวัติการได้รับยาต้านจุลชีพ ได้แก่ การได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม penicillin, cephalosporin, carbapenem, microlide, colistin, glycopeptide, licosamide, phenical, quinolone, sulfonamide,

aminoglycoside โดยทำการจัดให้เป็นตัวแปรกลุ่ม (ใช่/ไม่ใช่)

### การตรวจเพาะเชื้อทางห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยตามหลักการมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (CLSI) โดยนำสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blood agar และ MacConkey agar หลังจากนั้นบ่มเพาะในเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 35 องศา เป็นเวลา 16 ถึง 24 ชั่วโมง โดยลักษณะของเชื้อ *K. pneumoniae* หลังบ่มเพาะจะให้โคโลนีสีชมพูใหญ่ เยิ้ม ขนาด 3-5 มิลลิเมตร หลังจากนั้นเชื้อโคโลนีส่งสัยลงใน TSI (triple sugar iron agar), SIM (sulfide, indole, motility) medium agar, LIA (lysine iron agar), citrate test, urease test, malonate test และบ่มเพาะในเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 35 องศา เป็นเวลา 16 ถึง 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีและการแยกวินิจฉัยเชื้อ โดยเชื้อ *K. pneumoniae* จะให้ TSI (A/A) with gas ให้ผลการทดสอบเป็นบวกกับ catalase, lysine decarboxylase test, citrate test, urease test และ malonate test และให้ผลลบต่อการทดสอบ oxidase, motile, indole, ornithine decarboxylase

### การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยใช้วิธีการ Disk diffusion ตามหลักการของ Clinical and Laboratory Standards Institute 2010 (CLSI, 2010) โดยใช้เชื้อ *K. pneumoniae* ATCC 700603 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็นสายพันธุ์ควบคุม แผ่นยาต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบทางห้องปฏิบัติการได้แก่ amikacin (AK: 30 µg), ampicillin (AMP:10 µg), cefotaxime (CTX: 30 µg), ceftazidime (CAZ: 30 µg), cefuroxime (CXM: 30 µg), cephalotin (KF: 30 µg), cotrimoxazole(SXT: 25 µg), gentamicin (CN: 10 µg), imipenem (IPM: 10 µg), meropenem (MEM: 10 µg), ertapenem (ETP: 10 µg), doripenem (DOR: 10 µg), tigecyclin (TGC: 15 µg), ciprofloxacin (CIP:5 µg),

piperacilin/tazobactam (TZP: 110 µg) และ cefop-  
erazone/sulbactam (Sul=75 µg/30 µg)

### การทดสอบการสร้างเอนไซม์ Extended-spectrum β-lactamases ของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ ESBL-producing  
*K. pneumoniae* โดยใช้วิธี disk diffusion โดยยึดหลัก  
การตามมาตรฐานของ CLSI, 2010 โดยปฏิบัติตามขั้นตอน  
ดังต่อไปนี้ เชื้อโคโลนีเชื้อ *K. pneumoniae* ลงในหลอด  
ทดลองหลังจากนั้นปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ 0.5 McFarland  
แล้วนำเชื้อป้ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Muller Hinton  
agar ให้ทั่วและสม่ำเสมอ หลังจากนั้น disk ยาเป็นคู่  
โดย cefotaxime (CTX: 30 µg) คู่กับ cefotaxime/  
clavulanuc acid (CTX/CLA: 30/10 µg) และ  
ceftazidime (CAZ: 30 µg) คู่กับ ceftazidime/clavulanuc  
acid (CAZ/CLA: 30/10 µg) ปุ่มเพาะในเครื่อง incubator  
ที่อุณหภูมิ 35 องศา เป็นเวลา 16 ถึง 24 ชั่วโมง หาก ESBL  
ผลบวกจะพบว่ามีขนาดแตกต่างของ inhibition zone  
ของยาแต่ละคู่  $\geq 5$  มิลลิเมตร

### สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ สถิติเชิง  
พรรณนา (จำนวน, ร้อยละ, ค่าเฉลี่ย, ส่วนเบี่ยงเบน  
มาตรฐาน) เพื่อใช้อธิบายคุณลักษณะทั่วไปของประชากรที่  
ศึกษา ส่วนสถิติเชิงอนุมาน ประกอบด้วย การวิเคราะห์  
ตัวแปรเชิงเดี่ยว (Univariable analysis) เพื่อนำเสนอค่า  
Crude Odd Ratio (ORC) และ 95% CI การวิเคราะห์  
ตัวแปรเชิงพหุ (Multivariable analysis) โดยใช้วิธี  
วิเคราะห์แบบพหุคูณ (Multiple logistic regression)  
เพื่อนำเสนอค่า Adjusted Odd Ratio (OR Adj.) และ  
95% CI โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่  $p$ -value  
 $< 0.05$  การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดใช้โปรแกรมสำเร็จรูป  
Stata version 10.0

### ขั้นตอนการเก็บข้อมูล

ผู้วิจัยได้รับอนุญาตให้เก็บรวบรวมข้อมูลเวช  
ระเบียนผู้ป่วยจากผู้อำนวยการโรงพยาบาลร้อยเอ็ด  
จากนั้นผู้วิจัยดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลตัวแปรที่สนใจ  
ลงในแบบคัดลอกข้อมูลที่คณะผู้วิจัยได้จัดทำขึ้นและ  
นำข้อมูลที่ได้อิงในโปรแกรม Excel โดยผู้ช่วยนักวิจัย  
1 ท่านเพื่อเตรียมในวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

### ข้อพิจารณาด้านจริยธรรมวิจัย

การทำวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้รับการรับรองจริยธรรม  
การวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์  
โรงพยาบาลร้อยเอ็ดเลขที่ 004/2559 การบันทึกข้อมูล  
จะให้เป็นแบบรหัสที่ไม่สามารถเชื่อมโยงกับข้อมูลผู้ป่วยได้  
เอกสารงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับข้อมูลผู้ป่วยต้อง  
ทำลายทิ้งทั้งหมดหลังเสร็จสิ้นกระบวนการวิจัยเพื่อเป็นการ  
ป้องกันข้อมูลความลับต่างๆ ของผู้ป่วยรั่วไหล การนำเสนอ  
ข้อมูลจะเป็นภาพรวมไม่มีการนำเสนอเป็นรายบุคคล  
หรือจำเพาะเจาะจงตัวผู้ป่วยและจะไม่มีการเปิดเผยชื่อ  
ผู้ป่วยหรือข้อมูลต่างๆ ต่อสาธารณชนไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

### ผลการศึกษา

#### ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม

กลุ่มศึกษาจำนวน 125 ราย เป็นเพศหญิงร้อยละ  
50.4 อายุเฉลี่ย 62.2 ปี ( $\pm$ SD=15.6) มีสถานภาพสมรสคู่  
ร้อยละ 76.0 ประกอบอาชีพเกษตรกรร้อยละ 66.4  
มีระยะเวลาครองเตียงมากกว่า 7 วัน ร้อยละ 52.8 มีโรค  
ป่วยร่วมและมีภาวะแทรกซ้อนร้อยละ 87.2 และ 77.6  
ตามลำดับ กลุ่มควบคุมจำนวน 250 ราย เป็นเพศชาย  
ร้อยละ 55.6 อายุเฉลี่ย 55.0 ปี ( $\pm$ SD=17.4) สถานภาพ  
สมรสคู่ร้อยละ 62.8 ประกอบอาชีพเกษตรกรร้อยละ  
53.2 มีระยะเวลาครองเตียงน้อยกว่า 7 วัน ร้อยละ 59.6  
มีโรคป่วยร่วม และมีภาวะแทรกซ้อนร้อยละ 63.6 และ  
53.2 ตามลำดับ ข้อมูลแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม

ตัวแปร	กลุ่มศึกษา		กลุ่มควบคุม		p-value
	จำนวน (n=125)	ร้อยละ (%)	จำนวน (n=250)	ร้อยละ (%)	
<b>เพศ</b>					0.881
ชาย	62	49.6	139	55.6	
หญิง	63	50.4	111	44.4	
<b>อายุ</b>					0.395
≤60	88	50.8	113	55.9	
>60	85	49.2	89	44.1	
Mean±SD	62.2±15.6		55.0± 17.4		
<b>สถานภาพ</b>					0.070
โสด	21	16.8	50	20.0	
คู่	95	76.0	157	62.8	
หย่าร้าง	3	2.4	6	2.4	
หม้าย	6	4.8	37	14.8	
<b>อาชีพ</b>					0.282
เกษตรกรกรรม	83	66.4	133	53.2	
รับราชการ	3	2.4	12	4.8	
ค้าขาย	4	3.2	23	9.2	
รับจ้างรายวัน/เดือน	14	11.2	40	16.0	
ว่างงาน/แม่บ้าน/อื่นๆ	21	16.8	42	16.8	
<b>ระยะเวลาครองเตียง</b>					0.026
< 7 วัน	59	47.2	149	59.6	
≥ 7 วัน	66	52.8	101	40.4	
<b>โรคป่วยร่วม</b>					0.320
ไม่มี	16	12.8	91	36.4	
มี	109	87.2	159	63.6	
<b>การมีภาวะแทรกซ้อน</b>					0.004
ไม่มี	28	22.4	117	46.8	
มี	97	77.6	133	53.2	

p- value จากการทดสอบ Chi-Square

## การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* วิเคราะห์ตัวแปรเชิงเดี่ยว

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ด้วยการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงเดี่ยวพบว่า การที่ผู้ป่วยได้รับยาในกลุ่ม carbapenems (OR crude = 2.0; 95% CI: 1.27-3.04), glycopeptides (OR crude = 3.6; 95% CI: 1.77-7.31), microlides (OR crude = 2.1; 95% CI: 0.95-4.71), phenicols (OR crude = 2.3; 95% CI: 1.99-5.38) และ quinolones (OR crude = 3.0; 95% CI: 1.19-19.78) ส่วนการได้รับยาในกลุ่มพบว่า เป็นปัจจัยเชิงป้องกัน aminoglycosides (OR crude = 0.4; 95% CI: 0.19-0.75) ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 2

## ความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* วิเคราะห์ตัวแปรเชิงพหุด้วยวิธีพหุถดถอยโลจิสติก

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงพหุด้วยวิธีพหุถดถอยโลจิสติก โดยปรับค่าด้วยเพศ อายุ ผลการวิเคราะห์พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม carbapenems (OR<sub>Adj.</sub> = 1.9; 95% CI: 1.25-2.98), glycopeptides (OR<sub>Adj.</sub> = 4.1; 95% CI: 1.98-8.45), phenicols (OR<sub>Adj.</sub> = 2.6; 95% CI: 1.09-6.10), และ quinolones (OR<sub>Adj.</sub> = 5.6; 95% CI: 1.89-16.65) เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อชนิดนี้ ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3

## อภิปรายผลการศึกษา

โรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* เป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุขทั่วโลก ผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดนี้จะส่งผลเกิดความยุ่งยากในการรักษาและมีความเสี่ยงสูงต่อการเสียชีวิตโดยเฉพาะถ้าเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อชนิดนี้มีหลายปัจจัยด้วยกัน โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับการทำหัตถการและการได้รับยาต้านจุลชีพบางขนาน ซึ่งการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาต้านจุลชีพต่อความเสี่ยงในการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* โดยผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพ

ในกลุ่ม carbapenems มีความเสี่ยง 1.9 เท่า glycopeptides 4.1 เท่า, phenicols 2.6 เท่า และ quinolones 5.6 เท่า เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อชนิดนี้ โดยการศึกษาในครั้งนี้มีทั้งความแตกต่างจากศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่า การได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม fluoroquinolones, trimethoprim/sulfamethoxazole, gentamicin, aminoglycoside, oxazolidinone, tetracycline, second และ fourth-generation cephalosporin<sup>(5,6)</sup> นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างจากการศึกษาที่สหรัฐอเมริกาพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาในกลุ่ม  $\beta$ -lactam มาก่อนโดยมีความเสี่ยง 28.1 เท่า และยา cefepime มีความเสี่ยง 22.7 เท่า<sup>(8)</sup> แตกต่างจากประเทศจีนที่พบว่าผู้ป่วยได้รับยาในกลุ่มต้านจุลชีพกลุ่ม cephalosporins, fluoroquinolones, macrolides และ aminoglycosides เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ<sup>(13,14)</sup> ส่วนการศึกษาที่ประเทศนอร์เวย์พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม fluoroquinolones มีความเสี่ยง 16.0 เท่า ส่วนยาในกลุ่ม  $\beta$ -lactams ยกเว้น mecillinam มีความเสี่ยง 5.0 เท่า<sup>(9)</sup> ที่ได้หวั่นพบว่าผู้ป่วยที่มีโรคร่วมและได้รับยาต้านจุลชีพ 2 ชนิดหรือมากกว่า 2 ชนิด มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ 3.71 เท่า<sup>(15)</sup> ที่ประเทศบราซิลพบว่าผู้ป่วยที่เคยได้รับยา piperacillin-tazobactam มีความเสี่ยง 6.2 ผู้ป่วยที่ได้รับยา oxymino-cephalosporins มีความเสี่ยง 3.7 เท่า<sup>(10)</sup> ประเทศเม็กซิโกพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาในกลุ่ม cephalosporins มาก่อนมีความเสี่ยง 7.6 เท่า<sup>(11)</sup> การศึกษาที่ประเทศเลบานอน พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพในระหว่าง 30 วัน มีความเสี่ยง 7.06 เท่า และผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม third-generation Cephalosporins มีความเสี่ยง 28.4 เท่า<sup>(17)</sup> และการศึกษาที่ประเทศนิวซีแลนด์พบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพในกลุ่ม carbapenems เป็นปัจจัยเชิงป้องกัน<sup>(18)</sup> ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้

**ตารางที่ 2** แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการใช้จ่ายด้านจุลชีพต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ด้วยการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงเดียว

ตัวแปร	กลุ่มศึกษา		กลุ่มควบคุม		Crude OR	95% CI	p-value
	จำนวน (n=125)	ร้อยละ (%)	จำนวน (n=250)	ร้อยละ (%)			
<b>เพศ</b>							0.881
ชาย	62	49.6	139	55.6	1		
หญิง	63	50.4	111	44.4	1.27	0.58-1.87	
<b>อายุ</b>							0.303
≤60	88	50.8	113	55.9	1		
>60	85	49.2	89	44.1	1.22	0.35-4.49	
<b>Penicillins</b>							
ไม่ใช้	102	81.6	210	84.0	1		
ใช้	23	18.4	40	16.0	1.2	0.67-2.08	0.558
<b>1<sup>st</sup> cephalosporins</b>							
ไม่ใช้	107	85.6	210	84.0	1		
ใช้	18	14.4	40	16.0	0.8	0.48-1.61	0.686
<b>2<sup>nd</sup> cephalosporins</b>							
ไม่ใช้	110	88.0	233	89.2	1		
ใช้	15	12.0	27	10.8	1.2	0.56-2.20	0.728
<b>3<sup>rd</sup> cephalosporin</b>							
ไม่ใช้	39	31.2	86	34.4	1		
ใช้	86	68.8	164	65.6	1.6	0.73-1.83	0.536
<b>4<sup>th</sup> cephalosporins</b>							
ไม่ใช้	112	89.6	233	93.2	1		
ใช้	13	10.4	17	6.8	1.7	0.75-3.38	0.229
<b>Carbapenems</b>							
ไม่ใช้	61	48.8	163	65.2	1		
ใช้	64	51.2	87	34.8	2.0	1.27-3.04	0.002

OR = Odd Ratio; 95% CI= 95% confident interval; p-value จาก simple logistic regression analysis.

ตารางที่ 2 แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการใช้อยาต้านจุลชีพต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ด้วยการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงเดียว (ต่อ)

ตัวแปร	กลุ่มศึกษา		กลุ่มควบคุม		Crude OR	95% CI	p-value
	จำนวน (n=125)	ร้อยละ (%)	จำนวน (n=250)	ร้อยละ (%)			
<b>Microlides</b>							
ไม่ใช้	112	89.6	237	94.8	1		
ใช้	13	10.4	13	5.2	2.1	0.95-4.71	0.067
<b>Licosamides</b>							
ไม่ใช้	107	85.6	224	89.6	1		
ใช้	18	14.4	26	10.4	1.4	0.76-2.75	0.258
<b>Phenicols</b>							
ไม่ใช้	112	89.6	239	95.6	1		
ใช้	13	10.4	11	4.4	2.3	0.99-5.38	0.003
<b>Quinolones</b>							
ไม่ใช้	114	91.2	199	79.6	1		
ใช้	11	8.8	51	20.4	3.0	1.19-89.78	0.034
<b>Sulfamethoxazole /Trimethoprim</b>							
ไม่ใช้	106	84.8	212	84.8	1		
ใช้	19	15.2	38	15.2	1.0	0.55- 1.81	1.000
<b>Tetracyclines</b>							
ไม่ใช้	110	88.0	228	91.2	1		
ใช้	15	12.0	22	8.8	1.4	0.71- 2.83	0.329
<b>Glycopeptides</b>							
ไม่ใช้	103	82.4	236	94.4	1		
ใช้	22	17.6	14	5.6	3.6	1.77-7.31	<0.001
<b>Aminoglycosides</b>							
ไม่ใช้	108	86.4	209	83.6	1		
ใช้	17	13.6	41	16.4	0.4	0.19- 0.75	0.006

OR = Odd Ratio; 95% CI= 95% confident interval; p-value จาก simple logistic regression analysis.

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการใช้อยาต้านจุลชีพต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ด้วยการวิเคราะห์ตัวแปรเชิงพหุ

ตัวแปร	กลุ่มศึกษา		กลุ่มควบคุม		OR <sub>C</sub>	OR <sub>Adj.</sub>	95% CI	p-value
	จำนวน (n=125)	ร้อยละ (%)	จำนวน (n=250)	ร้อยละ (%)				
Microlides								
ไม่ใช่	112	89.6	237	94.8	1	1		
ใช่	13	10.4	13	5.2	2.1	2.2	0.95-4.91	0.064
Carbapenems								
ไม่ใช่	61	48.8	163	65.2	1	1		
ใช่	64	51.2	87	34.8	2.0	1.9	1.25-2.98	0.001
Glycopeptids								
ไม่ใช่	103	82.4	236	94.4	1	1		
ใช่	22	17.6	14	5.6	3.6	4.1	1.98-8.45	<0.001
Phenicol								
ไม่ใช่	112	89.6	239	95.6	1	1		
ใช่	13	10.4	11	4.4	2.3	2.6	1.09-6.10	0.033
Quinolones								
ไม่ใช่	114	91.2	199	79.6	1	1		
ใช่	11	8.8	51	20.4	3.0	5.6	1.89-16.65	0.002

OR<sub>C</sub>: Crude Odds Ratio; OR<sub>A</sub>: Adjusted Odds Ratio ปรับค่าด้วย เพศ และ อายุ; 95% CI: 95% Confident interval; p-value จาก multiple logistic regression analysis.

จากที่กล่าวมาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* ด้านการใช้ยาต้านจุลชีพของเชื้อชนิดนี้มีความหลากหลาย โดยการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าส่วนใหญ่มีความแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาในหลายประเทศ โดยเฉพาะการใช้ยาต้านจุลชีพในกลุ่ม glycopeptides, phenicols และ quinolones ที่พบว่าเป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ของการติดเชื้อชนิดนี้ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากปัจจัยหลายอย่างทั้งปัจจัยภายในผู้ป่วยเองและอาจจะเป็นปัจจัยภายนอกที่ส่งผลให้เกิดการติดเชื้อดื้อยาชนิดดังกล่าว สำหรับจุดอ่อนในของการศึกษาในครั้งนี้คือขนาดตัวอย่างมีจำนวนน้อยและโรควินิจฉัยหลักของกลุ่มตัวอย่างมีความหลากหลาย อีกทั้งผู้ป่วยบางรายมีภาวะแทรกซ้อนหลายชนิดซึ่งเหตุผลเหล่านี้ อาจจะทำให้การวิเคราะห์ข้อมูลมีความคลาดเคลื่อน เพื่อยืนยันการศึกษาที่ได้ในครั้งนี้จึงควรที่จะศึกษาในผู้ป่วยที่มีโรควินิจฉัยหลักชนิดเดียวกันหรือคล้ายคลึงกัน อยู่หอผู้ป่วยเดียวกัน และมีจำนวนขนาดตัวอย่างที่มากกว่านี้ สำหรับจุดแข็งของงานวิจัยครั้งนี้ผู้ป่วยทุกรายมีผลการตรวจเพาะเชื้อจากห้องปฏิบัติการยืนยันทุกราย และสามารถสืบค้นข้อมูลการศึกษาจากเวชระเบียนได้ทุกรายทั้งกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม

### สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพในกลุ่ม carbapenems, glycopeptides, phenicols และ quinolones เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ ESBL-producing *K. pneumoniae* เพื่อเป็นการยืนยันผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงต้องการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มีความแตกต่างและมีขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่ใหญ่กว่า

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลร้อยเอ็ด ที่ให้การสนับสนุนข้อมูลผลการตรวจเพาะเชื้อและขอขอบพระคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาลร้อยเอ็ด ที่อนุญาตให้คณะผู้วิจัยดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลจนทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

1. Buys H, Muloiwa R, Bamford C, Eley B. *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections at a South African children's hospital 2006-2011, a cross-sectional study. BMC Infect Dis 2016; 17;16:570.
2. Adler A, Sturlesi N 'ama, Fallach N, Zilberman-Barzilai D, Hussein O, Blum SE, et al. Prevalence, Risk Factors, and Transmission Dynamics of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: a National Survey of Cattle Farms in Israel in 2013. J Clin Microbiol 2015;53:3515-21.
3. Haller S, Eller C, Hermes J, Kaase M, Steglich M, Radoni A, et al. What caused the outbreak of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit, Germany 2009 to 2012 reconstructing transmission with epidemiological analysis and whole-genome sequencing. BMJ Open 2015 11;5:e007397.
4. Kung C-H, Ku W-W, Lee C-H, Fung C-P, Kuo S-C, Chen T-L, et al. Epidemiology and risk factors of community-onset urinary tract infection caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in a medical center in Taiwan: a prospective cohort study. J Microbiol Immunol Infect 2015;48:168-74.

5. Espinar MJ, Miranda IM, Costa-de-Oliveira S, Rocha R, Rodrigues AG, Pina-Vaz C. Urinary Tract Infections in Kidney Transplant Patients Due to *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*-Producing Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: Risk Factors and Molecular Epidemiology. PloS One 2015;10:e0134737.
6. Nakai H, Hagihara M, Kato H, Hirai J, Nishiyama N, Koizumi Y, et al. Prevalence and risk factors of infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae. J Infect Chemother 2016 ;22:319–26.
7. Kritsotakis EI, Tsioutis C, Roubelaki M, Christidou A, Gikas A. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case-control study. J Antimicrob Chemother 2011 ;66:1383–91.
8. Chopra T, Marchaim D, Johnson PC, Chalana IK, Tamam Z, Mohammed M, et al. Risk factors for bloodstream infection caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: A focus on antimicrobials including cefepime. Am J Infect Control 2015 ;43:719–23.
9. Søråas A, Sundsfjord A, Sandven I, Brunborg C, Jenum PA. Risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing enterobacteriaceae a case-control study in a low prevalence country. PloS One 2013;8:e69581.
10. Superti SV, Augusti G, Zavascki AP. Risk factors for and mortality of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. Rev Inst Med 2009; 51:211–6.
11. Mosqueda-Gómez JL, Montañó-Loza A, Rolón AL, Cervantes C, Bobadilla-del-Valle JM, Silva-Sánchez J, et al. Molecular epidemiology and risk factors of bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* A case-control study. Int J Infect s 2008;12:653–9.
12. Schlesselman JJ. Sample size calculation match Case-Control Studies. New York: Oxford University Press; 1982.
13. Quan J, Zhao D, Liu L, Chen Y, Zhou J, Jiang Y, et al. High prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in community-onset bloodstream infections in China. J Antimicrob Chemother 2017;72:273–80.
14. Li D, Chen Y, Zhang W, Zheng S, Zhang Q, Bai C, et al. Risk factors for hospital-acquired bloodstream infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase *Klebsiella pneumoniae* among cancer patients. Ir J Med Sci 2014 ; 183:463–9.
15. Lin H-C, Lai L-A, Wu J-Y, Su Y-M, Chang S-P, Hsueh Y-M. Risk factors for acquiring extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in geriatric patients with multiple comorbidities in respiratory care wards. Geriatr Gerontol Int 2013 ;13:663–71.
16. Kritsotakis EI, Tsioutis C, Roubelaki M, Christidou A, Gikas A. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case-control study. J Antimicrob Chemother 2011 ;66:1383–91.

17. Kanafani ZA, Mehio-Sibai A, Araj GF, Kanaan M, Kanj SS. Epidemiology and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms: a case control study at a tertiary care center in Lebanon. *Am J Infect Control* 2005;33:326–32.
18. Freeman JT, Nimmo J, Gregory E, Tiong A, De Almeida M, McAuliffe GN, et al. Predictors of hospital surface contamination with Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: patient and organism factors. *Antimicrob Resist Infect Control* 2014 4;3:5.



## การเปรียบเทียบความสามารถทางกายระหว่างผู้สูงอายุที่กลัวและไม่กลัวการล้ม

จิราภรณ์ วรรณปะเช<sup>1\*</sup>, ปฎิเวธ คงไพจิตรวงศ์<sup>2</sup>, สิริพร ล้อมสมบุรณ์<sup>2</sup>, อภิญา ทองประสา<sup>2</sup>

Received: November 27, 2017

Revised: February 02, 2018

Accepted: February 13, 2018

### บทคัดย่อ

การกลัวการล้มในผู้สูงอายุ เป็นอาการที่กระทบทางด้านจิตใจ ทำให้ผู้สูงอายุเกิดความไม่มั่นใจในการทำกิจวัตรประจำวันและการเคลื่อนไหว ส่งผลให้เกิดการจำกัดการเคลื่อนไหวและการทำกิจวัตรประจำวันต่างๆ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการวิจัยส่วนใหญ่ทำการศึกษาในประเทศที่พัฒนาแล้วซึ่งสภาพแวดล้อมเอื้อต่อการกระตุ้นให้ผู้สูงอายุเคลื่อนไหว ซึ่งแตกต่างจากประเทศไทยที่สภาพแวดล้อมเป็นอันตรายไม่ค่อยเอื้อกับการเคลื่อนไหว ดังนั้น การศึกษานี้จึงต้องการศึกษาความแตกต่างของระดับความสามารถทางกายระหว่างผู้สูงอายุที่กลัว และไม่กลัวการล้ม โดยทำการศึกษาในผู้สูงอายุ 140 คนที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป และไม่ใช้เครื่องช่วยเดินขณะทำการทดสอบ ทำการแบ่งอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่กลัวการล้ม (61 คน) และกลุ่มที่ไม่กลัวการล้ม (79 คน) โดยใช้แบบประเมิน Falls Efficacy Scale-International (Thai FES-I) ประเมินการกลัวการล้มและจัดกลุ่มอาสาสมัคร จากนั้นทำการประเมินความสามารถทางกาย 3 ด้าน ได้แก่ การเดิน ใช้การทดสอบ 10 Meter Walk Test (10MWT) การทรงตัว ใช้การทดสอบ Berg Balance Scale (BBS) และกำลังกล้ามเนื้อของขา ใช้การทดสอบ Five-Times-Sit-to-Stand Test (FTSST) ผลศึกษาพบว่า อาสาสมัครกลุ่มผู้สูงอายุที่ไม่กลัวการล้ม มีความสามารถทางกายที่ดีกว่ากลุ่มผู้สูงอายุที่กลัวการล้ม โดยพบความแตกต่างของความสามารถในการเดิน ทั้งความเร็วปกติ และความเร็วสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างของความสามารถในการทรงตัว และกำลังกล้ามเนื้อของขา จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า ความสามารถในการเดินในผู้สูงอายุที่กลัวการล้ม มีระดับที่น้อยกว่าผู้สูงอายุที่ไม่กลัวการล้ม ซึ่งเป็นผลจากการกลัวการล้ม ดังนั้น บุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้อง ควรตระหนักถึงการกลัวการล้มในผู้สูงอายุ และหาแนวทางลดการกลัวการล้ม และความเสี่ยงในการล้มของผู้สูงอายุต่อไป

**คำสำคัญ:** ผู้สูงอายุ, ความเร็วในการเดิน, การทรงตัว, ความแข็งแรงกล้ามเนื้อของขา, การกลัวการล้ม

<sup>1</sup>สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

<sup>2</sup>นิสิตสาขาวิชากายภาพบำบัด คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

\* ผู้รับผิดชอบบทความ



## Comparison of physical abilities in elderly with and without fear of fall

Jirabhorn Wannapakhe<sup>1\*</sup>, Patiweth Kongpijitwong<sup>2</sup>, Siriporn Lomsomboon<sup>2</sup>, Apinya Thongprasart<sup>2</sup>

### Abstract

Fear of falling (FOF) in the elderly affects the psyche. They are not confident of their daily activities and movements that limit their activities. Previous studies are conducted in developed countries where the environment is conducive to stimulate elderly. In contrast, Thailand environment is not friendly to elderly movement. Thus, this study was to compare the physical abilities between elderly who had and had not FOF. The study was conducted in 140 elderly subjects who were aged more than 60 years and did not use devices during the test. The subjects were divided into 2 groups by the Falls Efficacy Scale-International (FES-I), included FOF (n=61) and Non-FOF (n=79). Physical abilities were a gait, balance, and muscle strength of lower limb. Gait performance assessed using the 10 Meter Walk Test (10MWT), balance performance assessed using the Berg Balance Scale (BBS) and muscle strength of lower limb assessed using the Five-Times-Sit-to-Test-Stand Test (FTSST). The result found that Non-FOF had a better gait performance than FOF especially, ( $p < 0.05$ ). However, the results show that there was no statistical significance of balance and muscle strength of lower limb. Therefore, the rehabilitation professional is aware about fear of falling in the elderly and should find the strategy to reduce fear of falling and risk of falling in the elderly.

**Keywords:** Aging, Walking speed, Balance, Lower limb strengthening, Fear of falling

---

<sup>1</sup>Division of Physical Therapy, Faculty of Physical Therapy, Srinakharinwirot University

<sup>2</sup> Physical Therapy student, Faculty of Physical Therapy, Srinakharinwirot University

\* Corresponding author: (e-mail: jirabhorn@g.swu.ac.th)

## บทนำ

จากข้อมูลสถิติสำมะโนประชากรและเคหะสำนักงานสถิติแห่งชาติ ปี 2553 พบว่า สัดส่วนและจำนวนประชากรผู้สูงอายุมีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้นทำให้ในอนาคตประเทศไทยกำลังเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ<sup>(1)</sup> เมื่อเข้าสู่วัยผู้สูงอายุการทำงานของระบบต่างๆ ลดลง เช่น ระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ ระบบประสาท และระบบการมองเห็น ทำให้สมรรถภาพทางกายของผู้สูงอายุลดลงส่งผลให้เกิดปัจจัยเสี่ยงต่างๆ เช่น ภาวะกระดูกพรุน โรคข้อเสื่อม ภาวะโรคระบบหลอดเลือดและสมอง ภาวะทางระบบหัวใจและปอด นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อความสามารถในการทำงานและกิจวัตรประจำวันของผู้สูงอายุที่ลดลงทำให้ผู้สูงอายุเสี่ยงต่อการล้ม เกิดการก้ำกักรล้มและทำให้ผู้สูงอายุเคลื่อนไหวน้อยลง เกิดเป็นวัฏจักรเช่นนี้ต่อไป<sup>(2-5)</sup>

การก้ำกักรล้มหมายถึงการขาดความมั่นใจในการรักษาการทรงท่าขณะทำกิจวัตรประจำวัน<sup>(6)</sup> โดยอุบัติการณ์การก้ำกักรล้มในผู้สูงอายุที่มีประวัติการล้มอยู่ในช่วงร้อยละ 21 ถึงร้อยละ 85 และในผู้สูงอายุที่ไม่มีประวัติการล้มอยู่ในช่วงร้อยละ 33 ถึงร้อยละ 46 ซึ่งอุบัติการณ์การล้มในผู้สูงอายุนี้จะเพิ่มมากขึ้นในเพศหญิง และผู้ที่มีปัญหาด้านการควบคุมการทรงตัว<sup>(7)</sup> จากการศึกษาของ Martin และคณะในปี ค.ศ. 2005 พบว่า การก้ำกักรล้มทำให้เกิดความไม่มั่นใจในการทำกิจวัตรประจำวันและการเคลื่อนไหวของผู้สูงอายุ ส่งผลให้เกิดการจำกัดการเคลื่อนไหวและการทำกิจวัตรประจำวันต่างๆ<sup>(2)</sup> Yardley และคณะในปี ค.ศ. 2002 รายงานว่า ผู้สูงอายุที่ก้ำกักรล้มจะมีระดับการทำกิจวัตรประจำวันที่ลดลง ส่งผลให้เกิดการเสื่อมของความสามารถทางกายและเกิดภาวะแทรกซ้อนตามมา<sup>(3)</sup> นอกจากนี้ Chamberlin ในปี ค.ศ. 2005 ได้รายงานว่าการก้ำกักรล้มจะทำให้ความเร็วในการก้าวเดินของผู้สูงอายุลดลง มีการก้าวช้าและสั้นลง ซึ่งส่งผลให้ความมั่นคงของศีรษะลดลง ลำตัวโอนเอน สูญเสียการทรงตัวและเกิดการล้มได้ง่าย<sup>(4)</sup> จะเห็นได้ว่าการก้ำกักรล้มส่งผลกระทบต่อความสามารถด้านการทรงตัวในผู้สูงอายุ ทำให้ความสามารถในการเดินลดลงด้วย จากการศึกษาของ Park และคณะในปี ค.ศ. 2014 รายงานว่าการก้ำกักรล้มสัมพันธ์ความสามารถทางกายโดยการทดสอบ Time Up

and Go Test (TUGT:  $r=0.33$ ;  $p<0.001$ ) และสัมพันธ์กับผู้สูงอายุที่มีประวัติการล้ม<sup>(8)</sup> อย่างไรก็ตามในประเทศไทย ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการก้ำกักรล้ม และความสามารถด้านการเดินและการเคลื่อนไหวในผู้สูงอายุ โดยได้รายงานแค่เพียงว่า ผู้สูงอายุที่ก้ำกักรล้มมีโอกาสเสี่ยงที่จะเกิดการล้มมากกว่าผู้สูงอายุที่ไม่ก้ำกักรล้มสูงถึง 3.73 เท่า<sup>(9)</sup>

จากการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นพบว่า การก้ำกักรล้มในผู้สูงอายุจะทำให้เกิดความไม่มั่นใจในการเคลื่อนไหว ทำให้ระดับการทำกิจกรรมลดลง เกิดการจำกัดการเคลื่อนไหว ซึ่งส่งผลให้ผู้สูงอายุมีความสามารถทางกายลดลง ทิวาพร ทวีวรรณกิจ และคณะ ในปี พ.ศ. 2553 รายงานว่า ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำกิจวัตรประจำวันในผู้สูงอายุคือ การเสื่อมลงของการควบคุมการทรงตัว ความสามารถในการเดิน และกำลังกล้ามเนื้อขา<sup>(10)</sup> ซึ่งความเสื่อมลงของความสามารถทางกายทั้งสามด้านนี้จะส่งผลให้ผู้สูงอายุมีความเสี่ยงต่อการล้มสูง และเมื่อผู้สูงอายุล้ม ก็จะส่งผลกระทบต่อการก้ำกักรล้มตามมา จึงเป็นที่น่าสนใจว่า ความสามารถทางกายทั้งสามด้านนี้ในผู้สูงอายุมีความแตกต่างกันอย่างไรระหว่างผู้สูงอายุที่ก้ำกักรล้มและไม่ก้ำกักรล้ม อย่างไรก็ตาม จากการอ่านบททวนวรรณกรรมที่ผ่านมาพบว่าการวิจัยส่วนใหญ่เกี่ยวกับการก้ำกักรล้มในผู้สูงอายุมักทำในประเทศที่พัฒนาแล้ว ซึ่งสภาพแวดล้อมในประเทศที่พัฒนาแล้วจะเอื้อต่อการกระตุ้นให้ผู้สูงอายุเคลื่อนไหว ซึ่งแตกต่างจากประเทศไทยที่สภาพแวดล้อมเป็นอันตรายไม่ค่อยเอื้อกับการเคลื่อนไหว ทำให้ผู้สูงอายุไม่มีความไม่มั่นใจในการเคลื่อนไหวและเกิดการจำกัดการเคลื่อนไหวส่งผลต่อการจำกัดกิจวัตรประจำวันของผู้สูงอายุ โดยงานวิจัยในประเทศไทยที่ศึกษาเกี่ยวกับการก้ำกักรล้มในผู้สูงอายุมักศึกษาเพียงการก้ำกักรล้มเป็นปัจจัยเสี่ยงอย่างหนึ่งที่ทำให้ผู้สูงอายุล้มเท่านั้น ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาระดับความสามารถทางกายทั้งสามด้านข้างต้นระหว่างผู้สูงอายุที่ก้ำกักรล้มและไม่ก้ำกักรล้ม มีความแตกต่างกันหรือไม่ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาโปรแกรมการฝึกความสามารถทางกายและเพิ่มความมั่นใจในการทำกิจวัตรประจำวันในผู้สูงอายุต่อไป

## วัตถุประสงค์และวิธีการ

### 1. กลุ่มประชากรที่จะศึกษา

การศึกษานี้ทำการศึกษาในผู้สูงอายุที่อาศัยในชุมชน เขตอำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก อายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป จำนวน 142 คน โดยการศึกษาที่ใช้สูตรในการคำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างประชากร 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน<sup>(11)</sup> ใช้ข้อมูลอ้างอิงจากงานวิจัย Fear of Falling in New Long-Term Care Enrollees<sup>(12)</sup> โดยคำนวณจากค่า Berg balance scale พบว่าค่า BBS ของผู้สูงอายุที่กลัวการล้มมีค่าเฉลี่ย 18.8 และค่า SD 13.4 และค่า BBS ของผู้สูงอายุที่ไม่กลัวการล้มมีค่าเฉลี่ย 24.7 นำมาแทนค่าในสูตร ได้ค่าอาสาสมัครต่อกลุ่ม 63.94 คน และคำนวณ 10% drop out เท่ากับ 6.4 คน ดังนั้นการศึกษานี้ จึงกำหนดอาสาสมัครกลุ่มละ 57 – 72 คน ต่อกลุ่ม

นอกจากนี้ อาสาสมัครที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นอาสาสมัครผู้สูงอายุที่สามารถควบคุมโรคประจำตัว เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง ได้ ไม่มีปัญหาทางการสื่อสาร ไม่มีภาวะ หรือประวัติการเป็นโรคทางระบบประสาทและหลอดเลือดสมอง ไม่มีประวัติการผ่าตัดเปลี่ยนข้อสะโพก ข้อเข่า หรือข้อเท้าและคัดอาสาสมัครออกเมื่อมีอาการปวดที่ข้อสะโพก ข้อเข่า หรือ ข้อเท้า ซึ่ง pain scale มากกว่าหรือเท่ากับ 5 คะแนน จากคะแนนเต็ม 10 คะแนน จนไม่สามารถทำการทดสอบได้ มีอาการเหนื่อยมากโดยที่มีคะแนน Modified Borg Dyspnea Scale มากกว่า 3 (เหนื่อยปานกลาง) ขณะนั่งเฉยๆ หรือไม่ทำกิจกรรม แพทย์เคยได้ให้คำแนะนำไม่ให้ออกกำลังกาย หรือ ขณะออกกำลังกายแล้วมีอาการเจ็บแน่นหน้าอกและผู้ที่ใช้อุปกรณ์ช่วยเดินขณะทำการทดสอบ หรือทำวิจัย ทั้งนี้มีอาสาสมัครถูกคัดออกจากการศึกษาจำนวน 2 คน เนื่องจากอาสาสมัครจำเป็นต้องเดินด้วยเครื่องช่วยเดิน ดังนั้น การศึกษานี้จึงได้คัดเลือกอาสาสมัครทั้งสิ้น 140 คน และอาสาสมัครทุกคนต้องอ่านและลงนามยินยอมเข้าร่วมการศึกษา ซึ่งอนุมัติโดยคณะกรรมการด้านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะกายภาพบำบัด (เดิมคือคณะสหเวชศาสตร์) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (HSPT 2015)

### 2. ขั้นตอนการศึกษา

อาสาสมัครที่ลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาแล้วจะถูกสัมภาษณ์ข้อมูลทั่วไป ประกอบด้วย อายุ เพศ น้ำหนัก ส่วนสูง โรคประจำตัว ระดับอาการปวด ประวัติการล้มในรอบ 1 ปีก่อนเข้าร่วมการศึกษา และการกลัวการล้ม โดยใช้แบบประเมิน Fall Efficacy Scale-International (FES-I) ฉบับภาษาไทย<sup>(13)</sup> ซึ่งใช้ในการแบ่งอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่กลัวการล้ม (คะแนน FES-I มากกว่า 23 คะแนน) และกลุ่มที่ไม่กลัวการล้ม (คะแนน FES-I น้อยกว่าหรือเท่ากับ 23 คะแนน)<sup>(13)</sup> หลังจากนั้นอาสาสมัครถูกสุ่มเลือกลำดับการทดสอบความสามารถทางกาย โดยใช้วิธีการสุ่มแบบ factorial experiment ซึ่งความสามารถทางกายที่ทำการทดสอบคือความสามารถในการทรงตัว โดยใช้ Berg Balance Scale (BBS) การเดิน โดยใช้ 10 Meter Walk Test (10MWT) และกำลังกล้ามเนื้อของระยางค์ส่วนล่าง โดยใช้ Five Time Sit-to-Stand Test (FTSST) แบ่งออกเป็น 3 ฐาน และมีช่วงพักระหว่างฐาน ฐานละ 2 นาที หรือจนกว่าอาสาสมัครจะหายเหนื่อย

#### ฐานการเก็บข้อมูลทั้ง 3 ฐาน ประกอบด้วย

##### ฐานที่ 1 การทดสอบความสามารถในการเดิน

การทดสอบความสามารถในการเดิน โดยใช้การทดสอบ 10MWT คือให้อาสาสมัครเดินด้วยความเร็วปกติ (preferred gait speed) และความเร็วสูงสุด (fastest gait speed) ระยะทาง 14 เมตร และผู้วิจัยจับเวลาที่อาสาสมัครใช้ในการเดินในระยะทาง 10 เมตรตรงกลาง ทำการทดสอบซ้ำความเร็วละ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย นำค่าเฉลี่ยเวลาที่ได้มาคำนวณเป็นความเร็วที่ใช้ในการเดิน เท่ากับระยะทาง 10 เมตรตรงกลางหารด้วยเวลาที่อาสาสมัครใช้ในการเดิน<sup>(14-15)</sup>

##### ฐานที่ 2 การทดสอบความสามารถในการทรงตัว

การทดสอบความสามารถในการทรงตัว โดยใช้แบบประเมิน BBS ทำการประเมินกิจกรรมในท่านั่งและยืนทั้งหมด 14 กิจกรรม แต่ละกิจกรรมมีระดับการให้คะแนนตั้งแต่ 0 ถึง 4 คะแนน ตามความสามารถของอาสาสมัคร

ระดับการต้องการความช่วยเหลือ และระยะเวลาที่ใช้ในการทำกิจกรรม คะแนนรวมตั้งแต่ 0-56 คะแนน<sup>(16)</sup>

### ฐานที่ 3 การทดสอบกำลังกล้ามเนื้อของขา

การทดสอบความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขาโดยใช้ FTSSST ซึ่งให้อาสาสมัครนั่งบนเก้าอี้ไม่มีที่พักแขนที่มีความสูงเหมาะสมโดยพิจารณาจากลักษณะการนั่งของอาสาสมัคร คือเมื่ออาสาสมัครนั่งหลังตรง และวางส้นเท้าอยู่หลังต่อข้อเข่าประมาณ 10 เซนติเมตร ข้อสะโพกต้องอยู่ในลักษณะงอประมาณ 90 องศา มีกอดอกจากนั้นให้อาสาสมัครลุกยืนให้เร็วที่สุดและปลอดภัย 5 ครั้งต่อเนื่องกัน เริ่มจับเวลาเมื่อผู้ประเมินบอก “เริ่ม” และหยุดเวลาเมื่ออาสาสมัครกลับนั่งลงในครั้งที่ห้าหลังชิดพนักพิง บันทึกเวลาที่อาสาสมัครทำได้เป็นวินาที ทำการทดสอบ 3 ครั้ง และนำค่าเฉลี่ยมาวิเคราะห์ข้อมูล<sup>(17)</sup>

### 3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การศึกษานี้ใช้สถิติ Descriptive analysis วิเคราะห์ ข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร ใช้สถิติ Kolmogorov-smirnov test เพื่อดูการกระจายตัวของข้อมูล พบว่า ข้อมูล 10MWT ทั้ง preferred และ fastest gait speed มีการกระจายตัวปกติจึงใช้สถิติ Independent T-Test ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของความสามารถทางกายระหว่างกลุ่มผู้สูงอายุที่ก้ว และไม่ก้วการล้ม และข้อมูล BBS และ FTSSST มีการกระจายตัวไม่ปกติจึงใช้สถิติ Mann-Whitney U Test เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของความสามารถทางกายระหว่างกลุ่มผู้สูงอายุที่ก้ว และไม่ก้วการล้ม กำหนดระดับนัยสำคัญที่  $p < 0.05$

## ผลการศึกษา

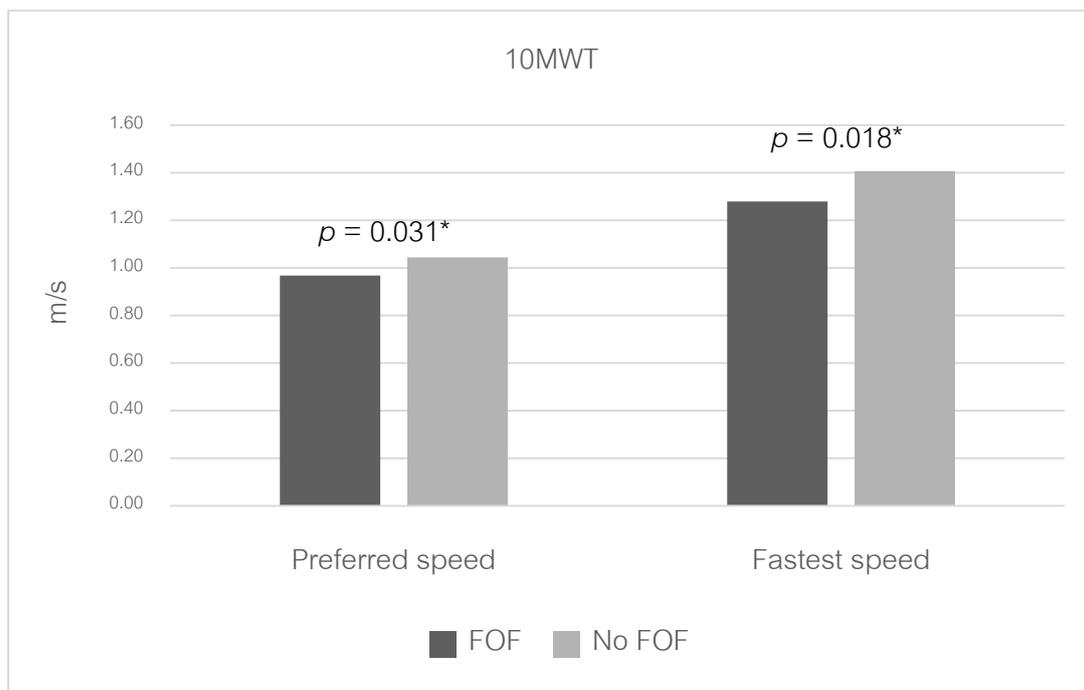
อาสาสมัครผู้สูงอายุไทยอายุระหว่าง 60 ปีขึ้นไป ที่อาศัยในชุมชนเขตอำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก จำนวน 140 คน แบ่งเป็นผู้สูงอายุที่ก้วการล้ม 61 คน (FES-I =  $33.95 \pm 9.46$  คะแนน) และไม่ก้วการล้ม 79 คน (FES-I =  $18.25 \pm 2.99$ ) โดยมีอุบัติการณ์การล้มในรอบ 1 ปีก่อนเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 33 คน (ร้อยละ 24) จากอาสาสมัครทั้งหมด 140 คน แบ่งเป็น อาสาสมัครที่ก้วการล้ม 19 คน (ร้อยละ 31) และ อาสาสมัครที่ไม่ก้วการล้ม 14 คน (ร้อยละ 18) (ตารางที่ 1)

### ความสามารถทางกายระหว่างผู้สูงอายุที่ก้วและไม่ก้วการล้ม

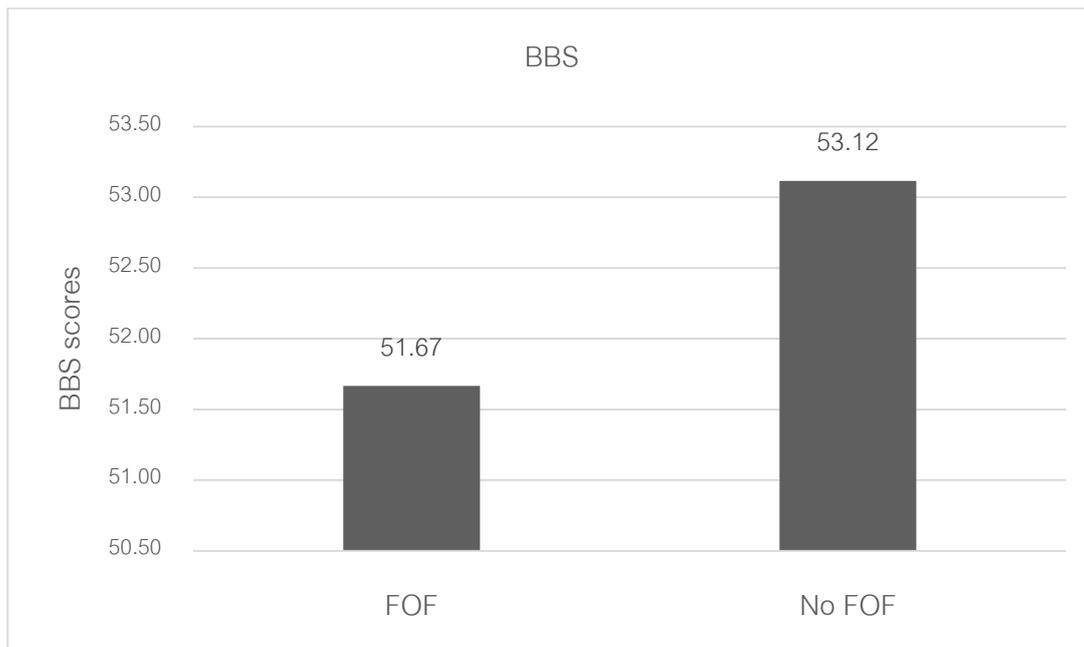
ตารางที่ 1 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร พบว่า อาสาสมัครกลุ่มผู้สูงอายุที่ไม่ก้วการล้มมีความสามารถทางกายที่ดีกว่ากลุ่มผู้สูงอายุที่ก้วการล้ม โดยพบความแตกต่างของความสามารถในการเดิน ทั้งความเร็วปกติ และความเร็วสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 1) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ ความสามารถในการทรงตัว และ กำลังกล้ามเนื้อของขา (รูปที่ 2 และ 3) อีกทั้งยังพบว่ากลุ่มผู้สูงอายุที่ก้วการล้ม ใช้เวลาในการทดสอบ FTSSST น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ก้วการล้มอีกด้วย (รูปที่ 3)

**ตารางที่ 1** ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร

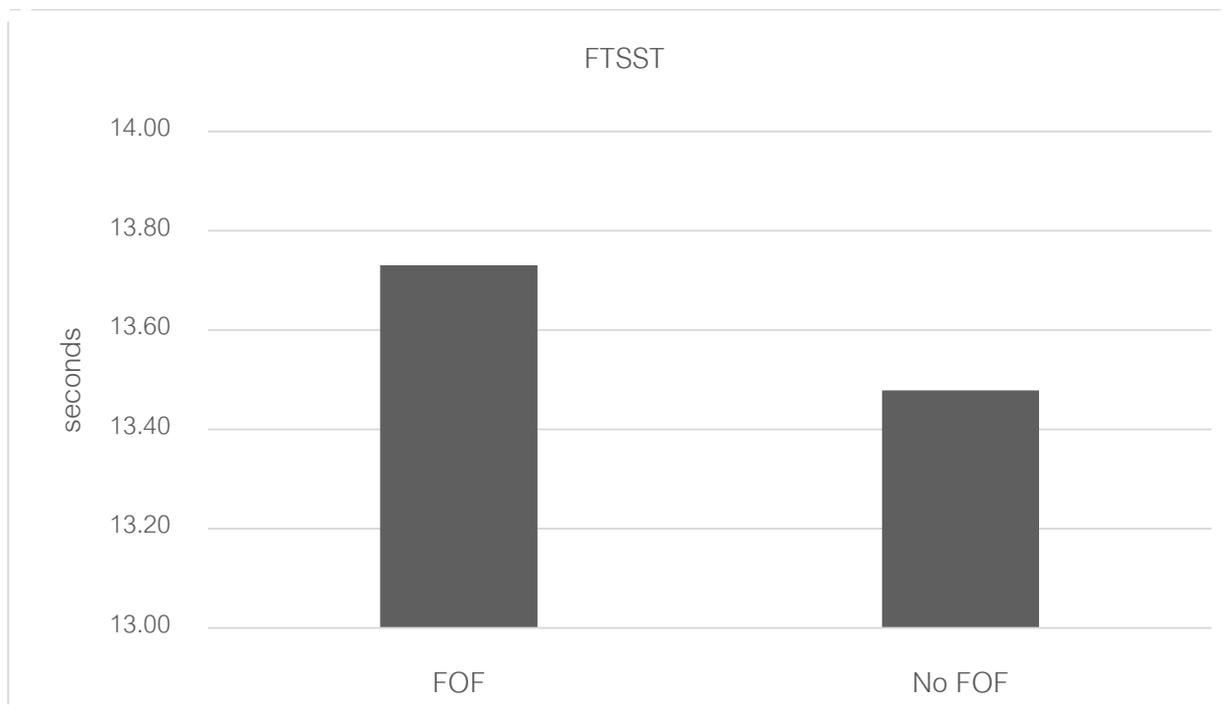
Variables	Elderly with fear of fall (n=61)	Elderly without fear of fall (n=79)
Gender : female : n (%)	37 (61%)	39 (49%)
Age : mean±sd (years)	68.84±6.23	69.68±6.88
FES-I : mean±sd (scores)	33.95±9.46	18.25±2.99
History of fall : yes (%)	19 (31%)	14 (18%)
10 Meter walk test: Preferred gait speed mean±sd (m/s)	0.97±0.19	1.04±0.21
Fastest gait speed	1.28±0.29	1.41±0.34
Berg Balance Scale : mean±sd (scores)	51.67±5.28	53.14±2.97
Five time sit to stand : mean±sd (seconds)	13.73±5.22	13.48±4.28



**รูปที่ 1** ความสามารถในการเดินระหว่างผู้สูงอายุที่กลัวและไม่กลัวการล้ม  
 FOF: Elderly with fear of fall  
 No FOF: Elderly without fear of fall



**รูปที่ 2** ความสามารถในการทรงตัวระหว่างผู้สูงอายุที่กลัวและไม่กลัวการล้ม ( $p=0.211$ )  
 FOF: Elderly with fear of fall  
 No FOF: Elderly without fear of fall



**รูปที่ 3** กำลังกล้ามเนื้อของขาระหว่างผู้สูงอายุที่กลัวและไม่กลัวการล้ม ( $p=0.674$ )  
 FOF: Elderly with fear of fall  
 No FOF: Elderly without fear of fall

## วิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบความสามารถทางกายระหว่างผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วและไม่ก้ำกั้วการล้ม ผลการศึกษาพบว่า ผู้สูงอายุกลุ่มที่ไม่ก้ำกั้วการล้มมีความสามารถดีกว่ากลุ่มผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วการล้ม โดยเฉพาะความสามารถในการเดิน ยกเว้น กำลังกล้ามเนื้อของขา พบว่าผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วการล้ม ใช้เวลาในการทดสอบ FTSST น้อยกว่าผู้สูงอายุที่ไม่ก้ำกั้วการล้ม

จากการศึกษาที่ผ่านมา รายงานว่า ผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วการล้ม จะเกิดผลกระทบทางด้านจิตใจ ทำให้ผู้สูงอายุไม่กล้าทำกิจกรรมต่างๆ ส่งผลให้เกิดการจำกัดการทำกิจวัตรประจำวันและทำให้ความสามารถทางกายลดลงในที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการควบคุมการทรงตัว และการเดิน<sup>(12)</sup> จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ากลุ่มผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วการล้ม มีความสามารถในการเดินทั้งความเร็วปกติและความเร็วสูงสุด น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ก้ำกั้วการล้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (**รูปที่ 1**) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Chamberlin ในปี ค.ศ. 2005 พบว่า การก้ำกั้วการล้มส่งผลกระทบต่อความสามารถในการเดินด้าน Spatial และ Temporal parameter โดยผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วการล้มจะมีจังหวะในการก้าวข้างและ stride length สั้นขึ้น stride width กว้างขึ้น และมีช่วง double limb support นานขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการเดินลดลง<sup>(4)</sup> Zverve ในปี ค.ศ. 2006 รายงานว่า Spatial parameter นั้น มีประเด็นที่สำคัญในเรื่องความสัมพันธ์ระหว่าง stride length และมุมของข้อเท้าขณะก้าวเดิน ซึ่งหากไม่มีความสมมาตรกัน จะทำให้ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการเดิน ซึ่งนอกจากความแข็งแรงของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการเหยียดข้อเข่าและข้อสะโพกแล้ว ยังต้องมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการกางข้อสะโพกร่วมด้วย<sup>(18)</sup> นอกจากนี้จากการศึกษาที่ผ่านมา รายงานว่าการเดินเป็นการเคลื่อนไหวร่างกายหลายส่วนร่วมกัน มีการดึงเอาพลังงานมาใช้ ร่วมกับการควบคุมการเคลื่อนไหว และการทำงานประสานสัมพันธ์กันระหว่างระบบต่างๆ ในร่างกาย ได้แก่ ระบบหัวใจและปอด ระบบประสาท และระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ ดังนั้นความเร็วในการเดินที่ลดลง ไม่ได้สะท้อนถึงความเสื่อมลงของการทำงานของระบบ

ประสาทยนต์ที่ลดลงเพียงอย่างเดียว แต่เป็นการสะท้อนถึงความเสื่อมลงของระบบต่างๆ ในร่างกายทั้งหมด โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ จะมีความสัมพันธ์ของความเร็วในการเดินที่ลดลง กับความบกพร่องของการรับรู้ และกล้ามเนื้อฝ่อลีบด้วย<sup>(19)</sup>

Park และคณะในปี ค.ศ. 2014 รายงานว่า ผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วการล้มมีความสัมพันธ์กับความสามารถด้านการทรงตัว โดยการก้ำกั้วการล้มสัมพันธ์กับการทดสอบ Time Up and Go Test (TUGT:  $r=0.33$ ;  $p<0.001$ ) และสัมพันธ์กับผู้สูงอายุที่มีประวัติการล้ม<sup>(8)</sup> นอกจากนี้จากการศึกษาของ Gillespie และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 ทำการศึกษาในอาสาสมัครผู้สูงอายุ ที่มีอายุตั้งแต่ 55 ปีขึ้นไป พบว่า อาสาสมัครกลุ่มที่มีคะแนน FES ในระดับที่สูงจะมีคะแนนการทดสอบ BBS ที่สูงด้วยเช่นกัน สะท้อนให้เห็นว่า ผู้สูงอายุที่ไม่ก้ำกั้วการล้ม จะมีความสามารถในการควบคุมการทรงตัวที่ดี<sup>(12)</sup> ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาที่ไม่พบความแตกต่างของการควบคุมการทรงตัวระหว่างกลุ่มผู้สูงอายุที่ก้ำกั้วและไม่ก้ำกั้วการล้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (**รูปที่ 2**) แต่จากตารางที่ 1 พบว่า การควบคุมการทรงตัวในผู้สูงอายุที่ไม่ก้ำกั้วการล้มมีค่าคะแนน BBS มากกว่ากลุ่มที่ก้ำกั้วการล้ม อย่างไรก็ตาม การทดสอบ BBS เป็นการทดสอบความสามารถด้านการทรงตัวโดยการทำกิจกรรมในท่านั่งและยืนทั้งหมด 14 กิจกรรม แต่ละกิจกรรมมีระดับการให้คะแนนตั้งแต่ 0 ถึง 4 คะแนน คะแนนที่ได้จากการทดสอบจะอยู่ระหว่าง 0 ถึง 56 คะแนน ซึ่งเป็นข้อมูลแบบ interval scale อีกทั้ง การทดสอบ BBS ยังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับ ceiling effect ที่ทำให้เกิดข้อจำกัดในผู้สูงอายุที่ความสามารถคงเดิม หรือ ใกล้เคียงของเดิม หรือมีความสามารถในระดับที่ดี ทำให้การทดสอบไม่มีความละเอียดพอในการตรวจประเมินการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้นได้ ดังนั้น คะแนนที่ได้จากการทดสอบอาจทำให้ไม่สามารถเห็นความแตกต่างได้อย่างชัดเจน อีกทั้ง การศึกษานี้ทำการศึกษาในผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในเขตอำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก ซึ่งเป็นชุมชนเชิงเกษตรกรรม ดังนั้น ผู้สูงอายุส่วนใหญ่ยังคงทำกิจวัตรประจำวันเช่นเดิม อีกทั้งผู้นำชุมชนยังมีการจัดกิจกรรมการออกกำลังกายให้ผู้สูงอายุเข้าร่วมอีก จากการสำรวจ

ภาวะการทำงานของประชากรที่ว้าราชอาณาจักรไทย (ไตรมาศที่ 1: มกราคม-มีนาคม 2552 สำนักงานสถิติแห่งชาติ กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร เมื่อเข้าสู่ช่วงอายุวัยหลังเกษียณ) พบว่า ผู้สูงอายุในประเทศไทยยังคงทำงาน หรือทำกิจวัตรประจำวันด้วยตนเอง โดยพบ ร้อยละ 52 ของผู้สูงอายุตอนต้น (อายุ 60 ถึง 69 ปี) ร้อยละ 20 ของผู้สูงอายุตอนกลาง (อายุ 70-79 ปี) และ ร้อยละ 8 ของผู้สูงอายุที่มีอายุ 80 ปีขึ้นไป หรือผู้สูงอายุตอนปลาย<sup>(20)</sup> ดังนั้นเพื่อให้สามารถยืนยันความแตกต่างของความสามารถในการทรงตัวระหว่างผู้สูงอายุที่กลัวและไม่กลัวการล้มได้ อาจจำเป็นต้องทำการศึกษาดูโดยใช้ข้อมูลที่เป็น ratio scale เพื่อยืนยันความแตกต่างที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

การทดสอบ FTSSST นั้นเป็นการทดสอบกำลังกล้ามเนื้อของระยางค์ส่วนล่างที่สามารถทำได้ง่าย รวดเร็ว และสะดวกในการนำไปใช้ในชุมชน และทางคลินิก ซึ่งการทดสอบนี้สะท้อนให้เห็นความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขา โดยเฉพาะกล้ามเนื้อที่ใช้ในการเหยียดสะโพก และเข่า<sup>(21)</sup> ทั้งนี้ทำการทดสอบด้วยการให้อาสาสมัครนั่งพิงพนักเก้าอี้เท้าทั้งสองข้างวางบนพื้น จากนั้นทำการลุกขึ้นยืนสลับกับลงนั่ง 5 ครั้งติดต่อกัน และทำการจับเวลาที่อาสาสมัครใช้ในการทดสอบ<sup>(22)</sup> จากการศึกษาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ของการทดสอบ FTSSST ระหว่างผู้สูงอายุที่กลัว และไม่กลัวการล้ม (รูปที่ 3) อย่างไรก็ตาม ค่าของการทดสอบ FTSSST ในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มใช้เวลาในการทดสอบน้อยกว่าการศึกษาที่ผ่านมาของ Aslan และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 ซึ่งรายงานเวลาที่ใช้ในการทดสอบ FTSSST ในผู้สูงอายุที่สามารถเดินได้เอง โดยไม่ใช้อุปกรณ์ช่วยเดิน และไม่มีโรคทางระบบประสาท มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $14.4 \pm 6.88$  วินาที<sup>(23)</sup> ซึ่งจะเห็นได้ว่า กำลังกล้ามเนื้อของขาในการศึกษานี้ยังไม่พบความบกพร่องมากนัก อีกทั้ง อายุเฉลี่ยของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มอยู่ในช่วงผู้สูงอายุตอนต้น คือมีอายุอยู่ในช่วง 60 ถึง 69 ปี<sup>(20)</sup> ทำให้ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงทางด้านกำลังกล้ามเนื้อของขาที่ชัดเจนมากนัก นอกจากนี้ ผู้สูงอายุตอนต้นเป็นวัยหลังเกษียณอายุ ทำให้ยังมีการทำกิจวัตรประจำวันด้วยตนเองอยู่ ทำให้มีการเคลื่อนไหวร่างกาย

อย่างสม่ำเสมอ จึงไม่พบความเสื่อมของกำลังกล้ามเนื้อมากนัก ซึ่งแตกต่างจากการเดิน ที่ต้องอาศัยการทำงานประสานสัมพันธ์กันของระบบต่างๆ ในร่างกาย จึงทำให้การทดสอบความสามารถในการเดิน สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างได้อย่างชัดเจนมากกว่าการทดสอบ FTSSST

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้มีข้อจำกัดบางประการคือ ผู้สูงอายุในชุมชนไม่สามารถนัดมารวมตัวกัน และทำการทดสอบในวันเวลา หรือสถานที่ใกล้เคียงกันได้ เนื่องจาก มีความยากลำบากในการเดินทาง ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงทำการเก็บข้อมูลตามพื้นที่บริเวณใกล้เคียงกับที่พักอาศัยของผู้สูงอายุ แต่ได้ลดข้อจำกัดด้านสถานที่ในการเก็บข้อมูล โดย เลือกสถานที่ที่กว้างขวางเพียงพอ พื้นผิวเรียบ และมีสิ่งกีดขวางน้อยที่สุด ในการทดสอบความสามารถทางกายของผู้สูงอายุ นอกจากนี้ผลของการศึกษานี้ มีอาสาสมัครที่มีประวัติการล้มในรอบ 1 ปีที่ผ่านมาจำนวนน้อย (ร้อยละ 31 ของอาสาสมัครที่กลัวการล้ม และร้อยละ 14 ของอาสาสมัครที่ไม่กลัวการล้ม) แต่มีอาสาสมัครที่กลัวการล้ม และไม่มีประวัติการล้มสูงถึงร้อยละ 69 ซึ่งทำให้เห็นช่องว่างว่าการกลัวการล้ม และประวัติการล้มมีความสัมพันธ์กันหรือไม่ ดังนั้น ในการศึกษาต่อไป เพื่อทำให้เกิดความชัดเจนมากยิ่งขึ้น อาจทำการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการกลัวการล้ม ประวัติการล้ม และความสามารถทางกายในกลุ่มผู้สูงอายุต่อไป

### สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า ผู้สูงอายุที่ไม่กลัวการล้ม มีความสามารถทางกาย คือ ความสามารถในการเดิน ทั้งความเร็วปกติ และความเร็วสูงสุด ดีกว่ากลุ่มผู้สูงอายุที่กลัวการล้ม แต่ผลของการศึกษานี้ยังไม่สามารถระบุความแตกต่างที่ชัดเจนของความสามารถในการทรงตัว และกำลังกล้ามเนื้อของขา ระหว่างผู้สูงอายุที่กลัว และไม่กลัวการล้มได้ อย่างไรก็ตาม ผลของการศึกษานี้ สะท้อนให้เห็นว่า ผู้สูงอายุที่มีประวัติการล้ม มีแนวโน้มของความสามารถที่ลดลง ดังนั้น บุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้อง ควรตระหนักถึงการกลัวการล้มในผู้สูงอายุ และหาแนวทางลดการกลัวการล้ม และความเสี่ยงในการ

ล้มของผู้สูงอายุ เช่น การจัดสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการเคลื่อนไหวของผู้สูงอายุ อีกทั้งควรกระตุ้นให้ครอบครัวมีส่วนร่วมในการดูแล และทำกิจกรรมร่วมกับผู้สูงอายุอย่างใกล้ชิดต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกๆ ท่าน และทุนอุดหนุนการทำวิจัยจากคณะกายภาพบำบัด (เดิมคือ คณะสหเวชศาสตร์) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องค์กรฯ ประจำปีงบประมาณ 2559

### เอกสารอ้างอิง

1. Prasert Assantachai. Common health problems and prevention in older adults. 2<sup>nd</sup> ed. Bangkok: Union creation; 2011.
2. Martin FC, Hart D, Spector T, Doyle DV, Harari D. Fear of falling limiting activity in young-old women is associated with reduced functional mobility rather than psychological factors. *Age Ageing* 2005; 34: 281-7.
3. Yardley L, Smith H. A prospective study of the relationship between feared consequences of falling and avoidance of activity in community-living older people. *The Gerontologist* 2002; 42: 17-23.
4. Chamberlin ME, Fulwider BD, Sanders SL, Medeiros JM. Does fear of falling influence spatial and temporal gait parameters in elderly persons beyond changes associated with normal aging? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60: 1163-7.
5. Latt MD, Menz HB, Fung VS, Lord SR. Walking speed, cadence and step length are selected to optimize the stability of head and pelvis accelerations. *Exp Brain Res* 2008; 184: 201-9.
6. Jefferis BJ, Iliffe S, Kendrick D, Kerse N, Trost S, Lennon LT, et al. How are falls and fear of falling associated with objectively measured physical activity in a cohort of community-dwelling older men? *BMC Geriatr* 2014; 14: 1-9.
7. del-Rio-Vareiras M, Gayoso-Diz P, Santos-Perez S, Rossi-Izquierdo M, Faraldo-Garcia A, Vaamonde-Sanchez-Adrade I, et al. Is there a relationship between short FES-I test scores and objective assessment of balance in the older people with age-induced instability? *Arch Gerontol Geriatr* 2016; 62: 90-6.
8. Park JH, Cho H, Shin JH, Kim T, Park SB, Choi BY, et al. Relationship among fear of falling, physical performance, and physical characteristics of the rural elderly. *Am J Phys Med Rehabil* 2014; 93: 379-86.
9. Premkamol Khuankwai. Factors related to falls among community-dwelling elderly people [Master's thesis]. Khon Kaen: Graduate School, Khon Kaen University, 2007.
10. Thiwaporn Thaweewannakij, Sugalya Amatachaya, Punnee Peungsuwan, Lugkana Mato. Balance, fall and quality of life in active and inactive elderly. *J Med Tech Phy Ther* 2010; 22: 271-9.
11. Aroon Jirawatkul. Statistics for health science research. Bangkok: Wittayapat; 2009.
12. Gillespie SM, Friedman SM. Fear of falling in new long-term care enrollees. *J Am Med Dir Assoc* 2007; 8: 307-13.
13. Ladda Thiamwong. Psychometric testing of the falls efficacy scale-international (FES-I) in Thai older adults. *Songkla Med J* 2011; 29: 277-87.

14. Forrest GF, Hutchinson K, Lorenz DJ, Buehner JJ, Vanhiel LR, Sisto SA, et al. Are the 10 meter and 6 minute walk tests redundant in patients with spinal cord injury? *PloS one* 2014; 9: e94-108.
15. Peters DM, Fritz SL, Krotish DE. Assessing the reliability and validity of a shorter walk test compared with the 10-Meter Walk Test for measurements of gait speed in healthy, older adults. *J Geriatr Phys Ther* 2013; 36: 24-30.
16. Newton RA. Validity of the multi-directional reach test: a practical measure for limits of stability in older adults. *J Gerontol Med Sci* 2001; 56: M248-52.
17. Puthoff ML, Saskowski D. Reliability and responsiveness of gait speed, five times sit to stand, and hand grip strength for patients in cardiac rehabilitation. *Cardiopulm Phys Ther J* 2013; 24: 31-7.
18. Zverev YP. Spatial parameters of walking gait and footedness. *Ann Hum Biol* 2006; 33: 161-76.
19. Niederer D, Schmidt K, Vogt L, Egen J, Klingler J, Hubscher M, et, al. Functional capacity and fear of falling in cancer patients undergoing chemotherapy. *Gait Posture* 2014; 39: 865-9.
20. Apichart Jumraslittirong, Orapin Pitakmahakate. Campaign for the value of the retirement age: the solution of elderly [Internet]. Bangkok: Population and development newsletter; 2011 [updated August-September; cited 22 August, 2016]. Available from: <http://www.popterms.mahidol.ac.th/newsletter/showarticle.php?articleid=244>.
21. Lusardi, M., Pellecchia, G. and Schulman, M. Functional Performance in Community Living Older Adults. *J Geriatr Phys Ther* 2003; 26: 14-22.
22. Batista FS, Gomes GA, D'Elboux MJ, Cintra FA, Neri AL, Guariento ME, Rosario de Souza Mda L. Relationship between lower-limb muscle strength and functional independence among elderly people according to frailty criteria: a cross-sectional study. *Sao Paulo Med J* 2014; 132: 282-9.
23. Aslan UB, Cavlak U, Yagci N, Akdag B. Balance performance, aging and falling: a comparative study based on a Turkish sample. *Arch Gerontol Geriatr.* 2008; 46: 283-92.



# ปัจจัยที่มีผลต่อความไวในการตรวจวิเคราะห์ Dual Luciferase Reporter Assay เพื่อตรวจหาการควบคุมการแสดงออกของยีนในเซลล์ 293T

วิภาพร วงศ์เพ็ญ<sup>1,2</sup> กรรณิการ์ กัวหา<sup>3</sup> อมรรัตน์ จำเนียรทรง<sup>2,3</sup> และ ชาญวิทย์ ลีลาญวัฒน์<sup>2,3\*</sup>

Received: February 6, 2018

Revised: March 8, 2018

Accepted: March 11, 2018

## บทคัดย่อ

Luciferase reporter เป็นหนึ่งในวิธีการที่ได้รับความนิยมมากที่สุดสำหรับการศึกษาการควบคุมการแสดงออกของยีน เนื่องจากวิธีการตรวจวัดง่ายสะดวกและนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของวิธีนี้คือความแปรปรวนของการตรวจวัดที่มีผลต่อความคงที่และความไวทำให้ส่งผลต่อค่านัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ตรวจสอบปัจจัยที่ส่งผลต่อการตรวจหาการควบคุมที่ขั้นตอนหลังการถอดรหัสด้วยวิธี dual luciferase reporter เพื่อให้ได้ความไวและความคงที่ที่ดีที่สุด เริ่มศึกษาโดยการสร้างพลาสมิด luciferase reporter ที่มี 3'UTR แบบ wild type และสร้าง 3'UTR แบบ mutants 2 ชนิด ที่มีการกลายพันธุ์ ณ ตำแหน่งการจับของไมโครอาร์เอ็นเอ พลาสมิดแต่ละชนิดถูกเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 500 ng 50 ng และ 25 ng และถูกถ่ายโอนเข้าสู่เซลล์ 293T พร้อมกับพลาสมิด renilla reporter ด้วยอัตราส่วนระหว่าง firefly/renilla เป็น 10:1 และตรวจวัด luciferase activity นอกจากนี้ยังศึกษาเปรียบเทียบจำนวนตำแหน่งที่ mutants เพื่อประเมินว่ามีผลต่อความไวของ luciferase หรือไม่ พบว่าความเข้มข้นของพลาสมิด luciferase reporter ที่ 50 ng ให้ความไวสูงสุดและสอดคล้องกับการประเมินการแสดงออกของ luciferase ในการควบคุมผ่าน 3'UTR ที่มีค่านัยสำคัญทางสถิติสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง wild type และ mutants นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนของตำแหน่งการกลายพันธุ์มีผลต่อความไวของการตรวจวิเคราะห์ด้วย ดังนั้นการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพลาสมิดรีเนอจึงเป็นสิ่งสำคัญ และจำเป็นอย่างยิ่งในการเพิ่มความไวของการตรวจวิเคราะห์ ข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับนักวิจัยและนักวิทยาศาสตร์ที่ใช้ dual luciferase reporter ในการตรวจสอบการควบคุมการแสดงออกของยีนที่ขั้นตอนหลังการถอดรหัสดีเอ็นเอ

**คำสำคัญ:** การควบคุม 3' untranslated region, การแสดงออกของยีน, ระบบ Luciferase reporter

<sup>1</sup> นักศึกษาปริญญาเอก สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup> ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศ.ว.ป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>3</sup> กลุ่มวิชานุมัติกันวิทยาคลินิกและวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*ผู้รับผิดชอบบทความ



## Factors affecting sensitivity of dual luciferase reporter assay for detection of gene regulation in 293T cells

Wipaporn Wongfieng<sup>1,2</sup>, Kunnika Kuaha<sup>3</sup>, Amonrat Jumnainsong<sup>2,3</sup> and Chanvit Leelayuwat<sup>2,3\*</sup>

### Abstract

The Luciferase reporter gene is one of the most popular methods for studying gene expression and regulation because of its convenience, simple and the broad dynamic range of applications. However, a limitation of this method is a high variability of measurement affecting consistency and sensitivity leading to varied statistical significances. Here, we investigated the factors affecting the sensitivity and consistency of detection of posttranscriptional regulatory sequences in the dual luciferase reporter system. We generated firefly luciferase reporter plasmids containing 3' untranslated region (UTR) of a gene. One construct contained a wild type and 2 constructs contained mutant binding sites for miRNAs. Each plasmid construct was diluted to the concentration of 500 ng, 50 ng and 25 ng and was co-transfected with the renilla reporter plasmid to 293T cells using the ratio between firefly/renilla plasmids of 10:1. Then cells were measured for dual luciferase activities. We also compared luciferase activities regarding the number of mutation sites to assess whether they affected the detection of luciferase sensitivity. Our results indicated that at the 50 ng concentration of the reporter plasmid gave the highest sensitivity and consistency for evaluation of luciferase expression via 3'UTR regulatory region with the highest statistical significance when compared to those of wild type and mutant sequences. Moreover, the numbers of mutation sites also had the effect on sensitivity of the luciferase reporter assay. Thus, optimization of plasmid DNA concentration is essential to improve the sensitivity. This information would be useful for researchers and scientists who employ the dual luciferase reporter system in investigating the posttranscriptional regulation of sequences.

**Keywords:** 3' Untranslated region regulation, Gene expression, Dual luciferase reporter system

<sup>1</sup>Ph.D candidate of Biomedical Sciences Program, Graduates School of Khon Kaen University

<sup>2</sup>The Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL), Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

<sup>3</sup>Department of Clinical Immunology and Transfusion Sciences, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

\*Corresponding author: (e-mail: chanvit@kku.ac.th)

## Introduction

Regulation of gene expression is a process of cellular function to control the amount and manner of protein expression which can be up-regulated or down-regulated<sup>(1)</sup>. Regulation of gene expression assays were widely used in identification of gene expression/regulation mechanisms both in a cell and tissue. Recently several techniques have been used to detect the gene expression regulation such as to investigate transcriptional rates and regulatory sequences using the nuclear run-off transcription assays<sup>(2, 3)</sup>, to characterize DNA-protein interactions by DNase I foot printing analysis and mobility shift assays<sup>(4)</sup>. In addition, to evaluate the role of specific regulatory regions of DNA sequences or investigate factors and mechanisms affecting gene expression often required the reporter gene assay<sup>(5)</sup>.

The reporter gene assay has several systems based on the detectable reporter genes. Chloramphenicol acetyltransferase (CAT) is the first gene reporter used to investigate regulation at transcriptional level in mammalian cells<sup>(6)</sup>. However this assay is limited due to its dependence on the use of radioisotopes<sup>(7)</sup>. The alkaline phosphatase (AP) reporter gene system consists of AP which requires optimal activity at alkaline pH. Thus, this system is limited because AP enzyme is expressed practically in all cell types<sup>(8)</sup>.  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -gal) is a reporter gene assay that was designed to particularly evaluate  $\beta$ -galactosidase activity of bacteria, thus, it is not optimal for the eukaryotic system<sup>(9)</sup>. The green fluorescence protein (GFP) reporter system is commonly used to evaluate gene regulation including the study pattern of protein localization and intra-cellular trafficking<sup>(10)</sup>. It is not optimal for

a quantitative detection. The luciferase reporter assay now is one of the most commonly used gene reporter system that emits light generated by chemical reaction with oxygen and a substrate and can be quantitative. The most common luciferase enzymes in the eukaryotic system are firefly luciferase and renilla (sea pansy) luciferase. Differences between these luciferases are that renilla luciferase does not require ATP and uses a different substrate to generate chemical reactions<sup>(11, 12)</sup>. The dual luciferase reporter assay is one of the luciferase reporter assay systems which is performed by sequentially measuring the firefly and *renilla* luciferase activities of the same sample based on the different properties of both enzymes. The results expressed as the ratio of firefly to *renilla* luciferase activities<sup>(13)</sup>. Generally, one luciferase acts as an experimental reporter to indicate the biological expression while the other is an internal control used to normalize the data. This is recommended as a good choice for investigating a regulation of protein expression via miRNA binding at the regulatory regions. Because of the binding of a candidate miRNA to its regulatory sequence on the mRNA target will suppress the production of reporter protein. Thus, its activity or expression is reduced which can be measured via instrument and compared to a negative control. Although luciferase reporter system is the most commonly used to study regulation of gene expression because of its convenience, simple and the broad dynamic range of applications<sup>(14)</sup>, a limitation of this method is a high variability of measurement affecting consistency and sensitivity leading to varied statistical significances<sup>(15)</sup>. Thus, it is essential to optimize the reporter plasmid conditions for every cell type

because each cell type is different resulting in different efficiency of transfection<sup>(16)</sup>.

In this report, we investigated the factors affecting the dual luciferase reporter system regarding sensitivity by optimization of DNA concentration of luciferase reporter. Firstly, the regulatory sequence of a gene of interest was inserted into down-stream of the luciferase gene in a reporter construct. Then, different concentrations of these vectors were transfected into 293T and luciferase activities were measured. We also compared luciferase activities regarding the varied number of mutations on regulatory sequences to assess whether the differences had any effect on luciferase sensitivity. Our result indicated that both concentration and number of mutations had effect on sensitivity and consistency of the dual luciferase reporter assay.

## Materials and Method

### Cell line

293T cells (human embryonic kidney) were cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) supplemented with 1%penicillin-streptomycin (Sigma, St Louis, MO, USA) and 10% fetal bovine serum (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) and incubated at 37°C in 5% CO<sub>2</sub>.

### Plasmid construction

Luciferase reporter vectors, the firefly luciferase vector (pcDNA3.1-Zeo(+))Pp) and the renilla luciferase vector (pRL-SV40) were kindly provided by Dr Yong Sun Lee, the University of Texas Medical Branch, USA. The 1,250 bp fragment of the wild-type 3'UTR of the MICB gene was amplified from genomic DNA and was inserted into downstream of the luciferase gene in the

reporter vector (pcDNA3.1-Zeo(+))Pp)using restriction enzyme, BamH I and Not I<sup>(17)</sup>. Site directed mutagenesis was used to generate specific mutation miRNA binding sites, using the designed primers purchased from Bio basic Inc., Markham, Canada. Both the 3 and 6 specific mutation sites were generated, pMICB\_3 mut and pMICB\_6 mut, respectively<sup>(17)</sup>. Further, the inserts and their proper orientations were confirmed by DNA sequencing (Macrogen, Seoul, Republic of Korea).

### Luciferase reporter transfection

The firefly luciferase reporter used in this study was pcDNA3.1-Zeo(+))Pp (Promega, Madison, WI, USA) which contained regulatory sequences of 3'UTR of MICB (pMICB\_3U), 3'UTR with 3 mutation sites (pMICB\_3 mut) and 6 mutation sites (p3UTR\_6 mut) as well as the luciferase reporter vector alone (empty vector). Their concentrations were varied at 500 ng, 50 ng and 25 ng. The renilla luciferase vector derived from pRL-SV40 (Promega) was used for normalization. To make the ratio between firefly luciferase and renilla luciferase stable as 10:1 according to the manufacturer's instruction, the concentration of renilla luciferase vector was varied at 50 ng, 5 ng and 2.5 ng, accordingly. These plasmids were co-transfected into the 293T cells. After 24 hrs transfection, each transfection with varied concentrations was measured for firefly and renilla luciferase activities, accordingly.

### Luciferase reporter analysis

The emitted light of firefly and renilla luciferases was measured by the dual-luciferase reporter assay kit (Promega) with the GloMax® 20/20 luminometer machine (Promega). Briefly, cells were collected from a 24-well plate, lysed

by passive lysis buffer provided in the kit. Then, the cell lysates were transferred to 1.5 ml tubes and the substrate solution (Luciferase Assay Reagent II (LAR II)) was added before measuring the firefly luciferase activities. Finally, stop the reaction of firefly by adding the stop reagent (Stop & Glo® Reagent) and then, measured renilla luciferase activities in the same sample. The percentages of luciferase inhibitions were calculated via several normalizations. Firstly, calculations of relative luciferase (RL) by firefly luciferase activities from wild-type, mutants or empty plasmid were normalized with renilla luciferase activity. Secondly, calculations of relative luciferase ratio (RLR) by relative luciferases (RL) of wild-type or mutants were normalized with relative luciferases (RL) of the empty plasmid. Finally, calculations of percent inhibition of luciferase by the formula:  $(1 - \text{RLR}) \times 100$  were performed.

### Statistical analysis

The data were tested for normal distributions by Shapiro-Wilk (SPSS inc., Chicago, IL, USA). Then, significant differences between the wild-type and the mutant groups were analyzed by Student's t-test via the GraphPad Pro. Prism 5.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA). The data were shown as means  $\pm$  S.E.M. The *p*-values less than 0.05 were considered as statistical significance. All data were represented of at least 3 independent experiments.

The receiver-operating characteristic (ROC) curves were generated to estimate the sensitivity for detection of luciferase reporter assay by using relative luciferase ratio of each condition compared with the negative control. The cut-off value for the luciferase expression was determined by the score of specificity, sensitivity,

positive likelihood ratio (+LR), negative likelihood ratio (-LR) and Youden's index (YI) for each condition. The data were presented as means  $\pm$  S.D.

## Results

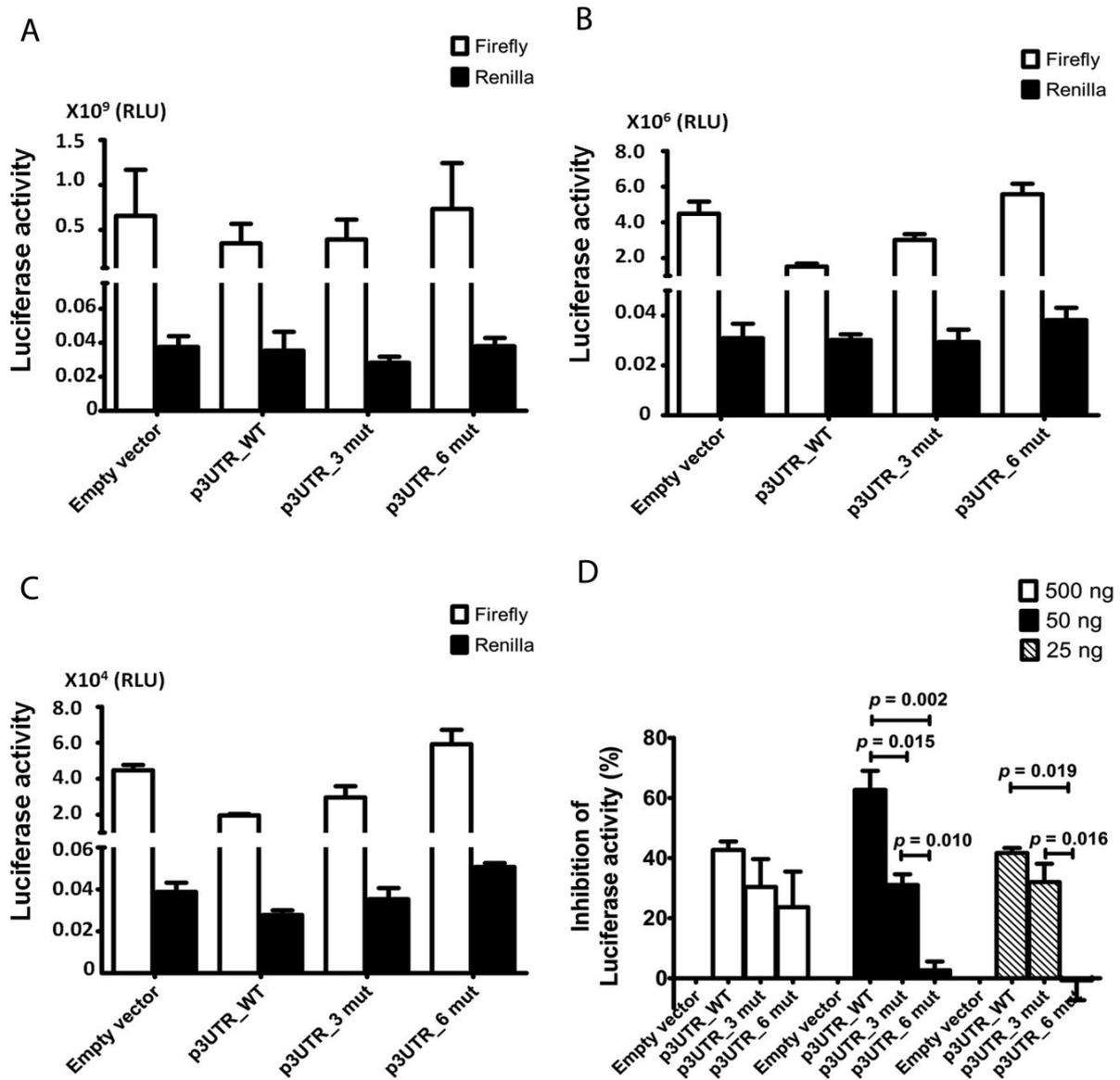
### 1. Effect of different concentrations of reporter plasmids containing 3'-UTR on luciferase expression in the 293T cells.

To investigate the optimal reporter plasmid concentrations on the effect of 3'-UTR in the luciferase reporter system, each varied concentration was co-transfected with renilla reporter plasmid into 293T cells with the ratio of 10:1. After complete transfection, cells were measured for dual luciferase activities by the dual luciferase reporter assay kit. The raw data of luciferase expressions were shown as Relative Light Units (RLU). Expectedly, the highest dual luciferase expression levels ( $10^9$  RLU) were obtained from the concentration of 500 ng of luciferase reporter vector and followed by 50 ng ( $10^6$  RLU) and 25 ng ( $10^4$  RLU), respectively (Figure 1A, B and C). However, the highest luciferase expression levels (500 ng) had higher variability of both firefly and renilla luciferase activities (**Figure 1A**). In contrast, the other groups (50 ng and 25 ng) had lower variabilities (**Figure 1B and C**).

To evaluate the effect of different mutated miRNA binding sites containing 3'-UTR on luciferase expression in the 293T cells, we compared luciferase activity of wild type with 3 or 6 specific mutation sites. The wild-type reporters should have activity less than those of the mutated reporters. Our data showed that at the concentration of 500 ng of reporter plasmid, there was no significant difference of percentages

of inhibition of luciferase activities between the vector containing the wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT) (42 %) and vector containing the 3 (p3UTR\_3mut) (30 %) or 6 (p3UTR\_6mut) (23 %) specific mutation sites (**Figure 1D**). However, the significance was found at the 50 ng concentration of wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT) (60%). Interestingly, luciferase activities were recovered when they were 3 (p3UTR\_3 mut) and 6 (p3UTR\_6 mut) mutated specific binding sites. Inhibition percentages of luciferase expressions were reduced to 30% and 5%, respectively and were differently significant when compared with the vector containing wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT)

(black bar graph of **Figure 1D**). At 25 ng, luciferase activities were repressed in vector containing wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT) (40%) but not significantly different from the 3 mutation binding sites (35%) (p3UTR\_3 mut). However, significant differences of percent inhibition of luciferase expressions between the wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT) and the 6 mutation binding sites (p3UTR\_6 mut) was observed (slant bar graph of **Figure 1D**). These results indicated that co-transfection between 50 ng of firefly reporter plasmid with 5 ng of renilla reporter plasmid was the best concentration for evaluating effect of 3'-UTR of MICB on luciferase expression in 293T cells.



**Figure 1.** Effect of different concentration of reporter plasmid containing 3'-UTR on dual luciferase expressions.

Relative Light Units (RLU) of firefly and renilla luciferase activities were shown from the transfections of 500 ng luciferase reporter plasmid (A) 50 ng (B) and 25 ng (C). Inhibition percentages of luciferase activities were shown in (D). Firefly luciferase activity was divided by renilla luciferase activity to give relative luciferase activity (RL) and relative luciferase activity (RL) was divided by the relative luciferase activity of control reporter to give relative luciferase ratio (RLR). % of luciferase inhibition =  $(1 - \text{RLR}) \times 100$ . Results are shown as mean  $\pm$  SEM, n=3 experiments.

## 2. ROC analysis of luciferase reporter assay

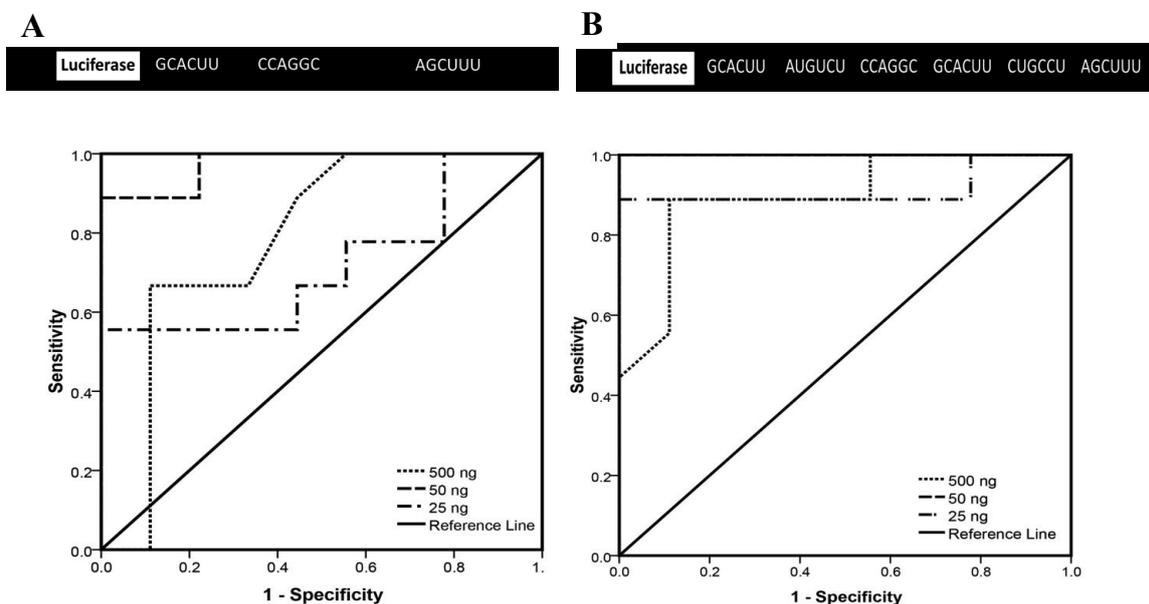
To confirm the previous results, the ROC curve analyses were performed. ROC analysis of each concentration was analyzed by SPSS 17.0 (SPSS inc., Chicago, IL, USA). The analysis results were presented in **Table 1** and ROC curves were presented in figure 2. Observing in the area under the ROC curve of the 3 mutant binding sites, 50 ng of reporter plasmid gave the highest score of

0.975 and followed by 500 ng with the score of 0.784, and 25 ng of 0.716 (**Figure 2A**). When we considered on the 6 mutation binding sites, again 50 ng had the highest score of 1.000 and followed by 25 ng of 0.914 while 500 ng had the lowest score of 0.895 (**Figure 2B**). Based on the results of ROC curve analyses, the concentration of 50 ng was confirmed as the optimal condition for detection of the 3'-UTR regulation in 293T cells.

**Table 1.** Area under the ROC curve analysis of luciferase expressions in 293T cells

Plasmid Conc.(ng)	AUC (95 % CI)		SE		p-value	
	3 mut	6 mut	3 mut	6 mut	3 mut	6 mut
500	0.784 (0.534, 1.014)	0.895 (0.741, 1.048)	0.116	0.078	0.042	0.005
50	0.975 (0.913, 1.037)	1.000 (0.913, 1.037)	0.031	0.031	<0.001	<0.001
25	0.716 (0.465, 0.967)	0.914 (0.748, 1.079)	0.128	0.084	0.122	0.003

Conc: concentration, AUC: area under the ROC curve, SE: standard error, 3 mut: p3UTR\_3 mut and 6 mut: p3UTR\_6 mut



**Figure 2.** ROC analyses of luciferase expressions of 500 ng, 50 ng and 25 ng.

ROC analyses of 3 different concentrations of reporters with 3 and 6 mutation binding sites were shown. (A) A schematic showed a construct containing 3 specific binding sites of miRNAs and the relative luciferase ratio (RLR) of the 3 specific mutation binding sites of each concentration regarding the sensitivity 1-specificity and (B) for 6 specific binding sites of miRNAs.

Further assessment was demonstrated by the best score of the sensitivity, specificity and Youden's index. The positive likelihood ratio (+LR) was used to indicate the probability for a correct analysis of method. Usually, a number greater than one or a number that near 10 is indicated as an excellently appropriate method. In contrast, the negative likelihood ratio (-LR) was used to indicate the possibility of incorrect analysis of method. The lower value indicated optimal, usually less than one. The study demonstrated that, in all of the three conditions, the concentration of 50 ng of both 3 and 6 mutation binding sites had the best sensitivity, specificity, LRs and YI (**Table 2**). These results supported the above data indicated that the 50 ng concentration of firefly reporter plasmid with 5 ng of renilla reporter plasmid was the best concentration for evaluating effect of 3'-UTR on luciferase expressions in 293T cells.

## Discussions and Conclusions

To study the gene regulation, the luciferase reporter gene is commonly and popularly used to investigate the function of promoter or untranslated region (UTR) because the luciferase reporter assay is convenient, simple and can be used at the broad dynamic range approaches. However, limitation of luciferase reporter is rather high variability data resulting in reduce significance values of data analysis. Several studies try to optimize luciferase reporter assay by using differently approaches. In 2003, Burn et al.<sup>(18)</sup> try to increase the level of gene expression in neuronal and glial cells by using several different posttranscriptional regulatory elements in a plasmid that contained a luciferase gene in lentiviral vectors. In 2013, Etten et al.<sup>(19)</sup> designed and optimized approach of luciferase reporter assays to investigate the regulatory RNA sequences that had effect on protein and RNA expressions by transfected the luciferase reporter into cells

**Table 2.** Assessment index of the optimal concentrations of plasmids to transfect into 293T cells based on ROC analysis results

Plasmid Conc.(ng)	Sensitivity		Specificity		+LR		-LR		YI	
	3 mut	6 mut	3 mut	6 mut	3 mut	6 mut	3 mut	6 mut	3 mut	6 mut
500	0.667	0.778	0.667	0.889	2.000	7.000	0.499	0.249	0.334	0.667
50	0.889	1.000	0.889	0.889	8.100	9.000	0.124	0.000	0.778	0.889
25	0.778	0.889	0.677	0.889	2.366	8.100	0.327	0.124	0.455	0.778

Conc: concentration, +LR: positive likelihood ratio, -LR: negative likelihood ratio, YI: Youden's index, 3 mut: p3UTR\_3 mut and 6 mut: p3UTR\_6 mut

and measured protein expression levels with activity of luciferase expression, and measured mRNA levels of luciferase by qRT-PCR. Here we aimed to investigate the best sensitivity of a luciferase reporter gene assay by optimizing concentration of luciferase reporter vectors. We also compared luciferase activity between the numbers of mutation sites on regulatory sequences to assess whether their different mutations had effect on luciferase sensitivity. We found that at 50 ng, the reporter plasmid gave low variability and greater significance values of data analysis when compared between the wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT) and the 3 specific mutation binding sites (p3UTR\_3 mut), *p*-value of 0.015 or compared between the wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT) and the 6 specific mutation binding site (p3UTR\_6 mut), *p*-value of 0.002. On the other hand, at 500 ng, the reporter plasmid gave the highest luciferase activities ( $10^9$  RLU) but also gave higher variability data leading to non-significant value of data analysis. The high activities of luciferases maybe out of linear dynamic range of the GloMax®-20/20 machine which over 8 logs according to the manufacturer's instructions<sup>(20)</sup>. Thus, this concentration gave higher variability data within the same group leading to statistical non-significance. Too high activities also affect the sensitivity of the test because small changes would not be demonstrated. The low concentration (25 ng of reporter plasmid) gave low variability data but too low signal would also affect the statistical significance. This was demonstrated when comparing between the wild-type 3'-UTR (p3UTR\_WT) with the 3 specific mutation binding sites (p3UTR\_3 mut). Thus, the low concentration of reporter plasmid maybe insufficient to express

luciferase activities especially, renilla luciferases which were very low ( $10^2$  RUL) (**Figure 1C**) that maybe out of the limit of machine detection.

To identify the efficacy of each concentration, we used several statistics to estimate such as ROC analysis method<sup>(21)</sup> and Youden's index (YI)<sup>(22)</sup>. Based on ROC curve analysis, the index of sensitivity (the concentration that showed the most different relative luciferase ratio between wild type and mutant plasmids) correlated with the potentiality of experimental method to identify the best method. The concentration of 50 ng reporter plasmid showed the highest sensitivity of 0.889 and 1.000, close to optimal. Youden's index (YI) is a statistic used to estimate the efficacy of the analysis test which is calculated from "sensitivity + specificity - 1"<sup>(22)</sup>. Of all the three studied concentrations, 50 ng also gave the better of YI, +LR and -LR scores. This study demonstrated that at 50 ng concentration was an appropriate condition for detection of 3'UTR regulation in 293T cell. In addition, the number of mutation sites also affected the luciferase activities leading to different sensitivity, specificity, YI, +LR and -LR scores.

In conclusion, we have optimized the reporter concentration for the dual luciferase reporter system in 293T cells. Thus, the optimization of reporter plasmid concentration is essential for reliable and valid experiments because each cell type is different and required optimization. This approach can also be applied to investigate the regulation on 5'UTR. This information will be useful for researchers and scientists who employ the luciferase reporter system in investigating the regulation at posttranscriptional regulation.

## Acknowledgements

We thank Dr. Yong Sun Lee and members of laboratory in the University of Texas Medical Branch for providing luciferase reporter constructs.

## Funding

This work was supported by the Higher Education Research Promotion and National Research University Project of Thailand, Office of the Higher Education Commission, through the Center of Excellence in Specific Health Problems in Greater Mekong Sub-region Cluster (SHeP-GMS), Khon Kaen University (KKU) the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL) and Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University. WW is holding a scholarship supported by the Royal Golden Jubilee Ph.D. program (RGJ: PHD/0269/2551), Thailand Research Fund (TRF).

## References

1. Mattick JS, Amaral PP, Dinger ME, Mercer TR, Mehler MF. RNA regulation of epigenetic processes. *Bioessays*. 2009;31(1):51-59.
2. Srivastava RA, Schonfeld G. Measurements of rate of transcription in isolated nuclei by nuclear "run-off" assay. *Methods Mol Biol*. 1998;86:201-207.
3. Hu ZW, Hoffman BB. Nuclear run-on assays for measurement of adrenergic receptor transcription rate. *Methods Mol Biol*. 2000;126:169-180.
4. Woo AJ, Dods JS, Susanto E, Ulgiati D, Abraham LJ. A proteomics approach for the identification of DNA binding activities observed in the electrophoretic mobility shift assay. *Mol Cell Proteomics*. 2002;1(6):472-478.
5. Jiang T, Xing B, Rao J. Recent developments of biological reporter technology for detecting gene expression. *Biotechnol Genet Eng Rev*. 2008;25:41-75.
6. Gorman CM ML, Howard BH. Recombinant genomes which express chloramphenicol acetyltransferase in mammalian cells. *molecular and cellular biology*. 1982;2(9):1044-1051.
7. Li L, Higaki K, Ninomiya H, Luan Z, Iida M, Ogawa S, et al. Chemical chaperone therapy: luciferase assay for screening of beta-galactosidase mutations. *Mol Genet Metab*. 2010; 101(4):364-369.
8. Martin CS, Wight PA, Dobretsova A, Bronstein I. Dual luminescence-based reporter gene assay for luciferase and beta-galactosidase. *Biotechniques*. 1996;21(3):520-524.
9. Smale ST. Beta-galactosidase assay. *Cold Spring Harb Protoc*. 2010;2010(5):pdb prot 5423.
10. Kitsera N, Khobta A, Epe B. Destabilized green fluorescent protein detects rapid removal of transcription blocks after genotoxic exposure. *Biotechniques*. 2007;43(2):222-227.
11. Khuc T, Hsu CW, Sakamuru S, Xia M. Using beta-Lactamase and NanoLuc Luciferase Reporter Gene Assays to Identify Inhibitors of the HIF-1 Signaling Pathway. *Methods Mol Biol*. 2016;1473:23-31.
12. Hill SJ, Baker JG, Rees S. Reporter-gene systems for the study of G-protein-coupled receptors. *Curr Opin Pharmacol*. 2001;1(5): 526-532.
13. Erika Hawkins MS, Michael Beck, M.S., Braeden Butler, B.S., and Keith Wood. Dual-luciferase reporter assay: an advanced co-reporter technology integrating firefly and Renilla luciferase assays. *Promega Notes* 1996;57:2-8.

14. Bronstein I, Martin CS, Fortin JJ, Olesen CE, Voyta JC. Chemiluminescence: sensitive detection technology for reporter gene assays. *Clin Chem.* 1996;42(9):1542-1546.
15. Strehler BL, Totter JR. Firefly luminescence in the study of energy transfer mechanisms. I. Substrate and enzyme determination. *Arch Biochem Biophys.* 1952;40(1):28-41.
16. Lundin A. Optimization of the firefly luciferase reaction for analytical purposes. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2014;145:31-62.
17. Wongfieng W, Jumnainsong A, Chamgramol Y, Sripan B, Leelayuwat C. 5'-UTR and 3'-UTR Regulation of MICB Expression in Human Cancer Cells by Novel microRNAs. *Genes (Basel).* 2017; 8(9).
18. Brun S, Faucon-Biguet N, Mallet J. Optimization of transgene expression at the posttranscriptional level in neural cells: implications for gene therapy. *Mol Ther.* 2003;7(6):782-789.
19. Van Etten J, Schagat TL, Goldstrohm AC. A guide to design and optimization of reporter assays for 3' untranslated region mediated regulation of mammalian messenger RNAs. *Methods.* 2013;63(2):110-118.
20. Promega. Technical manual of glomax 20/20 luminometer. Available online. <https://www.promega.com/-/media/files/resources/protocols/technical-manuals/0/glomax-20-20-luminometer-protocol.pdf>.
21. Demler OV, Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr. Equivalence of improvement in area under ROC curve and linear discriminant analysis coefficient under assumption of normality. *Stat Med.* 2011; 30(12):1410-1418.
22. Schisterman EF, Perkins NJ, Liu A, Bondell H. Optimal cut-point and its corresponding Youden Index to discriminate individuals using pooled blood samples. *Epidemiology.* 2005;16(1):73-81.



## การเปรียบเทียบคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดระหว่างผู้ที่สูบบุหรี่ระดับเล็กน้อย และระดับปานกลางโดยใช้ CALSA: การศึกษานำร่อง

ศิริมล กาจู่<sup>1</sup>, พลลพัทธ์ ยงฤทธิปกรณ์<sup>1</sup>, วณิดา ดรปัญญา<sup>1</sup>, สุรัสวดี เบนเน็ตต์\*<sup>1,2</sup>

Received: January 4, 2018

Revised: January 28, 2018

Accepted: March 12, 2018

### บทคัดย่อ

การสูบบุหรี่มีผลทำให้ท่อลมส่วนต้นและส่วนปลายเกิดการอักเสบรวมถึงเนื้อเยื่อค้ำจุนรอบท่อลมถูกทำลายทำให้ท่อลมตีบแคบและอากาศถูกกักภายในถุงลม การทำลายจากการสูบบุหรี่เหล่านี้ส่งผลทำให้คุณลักษณะของเสียงลมในปอดผิดปกติ โดยเฉพาะเสียง crackles อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานความแตกต่างของคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดของผู้ที่สูบบุหรี่ในระดับแตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษานำร่องครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดโดยใช้ CALSA (computer aided lung sound analysis) สมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจระหว่างผู้ที่สูบบุหรี่ระดับเล็กน้อยและระดับปานกลางและศึกษาความสัมพันธ์ของคุณลักษณะเสียงปอด crackles และตัวแปรของสมรรถภาพปอดในคนสูบบุหรี่ทั้งสองกลุ่ม ศึกษาในคนสูบบุหรี่เพศชายจำนวน 20 คน อายุระหว่าง 40-60 ปี ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มที่สูบบุหรี่ระดับเล็กน้อยจำนวน 10 คน (สูบบุหรี่ 7.26±6.08 ซองปี) และกลุ่มที่สูบบุหรี่ระดับปานกลางจำนวน 10 คน (สูบบุหรี่ 32.95±4.17 ซองปี) ทำการประเมินคุณลักษณะของเสียง crackles ในปอด ประกอบด้วย 1) จำนวนเสียง crackles ต่อหนึ่งรอบการหายใจ 2) ระยะเวลาจากเริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดของคลื่นเสียง crackles จำนวน 2 คลื่นแรก และ 3) ระยะเวลาจากจุดเริ่มต้นจนถึงจุดที่มีการเปลี่ยนทิศทางของคลื่นเสียง crackles ในปอดโดยใช้ CALSA ประเมินสมรรถภาพปอดด้วยสไปโรมิเตอร์ ประกอบด้วย 1) ค่าร้อยละของความจุปอดที่กระทำแบบเร็วแรง 2) ค่าร้อยละของปริมาตรอากาศที่หายใจออกในเวลา 1 วินาทีแรก และ 3) ค่าร้อยละของสัดส่วนระหว่างความจุปอดที่กระทำแบบเร็วแรงกับค่าปริมาตรอากาศที่หายใจออกในเวลา 1 วินาทีแรก และทำการประเมินความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้าและออกด้วยเครื่องวัดแรงดันสูงสุดของการหายใจเข้าและออก ผลการศึกษาพบว่า ระยะเวลาจากจุดเริ่มต้นจนถึงจุดที่มีการเปลี่ยนทิศทางของคลื่นเสียง crackles ในผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลางมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในบริเวณผนังทรวงอกบนด้านหน้าขวา (1.18±0.41 ในกลุ่มที่สูบบุหรี่เล็กน้อย และ 1.78±0.68 มิลลิวินาทีในกลุ่มที่สูบบุหรี่ปานกลาง ( $p=0.028$ )) และผนังทรวงอกด้านหลังซ้าย (1.37±0.42 ในกลุ่มที่สูบบุหรี่เล็กน้อย และ 1.97±0.61 มิลลิวินาทีในกลุ่มที่สูบบุหรี่ปานกลาง ( $p=0.021$ )) นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างของระยะเวลาจากเริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดของคลื่นเสียง crackles จำนวน 2 คลื่นแรกระหว่างกลุ่มที่สูบบุหรี่เล็กน้อยและกลุ่มที่สูบบุหรี่ปานกลางในบริเวณผนังทรวงอกด้านหลังซ้าย (12.32±2.28 มิลลิวินาทีในกลุ่มที่สูบบุหรี่เล็กน้อย และ 14.29±1.25

มีลิวินาทิจในลุ่มที่สูบบุหรี่ปานกลาง ( $p=0.027$ ) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างคุณลักษณะเสียง crackles กับตัวแปรของสมรรถภาพปอดในผู้สูบบุหรี่ในทั้งสองกลุ่ม การศึกษานำร่องครั้งนี้สรุปได้ว่าระดับความหนักของการสูบบุหรี่ที่แตกต่างกันมีผลต่อคุณลักษณะเสียงปอด crackles ที่แตกต่างกัน

**คำสำคัญ:** การวิเคราะห์เสียงปอดด้วยคอมพิวเตอร์, คุณลักษณะเสียง crackles ในปอด, สมรรถภาพปอด, ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ, ผู้สูบบุหรี่

---

<sup>1</sup>สายวิซกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup>ศูนย์วิจัยปวดหลัง ปวดคอ ปวดข้ออื่นๆและสมรรถนะของมนุษย์ (BNOJPH) สายวิซกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

# Comparison of crackle characteristics in the lungs between mild and moderate smokers using CALSA: a pilot study

Siwimon Kaju<sup>1</sup>, Ponlapat Yonglitthipagon<sup>1</sup>, Wanida Donpunha<sup>1</sup>, Surussawadi Bennett<sup>1,2\*</sup>

## Abstract

Smoking causes inflammation of both proximal and peripheral airways and the destruction of parenchymal tissue surrounding the airways leading to obstruction and air trapping in the alveolus. This damage affects the characteristics of lung sounds, especially crackles, however there have not been any reported differences of the crackle characteristics between smokers in different smoking intensity. Therefore, this pilot study aimed to compare the characteristics of crackle lung sounds using CALSA (computer aided lung sound analysis), pulmonary function and respiratory muscle strength between mild and moderate smokers and also examine the correlation between crackle characteristics and pulmonary function test variables among both groups of smokers. Twenty male smokers age between 40 and 60 years were included in this study and divided into two groups: 10 mild smokers (7.26±6.08 pack-year) and 10 moderate smokers (32.95±4.17 pack-year). Crackle lung sound characteristics as 1) the number of crackles per breathing cycle (NCBC), 2) crackles two cycle defection (2CD) and 3) crackles initial defection width (IDW) were analyzed using CALSA. Pulmonary function test variables as 1) the percentage of force vital capacity (FVC), 2) the percentage of forced expiratory volume at one second (FEV<sub>1</sub>), and 3) a ratio between FVC and FEV<sub>1</sub> (FEV<sub>1</sub>/FVC) were examined by a spirometer. Respiratory muscle strength of inspiration and expiration was measured using respiratory muscle testing devices. The results showed that there was a significant difference in IDW between mild and moderate smokers at right anterior of chest wall (1.18±0.41 ms for mild smokers and 1.78±0.68 ms for moderate smokers ( $p=0.028$ )) and at left posterior of chest wall (1.37±0.42 ms for mild smokers and 1.97±0.61 ms for moderate smokers ( $p=0.021$ )). There was also a significant difference in 2CD at left posterior of chest wall between mild smokers (12.32±2.28) and moderate smokers (14.29±1.25 ms ( $p=0.027$ )). Moreover, there was a significantly positive correlation between crackle characteristics and pulmonary function test variables among two groups of smokers. From this pilot study it can be concluded that different intensity of smoking affects crackle characteristics differently.

**Keywords:** Computer aided lung sound analysis, Crackles characteristics, Pulmonary function, Respiratory muscle strength, Smokers

---

<sup>1</sup>School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

<sup>2</sup>Research Center in Back, Neck, Other Joint Pain and Human Performance (BNOJPH), School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

\*Corresponding author (e-mail: surmac@kku.ac.th)

## บทนำ

การสูบบุหรี่ส่งผลกระทบต่อระบบหายใจ โดยก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งโครงสร้างและความบกพร่องในการทำหน้าที่ เนื่องจากกระตุ้นกระบวนการอักเสบให้เกิดทั้งระบบและเฉพาะที่<sup>(1)</sup> ตำแหน่งที่เกิดการอักเสบเกิดการบวมจากการรวมตัวของเซลล์หลายชนิดโดยเฉพาะเม็ดเลือดขาวที่หลั่งเอนไซม์ออกมาทำลายโปรตีนต่างๆ รวมถึงอีลาสติน (elastin) และส่งผลต่อการเรียงตัวของคอลลาเจน จึงทำให้โครงสร้างบริเวณที่มีการอักเสบมีความยืดหยุ่นลดลง<sup>(1-4)</sup> โดยเฉพาะการอักเสบบริเวณถุงลม (alveoli) ที่ส่งผลให้ถุงลมมีขนาดใหญ่ขึ้นแต่จำนวนลดลง ทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนมีความบกพร่อง<sup>(1-4)</sup> การอักเสบของทางเดินหายใจหรือท่อลม (airways) ทำให้ผนังท่อลมหนาขึ้น ต่อมเมื่อมีขนาดใหญ่ขึ้น และภายในท่อลมมีการหลั่งเมือกออกมาจำนวนมาก อีกทั้งเกิดการทำลายโปรตีนและกระดูกอ่อน (cartilage) ที่ค้ำพุงท่อลม ส่งผลให้ท่อลมตีบแคบ (narrow) และอาจยุบตัว (collapse)<sup>(1-4)</sup> ซึ่งการเปลี่ยนแปลงต่างๆ นี้จะทำให้เกิดการจำกัดการไหลของอากาศ (air flow limitation) หรือการอุดตัน (obstruction)<sup>(1-4)</sup> โดยเฉพาะในท่อลมส่วนปลาย (peripheral airways) ที่มีขนาดเล็กและเกิดการอักเสบได้บ่อย<sup>(1)</sup> การไหลของอากาศที่ผ่านท่อลมที่เกิดการอุดตันก่อให้เกิดเสียงปอดที่ผิดปกติคือเสียงปอด crackles ขึ้นมาได้<sup>(5)</sup> นอกจากนี้อากาศที่หายใจเข้าไปอาจถูกเก็บกักไว้ในถุงลมเนื่องจากการหดตัวของถุงลมที่น้อยลง (elastic recoil) และท่อลมที่ยุบตัว<sup>(1-4)</sup> ทำให้ปริมาตรอากาศถูกกักภายในปอดหลังหายใจออกมีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งส่งผลให้การขยายตัวครั้งต่อไปของปอดลดลง<sup>(1)</sup> ความจุของปอดและการระบายอากาศที่ลดลงนี้เป็นสาเหตุของการหายใจลำบากและส่งผลให้สมรรถภาพปอดลดลง นอกจากนี้การสูบบุหรี่ยังยับยั้งการทำงานของซิเลีย (cilia) ส่งผลให้ของเสียคั่งค้างในปอดและก่อให้เกิดการติดเชื้อได้<sup>(6)</sup> ทั้งนี้การสูบบุหรี่ยังอาจทำให้ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจลดลงได้ เนื่องจากความบกพร่องของการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของถุงลม<sup>(1-4)</sup> ร่วมกับความบกพร่องของการขนส่งก๊าซออกซิเจนเนื่องจากภาวะหลอดเลือดแดงยืดหยุ่นน้อยลงและแข็งตัวมากขึ้น

(arterial stiffness)<sup>(7)</sup> ส่งผลให้การสร้างพลังงานที่ผนังไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ลดลง<sup>(8)</sup> การสูบบุหรี่ทำให้มีการเพิ่มระดับโปรตีนไมโอสแตติน (myostatin) ที่เพิ่มการสลายโปรตีนและยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของกล้ามเนื้อ<sup>(9,10)</sup> ส่งผลให้กล้ามเนื้อทั่วร่างกายมีขนาดเล็กลงความสามารถในการออกแรงหดตัวจึงลดลง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการสูบบุหรือนอกจากส่งผลให้เกิดเสียงปอดผิดปกติชนิด crackles ในปอดแล้วยังลดสมรรถภาพการทำงานของปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจด้วย

เสียง crackles ที่เกิดขึ้นในปอดเป็นเสียงปอดที่ผิดปกติเกิดขึ้นเนื่องจากท่อลมเกิดการอุดตันทำให้มีการปิดตัวที่ผิดปกติ เมื่อมีการหายใจผ่านท่อลมที่ปิดอย่างผิดปกติ อากาศที่ผ่านเข้าไปจะดันท่อลมที่ปิดอยู่ให้เปิดขึ้นอีกครั้งอย่างทันทีทันใด จึงก่อให้เกิดเป็นเสียงคล้ายการแตกหักซึ่งเป็นเสียงที่ไม่ต่อเนื่อง<sup>(5, 11-14)</sup> ดังนั้นเสียง crackles ในปอดจึงสามารถบ่งชี้ถึงโครงสร้างของปอดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการทำลายของบุหรี่ได้ การประเมินคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดสามารถประเมินได้โดยการใช้เครื่องคอมพิวเตอร์วิเคราะห์เสียงปอด (Computer Aided Lung Sound Analysis หรือ CALSA)<sup>(5, 11-14)</sup> โดยการใช้หูฟังดิจิทัลร่วมกับคอมพิวเตอร์ที่มีโปรแกรมบันทึกเสียงปอด (Lung sound record) และโปรแกรมวิเคราะห์เสียงปอด (Lung sound analysis) ซึ่งพัฒนาโดยศาสตราจารย์ Anna Barney และศาสตราจารย์ Paul White มหาวิทยาลัยเซาท์แฮมป์ตัน ประเทศอังกฤษ เครื่องมือนี้ให้ข้อมูลที่มีความเป็นรูปธรรม การแสดงผลเป็นข้อมูลกราฟร่วมกับตัวเลข โดยคุณ Vannucini และคณะได้รายงานว่าอัลกอริทึม (algorithm) การตรวจจับเสียง crackles ของเครื่องมือมีความไว (sensitivity) 84% และมีค่าความจำเพาะ (specificity) 89%<sup>(15)</sup> ในการวิเคราะห์เสียงปอด crackles ดังนั้น CALSA จึงเป็นเครื่องมือที่มีความน่าเชื่อถือ<sup>(16)</sup> ในการประเมินใช้เวลาไม่นาน ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก และไม่ก่อให้เกิดความอันตรายใดๆ ข้อมูลการประเมินคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดโดย CALSA ประกอบไปด้วย<sup>(5, 11-14)</sup> 1) จำนวนของเสียง crackles ต่อหนึ่งรอบการหายใจ (number crackles per

breathing cycle; NCBC) 2) ระยะเวลาจากจุดเริ่มต้นจนถึงจุดสิ้นสุดของ 2 คลื่นเสียงแรกของเสียง crackles (two cycle deflection; 2CD) ซึ่งสามารถแบ่งชนิดของเสียง crackles เป็นชนิด fine crackle (ค่า 2CD น้อยกว่า 10 มิลลิวินาที) และ coarse crackle (ค่า 2CD มากกว่า 10 มิลลิวินาที) และ 3) ระยะเวลาจากจุดเริ่มต้นการเกิดเสียงจนถึงจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงทิศทางของคลื่นเสียง crackles (initial deflection width; IDW) ใช้แยกชนิดของเสียง crackle เช่นกัน คือ fine crackle (ประมาณ 0.7 มิลลิวินาที) และค่า coarse crackle (ประมาณ 1.5 มิลลิวินาที) ดังนั้น CALSA จึงเป็นเครื่องมือที่มีความเหมาะสมในการประเมินและติดตามคุณลักษณะเสียงปอดที่ผิดปกติ<sup>(16)</sup>

การสูบบุหรี่ปริมาณมากและต่อเนื่องทำให้เกิดการอักเสบของปอดอย่างเรื้อรัง ส่งผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างของปอดอย่างรุนแรงและเกิดความบกพร่องในการทำหน้าที่เป็นอย่างมากตามมา<sup>(1, 7)</sup> โดยระดับความหนักของการสูบบุหรี่สามารถคำนวณจาก<sup>(5)</sup> (จำนวนบุหรี่ที่สูบต่อวัน (มวน)/20 X ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มสูบบุหรี่จนถึงปัจจุบัน (ปี)) ซึ่งแบ่งระดับได้ดังนี้ 1) ผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ (non-smokers) หมายถึงผู้ที่ไม่เคยสูบบุหรี่ หรือสูบ 0 ของปี 2) ผู้ที่สูบบุหรี่เล็กน้อย (mild smokers) หมายถึงผู้ที่สูบบุหรี่ 0.1-20.0 ของปี 3) ผู้ที่สูบบุหรี่ปานกลาง (moderate smokers) หมายถึงผู้ที่สูบ 20.1-40.0 ของปี และ 4) ผู้ที่สูบบุหรี่มาก (heavy smokers) หมายถึงผู้ที่สูบบุหรี่ มากกว่า 40.0 ของปี

การศึกษาก่อนหน้านี้ในผู้ที่สูบบุหรี่มากกว่า 5 มวนต่อวัน อายุ 20-35 ปี และไม่เป็นโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (chronic obstructive pulmonary disease หรือ COPD) พบว่ามีคุณลักษณะเสียงปอดที่ผิดปกติที่แบบ coarse crackle<sup>(17)</sup> ในขณะที่ค่าสมรรถภาพปอด<sup>(17, 18)</sup> และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ<sup>(18)</sup> อยู่ในเกณฑ์ปกติ แต่มีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาใดที่รายงานความสัมพันธ์และความแตกต่างของคุณลักษณะเสียงปอดที่ผิดปกติ สมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจของผู้สูบบุหรี่ที่มีระดับความหนักของการสูบบุหรี่แตกต่างกัน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา

ความแตกต่างของคุณลักษณะเสียงปอดที่ผิดปกติชนิด crackles สมรรถภาพปอด และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้าและออกของผู้สูบบุหรี่ที่ระดับความหนักเล็กน้อยและปานกลางและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะของเสียงปอด crackles และตัวแปรของสมรรถภาพปอดในคนสูบบุหรี่ทั้งสองกลุ่ม

## วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา

### อาสาสมัคร

การศึกษานี้เป็นแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) สถานที่เก็บข้อมูลเป็นห้องปิดและไม่มีเสียงดังรบกวน ทำการเก็บข้อมูลในระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2559 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2560 ทำการศึกษาในอาสาสมัครเพศชาย อายุ 40-60 ปี ที่มีความยินดีเข้าร่วมงานวิจัย โดยเกณฑ์การคัดเลือกคือ เป็นผู้สูบบุหรี่ (กลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่เล็กน้อย คือ 0.1-20.0 ของปี และกลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่ปานกลางคือ 20.1-40.0 ของปี) และไม่มีประวัติเป็นโรคปอดติดเชื้อระยะอักเสบ ทางเดินหายใจส่วนต้นและส่วนปลายติดเชื้อมาใน 4 สัปดาห์ก่อนการทดสอบ รวมไปถึงไม่มีประวัติเป็นวัณโรคปอด ปอดอุดกั้นเรื้อรัง โรคแพ้ภูมิตัวเอง โรคปอดอักเสบติดเชื้อรุนแรง หรือโรคอื่น ๆ ที่มีอาการรุนแรงและไม่สามารถควบคุมได้เมื่อให้การรักษาโดยทั่วไป หรือมีภาวะอื่นๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อทดสอบ เช่น อาการบาดเจ็บบริเวณทรวงอก หรือไม่สามารถปฏิบัติตามคำสั่งได้ ทั้งนี้โครงการวิจัยได้ผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (รหัส HE592300) และอาสาสมัครได้ลงนามยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย

### ขั้นตอนการวิจัย

ก่อนทำการเก็บข้อมูลงานวิจัยในอาสาสมัครผู้วิจัยได้เรียนรู้และฝึกฝนการใช้เครื่องคอมพิวเตอร์วิเคราะห์เสียงปอด (CALSA) จากผู้เชี่ยวชาญที่มีประสบการณ์ในการใช้เครื่องมือมากกว่า 5 ปี และผู้เชี่ยวชาญได้ลงความเห็นว่าคุณวิจัยมีความสามารถและมีความเห็นที่ตรงกันในการใช้เครื่องมือวัดประเมินและวิเคราะห์เสียงปอด เนื่องจากการวัดเสียงปอดหลายครั้ง

ติดกันจะส่งผลกระทบต่อคุณลักษณะเสียงปอด crackles<sup>(16)</sup> ผู้วิจัยจึงไม่ทดสอบหาค่าความเชื่อมั่นภายในตัวผู้วัด (intra-rater reliability) ของเครื่อง CALSA แต่ได้ทำการทดสอบความเชื่อมั่นภายในตัวผู้วัดของเครื่องประเมินสมรรถภาพปอด (spirometer) และเครื่องมือความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ (respiratory pressure meter) พบว่ามีค่า intra-class correlation coefficient (ICC) อยู่ระหว่าง 0.90–0.98

ผู้วิจัยทำการบันทึกข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครที่ผ่านเกณฑ์การคัดกรองเข้าร่วมงานวิจัย ซึ่งประกอบด้วย อายุ ส่วนสูง น้ำหนัก และประวัติการสูบบุหรี่ จากนั้นทำการประเมินคุณลักษณะเสียงปอด สมรรถภาพปอด หรือความแข็งแรงกล้ามเนื้อหายใจโดยการสุ่มลำดับ

### การตรวจประเมิน

การประเมินคุณลักษณะเสียงปอดโดยใช้เครื่อง CALSA ตามวิธีการมาตรฐานของ Computerized Respiratory Sound Analysis (CORSA)<sup>(19)</sup> ผู้วิจัยแนะนำและสาธิตวิธีการหายใจให้แก่อาสาสมัครโดยทำการหายใจเข้าและหายใจออกผ่านทางปากในระดับที่ลึกกว่าปกติเล็กน้อย จากนั้นอาสาสมัครทำการฝึกซ้อมการหายใจ 6 รอบ การหายใจ ก่อนเริ่มการทดสอบอาสาสมัครนอนพักในท่านอนหงายนาน 5 นาที จากนั้นผู้วิจัยใช้หูฟังดิจิทัลวัดบนผนังทรวงอก 6 ตำแหน่ง ได้แก่ ผนังทรวงอกบนด้านหน้า ซ้ายและขวา ผนังทรวงอกด้านข้างซ้ายและขวา ผนังทรวงอกหลังด้านหลังซ้ายและขวา ทำการบันทึกเสียงปอดตำแหน่งละ 25 วินาที วัดตำแหน่งละ 2 ครั้ง โดยให้พัก 1 นาที หลังจากการวัดแต่ละตำแหน่ง

การประเมินสมรรถภาพปอด ด้วยเครื่องสไปโรโรมิเตอร์แบบพกพา (Pony FX, Cosmed, US) ตามวิธีการมาตรฐานของ American Thoracic Society (ATS) / European Respiratory Society (ERS)<sup>(20)</sup> อาสาสมัครนั่งเก้าอี้ที่มีพนักพิง ผู้วิจัยแนะนำและสาธิตวิธีการใช้เครื่องมือและขั้นตอนการทดสอบ เมื่อเข้าใจแล้วอาสาสมัครจึงอมท่อสำหรับวัดประเมินโดยไม่ให้มีรูรั่วบริเวณริมฝีปาก และใช้คลิปหนีบจมูก แล้วจึงเริ่มการทดสอบโดยอาสาสมัครต้องหายใจเข้าและหายใจออกผ่านทาง

ทางปากในระดับการหายใจปกติ 3 รอบการหายใจ จากนั้นจึงหายใจเข้าให้ลึกมากที่สุดเท่าที่จะทำได้ แล้วหายใจออกอย่างรวดเร็วและแรงที่สุดที่สามารถทำได้จนหมด โดยขณะหายใจออกต้องพยายามเป่าลมออกให้มากที่สุดนานประมาณ 6 วินาทีโดยไม่หยุดหายใจ หลังจากนั้นจึงให้หายใจเข้าและออกในระดับปกติอีก 1 รอบการหายใจ ก่อนยุติการประเมิน การทดสอบจะทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง และพักระหว่างการทดสอบเป็นเวลา 1 นาที หรือจนกว่าจะหายใจเหนื่อย

การประเมินความแข็งแรงของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจ โดยเครื่องวัดแรงดันการหายใจ (Respiratory pressure meter หรือ RPM) ชนิดพกพา (MicroRPM, UK) ตามวิธีการมาตรฐานของ ATS/ERS<sup>(21)</sup> อาสาสมัครนั่งเก้าอี้ที่มีพนักพิงในท่าที่สบาย ผู้วิจัยแนะนำและสาธิตวิธีการใช้เครื่องมือและขั้นตอนการทดสอบ เมื่อเข้าใจแล้วอาสาสมัครจึงอมท่อสำหรับวัดประเมินให้แน่นและไม่มีรูรั่วบริเวณริมฝีปาก จากนั้นจึงวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้า โดยการหายใจออกทางจมูกให้มากที่สุดที่สามารถทำได้ แล้วใช้คลิปหนีบจมูก เสร็จแล้วให้หายใจเข้าโดยการดูดลมเข้าทางปากให้เร็วและแรงที่สุดนานประมาณ 1.5 วินาที ในทางตรงกันข้ามการวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจออก อาสาสมัครต้องหายใจเข้าทางจมูกให้มากที่สุดที่สามารถทำได้ แล้วใช้คลิปหนีบจมูก เสร็จแล้วให้หายใจออกโดยการเป่าลมออกทางปากให้เร็วและแรงที่สุดนานประมาณ 1.5 วินาที โดยการทดสอบทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้งต่อรูปแบบการหายใจ และให้พักระหว่างการทดสอบนาน 1 นาที หรือจนกว่าจะหายใจเหนื่อย

### การวิเคราะห์ข้อมูล

การเลือกข้อมูลของแต่ละตัวแปรเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลมีดังนี้ การวิเคราะห์หาตัวแปรของคุณลักษณะเสียง crackles จะเลือกจากไฟล์บันทึกเสียงที่สามารถฟังเสียงหายใจเข้าและออกได้อย่างชัดเจน และสามารถแบ่งรอบการหายใจได้ถูกต้องตรงตามการหายใจจริง ตรวจสอบผ่านการฟังเสียงหายใจ และใช้ข้อมูลของทุกตัวแปรที่ได้จากไฟล์เสียงเดียวกัน สำหรับสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจจะใช้ค่าที่ดีที่สุดของตัวแปรนั้นๆ

ทดสอบการแจกแจงของข้อมูล ด้วยสถิติ Shapiro-Wilk test พบว่า ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ จึงใช้สถิติ independent-t test เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของลักษณะข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร คุณลักษณะเสียงปอดที่ผิดปกติ สมรรถภาพปอด และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจ และนำเสนอในรูปแบบ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) และใช้สถิติ Pearson correlation เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะเสียงปอดที่ผิดปกติ crackles (NCBC, 2CD, IDW) และสมรรถภาพปอด (FVC, FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>/FVC) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 17 ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทั้งหมด และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$

## ผลการศึกษา

ลักษณะข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ยกเว้นประวัติการสูบบุหรี่ โดยพบว่ากลุ่มสูบบุหรี่น้อยมีปริมาณการสูบบุหรี่น้อยกว่ากลุ่มสูบบุหรี่ปานกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ  $7.26 \pm 6.08$  ของปีในกลุ่มสูบบุหรี่น้อย และ  $32.95 \pm 4.17$  ของปีในกลุ่มสูบบุหรี่ปานกลาง ( $p < 0.001$ )) ทั้งนี้ส่วนอายุ น้ำหนัก ส่วนสูง และดัชนีมวลกายไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง

ข้อมูลพื้นฐาน	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน		p-value
	กลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	กลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	
อายุ (ปี)	49.90±5.20 (43-59)	49.10±7.59 (40-60)	0.786
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	63.40±9.59 (50-75)	59.80±8.00 (50-77)	0.374
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	165.30±4.90 (160-175)	164.60±4.38 (157-173)	0.740
ดัชนีมวลกาย (เมตร/กิโลกรัม) <sup>2</sup>	23.20±3.36 (17.99-27.55)	22.03±2.35 (18.37-25.73)	0.381
ประวัติการสูบบุหรี่ (ซองปี)	7.26±6.08 (0.65-18.00)	32.95±4.17 (26.00-39.00)	<0.001*

\* หมายถึง มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ  $p < 0.05$

ตารางที่ 2 NCBC ของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง

ข้อมูลพื้นฐาน	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ครั้ง)		p-value
	กลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	กลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	
ผนังทรวงอกบนด้านหน้าซ้าย	4.43±2.18 (1.22-7.33)	3.85±1.67 (0.86-7.25)	0.511
ผนังทรวงอกบนด้านหน้าขวา	3.53±2.19 (1.13-7.00)	3.27±1.10 (1.00-5.00)	0.742
ผนังทรวงอกด้านข้างซ้าย	5.13±2.22 (2.50-10.00)	3.81±1.48 (1.71-6.00)	0.133
ผนังทรวงอกด้านข้างขวา	3.45±1.79 (1.75-7.20)	4.16±1.76 (1.25-7.00)	0.384
ผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย	4.61±1.99 (1.33-7.67)	3.56±1.17 (2.33-6.25)	0.171
ผนังทรวงอกหลังด้านขวา	4.41±2.22 (1.00-9.25)	4.22±1.45 (2.25-7.00)	0.825

จากข้อมูลคุณลักษณะเสียง crackles พบว่าค่า NCBC จากการตรวจวัดที่ตำแหน่งทรวงอก 6 ตำแหน่งระหว่างผู้สูบบุหรี่ที่ระดับเล็กน้อยและปานกลาง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) (ตารางที่ 2) ส่วนค่า 2CD (ตารางที่ 3) พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านซ้ายระหว่างผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย ( $12.32\pm 2.28$ ) และผู้สูบบุหรี่ปานกลาง ( $14.29\pm 1.25$ ),  $p=0.027$  แต่ที่ตำแหน่งอื่นๆ พบว่าค่า 2CD ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ส่วนคุณลักษณะเสียง crackles ชนิด IDW (ตารางที่ 4) พบว่า มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้สูบบุหรี่บริเวณผนังทรวงอกบนด้านขวาของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย ( $1.18\pm 0.41$ ) และผู้สูบบุหรี่ปานกลาง ( $1.78\pm 0.68$ ),  $p=0.028$  นอกจากนี้พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ IDW ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย ระหว่างผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย ( $1.37\pm 0.42$ ) และผู้สูบบุหรี่ปานกลาง ( $1.97\pm 0.61$ ),  $p=0.021$

ผลการตรวจวัดค่าสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลางแสดงในตารางที่ 5 ผลการทดสอบทางสถิติพบว่าค่าสมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจเข้าและออกอยู่ในเกณฑ์ปกติ<sup>(22)</sup> และ ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม ( $p>0.05$ )

เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะเสียง crackles และค่าสมรรถภาพปอดของผู้สูบบุหรี่ (ตารางที่ 6) พบว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง ( $r = 0.45-0.69$ ) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) โดยคุณลักษณะเสียง crackles ชนิด NCBC มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ %FVC ส่วนค่า 2CD มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า %FVC และ %FEV<sub>1</sub> และค่า IDW มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ %FVC และ %FEV<sub>1</sub> ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ของตัวแปรอื่นที่นอกเหนือจากนี้

**ตารางที่ 3** 2CD ของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง

ข้อมูลพื้นฐาน	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิวินาที)		p-value
	กลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	กลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	
ผนังทรวงอกบนด้านหน้าซ้าย	12.53±1.96 (10.52-16.42)	14.16±2.08 (10.49-17.05)	0.88
ผนังทรวงอกบนด้านหน้าขวา	12.68±1.54 (10.04-14.66)	13.41±2.45 (9.81-17.27)	0.438
ผนังทรวงอกด้านข้างซ้าย	13.33±1.61 (10.29-15.56)	13.21±1.01 (11.17-14.41)	0.837
ผนังทรวงอกด้านข้างขวา	13.44±2.23 (9.66-16.14)	13.88±1.62 (11.47-16.31)	0.623
ผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย	12.32±2.28 (9.43-16.05)	14.29±1.25 (12.69-15.75)	0.027*
ผนังทรวงอกหลังด้านขวา	13.05±2.19 (9.13-16.39)	14.04±1.91 (12.05-16.70)	0.295

\* หมายถึง มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ  $p < 0.05$

**ตารางที่ 4** IDW ของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง

ข้อมูลพื้นฐาน	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิวินาที)		p-value
	กลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	กลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	
ผนังทรวงอกบนด้านหน้าซ้าย	1.34±0.39 (0.79-2.29)	1.78±0.70 (0.99-3.04)	0.105
ผนังทรวงอกบนด้านหน้าขวา	1.18±0.41 (0.76-2.20)	1.78±0.68 (0.87-2.59)	0.028*
ผนังทรวงอกด้านข้างซ้าย	1.61±0.63 (0.98-2.76)	1.77±0.59 (1.03-2.62)	0.570
ผนังทรวงอกด้านข้างขวา	1.77±0.61 (0.96-2.88)	2.01±0.61 (1.03-2.66)	0.397
ผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย	1.37±0.42 (0.92-2.47)	1.97±0.61 (1.03-2.80)	0.021*
ผนังทรวงอกหลังด้านขวา	1.34±0.60 (0.67-2.40)	1.89±0.71 (1.01-2.97)	0.077

\* หมายถึง มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ  $p < 0.05$

## สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษานำร่องครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความแตกต่างของคุณลักษณะเสียงปอดที่ผิดปกติชนิด crackles สมรรถภาพปอด และความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจระหว่างผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะของเสียงปอด crackles และตัวแปรของสมรรถภาพปอดในคนสูบบุหรี่ทั้งสองกลุ่ม ผลการศึกษาคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่า 2CD และ IDW บริเวณผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย และบริเวณผนังทรวงอกบนด้านหน้าขวา ระหว่างผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง นอกจากนี้พบความสัมพันธ์เชิงบวกระดับปานกลางระหว่างคุณลักษณะเสียงปอด crackles (NCBC, 2CD, IDW) และสมรรถภาพปอด (FVC, FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>/FVC) ในตำแหน่งผนังทรวงอกบนด้านหน้าซ้าย ผนังทรวงอกด้านข้างซ้าย ผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย และผนังทรวงอกหลังด้านขวา

จากผลการศึกษาคุณลักษณะเสียง crackles ในปอดในผู้สูบบุหรี่ที่มีความหนักของการสูบบุหรี่ต่างกันครั้งนี้พบว่าจำนวนของ crackles ที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มในทุกตำแหน่งที่ทำการประเมิน จึงเป็นไปได้ที่การสูบบุหรี่ก่อให้เกิดการอักเสบและการปิดตัวของท่อลมที่ผิดปกติได้ไม่ต่างกันแม้จะมีความหนักของการสูบบุหรี่เพิ่มขึ้น แต่ทั้งนี้พบว่าค่า 2CD และ IDW ในบางตำแหน่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าที่ผนังทรวงอกบนด้านหน้าขวาและหลังซ้ายเท่านั้นเมื่อสังเกตค่า 2CD ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (มีค่าเฉลี่ย 12.32 มิลลิวินาที) ต่ำกว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (มีค่าเฉลี่ย 14.29 มิลลิวินาที) รวมถึงค่า IDW ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยที่ตำแหน่งบนด้านหน้าขวา (ค่าเฉลี่ย 1.18 มิลลิวินาที) และหลังซ้าย (เฉลี่ย 1.37 มิลลิวินาที) ซึ่งมีค่าน้อยกว่าในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (เฉลี่ย 1.78 และ 1.97 มิลลิวินาที) แสดงว่ามีแนวโน้มจะเป็นลักษณะเสียง crackles แบบ fine crackle ได้ต่อไป (2CD น้อยกว่า 10 มิลลิวินาที และ IDW ประมาณ 0.7 มิลลิวินาที) แต่ในขณะที่กลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลางมีแนวโน้มลักษณะเสียง crackles เป็นแบบ coarse crackle เพราะค่า 2CD มากกว่า 10

มิลลิวินาทีและค่า IDW ประมาณ 1.5 มิลลิวินาที ชนิดของ crackles ที่ต่างกันบ่งชี้ถึงแหล่งกำเนิดเสียงที่แตกต่างกัน โดยท่อทางเดินหายใจที่มีขนาดเล็กจะทำให้ระยะเวลาการเกิดเสียงสั้นลง ดังนั้นหากต้นกำเนิดเสียงคือท่อลมขนาดเล็กที่อยู่ส่วนปลาย

มากกว่าจะมีระยะเวลาการเกิด 2CD และ IDW ที่น้อยกว่า ในทางตรงกันข้ามหากท่อทางเดินหายใจที่มีขนาดใหญ่จะทำให้ระยะเวลาการเกิดเสียงยาวขึ้น ดังนั้นหากแหล่งกำเนิดเสียงคือท่อลมที่ขนาดใหญ่กว่าหรืออยู่ส่วนต้นมากกว่า จะมีระยะเวลาการเกิด 2CD และ IDW ที่นานกว่า<sup>(11-14)</sup> ดังนั้น fine crackle ที่พบในกลุ่มผู้สูบบุหรี่น้อย อาจเกิดจากกระบวนการอักเสบและการทำลายที่เกิดขึ้นในท่อทางเดินหายใจขนาดเล็กส่วนปลาย ในขณะที่ผู้สูบบุหรี่ปานกลางมีแนวโน้มเกิด coarse crackle แสดงให้เห็นว่ากระบวนการอักเสบและการทำลายอาจเกิดขึ้นในท่อทางเดินหายใจขนาดใหญ่ส่วนต้น แต่อย่างไรก็ตามกลไกหรือสาเหตุที่จะมาอธิบายว่าทำไมการสูบบุหรี่ในระดับเล็กน้อยจึงมีผลต่อระบบหายใจส่วนปลาย ขณะที่การสูบบุหรี่ปานกลางหรือมากกว่าจะมีผลต่อทางเดินหายใจส่วนต้นยังไม่ชัดเจน ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้มีความแตกต่างกับการศึกษาก่อนหน้าของ Alzahrani ในปี ค.ศ. 2011<sup>(17)</sup> ที่ทำการศึกษาพบว่าคุณลักษณะเสียงปอด crackles ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (สูบบุหรี่น้อยกว่า 5 มวนต่อวัน) และสูบบุหรี่มาก (สูบบุหรี่อย่างน้อย 15 มวนต่อวัน) ที่มีอายุระหว่าง 20-35 ปี โดยให้เหตุผลว่าการทำลายปอดของบุหรี่ยังขึ้นอยู่กับระดับความหนักของการสูบบุหรี่ และระดับความหนักของการสูบบุหรี่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับอายุ เนื่องจากกลุ่มอาสาสมัครมีอายุไม่มาก จึงมีระยะเวลาของการสูบบุหรี่ค่อนข้างน้อย ทั้งนี้ยังไม่มีการรายงานถึงระดับความหนักของการสูบบุหรี่ที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณลักษณะเสียงปอด แต่มีการรายงานถึงระดับความหนักของการสูบบุหรี่ที่มากกว่า 40 ซองปี ที่ทำให้สมรรถภาพปอดลดลงอย่างชัดเจน<sup>(1)</sup>

การสูบบุหรี่ทำให้สมรรถภาพการทำงานของปอดลดลงได้ เนื่องจากก่อให้เกิดการอักเสบของท่อลม ส่งผลให้เกิดการตีบแคบและการยุบตัว การระบายอากาศจึงทำได้

ลดลง<sup>(1, 2, 3, 4)</sup> นอกจากนี้การอักเสบบริเวณถุงลมทำให้ถุงลมมีขนาดที่ใหญ่ขึ้นแต่มีจำนวนที่ลดลง ความยืดหยุ่นลดลงเมื่อหายใจเข้าถุงลมสามารถขยายตัวใหญ่ขึ้น แต่การหายใจออกมีอากาศไหลออกได้น้อย เนื่องจากแรงดึงกลับของเส้นใยอีลาสตินที่ลดลงร่วมกับท่อลมที่ยุบตัว จึงทำให้เกิดการกักเก็บอากาศในถุงลม (air trapping) หากถุงลมมีการกักเก็บลมเอาไว้มากจนไม่สามารถระบายเอาออกได้ จะทำให้ปอดมีปริมาตรของอากาศหลังการหายใจออกเพิ่มขึ้น ปอดขยายใหญ่ขึ้น (hyperinflation) ส่งผลให้ปอดรับปริมาตรอากาศของการหายใจครั้งต่อไปได้ลดลง ความจุปอดจึงลดลง<sup>(1)</sup> อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของสมรรถภาพปอด ระหว่างกลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง ซึ่งการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Alzahrani<sup>(17)</sup> ที่รายงานว่า ผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (สูบบุหรี่น้อยกว่า 15 มวนต่อวัน) จำนวน 16 คน และผู้สูบบุหรี่มาก (สูบบุหรี่อย่างน้อย 15 มวนต่อวัน) จำนวน 14 คน มีสมรรถภาพปอดที่ไม่ต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hasan และคณะ<sup>(18)</sup> ในปี ค.ศ. 2013 ที่รายงาน

ว่าไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของผู้ที่สูบบุหรี่เล็กน้อย (สูบบุหรี่น้อยกว่า 15 มวนต่อวัน) จำนวน 109 คน และผู้ที่สูบบุหรี่มาก (สูบบุหรี่อย่างน้อย 15 มวนต่อวัน) จำนวน 239 คน โดยสาเหตุที่ทำให้ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มอาจเนื่องมาจากทั้งสองการศึกษาก่อนหน้านี้มีความหนักของการสูบบุหรี่ที่น้อย คือเมื่อคำนวณความหนักของการสูบบุหรี่ร่วมกับจำนวนปีที่สูบบุหรี่หรือคำนวณแบบ ซองปี จะพบว่าอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มของทั้งสองการศึกษาก่อนหน้านี้จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน คือเป็นผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (สูบบุหรี่น้อยกว่า 20 ซองปี) ในขณะที่การศึกษานำร่องครั้งนี้มีจำนวนอาสาสมัครที่น้อย หากทำการศึกษาในอาสาสมัครที่มีจำนวนมากขึ้น อาจช่วยยืนยันผลการศึกษาที่สะท้อนการเปลี่ยนแปลงที่แท้จริง แต่อย่างไรก็ตามทั้งการศึกษานี้และสองการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสมรรถภาพปอดของผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (สูบบุหรี่ 20.1-40.0 ซองปี) และผู้สูบบุหรี่มาก<sup>(17,18)</sup> (สูบบุหรี่อย่างน้อย 15 มวนต่อวัน) มีแนวโน้มลดลงต่ำกว่าผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (สูบบุหรี่ 0.1-20.0 ซองปี หรือสูบบุหรี่น้อยกว่า 15 มวนต่อวัน)

**ตารางที่ 5** สมรรถภาพปอดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อยและผู้สูบบุหรี่ปานกลาง

ข้อมูลพื้นฐาน	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน		p-value
	กลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	กลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลาง (n=10) (ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด)	
FVC (ทำนายร้อยละ)	88.60±16.60 (63-115)	89.70±13.45 (75-123)	0.872
FEV <sub>1</sub> (ทำนายร้อยละ)	85.00±17.33 (57-114)	93.80±28.52 (74-170)	0.415
FEV <sub>1</sub> /FVC (ร้อยละ)	95.10±9.64 (81-116)	99.00±9.74 (85-115)	0.380
MIP (เซนติเมตรน้ำ)	94.06±22.60 (60-13)	101.70±37.92 (54-164)	0.617
MEP (เซนติเมตรน้ำ)	100.10±26.81 (77-165)	123.00±36.78 (78-182)	0.129

**ตารางที่ 6** ความสัมพันธ์ระหว่างคุณลักษณะเสียงปอด crackles และสมรรถภาพปอดของผู้สูบบุหรี่

ตัวแปร	r	p value
NCBC ตำแหน่งผนังทรวงอกบนด้านซ้าย และ FVC	0.452	0.045*
Crackle 2CD ตำแหน่งผนังทรวงอกบนด้านซ้าย และ FVC	0.453	0.045*
Crackle 2CD ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านขวา และ FVC	0.653	0.002*
Crackle 2CD ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านขวา และ FEV <sub>1</sub>	0.504	0.023*
Crackle IDW ตำแหน่งผนังทรวงอกบนด้านซ้าย และ FEV <sub>1</sub>	0.507	0.023*
Crackle IDW ตำแหน่งผนังทรวงอกด้านข้างซ้าย และ FEV <sub>1</sub> /FVC	0.447	0.048*
Crackle IDW ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย และ FVC	0.518	0.019*
Crackle IDW ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านซ้าย และ FEV <sub>1</sub>	0.592	0.006*
Crackle IDW ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านขวา และ FVC	0.691	0.001*
Crackle IDW ตำแหน่งผนังทรวงอกหลังด้านขวา และ FEV <sub>1</sub>	0.664	0.001*

เนื่องจากบุหรี่ยังส่งผลกระทบต่อหลายระบบร่วมกัน จึงทำให้เกิดความผิดปกติของระดับไขมันในเลือด ในผู้ที่สูบบุหรี่ คือมีการเพิ่มขึ้นของระดับคลอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และไขมันชนิดไม่ดี (low-density lipoprotein หรือ LDL) แต่ระดับไขมันชนิดดี (high-density lipoprotein หรือ HDL) กลับลดต่ำลง จึงกระตุ้นให้เกิดกระบวนการอักเสบบริเวณผนังของหลอดเลือดแดง ซึ่งกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาว (macrophage) มารวมตัวเพื่อยับยั้งกระบวนการอักเสบ โดยการกินไขมันที่ไม่ดีเข้าไป และกลายเป็นโฟมเซลล์ สะสมตัวเป็นพลาจ (Plaque) อยู่ใต้ผนังหลอดเลือดแดง จึงส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อของผนังหลอดเลือด (endothelial cell) สูญเสียการทำงาน (dysfunction) และทำให้หลอดเลือดแดงเกิดการตีบแคบลง<sup>(7)</sup> อีกทั้งสารไนโคตินจากบุหรี่ยังส่งผลให้ระดับไนตริกออกไซด์ (nitric oxide หรือ NO) ลดต่ำลง จึงทำให้ขาดผู้ช่วยในการขยายตัวของหลอดเลือดและขาดตัวยับยั้งกระบวนการอักเสบ ทำให้การอักเสบของ

หลอดเลือดเรื้อรังและหลอดเลือดการตีบแคบ<sup>(7)</sup> ส่งผลให้เกิดความบกพร่องในการขนส่งออกซิเจน ดังก่อนหน้าที่บุหรี่ยังทำให้เกิดการอักเสบของถุงลม ส่งผลให้มีขนาดใหญ่ขึ้นแต่จำนวนน้อยลง ดังนั้นพื้นที่สำหรับการแลกเปลี่ยนก๊าซจึงลดลง<sup>(1, 2, 3, 4)</sup> นอกจากนี้บุหรี่ยังส่งผลกระทบต่อลดปริมาณหลอดเลือดมาแลกเปลี่ยนก๊าซบริเวณถุงลม<sup>(1)</sup> ร่วมกับที่ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide หรือ CO) จากควันบุหรี่ยังมีความสามารถในการจับกับ ฮีโมโกลบิน (hemoglobin หรือ Hb) ได้ดีกว่าก๊าซออกซิเจน (oxygen หรือ O<sub>2</sub>) ประมาณ 200 เท่า<sup>(23)</sup> ดังนั้นจึงเกิดความบกพร่องของการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจน จากกระบวนการทั้งหมดนี้ส่งผลให้การสร้างพลังงานโดยไมโทคอนเดรียมีความบกพร่อง<sup>(8)</sup> ดังนั้นพลังงานที่สร้างได้จึงน้อยลง ร่วมกับการสูบบุหรี่ส่งผลให้ระดับโปรตีนไมโอสแตตินในกล้ามเนื้อเพิ่มสูงขึ้น จึงเกิดการสลายโปรตีนร่วมกับยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ส่งผลให้ขนาดกล้ามเนื้อเล็กลง<sup>(9, 10)</sup> เมื่อขนาดกล้ามเนื้อลดลงร่วมกับความบกพร่องของ

การสร้างพลังงานจึงส่งผลให้การสร้างแรงในการหดตัว (strength) ของกล้ามเนื้อลดลงซึ่งรวมถึงกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจ โดยผลจากการศึกษาพบว่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยค่าแรงดันการหายใจเข้าสูงสุด (maximum inspiratory pressure หรือ MIP) ไม่แตกต่างระหว่างกลุ่มซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hasan และคณะ<sup>(18)</sup> อย่างไรก็ตาม การศึกษาก่อนหน้านี้พบความแตกต่างของแรงดันการหายใจออกสูงสุด (maximum expiratory pressure หรือ MEP) ซึ่งสะท้อนถึงระดับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหายใจออกที่ลดต่ำลง ระหว่างกลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย (สูบบุหรี่ 8.7 มวนต่อวัน) จำนวน 109 คน และผู้สูบบุหรี่มาก (สูบบุหรี่ 19.8 มวนต่อวัน) จำนวน 239 คน เพศชาย ที่มีช่วงอายุระหว่าง 18-25 ปี ที่พบว่าค่าแรงดันสูงสุดขณะหายใจออกของผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย ( $90.69 \pm 23.67$  เซนติเมตรน้ำ) ต่างจากผู้สูบบุหรี่มาก ( $82.71 \pm 33.91$  เซนติเมตรน้ำ) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย ( $100.10 \pm 26.81$  เซนติเมตรน้ำ) และผู้สูบบุหรี่ปานกลาง ( $123.00 \pm 36.78$  เซนติเมตรน้ำ) ในทางตรงกันข้ามผลการศึกษานี้แสดงค่า MEP ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ปานกลางสูงกว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่เล็กน้อย ซึ่งขัดแย้งกับทฤษฎี<sup>(1-4, 7-10, 23)</sup> และการศึกษาของก่อนหน้า<sup>(18)</sup> ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาสาสมัครในการศึกษานี้มีจำนวนน้อยและอาจจะไม่เพียงพอที่จะสะท้อนการเปลี่ยนแปลงที่แท้จริง จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันผลการเปลี่ยนแปลงนอกจากนี้ผลการศึกษานี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับปานกลาง ( $r=0.447-0.691$ ) ระหว่างคุณลักษณะเสียง crackles และค่าสมรรถภาพ โดยพบว่าค่า NCBC, crackle IDW และ crackle 2CD แปรผันตามกับค่า %FVC ส่วนค่า IDW และ crackle 2CD แปรผันตามกับค่า %FEV<sub>1</sub> และค่า IDW แปรผันตามกับค่า %FEV<sub>1</sub>/FVC ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในผู้สูบบุหรี่ระดับเล็กน้อยและปานกลาง เป็นไปได้ว่าการที่มีปริมาตรปอดที่เพิ่มขึ้น จะทำให้ลมผ่านไปยังท่อลมหรือถุงลมที่ปิดมากขึ้นอาจทำให้เกิดเสียง crackles มากขึ้นและเป็น crackles แบบ coarse crackle แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ครั้งนี้ ถึงแม้จะเป็นการศึกษานำร่องในกลุ่มผู้สูบบุหรี่

ในประเทศไทย และได้นำเครื่องมือการตรวจวัดเสียงปอดที่ผิดปกติด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ให้ความน่าเชื่อถือมากกว่าการตรวจด้วยหูฟังธรรมดา น่าจะเป็นแนวทางอีกทางในงานวิจัยที่ทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและแม่นยำ และสามารถนำมาวิเคราะห์ทางสถิติได้ทางคลินิกในภายภาคหน้าและยังนำมาพร้อมกับการตรวจสมรรถภาพการทำงานของปอดในรูปแบบอื่นๆ เพื่อเป็นประโยชน์ทางคลินิกและงานวิจัยทางกายภาพบำบัดต่อไปในอนาคต

ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือไม่มีการประเมินสภาพของระบบหายใจด้านอื่น เช่น ประวัติการไอ เสมหะ การหอบเหนื่อย การออกกำลังกาย และอื่นๆ ที่อาจมีความแตกต่างกันในแต่ละบุคคล ดังนั้นการศึกษาในอนาคตควรพิจารณาการประเมินตัวแปรต่างๆ เหล่านี้ร่วมด้วย

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ คุณรานี แสงจันทร์นวล หัวหน้าหน่วยบริการปฐมภูมิสามเหลี่ยม ที่อนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกด้านสถานที่และการเชิญชวนอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย และสุดท้ายขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่านที่ให้ความสนใจเข้าร่วมโครงการวิจัยและให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูลเป็นอย่างดี

### เอกสารอ้างอิง

1. Weinberger SE, Cockrill BA, Mandel J. Principles of Pulmonary Medicine: 5th (fifth) Edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009.
2. Hogg JC, Wright JL, Wiggs BR, Coxson HO, Opazo Saez A, Paré PD. Lung structure and function in cigarette smokers. Thorax. 1994; 49(5): 473-8.
3. Saetta M, Turato G, Maestrelli P, Mapp CE, Fabbri LM. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2001; 163(6): 1304-9.

4. Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J.* 2003; 22(4): 672-88.
5. Sovijarvi ARA, Dalmaso F, Vanderschoot J, Malmberg LP, Righini G, Stoneman SAT. Definition of terms for applications of respiratory sounds. *Eur Respir Rev* 2000; 10: 597-610.
6. Leopold LP, O'Mahony MJ, Lian XJ, Tilley AE, Harvey BG, Crystal RG. Smoking Is Associated with Shortened Airway Cilia. *PLoS One.* 2009; 4(12): e8157.
7. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43(10): 1731-7.
8. Toorn MVD, Slebos DJ, Bruin HGD, Leuvenink HG, Bakker SJL, Gans ROB. Cigarette smoke-induced blockade of the mitochondrial respiratory chain switches lung epithelial cell apoptosis into necrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007; 292: L1211-L1218
9. Degens H, Gayan-Ramirez G, Hees HWHV. Smoking-induced Skeletal Muscle Dysfunction From Evidence to Mechanisms. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015; 191(6): 620-5
10. Petersen AMW, Magkos F, Atherton P, Selby A, Smith K, Rennie MJ. Smoking impairs muscle protein synthesis and increases the expression of myostatin and MAFbx in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293(3): E843-E848.
11. Pasterkamp H, Kraman SS, Wodicka GR. Respiratory sounds—advances beyond the stethoscope. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 974-87.
12. Rossi M, Sovijarvi A, Piirila P, Vannuccini L, Dalmaso F, Vanderschoot J. Environment and subject conditions and breathing manoeuvres for respiratory sound recording. *Eur Respir Rev.* 2000; 10(77): 611-5.
13. Piirila P, Sovijarvi ARA. Crackles: recording, analysis and clinical significance. *Eur Respir J.* 1995; 8: 2139-48.
14. Sovijarvi ARA, Malmberg LP, Charbonneau G, Vanderschoot J, Dalmaso F, Sacco C, et al. Characteristics of breath sounds and adventitious respiratory sounds. *Eur Respir Rev* 2000; 10: 591-6.
15. Vannuccini L, Rossib M, Pasqualic G. A new method to detect crackles in respiratory sound. *Technology and health care.* 1998; 6(1): 75-9.
16. Marques A. The use of computer aided lung sound analysis to characterise adventitious lung sounds: a potential outcome measure for respiratory therapy. [Ph.D. Thesis in Health science]. Southampton: University of Southampton; 2008.
17. Alzahrani M. Quantifying crackles in the lung of smoking and non-smoking young adults. [Ph.D. Thesis in Health science]. Southampton: University of Southampton; 2011.
18. Hasan S, Rakkah NIAV, Attaur-Rasool S. Effect of smoking on respiratory pressure and lung volume in young adults. *Biomedica.* 2013; 29: 96-100.
19. Rossi M, Sovijarvi A, Piirila P, Vannuccini L, Dalmaso F, Vanderschoot J. Environment and subject conditions and breathing manoeuvres for respiratory sound recording. *Eur Respir Rev.* 2000; 10(77): 611-5.

20. Miller MR, Hankinson JA, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26(2): 319-38
21. American Thoracic Society/European Respiratory Society. ATS/ERS statement on respiratory muscle testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 518-624.
22. Bokov P, Delclaux C. Interpretation and use of routine pulmonary function tests: Spirometry, static lung volumes, lung diffusion, arterial blood gas, methacholine challenge test and 6-minute walk test. *Rev Med Interne*. 2016; 37(2): 100-10.
23. Alonso JR, Cardellach F, López S, Casademont J, Miró O. Carbon Monoxide Specifically Inhibits Cytochrome C Oxidase of Human Mitochondrial Respiratory Chain. *BCPT*. 2003; 93(3): 142-6.



## ผลของการฝึกเดินรองเงืงแบบประยุกต์ต่อการทรงตัวในผู้สูงอายุในชุมชน

เทอดขวัญ ปลุกวงษ์ชื่น<sup>1\*</sup> จิตติมา แซงฮ่อ<sup>2</sup> ณิชชญา มิ่งแก้ว<sup>3</sup>

Received: October 10, 2017

Revised: March 4, 2018

Accepted: March 14, 2018

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการทรงตัวแบบไดนามิกระหว่างกลุ่มที่ได้รับการรักษาเชิงอนุรักษ์และกลุ่มที่ได้รับการฝึกเดินรองเงืงแบบประยุกต์ในผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในชุมชน วิธีการ: ผู้สูงอายุที่อาศัยอยู่ในชุมชนจำนวน 36 คน ได้รับการสุ่มแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับการรักษาเชิงอนุรักษ์ 18 คน และ อีก 18 คนอยู่ในกลุ่มฝึกเดินรองเงืงแบบประยุกต์ โดยผู้เข้าร่วมที่ได้รับการฝึกเดินรองเงืงแบบประยุกต์จะได้รับโปรแกรมทำเดินรองเงืงแบบประยุกต์ฝึก 3 ครั้ง/สัปดาห์ จำนวน 3 สัปดาห์ โดยตัวแปรหลัก คือ timed up and go test และแบบประเมิน dynamic gait index โดยจะวัดที่ก่อนการฝึกและวัดซ้ำอีกครั้งที่ 2 สัปดาห์และที่ 3 สัปดาห์ ผลการศึกษา: จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการฝึกที่ 3 สัปดาห์ในทั้งสองกลุ่ม โดยมีการใช้เวลาที่น้อยลงเมื่อประเมินโดยใช้ timed up and go test และมีการเพิ่มขึ้นของคะแนนในแบบประเมิน dynamic gait index ในทั้งสองกลุ่ม แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มก็พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในตัวแปร time up and go test ( $p$ -value= 0.015) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในตัวแปร dynamic gait index ( $p$ -value= 0.607) สรุปการศึกษา: การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการฝึกเดินรองเงืงแบบประยุกต์ให้ผลในการปรับปรุงการทรงตัวมากกว่าการฝึกเชิงอนุรักษ์

**คำสำคัญ:** รองเงืงแบบประยุกต์, ผู้สูงอายุในชุมชน, Dynamic balance, Time up and go test, Dynamic gait index

<sup>1</sup>ภาควิชากายภาพบำบัด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

<sup>2</sup>หน่วยกายภาพบำบัด กลุ่มงานเวชกรรมฟื้นฟู โรงพยาบาลชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ ชุมพร

<sup>3</sup>หน่วยกายภาพบำบัด โรงพยาบาลสิเกา ตรัง

\*ผู้รับผิดชอบบทความ



## Effect of modified Ronggeng practice on dynamic balance in community-dwelling elderly people

Theardkwan Plukwongchuen<sup>1\*</sup>, Thitima Senghora<sup>2</sup>, Natchaya Mingkaew<sup>3</sup>

### Abstract

Objective of this study is to compare the dynamic balance between a conventional group and a modified Ronggeng dance group in community-dwelling elderly people. Thirty-six community-dwelling elderly people were randomized into two groups, 18 elderly people in a conventional group and 18 elderly people in a modified Ronggeng dance group. The modified Ronggeng dance group were additionally given a modified Ronggeng dance program three times per week for 3 weeks. The main outcome measurements were time up and go test and dynamic gait index, all of which were measured before training the program and re-measured at 2 weeks and 3 weeks. The results showed a significant difference between before training and post-training at 3 weeks in both groups. There was a decrease in the timed up and go test and increased scores in the dynamic gait index in both groups. However, when compare between groups, there was a significant difference in timed up and go test ( $p$ -value = 0.015) but no significant difference in the dynamic gait index ( $p$ -value = 0.607). In conclusion, elderly receiving additional the modified Ronggeng dance in the present study showed more improvement than elderly receiving conventional training.

**Keywords:** Modified Ronggeng dance, Community-dwelling elderly people, Dynamic balance, Time up and go test, Dynamic gait index

---

<sup>1</sup>Department of Physical Therapy, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand

<sup>2</sup>Physical Therapy Unit, Physical medicine and rehabilitation, Chumphonkhetudomsakdi Hospital, Chumphon, Thailand

<sup>3</sup>Physical Therapy Unit, Sikao Hospital, Trang, Thailand

\*Corresponding author (e-mail: stheardk@medicine.psu.ac.th)

## Introduction

The number of persons over the age of 60 years has increased since the turn of the century which brings to aging society. Based on data from the survey of elderly in Thailand, the number of elderly individuals is estimated to be more than 10.7 million in 2015<sup>(1)</sup>. This is a result of advances in medical treatment and health policies which result in elderly individuals being both more numerous and more likely to live longer.

The elderly have changes in many physiological systems from the degeneration muscle strength and endurance, proprioception, flexibility, control of movement, physical endurance, and vestibular function<sup>(2)</sup>. So, it can effect to balance that leads to fall.

Falls is one of the main problems of elderly individuals<sup>(3)</sup>. In Thailand, one study found that almost 20% of elderly individuals had a history of at least one fall in the previous six months<sup>(4)</sup>. Falling causes injuries and had to be admitted to hospital and died a short time later<sup>(5)</sup>. Furthermore, elderly people who have had a fall can lose the ability to perform the normal activities of daily living, and the fear of falling can have impacts on not only himself or herself, but his or her family and society<sup>(4, 6)</sup>. So, falls in the elderly impacted to quality of life who are associated. Exercise is recommended as one way to help to improve balance and prevent falls in the elderly individuals<sup>(7)</sup>. There are many types of exercise such as resistance, endurance, balance, aquatic, and feedback training. In the elderly, exercise should focus on balance and coordination training with specific attention to the large muscles in both upper and lower limbs which contract and relax

continuously through the day<sup>(8)</sup>, functioning to maintain stability and simultaneously e.g. Ronggeng dance

The Ronggeng dance is a native folk art in southern Thailand which consists of a series of slow, continuous movements of every body part. It involves a step forward, a step backward with one leg stand together with the movement of the arms to the beat of the music at the same time. The Ronggeng dance is a type of non-vigorous and gentle movement. Moreover, Ronggeng movements incorporate elements of strengthening in the upper and lower limbs and trunk, balance, postural alignment, functional coordination of the muscles and nervous system and concentration. However some Ronggeng dance gestures are difficult in the elderly. So, this study applied some gestures to appropriate for the community dwelling elderly. To date there has been no studies on the effects of Ronggeng dance on dynamic balance. Thus, this study was undertaken to study the effects of modified Ronggeng dance on dynamic balance in elderly people.

## Materials and methods

### Inclusion criteria

Thirty-six people were active volunteers which were recruited from the community of Phattalung in southern Thailand between Septembers and October 2016. The inclusion criteria were: 1) age ranges from 60 to 75 years old, 2) ability to communicate and follow instructions, 3) ability to independently walk without a walking aid, and. A potential participant was excluded if they had any of the following 10 conditions: 1) having had a bone fracture in the previous 6 months, 2) having had a fall in the

previous 6 months, 3) having participated in an exercise program that influences balance, e.g. Tai chi, Chi-gong, or Yoga, and Ronggeng dance in the previous 6 months, 4) dynamic gait index score of less than 19, 5) timed up and go test score of more than 20 seconds, 6) having cognitive impairment as assessed by a Mini Mental State Examination-Thai (MMSE-Thai) score <24, 7) having knee osteoarthritis as assessed by an Oxford Knee Score <20, 8) having a history of vertigo, 9) having osteoporosis or a risk of osteoporosis score <-4, or 10) having visual problem that could not be corrected with eyeglasses. After that, all participants picked up a paper in the sealed envelope which were allocated into either the modified Ronggeng dance (n=18) or the control (n=18) group. This study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Faculty of Medicine of Prince of Songkla University (Rec.56-433-11-2). A written description of the study and informed consent was signed before starting the program.

### **Assessment**

All participants were assessed and trained at the Public Health Center, Phattalung, Thailand. Participants completed a health status questionnaire providing information on age, gender, height, weight, marital status, residential status, medical history, current coexisting medical conditions, self-reported history of imbalance, and use of prescription medications. To evaluate the cognitive functions and severity of knee osteoarthritis and/or osteoporosis, we used the Mini-Mental State Examination: Thai version (MMSE-Thai 2002), Oxford Knee Score, and Osteoporosis Self-Assessment Tool for Asians (OSTA) index, respectively. This information was used to characterize the

demographics and health status of the subjects participating in the study.

All participants was assessed by community physical therapists who have experienced more than 20 years. Intra-rater in this study of TUG and DGI are 0.98 and 0.97. All participants were assessed using the timed up and go test and the dynamic gait index before starting the program and re-measured at 2 weeks and 3 weeks.

This study used the timed up and go test, which was developed originally as a clinical measure of balance in elderly people. A 3-m distance was marked off on the floor in front of a firm chair with arms, with a large cone placed on a marker at the end of the 3 m. The test began with each participant sitting, back against the chair, arms resting on the lap, and feet just behind the distance-marker on the floor. The participant was instructed as follows: "On the word 'go,' stand up, walk a distance of 3 m, turn, walk back to the chair, and sit down." They were informed that the trial would be timed and the time recorded in seconds. Timing began on the word "go" and ended when the participant's back was resting against the chair upon returning. During the test, the participant wore their routine shoes. No physical assistance was permitted. Data obtained during 3 recorded trials were averaged for use in data analysis.

The dynamic gait index was used to assess balance during various gait functions. A 6-m distance was marked off on the floor. The test has been shown to have a very good intrarater and interrater reliability for single items and total score<sup>(9)</sup>. It is comprised of 8 different gait tasks including gait on level surface, gait while changing gait velocities, gait with vertical or horizontal head

turns, gait and pivot turns, stepping over and around obstacles, and walking up and down stairs. Each participant's performance of each test item was rated on a four-point ordinal scale, ranging from 0-3 scores with "0" indicating the lowest level of function and "3" the highest level of function. The maximum total score was 24 points. The order of the testing is timed up and go test and followed with dynamic gait index. Participants could rest between testing if tired. This study blinded assessor and participants.

### Intervention

The participants in both group were given information about how to prevent falling, general exercise and a logbook to record their normal daily living activities. Whereas, the participants in the modified Ronggeng dance group received additional training modified Ronggeng dance program by researchers for 30 minutes 3 times per week for 3 weeks.

The modified Ronggeng dance program was modified to be suitable for elderly individuals. It began with easily and increase difficulty in every week. The modified Ronggeng dance consists of walking forward 4 steps, walking backward 4 steps, rotating around themselves, rotating around another couple, and 12 steps alternating between the two legs. Before and after each training session, the participants underwent a short program of stretching for 10 minutes to loosen the muscles in the back, quadriceps, hamstrings, gluteus maximus, and tensor fascia latae muscles.

Data analysis

The sample size for this study was calculated by the following equation:

$$N = \frac{2(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 (1 + (n-1)\rho)}{n \left[ \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sigma} \right]^2}$$

$$N = \frac{2(1.96 + 0.842)^2 (1 + (3-1)0.6)}{3 \left[ \frac{21-24}{4} \right]^2}$$

$$N = 15$$

Therefore, the sample size of this study was calculated by the dynamic gait index was 15 participants per group. A total of eighteen participants per group was used for the comparisons in the study. However, this was still a small number of participants, so non-parametric statistics were used to compare the variables within and between groups. Statistical significance for all analyses was set at  $p$ -value  $< 0.05$ .

All data are given as median and interquartile range (from the 25th to the 75th percentile) except gender variable presents with frequency counts and percentage. Comparisons of demographic and clinical characteristics between groups were analyzed by the Mann-Whitney U test and chi-square test. Repeated measurement ANOVA was used to compare the timed up and go test and dynamic gait index at before training the program and re-measured 2 weeks and 3 weeks within each group. In order to investigate whether the control or the modified Ronggeng dance group was superior, data were compared using the Mann-Whitney U test.

### Results

Thirty-six elderly individuals participated in this study. The median age of the control group was 65.0 years, and that of the modified Ronggeng dance group was 65.50 years. The number of male of the control group was 6 people, and that of the modified Ronggeng dance group was 7 people.

The median height, weight, and BMI of the control group were 158.00 cm, 57.50 kg, and 22.67 kg/m<sup>2</sup>, respectively, and those of the modified Ronggeng dance group were 155.50 cm, 56.50 kg, and 24.23 kg/m<sup>2</sup>. The severity of knee osteoarthritis and/or osteoporosis assessed by oxford knee score, and osteoporosis self-assessment tool for ASIANS index in the control group were 43.50 and -2.00,

respectively, and those of the modified Ronggeng dance group were 45.50, -2.40. The control group scored a median of 26.50 points in the Mini – Mental State Examination: Thai version (MMSE– Thai 2002) and the modified Ronggeng dance group scored a median of 28.00 points (Table 1). All values were median and interquartile range except gender shows frequency counts and percentage.

**Table 1.** Clinical characteristics of the participants

Variables/ group	Control group (n=18)	Modified Ronggeng practice group (n=18)	p-value
Age <sup>a</sup>	65.00 (63.00, 72.25)	65.50 (61.50, 70.00)	0.423
Gender (male) <sup>b</sup>	6 (33.33)	7 (38.89)	0.877
Height <sup>a</sup>	158.00 (154.50, 160.50)	155.50 (149.88, 157.25)	0.215
Weight <sup>a</sup>	57.50 (54.00, 59.75)	56.50 (53.00, 60.25)	0.821
BMI <sup>a</sup>	22.67 (21.04, 23.92)	24.23 (22.96, 25.49)	0.418
Oxford knee score <sup>a</sup>	43.50 (41.25, 47.00)	45.50 (44.75, 47.00)	0.058
OSTA <sup>a</sup>	-2.00 (-3.60, -1.10)	-2.40 (-3.30, -0.70)	0.765
MMSE <sup>a</sup>	26.50 (24.75, 29.00)	28.00 (24.00, 28.00)	0.991

<sup>a</sup>Median (first to third quartile), test statistically by the Mann-Whitney U test <sup>b</sup>Frequency counts (percentage), test statically by the Chi-square test

**Table 2.** Comparisons of timed up and go test and dynamic gait index scores at before training and re-measured 2 week and 3 weeks in the control and modified Ronggeng dance groups

Variables/ group	Control group (n=18)			Modified Ronggeng dance group (n=18)		
	Before	2 <sup>nd</sup> week	3 <sup>rd</sup> week	Before	2 <sup>nd</sup> week	3 <sup>rd</sup> week
Timed up and Go test (seconds)	8.70 (7.40, 9.45)	8.72 (7.36, 9.65)	8.58 (7.54, 9.10)	8.09 (7.62, 8.69)	7.31** (6.79, 7.91)	6.57** (6.91, 7.58)
Dynamic gait index (score)	19.00 (19.00,19.25)	19.00 (19.00, 21.00)	20.00** (19.00,21.00)	19.00 (19.00, 20.00)	22.00 ** (21.00,23.00)	23.00 ** (23.00,23.00)

Median (first to third quartile), \*\*p<0.01 test statistically by repeated measurement ANOVA

**Table 2** presents comparisons of the timed up and go test and dynamic gait index score before training and re-measured at 2 weeks and 3 weeks. The control group demonstrated no improvement in the timed up and go test at 2 weeks ( $p=0.647$ ) and 3 weeks ( $p=0.351$ ) but partial

improvement in the dynamic gait index score at 3 weeks ( $p=0.003$ ). There was significant improvement ( $p < 0.05$ ) in both timed up and go test at 2 weeks ( $p=0.010$ ) and 3 weeks ( $p=0.001$ ) and dynamic gait index at 2 weeks ( $p=0.001$ ) and at 3 weeks ( $p=0.001$ ) in the modified Ronggeng dance group.

**Table 3:** Comparisons of timed up and go test and dynamic gait index scores between the control and modified Ronggeng dance groups at before training and re-measured 2 weeks and 3 week

Variables/ training	Timed up and go test (seconds)			Dynamic gait index (scores)		
	Control group (n=18)	Modified Ronggeng dance group (n=18)	p- value	Control group (n=18)	Modified Ronggeng dance group (n=18)	p- value
Before	8.70 (7.40, 9.45)	8.09 (7.62, 8.69)	0.257	19.00 (19.00, 19.25)	19.00 (19.00, 20.00)	0.326
2 <sup>nd</sup> week	8.72 (7.36, 9.65)**	7.31 (6.79, 7.91)	0.006**	19.00 (19.00, 21.00)**	22.00 (21.00, 23.00)	0.001**
3 <sup>rd</sup> week	8.58 (7.54, 9.10)**	6.57 (6.91, 7.58)	0.001**	20.00 (19.00, 21.00)**	23.00 (23.00, 23.00)	0.001**

Median (first to third quartile), \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$  test statistically by Mann-Whitney U test

**Table 3** presents comparisons of the timed up and go test and dynamic gait index scores between the control and the modified Ronggeng dance groups. The results show significant differences in the timed up and go test ( $p=0.006$ ) and dynamic gait index ( $p=0.001$ ) scores at re-measured 2 weeks, and significant differences in both timed up and go test ( $p=0.001$ ) and dynamic gait index scores ( $p=0.001$ ) at re-measured 3 weeks.

### Discussion

The present study sought to investigate the effects of 3 weeks of modified Ronggeng dance training on dynamic balance in community-dwelling elderly people by using functional evaluation tools. According to the results, the control group showed significant improvement only in dynamic

gait index scores, while the modified Ronggeng dance group showed significant improvement in both timed up and go test and the dynamic gait index. Comparisons of the timed up and go test and scores between the two groups showed significant differences in dynamic gait index scores at both re-measured 2 weeks and 3 weeks.

The timed up and go test is widely used for assessing balance and risk of falls in community dwelling older people<sup>(10)</sup>. A study by Shummway Cook<sup>(11)</sup> found that a cut off score of falls was 13.5 seconds. In the present study, all participants used less than 13.5 seconds. Thus, the participants in this study tended to fall less frequently than elderly individuals. Although the participants didn't significantly improve in the control group, they still tended to show improved balance after

their education, indicating that even an educational program about preventing falling and the usefulness of general exercise is beneficial for these individuals. In addition, the participants enrolled in this study were active volunteer individuals. Furthermore, the timed up and go test increased at re-measured 2 weeks in the modified Ronggeng dance group. This improvement was probably due to the difficulty of the modified Ronggeng dance. The modified Ronggeng dance, the participants needed to stay upright with continuous movements of the legs, sometimes standing on one leg only, and with continuous movement of the upper limbs at the same time. This kind of exercise can help improved both coordination and dynamic balance. These results are consistent with the results of a study conducted by Roberson and colleagues<sup>(12)</sup> who reported that 15 healthy elderly people who performed Tai chi for 60 minutes at a time, 2 times per week for 10 weeks, had improved health-related quality of life, functional mobility, and balance performance. Furthermore, a study by Konig and colleagues<sup>(13)</sup> found 27 elderly people who trained in Tai chi one hour per session 2 sessions per week for 6 months had improved timed up and go test and berg balance scale scores. They concluded that tai chi practice can improve balance in elderly people.

Dynamic gait index is used to evaluate an individual's ability to dynamically balance while walking in the presence of external demands. In our study, although there was improvement in total score in both group, the control group demonstrated an average improvement from before training to re-measure of training 1.5 points on the dynamic gait index, while the modified

Ronggeng practice group had a change of about 4 points (a change of 2.9 is considered the minimum detectable change)<sup>(14)</sup>. The control group demonstrated no change in clinic but a quantifiable statistical change, while the modified Ronggeng dance group demonstrated change both statistically and clinically. The clinical change in the control group because of the program in control group cannot challenge and improper to improving dynamic balance. The changing dynamic gait index in the modified Ronggeng dance group was caused by modified Ronggeng dance associated with balance and confidence to do the activity. Furthermore, some Ronggeng gestures are similar to some items in the dynamic gait index test, e.g. self-rotation. Therefore, it may help to improve score of dynamic gait index. These results are consistent with the results of a study conducted by Li and colleague<sup>(15)</sup> who studied 256 physically inactive older adults. After tai chi training for 40 -50 minutes for 6 months, they found that the tai chi group demonstrated more improvement than a stretching group in berg balance scale, dynamic gait index, and functional reach.

To the authors' knowledge, this is the first study about a modified Ronggeng dance which proved to improve dynamic balance. The results indicate that modified Ronggeng practice could be a useful option for improving balance and functional mobility in elderly individuals. It also has the advantage of not requiring specialized equipment or advanced specialist training for the instructor. Furthermore, participants in the modified Ronggeng dance group showed increased attention during their exercise, decreased postural sway, and less fear of falling after their training.

Further studies are now recommended to examine other factors which play a role in the effectiveness of this type of intervention for elderly individuals. In addition, other parameters should be investigated, such as muscle strength, muscle endurance, cardiovascular fitness, static balance, and quality of life. Additionally, such a study should include comparing the effectiveness of modified Ronggeng with other exercise-type training such as tai-chi or strength or aerobic training.

This study demonstrated that 3 weeks of modified Ronggeng dance can improve dynamic balance in elderly people. None of the participants experienced a fall during the training program, indicating that the study protocol was safe and effective for community dwelling individuals

#### **Acknowledgement**

This study is supported by faculty of medicine, Prince of Songkla University.

#### **References**

1. John K, Bussarawan T, Vipap P, Wiraporn P. (October 2015). The situation of Thailand's older population: An update based on the 2014 survey of older persons in Thailand. Population study center. 2015 October: 2.
2. Prasert Assanchai. Falls in the elderly and prevention. Prasert Assanchai (Editor). Common health problems in the elderly and prevention, 2<sup>nd</sup> edition. Bangkok: Department of Preventive Medicine and social Faculty of Medicine, Siriraj Hospital Mahidol University; 2554. Page 51-66.
3. Ladda Thiamwong, Ravadee Petsirasan. Risk factors for falls in Thai elderly living in nursing homes. Thai Journal of Nursing Council. 2009; 24 (1):77-87.
4. Siriporn Pornputthatsa. Knowledge, attitudes, and behaviors in preventing falls in the elderly. (thesis). Chiang Mai: Chiang Mai University; 2542.
5. Granacher U, Lacroix A, Muehlbauer T, Roettger K, Gollhofer A. Effects of core instability strength training on trunk muscle strength, spinal mobility, dynamic balance and functional mobility in older adults. Gerontology. 2013; 59:105-113
6. Dionyssiotis Y. Analyzing the problem of falls among older people. International Journal of General Medicine. 2012; 5: 805-813.
7. Shier V, Trieu E, Ganz DA. Implementing exercise programs to prevent falls: systematic descriptive review. Injury Epidemiology. 2016;3 (1):16.
8. Cho S-I, An D-H. Effects of a Fall Prevention Exercise Program on Muscle Strength and Balance of the Old-old Elderly. Journal of Physical Therapy Science. 2014;26(11):1771-1774.
9. Lin, J. H., Hsu, M. J., et al. (2010). "Psychometric comparisons of 3 functional ambulation measures for patients with stroke." Stroke 41(9): 2021-2025.
10. Barry E, Galvin R, Keogh C, Horgan F, Fahey T (2014) Is the Timed Up and Go test a useful predictor of risk of falls in community dwelling older adults: a systematic review and meta- analysis. BMC geriatrics 14: 14.
11. Shumway-Cook, A., Brauer, S., et al. (2000). "Predicting the probability for falls in community-dwelling older adults using the Timed Up & Go Test." Physical Therapy 80(9): 896-903.

12. Roberson D. N, Shu-yi W, Sigmund E, Valkova H. The influence of a ten week Tai Chi program with seniors. *Acta Gymnica*. 2015, 45(2): 77-84.
13. Konig, P., Galarza, E., Goulart, N., Lanferdini, F., Tiggeman, C., e Dias, C. (2014). Effects of Tai Chi Chuan on the elderly balance: a semi-experimental study. *Revista brasileira de geriatria e gerontologia*, 17(2), 373-381
14. Romero, S., Bishop, M. D., et al. (2011). “Minimum detectable change of the Berg Balance Scale and Dynamic Gait Index in older persons at risk for falling.” *Journal of Geriatric Physical Therapy* 34(3): 131-137.
15. Li F, Harmer P, Fisher KJ, et al. Tai chi and fall reductions in older adults: a randomized controlled trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005;60(2):187–194



## การตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในทารกแรกเกิดด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปด และการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตีเปรียบเทียบกับ การตรวจหาการกลายพันธุ์ยีนจี-6-พีดี

สัมพันธ์ แดงวิบูลย์<sup>1,2</sup> นพมาศ เข็มทองกลาง<sup>3</sup> และสุทธิพรณ กิจเจริญ<sup>3\*</sup>

Received : November 19, 2017

Revised: March 10, 2018

Accepted: March 14, 2018

### บทคัดย่อ

ภาวะพร่องเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (จี-6-พีดี) เป็นภาวะพร่องเอนไซม์ที่พบบ่อยที่สุดในประชากรทั่วโลก เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีที่อยู่บนโครโมโซมเอ็กซ์ การวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีที่ใช้กันอยู่ทั่วไปคือ การตรวจด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดและการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตี การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดและการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตีเปรียบเทียบกับ การตรวจดีเอ็นเอ เพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี โดยได้ทำการศึกษาในตัวอย่างเลือดของทารกแรกเกิดที่ได้รับการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปด จากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล 3 แห่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยจำนวน 270 ราย เป็นเพศชาย 130 ราย และเพศหญิง 140 ราย ผลการศึกษาในเพศชายพบว่าการตรวจด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดมีความไวร้อยละ 98.1 และความจำเพาะร้อยละ 94.8 ส่วนการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตีมีความไวร้อยละ 100 และความจำเพาะร้อยละ 90.9 ผลการศึกษาในเพศหญิงพบว่าวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดมีความไวร้อยละ 42.9 และความจำเพาะร้อยละ 100 และการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตีมีความไวร้อยละ 42.9 และความจำเพาะร้อยละ 96.2 การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดมีความไวและความจำเพาะเทียบเท่าการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตีในเพศชายและหญิง แต่ทั้งวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดและการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตียังมีความไวต่ำในการวินิจฉัยเพศหญิงที่มีการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี จึงจำเป็นต้องใช้การตรวจดีเอ็นเอเพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี เพื่อการวินิจฉัยที่ถูกต้อง ข้อมูลนี้เป็นประโยชน์สำหรับโรงพยาบาลต่างๆ ในการเลือกการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ งบประมาณ และจำนวนตัวอย่าง

**คำสำคัญ:** กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส, การตรวจคัดกรองจี-6-พีดี, ยีนจี-6-พีดี

<sup>1</sup> นักศึกษาบัณฑิตศึกษาศาสาพาณิชยศาสตร์และการจัดการ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup> โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

<sup>3</sup> กลุ่มวิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\* ผู้รับผิดชอบบทความ: (e-mail: sutpra@kku.ac.th)



## Comparison of fluorescent spot test and G-6-PD activity assay versus G-6-PD mutation analysis for detection of G-6-PD deficiency in newborns

Samrit Dangwibul<sup>1,2</sup>, Noppmats Khemtonglang<sup>3</sup> and Suttiphan Kitcharoen<sup>3\*</sup>

### Abstract

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency, due to mutations in the X-linked G-6-PD gene, is the most common enzyme defect in the world. Fluorescent spot test (FST) and G-6-PD activity assay are widely used for diagnosis of G-6-PD deficiency. The aim of this study was to compare the effectiveness of FST and G-6-PD activity assay for detection of G-6-PD deficiency with G-6-PD mutation analysis. EDTA-blood samples of 270 neonates (130 males and 140 females) were recruited from three hospital laboratories in northeast Thailand after performing the FST. All samples were further investigated for G-6-PD activity and G-6-PD mutation. In male neonates, FST showed 98.1% sensitivity and 94.8% specificity, and G-6-PD activity assay had 100% sensitivity and 90.9% specificity. Among females, both FST and G-6-PD activity assay showed low sensitivity as 42.9% and retained high specificity of 100% and 96.2%, respectively. This study demonstrated a comparable effectiveness of FST and G-6-PD activity assay for diagnosis of G-6-PD deficiency. However, these 2 methods exhibited low sensitivity to identify females who carry G-6-PD gene mutation. The definitive diagnosis of these females requires molecular detection of G-6-PD mutation. This data is useful for each hospital to select a G-6-PD test which is fit for the propose of investigation, budget and number of samples.

**Keyword:** Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD screening, G-6-PD gene

<sup>1</sup> Postgraduate student in Clinical Pathology and Management, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

<sup>2</sup> Khon Kaen Hospital, Khon Kaen

<sup>3</sup> Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

\*Corresponding author: (e-mail:sutpra@kku.ac.th)

## บทนำ

ภาวะพร่องเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (จี-6-พีดี) ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีที่อยู่บนเอ็กซ์โครโมโซม (X-chromosome) <sup>(1)</sup> เป็นภาวะพร่องเอนไซม์ที่พบมากที่สุดในประชากรทั่วโลกคือประมาณ 330 ล้านคน หรือร้อยละ 4.9<sup>(2)</sup> ภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของภาวะตัวเหลืองในทารกแรกเกิด ที่อาจรุนแรงจนเป็นสาเหตุการตายหรือสมองพิการอย่างถาวรได้ <sup>(3)</sup> ดังนั้นการวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในทารกแรกเกิดได้อย่างถูกต้องโดยเร็ว จะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดภาวะแทรกซ้อน ที่ร้ายแรงดังกล่าวได้

ในประเทศไทยมีรายงานความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในทารกแรกเกิดที่มีภาวะตัวเหลืองสูงถึงร้อยละ 22.1% ในทารกเพศชาย และร้อยละ 10.1% ในทารกเพศหญิง <sup>(4)</sup> การวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีที่นิยมใช้กันอยู่ตามโรงพยาบาลทั่วไป คือการตรวจเชิงคุณภาพโดยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สปอต (fluorescent spot test; FST) ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบที่ง่ายทำได้รวดเร็วไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือราคาแพง ส่วนการตรวจเชิงปริมาณโดยการวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์จี-6-พีดีนั้น เป็นวิธีที่ใช้ในโรงพยาบาลขนาดใหญ่หรืองานวิจัย วิธีนี้ได้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ ทำให้ตรวจวัดได้ครั้งละหลายรายสะดวก และรวดเร็วยิ่งขึ้น ในต่างประเทศมีรายงานว่าวิธีฟลูออเรสเซนซ์สปอตมีข้อจำกัดในการวินิจฉัยเพศหญิงที่เป็น heterozygote เนื่องจากมีระดับเอนไซม์ที่หลากหลายตั้งแต่ต่ำกว่าปกติจนถึงปกติ <sup>(5)</sup> อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยเพศหญิงที่เป็น heterozygote ได้อย่างถูกต้องตั้งแต่แรกๆ นั้นมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพราะต้องให้การดูแลรักษาเหมือนกับเพศชายที่พร่องเอนไซม์จี-6-พีดี (hemizygote) หรือเพศหญิงที่พร่องเอนไซม์จี-6-พีดี (homozygote) <sup>(6)</sup> การตรวจดีเอ็นเอเพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี จึงเป็นวิธีที่สามารถวินิจฉัย heterozygote ได้อย่างถูกต้อง การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในทารกแรกเกิด ด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สปอต และการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตี เปรียบเทียบการตรวจกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษา

ครั้งนี้จะเป็นประโยชน์แก่โรงพยาบาลแต่ละแห่ง ในการพิจารณาเลือกการทดสอบที่เหมาะสมสำหรับการวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในทารก แรกเกิด

## วัสดุและวิธีการศึกษา

### ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา เป็นตัวอย่างเลือดของทารกแรกเกิดที่หลีกเลี่ยงการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในงานประจำของโรงพยาบาล 3 แห่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งใช้วิธีฟลูออเรสเซนซ์สปอตทั้งที่ให้ผลตรวจเป็นปกติ (normal) พร่องเอนไซม์บางส่วน (partial deficiency) และพร่องเอนไซม์สมบูรณ์ (complete deficiency) ในการเก็บตัวอย่างผู้ทำวิจัยจะทำการคัดเลือกตัวอย่างด้วยตนเอง โดยคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างเลือดที่เก็บไว้ไม่เกิน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 2-8°C และนำมาที่สถานที่ทำวิจัย คือ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยบรรจุตัวอย่างเลือดในภาชนะควบคุมอุณหภูมิที่ 2-8°C ตลอดเวลา เก็บตัวอย่างเลือดทั้งหมด 270 รายเป็นเพศชาย 130 ราย และเพศหญิง 140 ราย ตัวอย่างเลือดทุกราย จะได้รับการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สปอตซ้ำอีกครั้ง และตรวจวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์จี-6-พีดี ภายในวันนั้นจากนั้นจะเตรียมดีเอ็นเอไว้เพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีทั้งนี้การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE571504)

### การตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สปอต

การตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สปอต <sup>(7)</sup> มีหลักการคือเอนไซม์จี-6-พีดีในตัวอย่างเลือดรวม (whole blood) จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosphate; G-6-P) เป็น 6-ฟอสโฟกลูโคเนต (6-phosphogluconate; 6-PG) พร้อมกับบริดิวซ์ NADP ให้เป็น NADPH ซึ่งจะเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความยาวคลื่น 365 nm ในการทดสอบจะใช้เลือดรวมปริมาตร 5 µL เติมนลงใน microtiter U plate ที่ใส่น้ำยาสำหรับตรวจ (reaction mixture)

ไว้ 100  $\mu$ L ผสมเลือดกับน้ำยาให้ผสมกันดี โดยการใช้ autopipette ดูดขึ้นลง และจับเวลาทันที หยดส่วนผสมของเลือดและน้ำยา 10  $\mu$ L ลงบนกระดาษกรอง Whatman No.1 เมื่อครบเวลา 5 และ 15 นาที รอให้แห้งสนิทแล้วนำไปส่องดูการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) ความยาวคลื่น 350 nm โดยอ่านผลเทียบกับหลอดควบคุม (control) ซึ่งมีส่วนผสมของเลือดรวมกับน้ำยาที่ไม่มี NADP จึงไม่มีการเรืองแสง ตัวอย่างเลือดรายที่ปกติ จะมีการเรืองแสงทั้งที่เวลา 5 นาที และ 15 นาที รายที่เป็น partial deficiency จะมีการเรืองแสงเฉพาะที่เวลา 15 นาที และรายที่เป็น completedeficiency จะไม่มีการเรืองแสงหรือเรืองแสงน้อยมากทั้งที่เวลา 5 และ 15 นาที ในการศึกษาครั้งนี้ deficiency นับรวมทั้ง partial deficiency และ complete deficiency ผู้ท้าววิจัยได้สำรวจข้อมูลพื้นฐานในการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของโรงพยาบาลทั้ง 3 แห่ง พบว่า ทั้งหมดได้ทำตามขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ตามเอกสารประกอบน้ำยา ไม่มีการดัดแปลงวิธีตรวจ มีการควบคุมคุณภาพภายในก่อนรายงานผลการตรวจและเจ้าหน้าที่ผู้ทำการตรวจวิเคราะห์ได้ผ่านการฝึกอบรมทั้งหมด โดยผู้ท้าววิจัยได้นำตัวอย่างเลือดทุกรายมาตรวจซ้ำ และได้ผลถูกต้องตรงกัน

### การตรวจวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์จี-6-พีดี

การตรวจวัดแอกทิวิตีของเอนไซม์จี-6-พีดีในตัวอย่างเลือดรวม ใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Synchron CX-4 และใช้น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Trinity Biotech (Trinity Biotech Plc, Co Wicklow, Ireland) ซึ่งมีหลักการเช่นเดียวกับวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมโดยวัดการทำงานของเอนไซม์จี-6-พีดีจากค่าการดูดกลืนแสงของ NADPH ที่ความยาวคลื่น 340 nm ซึ่งจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับแอกทิวิตีของเอนไซม์จี-6-พีดีในการทดสอบจะใช้เลือดรวม 10  $\mu$ L เติมนลงในน้ำยาที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (lysing reagent) 90  $\mu$ L นำไปเขย่าด้วย Vortex mixer ให้เม็ดเลือดแดงแตกอย่างสมบูรณ์ แล้วนำ hemolysate ที่เตรียมได้ไปวัดด้วยเครื่อง Beckman Synchron CX-4 (Beckman Coulter Inc., CA, USA)

ที่ได้ตั้งค่าพารามิเตอร์ของการทดสอบไว้แล้วตามเอกสารกำกับน้ำยา ค่า cut-off ของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดี (deficiency) ในการศึกษาครั้งนี้ คือแอกทิวิตีของเอนไซม์จี-6-พีดี  $\leq 8.2$  U/gHb<sup>(8)</sup>

### การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี

ในการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี ได้สกัดดีเอ็นเอ (DNA) จากเม็ดเลือดขาวของตัวอย่างเลือดทุกราย โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป DNAzol (Invitrogen Corp., CA, USA) และทำการตรวจหาการกลายพันธุ์ยีนจี-6-พีดีที่พบบ่อยในคนไทยที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ G-6-PD Viangchan (871 G > A), G-6-PD Canton (1376 C > T), G-6-PD Union (1360 C > T), G-6-PD Kaiping (1388 G > A) และ G-6-PD Mahidol (487 G > A)<sup>(9)</sup> ด้วยเทคนิค allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR) เมื่อตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีในตัวอย่างที่เป็นเพศหญิง จะนำไปตรวจด้วยเทคนิค polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) เพื่อแยกว่าเป็น homozygote หรือ heterozygote ต่อไป<sup>(9)</sup> ทั้งนี้ กำหนดให้การตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในการเปรียบเทียบความถูกต้องของผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดี โดยถือว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดี เมื่อตรวจพบการกลายพันธุ์ชนิดใดชนิดหนึ่งหนึ่งใน 5 ชนิด ไม่ว่าจะ เป็น hemizygot, homozygote หรือ heterozygote

### ผลการศึกษา

การตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในตัวอย่างเลือดของทารกแรกเกิดทั้งหมด 270 ราย เป็นตัวอย่างเลือดจากทารกเพศชาย 130 ราย และเพศหญิง 140 ราย จะเห็นว่า การตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี พบความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีมากที่สุด คือ ร้อยละ 32.6 ส่วนการตรวจวัดเอนไซม์แอกทิวิตีและการตรวจด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมพบความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีน้อยลงตามลำดับคือ ร้อยละ 29.2 และ 26.3 โดยการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีทำให้พบ

ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในทารกเพศหญิงมากถึงร้อยละ 25.0 เพิ่มขึ้นจากการตรวจวัดเอนไซม์แอกทีวิตีและการตรวจด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดซึ่งพบเพียงร้อยละ 13.6 และ 10.1 ตามลำดับ สำหรับทารกเพศชายพบภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีมากกว่าทารกเพศหญิง ซึ่งการตรวจวัดเอนไซม์แอกทีวิตีพบความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีมากที่สุด คือ ร้อยละ 46.2 การตรวจด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดพบความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีร้อยละ 43.1 และการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีพบความชุกน้อยที่สุดคือร้อยละ 35.6 ข้อมูลทั้งหมดดังแสดงในตารางที่ 1

ตัวอย่างที่ตรวจพบการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีมีจำนวน 88 รายนั้น พบว่า การกลายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ Viangchan พบร้อยละ 73.9 รองลงมาเป็น Canton, Mahidol, Kaiping และ Union โดยพบร้อยละ 15.9, 4.5, 3.4 และ 2.3 ตามลำดับ (ไม่ได้แสดงข้อมูลในรูปตาราง)

เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดกับการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี พบว่าวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดให้ผลการตรวจเป็นผลบวก (deficiency) ตรงกันจำนวน 67 ราย และมีผลลบ (normal) ตรงกันจำนวน 178 ราย โดยให้ผลบวกปลอม (false positive) จำนวน 4 ราย และผลลบปลอม (false negative) จำนวน 21 ราย

ส่วนการเปรียบเทียบผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยการตรวจวัดเอนไซม์แอกทีวิตี พบว่าให้ผลบวกตรงกันจำนวน 68 ราย และมีผลลบตรงกันจำนวน 171 ราย โดยให้ผลบวกปลอมมากกว่าวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปด คือ 11ราย และผลลบปลอมจำนวน 20 ราย ดังแสดงในตารางที่ 2

**ตารางที่ 1** ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีที่ได้จากการตรวจด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปด (FST) การตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทีวิตี (G-6-PD activity) และการตรวจหาการกลายพันธุ์ (G-6-PD mutation)

Method	G-6-PD deficiency					
	Male (N = 130)		Female (N = 140)		All (N = 270)	
	n	%	n	%	n	%
FST	56	43.1	15	10.1	71	26.3
G-6-PD activity <sup>1</sup>	60	46.2	19	13.6	79	29.2
G-6-PD mutation	53	35.6	35	25.0	88	32.6

<sup>1</sup>cut-off value for G-6 PD deficiency  $\leq$  8.2 U/gHb<sup>(8)</sup>

การประเมินประสิทธิภาพของการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปดและการตรวจวัดเอนไซม์แอกทีวิตี โดยใช้การตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีเป็นวิธีมาตรฐานในการเปรียบเทียบเมื่อคำนวณค่าความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ค่าการทำนายผลบวก (positive predictive value) และค่าการทำนายผลลบ (negative predictive value) พบว่า ทั้ง 2 วิธี มีค่าความไวใกล้เคียงกัน คือ

ร้อยละ 76.1 และ 77.3 ตามลำดับ โดยมีค่าความไวในเพศชายสูงถึงร้อยละ 98.1 และ 100 ตามลำดับ และความไวในเพศหญิงต่ำเพียงร้อยละ 42.9 เท่ากัน สำหรับความจำเพาะมีค่าสูงใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 97.8 และ 94.0 ตามลำดับ โดยค่าความจำเพาะทั้งในเพศชายและเพศหญิงมีค่าสูงกว่าร้อยละ 90 ทั้งหมด ข้อมูลทั้งหมดดังแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 2** ผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดี ด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปด (FST) และวิธีตรวจจี-6-พีดี แอกทีวิตี (G-6-PD activity) เปรียบเทียบกับการตรวจหาการกลายพันธุ์ (G-6-PD mutation)

Test	Result	G-6-PD mutation					
		Male (N = 130)		Female (N = 140)		All (N = 270)	
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
FST	Deficiency	52	4	15	0	67	4
	Normal	1	73	20	105	21	178
G-6-PD activity	Deficiency	53	7	15	4	68	11
	Normal	0	70	20	101	20	171

**ตารางที่ 3** ประสิทธิภาพของการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สไปด (FST) และวิธีตรวจจี-6-พีดีแอกทีวิตี (G-6-PD activity)

Parameter	FST			G-6-PD activity		
	Male	Female	All	Male	Female	All
Sensitivity (%)	98.1	42.9	76.1	100	42.9	77.3
Specificity (%)	94.8	100	97.8	90.9	96.2	94.0
Positive predictive value (%)	92.9	100	94.4	88.3	78.9	86.1
Negative predictive value (%)	98.6	84	89.4	100	83.5	89.5

## สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีและการตรวจวัดเอนไซม์แอกทิวิตี เป็นวิธีที่นิยมใช้กันทั่วโลก<sup>(2)</sup> สำหรับประเทศในภูมิภาคอาเซียนรวมทั้งประเทศไทยนิยมทดสอบด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีวิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับการรับรองจาก International Council for Standardization in Haematology<sup>(7)</sup> สำหรับใช้ในการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีเนื่องจากวิธีการตรวจง่าย ใช้เวลาไม่นาน และราคาไม่แพง ในการศึกษาครั้งนี้จึงต้องการประเมินประสิทธิภาพของการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีและการตรวจวัดเอนไซม์แอกทิวิตี เปรียบเทียบกับการตรวจดีเอ็นเอเพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลสำคัญประกอบการตัดสินใจเลือกใช้วิธีการทดสอบให้เหมาะสมกับแต่ละโรงพยาบาล

ในการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีพบความชุกของการกลายพันธุ์ชนิดต่างๆ เรียงลำดับมากที่สุดไปหาน้อยที่สุด คือ Viangchan (ร้อยละ 73.9) Canton (ร้อยละ 15.9) Mahidol (ร้อยละ 4.5) Kaiping (ร้อยละ 3.4) และ Union (ร้อยละ 2.3) ใกล้เคียงกับรายงานของ Kitcharoen และคณะก่อนหน้านี้<sup>(9)</sup> การกลายพันธุ์ชนิด Viangchan ที่พบมากในชาวไทยนี้ พบมากในชาวกัมพูชาและลาวเช่นกัน<sup>(10-12)</sup> ซึ่งทั้ง 3 ประเทศมีอาณาเขตติดต่อกัน ข้อมูลนี้เป็นอีกข้อมูลหนึ่งที่สนับสนุนว่าชาวกัมพูชา และลาว น่าจะมีบรรพบุรุษร่วมกันและตั้งถิ่นฐานอยู่ในบริเวณนี้มาก่อน จากนั้นจึงมีชาวจีนและชาวพม่าย้ายถิ่นเข้ามาในพื้นที่นี้ จึงทำให้ตรวจพบการกลายพันธุ์ที่พบในชาวจีน ได้แก่ Canton, Kaiping และ Union<sup>(13-14)</sup> และการกลายพันธุ์ที่พบในชาวพม่า คือ Mahidol<sup>(15-16)</sup> ในจำนวนน้อยๆ นอกจากนี้ข้อมูลที่พบการกลายพันธุ์ชนิด Viangchan และ Canton รวมกันมากถึงประมาณร้อยละ 90 ยังมีประโยชน์สำหรับห้องปฏิบัติการในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ต้องการจัดตั้งการตรวจดีเอ็นเอเพื่อตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี โดยควรตรวจหาการกลายพันธุ์ชนิด Viangchan และ Canton ก่อน

ผลจากการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยการตรวจดีเอ็นเอเพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีทำให้พบความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีสูงถึงร้อยละ 32.6 ทั้งนี้เนื่องจากสามารถตรวจพบภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในเพศหญิงได้เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 1 และ 2) แสดงให้เห็นว่าการวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในเพศหญิงให้ถูกต้องนั้น จำเป็นต้องใช้การตรวจระดับดีเอ็นเอเพื่อตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี นอกจากนี้ยังพบว่าความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีในเพศชายสูงกว่าที่เคยรายงานในประเทศไทยที่พบประมาณร้อยละ 21<sup>(17-18)</sup> ส่วนหนึ่งอาจเป็นเพราะความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษา ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นทารกแรกเกิดที่ส่งตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีเพื่อหาสาเหตุของภาวะตัวเหลือง มิใช่ทารกแรกเกิดทั่วไป จึงมีโอกาสพบภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีได้สูงกว่า เนื่องจากภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งของภาวะตัวเหลืองในทารกแรกเกิด<sup>(1, 19)</sup> ในกรณีการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตีเพื่อการวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีนั้นอาจเป็นผลเนื่องมาจากการใช้ค่า cut-off ที่แตกต่างกัน สำหรับการศึกษานี้ใช้ค่า cut-off  $\leq 8.2$  U/gHb ซึ่งเป็นค่า cut-off ที่คณะผู้วิจัยได้จากการการศึกษาโดยใช้ตัวอย่างที่เป็นประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และตรวจวัดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman Synchron CX-4<sup>(8)</sup> ส่วนการศึกษาของ Louicharoen และคณะ<sup>(17)</sup> ใช้ค่า cut-off  $< 1.5$  U/gHb และ Prachakthum และคณะ<sup>(18)</sup> ใช้ค่า cut-off  $\leq 4.59$  U/gHb ซึ่งเป็นค่า cut-off ที่ค่อนข้างต่ำ จึงทำให้โอกาสที่จะพบภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีมีน้อยกว่า

การประเมินประสิทธิภาพการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์จี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีและการตรวจวัดจี-6-พีดีแอกทิวิตีเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน คือ การตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีผลการศึกษาในตัวอย่างทั้งหมดพบว่า มีค่าความไวร้อยละ 76.1 และ 77.3 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาแยกตามเพศ พบว่าในเพศชายมีค่าความไวสูงถึงร้อยละ 98.1 และ 100 ตามลำดับ โดยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีไม่สามารถวินิจฉัยเพศชายที่มีการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีจำนวน 1 ราย

(ตารางที่ 2) ซึ่งรายนี้พบว่าฮีโมโกลินแอคทีวิตีเท่ากับ 4.6 U/gHb (ข้อมูลที่ไม่ได้แสดง) จึงทำให้การอ่านผลด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีคลื่อนได้ เนื่องจากการดูการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ด้วยตาเปล่า ในขณะที่ทั้ง 2 วิธีมีความไวต่ำในการวินิจฉัยภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีในเพศหญิง โดยมีค่าความไวเท่ากัน คือ ร้อยละ 42.9 ซึ่งพบว่าทั้ง 2 วิธีไม่สามารถวินิจฉัยเพศหญิงที่มีการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีจำนวน 20 ราย (ตารางที่ 2) ผลการตรวจการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดีในเพศหญิงทั้ง 20 รายนี้ พบว่าเป็น heterozygote ทุกราย และมีฮีโมโกลินแอคทีวิตีอยู่ในช่วงระหว่าง 8.28 – 17.7 U/gHb (ข้อมูลที่ไม่ได้แสดง) ซึ่งสูงกว่าค่า cut-off  $\leq 8.2$  U/gHb ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

จึงอ่านผลได้เป็นปกติทั้ง 2 วิธี ส่วนความจำเพาะมีค่าสูงทั้ง 2 วิธี คือ ร้อยละ 97.8 และ 94.0 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม พบว่า วิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีตัวอย่างเพศชายจำนวน 4 รายที่ให้ผลบวกปลอม และการตรวจวัดจี-6-พีดีแอคทีวิตีมีตัวอย่างที่ให้ผลบวกปลอมจำนวน 11 ราย เป็นเพศหญิง 4 ราย และเพศชาย 7 ราย ในจำนวนนี้มี 4 รายที่ให้ผลบวกปลอมโดยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี (ตารางที่ 2) ทั้งหมดมีค่าฮีโมโกลินแอคทีวิตีตั้งแต่ 0.52 - 7.84 U/gHb (ข้อมูลที่ไม่ได้แสดง) ซึ่งต่ำกว่าค่า cut-off ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จึงถือว่าภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดี แต่ตรวจไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี ซึ่งตัวอย่างเหล่านี้ อาจจะมีการกลายพันธุ์ชนิดอื่นๆ ที่ไม่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ เช่น Chinese-4, Chinese-5 หรือชนิดอื่นๆ ที่พบไม่บ่อยในคนไทย

ผลการประเมินประสิทธิภาพของการตรวจภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ คล้ายกับผลการศึกษาของ Nantakomol และคณะ<sup>(20)</sup> ซึ่งได้ประเมินการตรวจภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีเปรียบเทียบกับ การตรวจระดับฮีโมโกลินเอเช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการศึกษาในตัวอย่างเลือดของผู้ใหญ่สุขภาพดีจำนวน 295 ราย เป็นเพศชาย 67 ราย และเพศหญิง 228 ราย พบว่ามีความไวเพียงร้อยละ 43 และความจำเพาะร้อยละ 100 ค่าความไวที่ต่ำเป็นผลมาจากตัวอย่างที่ใช้ศึกษามีเพศหญิงมากกว่า

เพศชายถึง 3.4 เท่า ซึ่งผู้วิจัยพบว่าเพศหญิงที่เป็น heterozygote มีเพียงร้อยละ 14.29 เท่านั้นที่มีค่าฮีโมโกลินแอคทีวิตีต่ำมากอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถวินิจฉัยได้ด้วยวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปี กรณีของการตรวจวัดจี-6-พีดีแอคทีวิตีจะสามารถลดผลบวกปลอมและลบปลอมลงได้ โดยการศึกษาเพื่อหาค่า cut-off ที่เหมาะสม เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการตรวจภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีเพิ่มมากขึ้น เช่น การศึกษาของ Miao และคณะ<sup>(21)</sup> ในทารกแรกเกิดที่ประเทศจีน พบว่า ในทารกเพศชาย การเพิ่มค่า cut-off จาก 2.10 U/gHb เป็น 2.35 U/gHb ทำให้ความไวเพิ่มจากร้อยละ 97.0 เป็นร้อยละ 99.1 แต่ความจำเพาะไม่เปลี่ยนแปลง (ร้อยละ 99.8 และ 99.7 ตามลำดับ) ส่วนในทารกเพศหญิง การเพิ่มค่า cut-off จาก 2.10 U/gHb เป็น 2.55 U/gHb ความไวเพิ่มจากร้อยละ 83.3 เป็นร้อยละ 97.6 แต่ความจำเพาะลดลงจากร้อยละ 99.8 เป็นร้อยละ 90.0 นอกจากนี้ผู้ทำการตรวจวัดจี-6-พีดีแอคทีวิตีควรพิจารณาข้อมูลทางโลหิตวิทยาของตัวอย่างเลือดประกอบด้วย เช่น จำนวนเรติคูลอไซต์ และจำนวนเม็ดเลือดขาว เนื่องจากทั้งเรติคูลอไซต์และเม็ดเลือดขาวมีจี-6-พีดีแอคทีวิตีสูงกว่าเม็ดเลือดแดง<sup>(5)</sup> จากการศึกษาของ Khemtonglang พบว่าตัวอย่างเลือดที่มีจำนวนเม็ดเลือดขาวมากกว่า 20,000 cells/ $\mu$ L จะส่งผลทำให้จี-6-พีดีแอคทีวิตีสูงขึ้นกว่าความเป็นจริงได้<sup>(22)</sup> และการกำจัดเม็ดเลือดขาวออกก่อนการตรวจวัด ทำให้ได้ค่าฮีโมโกลินแอคทีวิตีที่ถูกต้องมากขึ้น<sup>(23)</sup> สำหรับจำนวนเรติคูลอไซต์นั้น มีผลไม่มากต่อการวินิจฉัยภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดี<sup>(9)</sup>

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การวินิจฉัยภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีในเพศชายนั้น ทั้งวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีและการตรวจวัดจี-6-พีดีแอคทีวิตี มีความไวและความจำเพาะสูงมาก แต่ทั้ง 2 วิธียังมีความไวต่ำในการวินิจฉัยภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีในเพศหญิง การวินิจฉัยภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีในเพศหญิงให้ถูกต้อง จึงจำเป็นต้องใช้การตรวจฮีโมโกลินเอเพื่อหาการกลายพันธุ์ของยีนจี-6-พีดี ดังนั้นแต่ละโรงพยาบาลจึงควรพิจารณาเลือกใช้วิธีการตรวจภาวะพร่องฮีโมโกลินจี-6-พีดีให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ จำนวนตัวอย่าง และงบประมาณ

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเทคนิคการแพทย์และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุน การทำการศึกษาอิสระนี้ และขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ลี้มทอง พรหมดี ที่ให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการเตรียม ต้นฉบับเพื่อการตีพิมพ์

## เอกสารอ้างอิง

1. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2008; 371: 6474-.
2. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis* 2009; 42: 26778-.
3. Tanphaichitr V. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency. In: Intragumtornchai T. *Hematology in practice*. Bangkok: Beyond Enterprise; 2542. 11322-.
4. Nuchprayoon I, Sanpavat S, Nuchprayoon S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Thailand: G6PD Viangchan (871G>A) is the most common deficiency variant in the Thai population. *Hum Mutat* 2002; 19: 185.
5. Minucci A, Giardina B, Zuppi C, Capoluongo E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase laboratory assay: how, when, and why? *IUBMB Life* 2009; 61: 2734-.
6. Peters AL, Van Noorden CJ. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria: cytochemical detection of heterozygous G6PD deficiency in women. *J Histochem Cytochem* 2009; 57: 100311-.
7. Beutler E, Blume KG, Kaplan JC. International committee for standardization in haematology: recommended screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency. *Br J Haematol* 1979; 43: 465-7.
8. Donladlee C, Thanukarn T. Reference range of G-6-PD activity in adult using Trinity Biotech kit. [Bachelor of Sciences]. Term paper in Medical Technology. Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University; 2012.
9. Kitcharoen S, Dechyotin S, Khemtonglang N, Kleesuk C, Relationship among glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) activity, G-6-PD variants and reticulocytosis in neonates of northeast Thailand. *Clin Chim Acta* 2015; 442: 125-9.
10. Louicharoen C, Nuchprayoon I. G6PD Viangchan (871 G > A) is the most common G-6PD-deficient variant in the Cambodian population. *J Hum Genet* 2005; 50: 48-52.
11. Matsuoka H, Nguon C, Kanbe T, Jalloh A, Sato H, Yoshida S, *et al*. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Cambodia: G6PD Viangchan (871 G > A) is the most common variant in the Cambodian population. *J Hum Genet* 2005; 50: 468-72.
12. Iwai K, Hirono A, Matsuoka H, Kawamoto F, Horie T, Lin K, *et al*. Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations in South-east Asia. *Hum Genet* 2001; 108: 445-9.
13. Jiang W, Yu G, Liu P, Geng Q, Chen L, Lin Q, *et al*. Structure and function of glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient variants in Chinese population. *Hum Genet* 2006; 119: 463-78.

14. Jiang WY, Zhou BY, Yu GL, Liu H, Zeng JB, Lin QD, *et al.* G6PD genotype and its associated enzymatic activity in a Chinese population. *Biochem Genet* 2012; 50:34-44.
15. Matsuoka H, Wang J, Hirai M, Arai M, Yoshida S, Kobayashi T, *et al.* Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations in Myanmar: G6PD Mahidol (487 G > A) is the most common variant in the Myanmar population. *J Hum Genet* 2004; 49: 544-7.
16. Nuchprayoon I, Louicharoen C, Charoenvej W. Glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations in Mon and Burmese of southern Myanmar. *J Hum Genet* 2008; 53: 48-54.
17. Louicharoen C, Sukkapan P, Nuchprayoon I, Kittiwatanasarn P. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Northeastern Thailand: prevalence and relationship to neonatal jaundice. *Chula Med* 2003; 47: 471-9.
18. Prachakthum S, Nunnarumit P, Pienvichit P, Chuansumrit A, Songdej D, Kajanachumpol S, Pakakasama S, Hongeng S. Genetic polymorphisms in Thai neonates with hyperbilirubinemia. *Acta Paediatr* 2009; 98:1106-10.
19. Kaplan M, Hammerman C. Neonatal screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency : biochemical versus genetic technologies. *Semin Perinatol* 2011;35:155-61.
20. Nantakomol D, Paul R, Palasuwan A, Day NP, White NJ, Imwong M. Evaluation of the phenotypic test and genetic analysis in the detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Malar J* 2013; 12: 289-96.
21. Miao JK, Chen QX, Bao LM, Huang Y, Zhang J, Wan KX, Yi J, Wang SY, Zou L, Li TY. Determination of optimal cutoff value to accurately identify glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient heterozygous female neonates. *Clin Chim Acta* 2013; 424: 131-5.
22. Khemtonglang N. Genetic polymorphisms of *UGT1A1* and *G-6-PD* genes in neonates with hyperbilirubinemia. PhD Thesis in Medical Sciences. The Graduate School, Khon Kaen University; 2015.
23. Echler G. Determination of glucose-6-phosphate dehydrogenase levels in red cell preparations. *Am J Med Technol* 1983; 49: 259-62.

**แบบฟอร์มส่งบทความลงตีพิมพ์ใน  
วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด**

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรื่อง ส่งบทความและลายมือชื่อยินยอมของผู้นิพนธ์

เรียน บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

- บทความที่ส่ง (เลือกกาได้หลายข้อ)
  - ยังไม่เคยได้รับการตีพิมพ์ในวารสารหรือสิ่งพิมพ์ใดๆมาก่อน
  - เป็นผลงานของผู้เขียน โดยไม่ได้คัดลอกมาจากส่วนหนึ่งส่วนใดหรือผลการศึกษาใด ของผู้อื่น
  - อยู่ระหว่างการส่งไปขอรับการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่นด้วย (โปรดระบุ รายละเอียด)  
.....
  - บางส่วน เคยได้รับการตีพิมพ์มาแล้ว (โปรดระบุรายละเอียดการตีพิมพ์และแนบ ต้นฉบับ)  
.....
  
- ประเภทบทความที่ส่ง (โปรดใส่ชื่อเรื่อง)
  - นิพนธ์ต้นฉบับ (Original article).....
  - บทความปริทัศน์ (Review article).....
  - บทความทั่วไป (General article).....
  - จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to the editor) .....
  - อื่น ๆ.....
  
- รายชื่อผู้นิพนธ์ทุกคนพร้อมลายมือชื่อยินยอมให้ลงตีพิมพ์ในวารสารนี้
  1. ....ลงชื่อ.....
  2. ....ลงชื่อ.....
  3. ....ลงชื่อ.....
  4. ....ลงชื่อ.....
  5. ....ลงชื่อ.....
  6. ....ลงชื่อ.....

ลงชื่อผู้เสนอแบบฟอร์ม.....

(.....)

Corresponding author

สถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสารและ e-mail address

.....  
.....  
.....

**โปรดส่งแบบฟอร์มนี้**

โดยการแนบไฟล์ในระหว่างที่ท่านส่งต้นฉบับแบบ Online Submission ใน <http://www.tci.thaijo.org/index.php/ams>

# วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

## คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัดเป็นวารสารที่จัดทำขึ้นเพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย ความรู้และความก้าวหน้าทางวิชาการทางด้านเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้องโดยกองบรรณาธิการ สวสนสิทธิ์ในการตรวจทาน แก้ไขต้นฉบับ และพิจารณาตีพิมพ์ตามความเหมาะสม บทความทุกประเภทจะได้รับการพิจารณาถึงความถูกต้อง ความน่าเชื่อถือ ความน่าสนใจ ตลอดจนความเหมาะสมของเนื้อหาจากผู้ทรงคุณวุฒิจากในหรือนอกกองบรรณาธิการ วารสารมีหลักเกณฑ์และคำแนะนำทั่วไป ดังต่อไปนี้

1. ประเภทของบทความ บทความที่จะได้รับการตีพิมพ์ในวารสาร อาจเป็นบทความประเภทใดประเภทหนึ่งดังต่อไปนี้

1.1 บทบรรณาธิการ (Editorial) เป็นบทความสั้นๆ ที่บรรณาธิการ หรือผู้ทรงคุณวุฒิที่กองบรรณาธิการเห็นสมควรเขียนแสดงความคิดเห็นในแง่มุมต่างๆ เกี่ยวกับบทความในวารสาร หรือเรื่องที่บุคคลนั้นเชี่ยวชาญ

1.2 บทความทั่วไป (General article) เป็นบทความวิชาการด้านเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้องที่ไม่เน้นวิชาการเรื่องใดเรื่องหนึ่งเป็นการเฉพาะที่คนทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจได้

1.3 บทความปริทัศน์ (Review article) เป็นบทความที่เขียนจากการรวบรวมความรู้ในเรื่องใดเรื่องหนึ่งทางเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด และ สาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง ที่ผู้เขียนได้จากการอ่านและวิเคราะห์จากวารสารต่างๆ ควรเป็นบทความที่รวบรวมความรู้ใหม่ที่ น่าสนใจที่ผู้อ่านสามารถนำไปประยุกต์ได้ โดยอาจมีบทสรุปหรือ ข้อคิดเห็นของผู้เขียนด้วยก็ได้ บทความประเภทนี้ประกอบด้วย บทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พร้อมคำรหัส (Key word) บทนำ เนื้อเรื่อง และเอกสารอ้างอิง

1.4 นิพนธ์ต้นฉบับ (Original article) เป็นรายงานผลการศึกษาวิจัย ทางด้านเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้องของผู้เขียนเอง ประกอบด้วยบทคัดย่อ บทนำ วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา สรุปและวิจารณ์ ผลการศึกษาและเอกสารอ้างอิง

1.5 จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to the editor) อาจเป็นข้อคิดเห็นเกี่ยวกับบทความที่ตีพิมพ์ไปแล้วในวารสารและกองบรรณาธิการได้ พิจารณาเห็นว่าจะเป็นโยชน์ต่อผู้อ่านท่านอื่น หรืออาจเป็นผลการศึกษา การค้นพบความรู้ใหม่ๆ ที่สั้นและสมบูรณ์ในตัว

1.6 บทความอื่นๆ ที่กองบรรณาธิการเห็นสมควรเผยแพร่

2. การเตรียมต้นฉบับ

2.1 ให้พิมพ์ต้นฉบับในไฟล์ Word 2007 ขึ้นไป

2.2 หน้าแรกประกอบด้วยชื่อเรื่อง ชื่อผู้เขียนและสถานที่ทำงานทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และระบุชื่อผู้เขียนที่รับผิดชอบในการติดต่อ (corresponding author) ไว้ให้ ชัดเจน ชื่อเรื่องควรสั้น และได้ใจความตรงตาม เนื้อเรื่อง

2.3 เนื้อเรื่องและการใช้ภาษา เนื้อเรื่องอาจเป็นภาษาไทยหรือภาษา อังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยให้ยึดหลักพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถานและ ควรใช้ภาษาไทยให้มากที่สุด ยกเว้นคำภาษาอังกฤษที่แปลแล้วได้ใจความไม่ชัดเจน

2.4 รูปภาพ ตาราง และคำอธิบายให้วางแทรกในเนื้อหาตามความเหมาะสม

2.5 นิพนธ์ต้นฉบับให้เรียงลำดับเนื้อหา ดังนี้ บทคัดย่อ ภาษาไทยและภาษาอังกฤษพร้อมคำรหัส (Key word) ไม่เกิน 5 คำ บทนำ (Introduction) วัสดุและวิธีการ (Materials and Methods) ผลการศึกษา (Results) สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา (Conclusion and Discussion) กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) และ เอกสารอ้างอิง (References)

2.6 เอกสารอ้างอิงใช้ตามระบบ Vancouver's International Committee of Medical Journal โดยใส่หมายเลขเรียงตามลำดับที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง (superscript) โดยบทความที่มีผู้เขียนจำนวน 6 คน หรือน้อยกว่าให้ใส่ชื่อ ผู้เขียนทุกคน ถ้ามากกว่า 6 คน ให้ใส่ชื่อเฉพาะ 6 คนแรก ตามด้วยอักษร et al ดังตัวอย่าง

**วารสารภาษาอังกฤษ**

Leelayuwat C, Hollinsworth P, Pummer S, Lertmemongkolchai G, Graeme T, Mullberg J, et al. Antibody reactivity profiles following immunisation with diverse peptides of the PERB11 (MIC) family. Clin Exp Immunol 1996; 106: 568-76.

**หนังสือที่มีบรรณาธิการ**

Solberg HE. Establishment and use of reference values with an introduction to statistical technique. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1987: 202-12.

3. โปรดส่งต้นฉบับแบบ online submission ที่ <http://www.tci.thaijo.org/index.php/ams>

4. เงื่อนไขในการพิมพ์

4.1 เรื่องที่ส่งมาลงพิมพ์ต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังรอตีพิมพ์ในวารสารอื่น

4.2 ข้อความหรือข้อคิดเห็นต่างๆ เป็นของผู้เขียนบทความนั้นๆ ไม่ใช่ความเห็นของกองบรรณาธิการหรือของวารสาร และไม่ใช่มติเห็นของ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

4.3 วารสารจะมอบ pdf ของบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ให้กับผู้เขียนที่รับผิดชอบบทความเป็นอนันต์หากท่านการ



พิมพ์ที่ โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น 123 ถ.มิตรภาพ อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002  
โทรศัพท์ 0-4320-2100 มือถือ 09-9465-5115 ภายใน 44770  
E-mail: [kkuprinting@hotmail.com](mailto:kkuprinting@hotmail.com) Website: <http://home.kku.ac.th/printingkku/>