

วารสาร
เทคนิคการแพทย์
เชียงใหม่



BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 46 ฉบับที่ 1 มกราคม 2556

ISSN : 0125-5347

เทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิค

Explore new dimensions in flow cytometry

PCL HOLDING
www.pclholding.com

Flow Cytometer

Cytomics™ FC 500



CyAn™ ADP



Gallios



MoFlo™ XDP Experience Xtremes

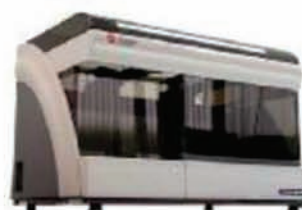


Cell Preparation

TQ-Prep



FP1000



The future of flow cytometry software

Kaluza Analysis Software



บริษัท พี ซี แอล โฮลดิ้ง จำกัด

224/16-17 ซอยจรัสกลาง ถนนสีรินธร เขตบางพลัด
กรุงเทพมหานคร 10700 โทร.(662) 881-0650-57
แฟกซ์:(662) 881-0989

Where you can find a complete diagnostic solutions.

BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

Objective: Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences (Bull Chiang Mai Assoc Med Sci) is a tertially peer-reviewed journal that publishes integrating clinical research papers. Manuscripts (original research articles, general articles, short technical reports, notes, letter to editor, miscellany and abstracts) relevant to any of all aspects of Medical Technology, Radiologic Technology, Occupational Therapy and Physical Therapy are welcome.

In addition to original articles, the Bull Chiang Mai Assoc Med Sci will publish invited editorials (relating to a manuscript in the same issue or a topic of current interest) and review articles. The goal of this journal is to provide a platform for scientists and academicians to promote, share, and discuss various new issues and developments in different areas of Medical Technology, Radiologic Technology, Occupational Therapy and Physical Therapy.

The final decision on publication of a manuscript rests with the Editorial Board and ultimately with the Editor. All papers, regardless of type, represent the opinion of the authors and not necessarily that of the Editor, the Association or the Publisher.

The Bull Chiang Mai Assoc Med Sci is the official journal of the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

Editor in Chief

Associate Professor Dr. Preeyanat Vongchan

Associate Editor

Associate Professor Dr. Thanusak Tatu

Editorial board members

Medical Technology

Professor	Dr. Watchara	Kasinrer	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Chatchai	Tayapiwattana	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Rachada	Cressey	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Poonsub	Palacajornsuk	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Professor Emeritus	Dr. Panja	Kulapongs, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professsor	Dr. Suthat	Foocharoen, M.D.	The Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University
Professsor	Dr. Pasuk	Mahakkanukrauh, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professsor	Dr. Tanin	Bhoopat, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Pradya	Somboon	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professsor	Dr. Lertlakana	Bhoopat, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professsor	Dr. Thira	Sirisantana, M.D.	Research Institute for Health Sciences, Chiang Mai University
Professor	Dr. Kedsara	Na Bang Chang	Faculty of Allied Health Science, Thammasat University
Professsor	Dr. Arunee	Jetsrisuparp, M.D.	Faculty of Medicine, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Supan	Foocharoen	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Kunnapa	Foocharoen	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Ganjana	Lertmemongkolchai	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Nattaya	Sae-oung	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Kanokwan	Sanchaisuriya	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Professsor	Dr. Nawapan	Jarurak, M.D.	Bumrungrad International Hospital, Bangkok
Associate Prof.	Warunee	Kunachiwa	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

Physical Therapy

Assistant Prof.	Todsaporn	Pichaiya	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Araya	Yanakai	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Jongjin	Ratanapinunchai	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Prapas	Pothongsunun	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Somporn	Sungkarat	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Rungtiwa	Watchalathiti	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Assistant Prof.	Dr. Prawit	Janwattanakul	Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University
Assistant Prof.	Dr. Rotsalai	Kanlayanapotporn	Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University
Assistant Prof.	Dr. Kanda	Chaipinyo	Faculty of Health Science, Srinakharinwirot University
Assistant Prof.	Dr. Rumpa	Boonsinsukh	Faculty of Health Science, Srinakharinwirot University
Assistant Prof.	Dr. Wattana	Jalayondeja	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Assistant Prof.	Dr. Raweewan	Leksakulchai	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Lecturer Dr.	Supalak	Khemthong	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Assistant Prof.	Dr. Pornratchanee	Weerapong	Faculty of Physical Therapy, Huachiew Chalermprakiet University

Occupational Therapy

Associate Prof.	Dr. Wannipa	Bunrayong	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Maethisa	Pongsakri	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Supaporn	Chinchai	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Peeraya	Munkhetwit	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Sarinya	Sripetcharawut	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Terdchai	Shewagate, M.D.	Protheses Foundation of HRH The Princess Mother

Radiologic Technology

Associate Prof.	Raweewan	Gunphairoh	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Samlee	Mankhetkorn	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Suchart	Kothan	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Jittiporn	Kianprasit	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Suwit	Saekho	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Professor	Dr. Chaleaw	Piyachon, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Malai	Muttarak, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Tanongkiat	Kiatsiroat	Faculty of Engineering, Chiang Mai University

Published: Tertially (January, May, September)

Business Manager

Jariya	Garthong
--------	----------

Treasurer

Angsumalee	Srithiruen
------------	------------

Manager and Registra Staff

Thanakorn	Karnluksanee
Manut	Manokhum

Webpage administrative staff

Anurak	Bunpun
Tapapol	Comnoi

Subscription: Subscriptions are to be prepaid; and rates per year: US\$ 50 for all outsides.

Editorial Office: All correspondence should be addressed to the editor

Associate Prof. Dr. Preeyanat Vongchan
Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences,
Chiang Mai University, Thailand 50200

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

วัตถุประสงค์

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ (ISSN 0125-5347) จัดทำขึ้นเพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด และกายภาพบำบัด ภายใต้ระบบและกระบวนการตรวจประเมินคุณภาพของบทความทางวิชาการด้วยผู้ทรงคุณวุฒิ ผู้มีความเชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้น

เจ้าของ

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปรียานาถ วงศ์จันทร์

รองบรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ธนศักดิ์ ตาตุ

กองบรรณาธิการ

สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

ศาสตราจารย์	ดร. วังชะ	กสิณฤกษ์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. ชัชชัย	ตะยาภักพัฒนา	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รัชดา	เครสซี่	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อาจารย์ ดร.	พูนทรัพย์	ผลาขจรศักดิ์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์เกียรติคุณ	ดร. นพ. ปัญจะ	กุลพงษ์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	ดร. นพ. สุทัศน์	ฟูเจริญ	สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล
ศาสตราจารย์	ดร. ผาสุก	มหรฆานุเคราะห์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	นพ. ธาณินทร์	ภูพัฒน์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. ปรัชญา	สมบูรณ์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	พญ. เลิศลักษณ์	ภูพัฒน์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	นพ. อธิระ	ศิริสันทนะ	สถาบันวิจัยสุขภาพ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	ดร. เกศรา	ณ บางช้าง	คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต
ศาสตราจารย์	พญ. อรุณี	เจตศรีสุภาพ	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์	ดร. สุพรรณ	ฟูเจริญ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์	กุลณา	ฟูเจริญ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์	ดร. กาญจนา	เลิศมีมงคลชัย	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์	ดร. ณัฐยา	แซ่ฮึง	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รองศาสตราจารย์	ดร. กนกวรรณ	แสนไชยสุริยา	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ศาสตราจารย์	พญ. นวพรรณ	จารุรักษ์	โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์ กรุงเทพมหานคร
รองศาสตราจารย์	วารุณี	คุณาชีวะ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สาขาวิชากายภาพบำบัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ทศพร	พิชัยยา	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อาจารย์ ดร.	อารยา	ญาณกาย	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. จงจินตน์	รัตนากินันท์ชัย	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ประภาส	โพธิ์ทองเจริญ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สมพร	สังขรัตน์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. รุ่งทิพา	วัจฉลลลลลลล	คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ประวีตร	เจนวรรณกุล	คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รสสัย	กัลยาณพจน์พร	คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. กานดา	ชัยภิญโญ	คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รัมภา	บุญสินสุข	คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. วรธนะ	ชลาชนเดชะ	คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ระวีวรรณ	เล็กสกุลไชย	คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
อาจารย์ ดร.	ศุภลักษณ์	เข็มทอง	คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. พรวรรณ	วีระพงษ์	คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

สาขาวิชากิจกรรมบำบัด

รองศาสตราจารย์	ดร. วรณิภา	บุญระยอง	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. เมธิศา	พงษ์ศักดิ์ศรี	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สุภาพร	ชินชัย	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. พิรยา	มันเชตวิทย์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อาจารย์ ดร.	สรินยา	ศรีเพชรราชู	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	นพ. เทอดชัย	ชีวะเกตุ	มูลนิธิขาเทียมในสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี

สาขาวิชารังสีเทคนิค

รองศาสตราจารย์	ระวีวรรณ	กันไพเราะ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์	ดร. สารี	มันเชตกรณ์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สุชาติ	โกทันย์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	จิตติพร	เขียนประสิทธิ์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อาจารย์ ดร.	สุวิทย์	แซ่ไคว	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	นพ. เฉลียว	ปิยะชน	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	พญ. มาลัย	มุตตารักษ์	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์	ดร. ทนงเกียรติ	เกียรติศิริโรจน์	คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กำหนดออก

ราย 4 เดือน (มกราคม พฤษภาคม กันยายน)

ผู้จัดการ

นางจริยา กาทอง

เหรียญกษาปณ์

นางสาวอังศุมาลี ศรีทิเรื่อน

ฝ่ายจัดการและฝ่ายทะเบียน

นายธนกร การลักษณ์
นายมะนัด มะโนคำ

สารสนเทศ

นายอนุรักษ์ บุญปัน
นายฐปพล คำน้อย

ดำเนินงานจัดทำโดย

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เลขที่ 110 ถนนอินทวิโรต ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 053 945072 โทรสาร 053 946042
Homepage [http:// www.ams.cmu.ac.th](http://www.ams.cmu.ac.th)

จัดพิมพ์โดย : ไอเด็ม กรุป 106 ซ.7 ต.ศรีภูมิ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทร. 053216962 idem_groups@hotmail.com



บรรณาธิการ

ยามวันเวียนเปลี่ยนไปขอมีสุข
มรดกหมู่ญาติถ่ายทอดสืบบุญ
พรเลิศรับนับไปปรีเพิ่มพูน
เรือ่งจรรยงชีวิตรามาค่าควร

การงานก่อปรชอุบาทงสร้างสรรคยัง
มอบแต่สิ่งเลิศงามตามกระต่อน
อุทิศตนเต็มใจให้หมู่มรด
ผลงานล้วนเกิดจากราชแผ่นดิน

ขอใจแกร่งแรงเกิดประเสริฐกล้า
เปี่ยมปัญญาดีมีนพสันพบสัน
วิชาชีพเชียวชาญกาละอาชีวน
อุดมศิลป์เฝ้าแสดวงแหล่งวิจัย
เพื่อประชาชาติรุ่งเรืองถึงที่
เหมาะวิธีช่วยกันบันแบบใหม่
องค์ความรู้คู่กันสนั่นละไม
ความภูมิไฉ่อิมเอมเปรมยืนนาน

ขอตราเริ่มเพิ่มพลังสมหวังเกิด
ผลบังเกิดก่อสุขทุกสถาน
คุณธรรมประจำจิตใจสร้าง
ขึ้นรอบด้านตลอดปีใหม่นี้เอย...

ประพันธ์โดย อาจารย์สุรภา เดชะ
มกราคม ๒๕๕๖

ข้อมูล ทัศนนะ และข้อความใดๆ ที่ปรากฏในวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่
เป็นของผู้เขียน หรือเจ้าของต้นฉบับเดิมโดยเฉพาะ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องด้วย



สารบัญ

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

บทความทั่วไป

- 1 เบทินต้านจุลชีพ: โปรตีนจากธรรมชาติกับการประยุกต์ใช้เพื่อการรักษาโรคติดเชื้อในอนาคต
Antimicrobial peptides: The natural proteins and the future application for treatment of infectious diseases
สรศักดิ์ อินทรสุต

นิพนธ์ต้นฉบับ

- 22 การใช้ MCV หรือ MCH ร่วมกับเทคนิค PCR เพื่อวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมีย ชนิดที่พบบ่อยในภาคเหนือของประเทศไทย
Diagnosis of thalassemia carriers commonly found in Northern Thailand
via a combination of MCV or MCH and PCR-based methods
วิภาสิริ ศรีสุวรรณ ฐนุศักดิ์ ตาตุ
- 33 การศึกษาปริมาณรังสีที่ลำไส้ตรงได้รับการใส่แร่ อัตราการแพ้ปริมาณรังสีสูง จากการคำนวณโดยกำหนดจุดอ้างอิง
ลำไส้ตรงแบบหลายจุด และการกำหนดตามมาตรฐาน ICRU ฉบับที่ 38 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก ที่เข้ารับการรักษาน
โรงพยาบาลมะเร็งลำปาง
The study of a rectal dose in cervical carcinoma: High dose rate brachytherapy calculated based
on the ICRU Report 38 Recommendation and Multiple Points Calculation in Lampang Cancer Hospital
จำเนียรพันธ์ เรือนศรี ทศน์วรรณ อาษากิจ ดุริยา พงมุล สมเกียรติ ลลิตวงศา
- 40 การสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของพนักงานขับรถ
โดยสารรับจ้างของสหกรณ์นครลันนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่
The survey of stroke risk level in taxi drivers of Nakorn Lanna Transport Cooperation, Chiang Mai Province
จุฑารัตน์ ดวงจันทร์ดุษฎี พิทยา มั่นเขตวิทย์
- 49 การเปรียบเทียบตำแหน่งของกระดูกสะบักและช่วงการเคลื่อนไหวรวมของข้อไหล่
ระหว่างนักกีฬาว่ายน้ำเยาวชนที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บ
Comparison of resting scapular position and range of combined shoulder
elevation between junior swimmer players with and without shoulder pain
อิสราภรณ์ จันนัยนา สุวิทย์ อริยชัยกุล วิทยา เมธิยาคม จงจินต์ รัตนานันทชัย
- 59 ความสัมพันธ์ของการประเมินการทรงตัวด้วยนินเทนโดวีร่วมกับวีบาลานซ์บอร์ด กับการทดสอบการยืนบนขาข้างเดียว
The relationship of balance assessment by Nintendo Wii with Wii balance board and single leg balance test
สรายุทธ มงคล ขนิษฐา วงศ์ลังกา เตียนา วิเชียรสว่าง ธัญฐา ศรัณยานุรักษ์ อัยชนะ แอลมาบุรัก
- 66 ผลการฝึกการทรงตัวโดยใช้โปรแกรม Wii Fit ร่วมกับ Nintendo Wii และ Wii Balance Board ในคนอ้วนเพศหญิง
The effect of balance training by program Wii t with Nintendo Wii and Wii balance board in female obese people
สรายุทธ มงคล คณิศร ยิ่งปากน้ำ บัณฑิต ชันธุสุวรรณ เพ็ญภา สุปินชมภู สุจินดา บุญเพ็ง
- 72 การตรวจหา HBV profile ในระยะ: occult HBV infection ในผู้บริจาคโลหิตของโรงพยาบาลหาราชนครเชียงใหม่
HBV profile of the occult HBV infection in blood donors at Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital
นิภาพรณ ลีตระกูล ไพโรจิตร ตานัน ลัดดา พงสทิธกุล
- 82 แบบจำลอง
- 84 ใบสมัครสมาชิก

Review article

Antimicrobial peptides: The natural proteins and the future application for treatment of infectious diseases

Sorasak Intorasoot*

Division of Clinical Microbiology, Department of Medical Technology,
Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, 50200, Thailand

* Corresponding author (Email: isorasak@hotmail.com)

Abstract

Infectious diseases caused by microorganisms are involved in life-threatening worldwide. Of these, bacteria is the major cause of morbidity and mortality. During the decade, an increasing of the prevalence of antibiotic resistance pathogens has been reported. The resistant ability of microorganisms is studied and defined to be associated with over-used drugs, inappropriate treatment and prolonged therapy of infected patients. Although new antibiotics are continuously discovered, global trends of multi-drug resistant infection still remained. Antimicrobial peptides (AMPs) are small cationic peptides which produced by broad range of organisms from invertebrate to vertebrate. Due to the fact that AMPs have high positive charge, they prefer to react with the negatively charge of microbial membrane and represent antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria, virus, fungi as well as parasites. Modes of AMPs action are explained and models of microbial membrane disruption by AMPs are illustrated. Five potent AMPs consisting of cathelicidin, defensins, histatins, protegrins and magainins are selectively reviewed. Cathelicidins, defensins and histatins are human short polypeptides that mostly found in various kinds of cells, tissues and body fluids whereas protegrins and magainins are synthesized in porcine leukocytes and skin of *Xenopus laevis*, an African clawed frog, respectively. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities testing of these peptides are over-viewed. Others actions of these peptides such as endotoxin neutralization, immunomodulatory activities, angiogenesis and wound healing are included. In addition, the application in clinical trials and trends of AMPs research are discussed. ***Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 1-19***

นิพนธ์ปริทรรศน์

เปปไทด์ต้านจุลชีพ: โปรตีนจากธรรมชาติกับการประยุกต์ใช้เพื่อ การรักษาโรคติดเชื้อในอนาคต

สรศักดิ์ อินทรสุด*

แขนงวิชาจุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: isorasak@hotmail.com)

บทนำ

โรคติดเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัส นั้นยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในทุกภูมิภาคของประเทศทั่วโลก โดยพบว่าการติดเชื้อในมนุษย์ส่วนใหญ่นั้นเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ปัจจุบันพบอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะในเชื้อแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียดื้อยา เช่น เชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งดื้อต่อยาในกลุ่ม beta-lactam (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือ MRSA) เชื้อ *Enterococcus faecalis* และ *E. faecium* ซึ่งดื้อต่อยา vancomycin (vancomycin-resistant Enterococci หรือ VRE) เป็นต้น แม้จะมีการค้นพบยาปฏิชีวนะชนิดใหม่รวมถึงความพยายามที่จะสังเคราะห์ยาชนิดใหม่ซึ่งมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดีขึ้นเพื่อนำมาทดแทนยาปฏิชีวนะเดิม แต่เชื้อแบคทีเรียก็ยังคงสามารถเกิดการดื้อยาขึ้นได้อีก เปปไทด์ต้านจุลชีพ (antimicrobial peptides หรือ host-defense peptides) นั้นเป็นสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก ถูกค้นพบมากกว่า 30 ปี สามารถพบได้ทั้งในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอย่างเชื้อแบคทีเรีย รา พืช สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังไปจนถึงเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยพบว่าสารเหล่านี้มักเป็นสารในระบบภูมิคุ้มกันแบบกำเนิด (innate immunity) มีความสามารถในการเลือกจับ (selectivity) สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้กว้าง (broad-spectrum) ซึ่งบางชนิดอาจมีฤทธิ์ครอบคลุมถึงการทำลายเชื้อรา ไวรัสชนิดมีเปลือก (enveloped viruses) ปรสิต และอาจมีผลในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 1-19

คุณสมบัติทั่วไปของเปปไทด์ต้านจุลชีพ

ในปัจจุบันพบเปปไทด์ต้านจุลชีพมากกว่า 1,000 ชนิด มีความยาวของกรดอะมิโนตั้งแต่ 12-100 ตัว ซึ่งภายในสายของเปปไทด์นั้นมักจะประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีประจุบวก (positively charge amino acids) เช่น อาร์จินีน (arginine) ไลซีน (lysine) รวมถึง ฮิสติดีน (histidine) ในสภาวะที่เป็นกรด และกรดอะมิโนชนิดไม่มีขั้ว (hydrophobic amino acids) เช่น อะลานีน (alanine) ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ทริปโตฟาน (tryptophan) และ ไทโรซีน (tyrosine) มากกว่า 50% ซึ่งการมีกรดอะมิโนที่มีประจุบวกจำนวนมากนั้นส่งเสริมให้เปปไทด์ต้านจุลชีพมีคุณสมบัติในการเลือกจับกับเซลล์แบคทีเรียผ่านประจุลบของฟอสโฟลิปิด (phospholipid) ที่เซลล์เมมเบรน

ของเชื้อพร้อมกับสารบางชนิดที่เชื้อสร้างขึ้น เช่น กรด Teichoic ของแบคทีเรียชนิดแกรมบวก หรือ สาร lipopolysaccharide (LPS) ของแบคทีเรียชนิดแกรมลบ เป็นต้น¹⁻³

โครงสร้างทุติยภูมิของเปปไทด์ต้านจุลชีพ

จากการศึกษาวิจัยพบว่าเปปไทด์ต้านจุลชีพมีคุณสมบัติเป็น amphipathicity กล่าวคือเป็นโมเลกุลที่ด้านหนึ่งมีประจุส่วนอีกด้านหนึ่งไม่มีขั้ว (hydrophobicity) ซึ่งส่วนของโมเลกุลที่มีประจุส่วนนี้มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับการจับกับเซลล์เมมเบรนของเชื้อจุลชีพ นำไปสู่การแทรกตัวของเปปไทด์และทำลายเชื้อได้ต่อไป³⁻⁵

ปัจจุบันเปปไทด์ต้านจุลชีพสามารถแบ่งโดยอาศัย

โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ได้เป็น 4 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 1 คือ

1. โครงสร้าง alpha-helix เป็นลักษณะโครงสร้างเกลียวเวียนขวา ตัวอย่างของเปปไทด์โครงสร้างดังกล่าว เช่น magainins ซึ่งแยกได้จากผิวหนังของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำจำพวกกบ, melittin จากสารพิษที่ผึ้งปล่อยออกมา (bee venom) และ LL-37 ซึ่งเป็นโปรตีนภายในไลโซโซมของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil) ของมนุษย์ เป็นต้น

2. โครงสร้าง beta-sheet หรือ beta-strand เป็นโครงสร้างซึ่งประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) อย่างน้อย 2 พันธะในการคงรูปร่าง ตัวอย่างของเปปไทด์ซึ่งมีโครงสร้างเป็น beta-sheet เช่น protegrin-1 ซึ่งสร้างจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของสุกร, alpha- และ beta-defensins จากเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์ เป็นต้น

3. โครงสร้าง beta-hairpin หรือ loop structure ประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ในการคงรูปร่างของเปปไทด์

เพียงพันธะเดียว ตัวอย่างเช่น lactoferricin ซึ่งพบทั้งในน้ำนมจากวัวและมนุษย์ thanatin จากแมลงจำพวกมวน (*Podisus maculiventris*) เป็นต้น

4. โครงสร้าง extended ซึ่งเป็นโครงสร้างสายตรง ตัวอย่างเช่น indolicidin จากวัว PR-39 จากสุกร เป็นต้น

ขั้นตอนและกลไกในการทำลายเชื้อจุลชีพของเปปไทด์ด้านจุลชีพ

เนื่องจากเปปไทด์ด้านจุลชีพมีหลายชนิดและมีเป้าหมายในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่แตกต่างกัน บางชนิดมีผลยับยั้งการทำงานของโปรตีน เอนไซม์ กรดนิวคลีอิก หรือสารภายในเซลล์ (รูปที่ 2) อย่างไรก็ตามส่วนใหญ่มักมีเป้าหมายอยู่ที่การทำลายเซลล์ผ่านทางเซลล์เมมเบรน ซึ่งขั้นตอนในการทำลายจุลชีพของเปปไทด์ด้านจุลชีพและแบบจำลองการทำลายเซลล์มีอยู่หลายแบบดังนี้⁵⁻⁷

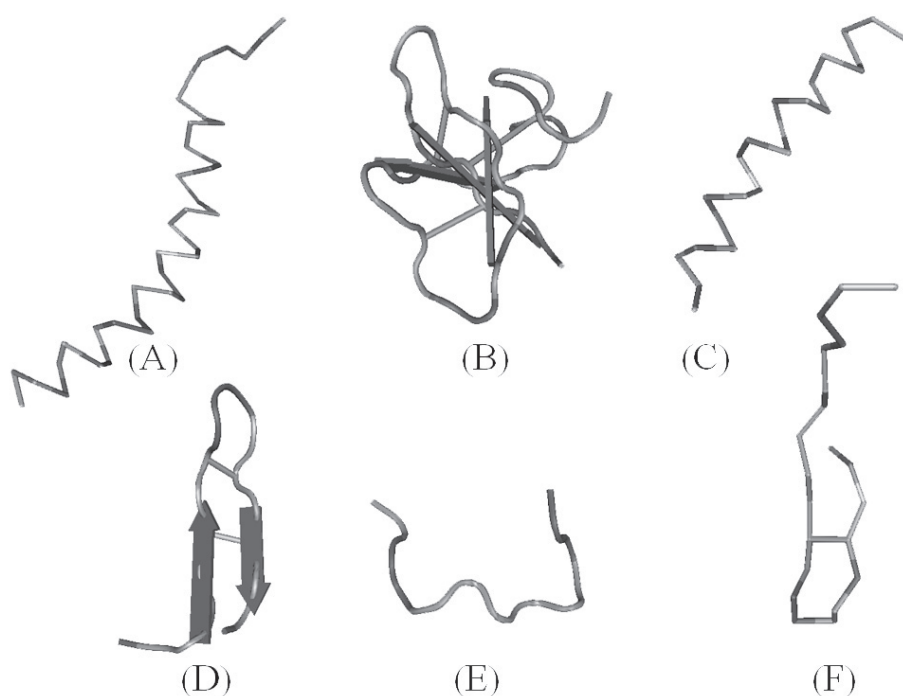


Figure 1 The secondary structure of antimicrobial peptides

Several secondary structures of antimicrobial peptides are illustrated for example alpha-helical structure of LL-37 (A) and magainins (C), beta pleated sheet structure of beta-defensin-2 (B) and protegrin-1 (D), extended of indolicidin (E) and loop structure of thanatin (F). The three-dimensional structures of these peptides are prepared by Cn3D public software (www.ncbi.nlm.nih.gov/structure). The reference accession number of antimicrobial peptides LL-37, beta-defensin-2, magainins, protegrin-1, indolicidin and thanatin are MMDB ID: 66825, 16324, 74736, 73760, 74222 and 12286. Arrows indicated the direction of beta-sheet structure.

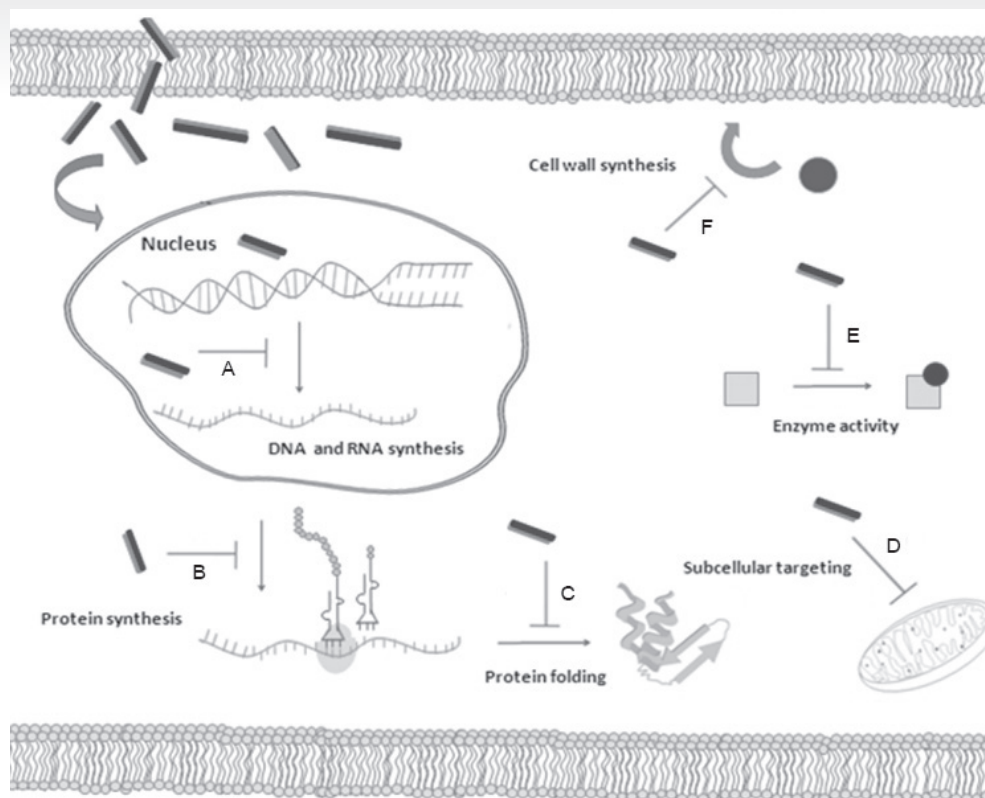


Figure 2 Modes of action of antimicrobial peptides

Modes of action of antimicrobial peptides are depicted in panel A-F. Various intracellular targets of peptides are demonstrated including the inhibition of DNA or RNA biosynthesis (A), blockage of protein synthesis (B), inhibition of protein folding (C), targeting to subcellular organelles such as mitochondria (D), binding to cellular enzymes and inhibit enzymes function (E) and blockage of structural components associated with cell wall synthesis (F).

ขั้นตอนการทำลายเชื้อของเปปไทด์ต้านจุลชีพ

1. การดึงดูดระหว่างเปปไทด์ต้านจุลชีพและเซลล์จุลชีพ (cell attraction) การดึงดูดหรือเหนี่ยวนำระหว่างเซลล์จุลชีพและเปปไทด์ต้านจุลชีพอาศัยแรงขั้วไฟฟ้าหรือแรง electrostatic ซึ่งเซลล์เมมเบรนของเชื้อจุลชีพและองค์ประกอบของสารบนผิวของเซลล์ เช่น lipopolysaccharide ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบหรือกรด Teichoic ของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกนั้นมีประจุรวมเป็นลบ ในขณะที่เปปไทด์ต้านจุลชีพมีประจุเป็นบวก

2. การจับกับเซลล์เมมเบรน (attachment)
ขั้นตอนนี้เกิดขึ้นหลังจากการเหนี่ยวนำระหว่างเซลล์แบคทีเรียและเปปไทด์ต้านจุลชีพ โดยเปปไทด์ต้านจุลชีพซึ่งมีประจุบวกจะแทรกตัวผ่านผนังเซลล์เข้าไปยึดเกาะกับประจุลบของฟอสโฟไลปิดในชั้นลิพิดไบเลเยอร์ (lipid bilayer) ของเซลล์

3. การสอดแทรกเปปไทด์ผ่านชั้นลิพิดไบเลเยอร์ (penetration)

ขั้นตอนนี้เป็นการสอดแทรกเปปไทด์ด้าน hydrophobic core เข้าไปในเซลล์เมมเบรนทำให้เกิด membrane permeability มากขึ้น เกิดรู (pore) ที่เซลล์เมมเบรน แล้วทำให้เกิดการรั่วไหลของสารจากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์ ส่งผลให้เชื้อจุลชีพตายในที่สุด ซึ่งมีแบบจำลองของการเกิดรูจากเปปไทด์แต่ละชนิดที่แตกต่างกันดังนี้

แบบจำลองกลไกการทำลายเซลล์ของเปปไทด์ต้านจุลชีพ

1. แบบจำลอง barrel-stave

แบบจำลองนี้อาศัยคุณสมบัติความเป็น amphipathicity ของเปปไทด์ต้านจุลชีพ ซึ่งส่วนใหญ่มีโครงสร้างทุติยภูมิเป็น alpha-helix โดยเปปไทด์จะใช้ส่วนของกรดอะมิโนไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acids) จับกับส่วนนอกของ head group lipid bilayer จากนั้นใช้ส่วนของกรดอะมิโนที่ชอบน้ำ (hydrophilic amino acids) หรือมีประจุบวกแทรกตัวผ่านชั้นลิพิดไบเลเยอร์ของเซลล์แบคทีเรีย การจำลองตัวดังกล่าว

อาศัยโครงสร้าง alpha-helix จำนวน 3-11 แท่งเรียงต่อกันเป็นวงกลมคล้ายถังไม้ นำไปสู่การเกิดรู และเกิดการรั่วไหลของสารน้ำออกสู่ภายนอก ทำให้เซลล์ตายในที่สุด

2. แบบจำลอง carpet

เป็นแบบจำลองที่อาศัยการสะสมของเปปไทด์ด้านจุลชีพจำนวนมากบนชั้นลิปิดไบเลเยอร์ของเซลล์แบคทีเรีย การสะสมเปปไทด์ดังกล่าวทำให้มีรูปร่างคล้ายกับพรม เปปไทด์จะเรียงตัวขนานไปกับผิวของเซลล์แบคทีเรียโดยอาศัยแรง electrostatic จากนั้นทำให้เกิดการห่อหุ้มโครงสร้างของลิปิดไบเลเยอร์ของเซลล์แบคทีเรียจนมีลักษณะคล้ายกับไมเซลล์ (micelles) และหลุดออกจากเซลล์เมมเบรนซึ่งผลดังกล่าวทำให้เกิดรูที่ผิวเซลล์แบคทีเรียเช่นเดียวกัน

3. แบบจำลอง toroid หรือ wormhole

แบบจำลอง toroid หรือเรียกในช่วงแรกตามชื่อผู้ตั้งสมมติฐานแบบจำลองว่า Shai-Matsuzaki-Huang model มีลักษณะคล้ายกับแบบจำลอง barrel stave คือ เปปไทด์จับที่ผิวของเซลล์เมมเบรนโดยอาศัยกรดอะมิโนในส่วนไม่ชอบน้ำ จากนั้นสอดแทรกส่วนของกรดอะมิโนที่ชอบน้ำเข้าไป แล้วกระตุ้นให้เกิดโครงสร้างลิปิดโมโนเลเยอร์ (lipid monolayer) ขึ้น โดยลิปิดโมโนเลเยอร์จะถูกขนาบข้างด้วยเปปไทด์ที่สอดแทรกเข้าไปจำนวน 3-6 เปปไทด์เกิดเป็นรูเกิดขึ้น แบบจำลองการเกิดรูของเปปไทด์บนผิวเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียแสดงในรูปที่ 3

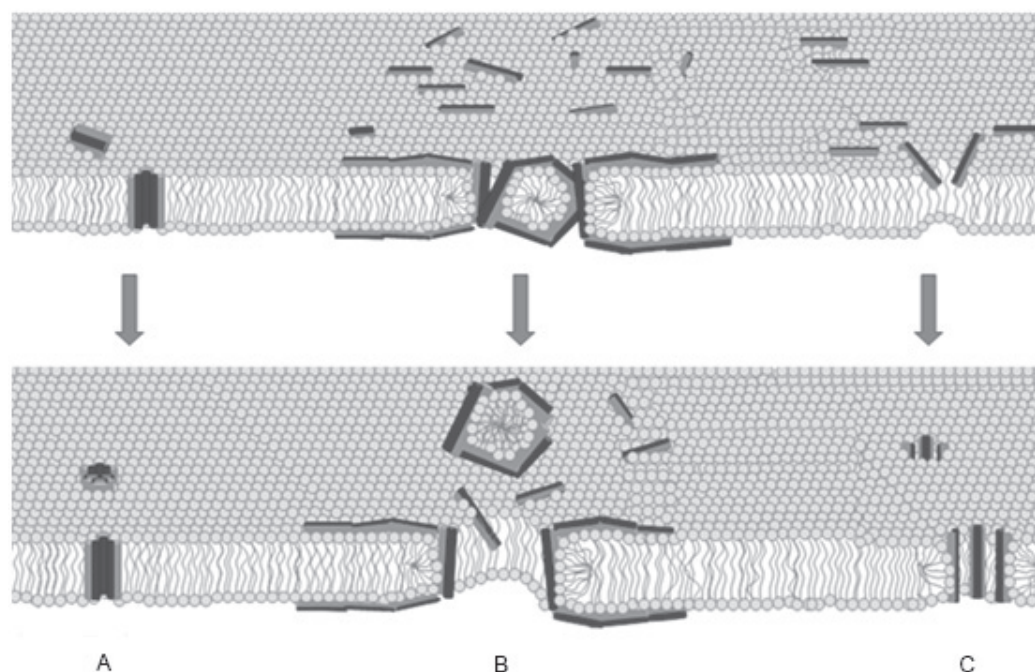


Figure 3 Models of membrane permeabilization of antimicrobial peptides (modified from Jenssen et al.³). Three models of pore formation mechanism consisting of barrel stave (A) carpet (B) and toroidal model (C) are illustrated.

การเลือกจับของเปปไทด์ด้านจุลชีพ

มีรายงานว่าเปปไทด์ด้านจุลชีพสามารถทำลายแบคทีเรียผ่านทางกลไกอื่นๆ หรือจับกับโปรตีนอื่นๆ ภายในเซลล์ของจุลชีพ แต่ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลชีพผ่านทางการเกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ (membrane permeabilization) โดยพบว่าปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องกับการเลือกจับของเปปไทด์ด้านจุลชีพต่อเซลล์ของแบคทีเรียมากกว่าเซลล์เจ้าบ้าน เช่น ความแตกต่างขององค์ประกอบไขมัน (lipid composition) ของเซลล์แบคทีเรียและเซลล์ยูคาริโอต โดยที่ลิปิดไบเลเยอร์ด้านนอกของเซลล์ยูคาริโอตมีประจุเป็นกลาง (zwitterionic phospholipid) แต่แบคทีเรียมีประจุ

เป็นลบ (negatively charge phospholipid) จำนวนมากทั้งด้านนอกและด้านในของเมมเบรนลิปิดไบเลเยอร์ (membrane lipid bilayer) และร่วมกับการมีคุณสมบัติความเป็นกรด (acidic character) ที่ด้านนอกของเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียจึงทำให้สามารถจับกับประจุบวกของเปปไทด์ด้านจุลชีพได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การไม่มีโมเลกุลของโคเลสเตอรอล (cholesterol) ในเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียซึ่งเป็นปัจจัยในการป้องกันการทำลายเซลล์ของยูคาริโอตจากเปปไทด์ด้านจุลชีพ ตลอดจนการมี negative transmembrane potential จำนวนมากภายในเซลล์แบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียง่ายต่อการเลือก

จับโดยเปปไทด์ด้านจุลชีพเกิด pore formation และ destabilization นำไปสู่การเกิด ion channels formation ตามมาได้ นอกจากนี้การเป็นสารทำลายเชื้อก่อโรค เช่น แบคทีเรีย รา ไวรัส รวมถึง ปรสิตรแล้วเปปไทด์ด้านจุลชีพยังเกี่ยวข้องกับการลดการเกิดพิษ (endotoxin neutralization)⁸⁻¹⁰ สามารถกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันและควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน (chemotactic and immunomodulating activities)¹¹⁻¹³ และยังพบว่าเปปไทด์ด้านจุลชีพบางชนิดเกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis)¹⁴⁻¹⁶ และการซ่อมแซมบาดแผล (wound repairing)^{17,18} ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำให้แผลติดเชื่อหายได้เร็วขึ้น ในบทความนี้ผู้เขียนจะมุ่งเน้นไปที่เปปไทด์ด้านจุลชีพที่สำคัญในมนุษย์ 3 ชนิด คือ cathelicidins, defensins และ histatins นอกจากนี้ยังได้ยกตัวอย่างเปปไทด์ด้านจุลชีพจากสัตว์ซึ่งมีการศึกษาวิจัยอย่างแพร่หลายจนพัฒนาไปสู่การทดสอบระดับ clinical trials 2 ชนิด คือ protegrin-1 และ magainins

1. Cathelicidins

Cathelicidins เป็นกลุ่มของเปปไทด์ด้านจุลชีพที่พบได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด การจัดจำแนกอาศัยความเหมือนของลำดับกรดอะมิโน (conserved region) ด้าน N-terminus ประมาณ 100 ตัว เรียกบริเวณนี้ว่า cathelin domain โดยมีความแตกต่างของลำดับกรดอะมิโนทางด้าน C-terminus ในสัตว์แต่ละชนิด เปปไทด์ชนิดนี้ถูกสร้างเป็นโปรเปปไทด์ (pro-peptide) ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์ protease ย่อยเพื่อให้อยู่ในรูปที่สามารถออกฤทธิ์ได้ต่อไป^{19,20}

LL-37 เป็นเปปไทด์ด้านจุลชีพในกลุ่ม cathelicidins ที่แยกได้จากเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์หลายชนิด เช่น B-cells, monocytes, mast cells และ NK cells เป็นต้น^{21,22} เปปไทด์ชนิดนี้มีโครงสร้างทุติยภูมิเป็น alpha-helix ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนจำนวน 37 ตัว มีกรดอะมิโนลิวซีน (leucine) และ ไลซีน (lysine) เป็นองค์ประกอบหลักถึง 27% และเป็นกรดอะมิโนในส่วนสำคัญที่ทำให้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลชีพ งานวิจัยหลายฉบับกล่าวถึงความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพของเปปไทด์ LL-37 โดยพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งในกลุ่มแกรมบวก (Gram-positive bacteria) และแกรมลบ (Gram-negative bacteria) เช่น *S. epidermidis*, *S. aureus*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), *Streptococcus pyogenes*, vancomycin-resistant *E. faecalis*, vancomycin-resistant *E. faecium*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* และ *Stenotrophomonas maltophilia* เป็นต้น^{23, 24} อย่างไรก็ตาม

พบว่าเปปไทด์ LL-37 มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อบางชนิดต่ำหรือไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เช่นกัน เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia cepacia* และเชื้อยีสต์ *Candida albicans* กลไกหรือปัจจัยที่ส่งเสริมการต้านฤทธิ์ของเชื้อดังกล่าวยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด นอกจากนี้ยังพบว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียม คลอไรด์สูงสามารถทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของเปปไทด์ LL-37 ลดลงได้²⁴

ปัจจุบันมีการศึกษาถึงความสำคัญในการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) ของเชื้อจุลชีพมากขึ้น ซึ่งไบโอฟิล์มส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่สร้างและปล่อยออกมาจากเชื้อจุลชีพมีคุณสมบัติสำคัญในการช่วยปกป้องเชื้อจุลชีพจากการถูกทำลายโดยยาปฏิชีวนะหรือสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ รายงานวิจัยพบว่า เปปไทด์ LL-37 สามารถลดการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *S. epidermidis* สายพันธุ์ ATCC 35984 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างและหลั่งสไลม์ (slime หรือ extracellular polymeric substance) ออกมาปกคลุมตัวเชื้อได้สูงถึง 91.2% โดยเปปไทด์เกี่ยวข้องในการยับยั้งการยึดเกาะของเซลล์แบคทีเรียกับพื้นผิวที่จะนำไปสู่การรวมตัวของเชื้อเป็นกลุ่มก้อน²⁵ นอกจากนี้ยังพบว่าเปปไทด์ LL-37 สามารถยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ อย่างไรก็ตาม พบว่ามีกลไกในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มที่แตกต่างไปจากเชื้อ *S. epidermidis* โดยเปปไทด์มีผลกระตุ้นให้เชื้อเกิดการเคลื่อนที่ (twitching motility) ไม่ยึดเกาะ และลดการแสดงออกของยีน *rhlAB* ที่เกี่ยวข้องกับการบวกรสร้างสังเคราะห์ rhamnolipids ในการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลชีพ²⁶

จากการศึกษาลำดับกรดอะมิโนที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียภายในเปปไทด์ LL-37 โดยสังเคราะห์เปปไทด์ขนาดต่างๆ กัน ตั้งแต่กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 13-31 และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกับเปปไทด์ LL-37 โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia thailandensis* พบว่าเปปไทด์สามารถคงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อได้ไม่แตกต่างจากเปปไทด์ต้นแบบ (native peptide) แม้จะตัดกรดอะมิโนในส่วนปลายด้าน N- และ C-terminus ออกไปจำนวน 12 ตัวและ 6 ตัว ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากรดอะมิโนช่วงกลางของสายเปปไทด์ LL-37 น่าจะมีความสำคัญในคงรูปร่างและจำเป็นต่อการออกฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรีย²⁷ อย่างไรก็ตาม ทดสอบนี้กระทำกับเชื้อแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว นอกจากนี้การออกฤทธิ์ของเปปไทด์ยังขึ้นกับหลายปัจจัยจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

จากรายงานการศึกษาในหนูทดลองที่รบกวนการ

แสดงออกของเปปไทด์ cathelin-related antimicrobial peptide (CRAMP) โดยการทำน็อกเอาต์ (knockout) ยีน กำหนดการสร้างเปปไทด์ CRAMP ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับเปปไทด์ LL-37 พบว่าหนูในกลุ่มนี้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อที่ผิวหนังมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม²⁸ เมื่อตรวจวัดปริมาณเปปไทด์ LL-37 ในของเหลวภายในปอด (airway fluids) ของมนุษย์ในสภาวะปกติ พบว่ามีค่าเฉลี่ยประมาณ 2 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในผู้ใหญ่และเด็กทารก ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณของเปปไทด์ LL-37 อาจเพิ่มขึ้น 2-3 เท่าเมื่อมีการติดเชื้อในปอด²⁹ และอาจพบปริมาณของเปปไทด์มากขึ้นถึง 750 เท่า (1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เมื่อมีอาการอักเสบที่ผิวหนังแบบเฉียบพลันในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน (psoriasis)³⁰ ดังนั้นการตรวจหาปริมาณเปปไทด์ LL-37 จึงอาจเป็นตัวบ่งชี้ (marker) ที่สำคัญในการวินิจฉัยผู้ป่วยที่สงสัยจะเป็นโรคสะเก็ดเงินได้ นอกเหนือจากการประเมินอาการทางคลินิกของโรคดังกล่าว

นอกจากนี้ Ramos และคณะ (2011) พบว่าเปปไทด์ LL-37 เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Angiogenesis) โดยสามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของเซลล์หลอดเลือดสองชนิดในหลอดทดลอง (*in vitro*) คือ human microvascular endothelial cells (HMECs) และ human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) และยังพบว่าเปปไทด์ LL-37 เกี่ยวข้องกับการรักษาบาดแผล (wound healing) โดยทำให้เกิดกระบวนการสร้างผิวเซลล์ใหม่ (re-epithelialization) ซึ่งสัมพันธ์กับการสร้างหลอดเลือดใหม่ นำไปสู่การรักษาบาดแผลที่รวดเร็วขึ้นด้วย³¹

2. Defensins

Defensins เป็นกลุ่มเปปไทด์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในพืช แมลง สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และสัตว์มีกระดูกสันหลัง defensins ในมนุษย์สร้างจากเซลล์หลายชนิด ส่วนใหญ่พบภายในแกรนูล (azurophilic granules) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล และ มาโครฟาจ (macrophages) โดยเปปไทด์จะถูกสร้างและนำส่งเข้าไปทำลายเชื้อจุลินทรีย์ภายในถุง vacuoles กลุ่มของเปปไทด์ defensins สร้างจากกลุ่มยีนบนโครโมโซมที่ 6, 8 และ 20 ในรูปของโปรเปปไทด์ที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ภายในเซลล์ มีกรดอะมิโนประมาณ 93-95 ตัว และมีกรดอะมิโนด้าน N-terminus ประมาณ 40-45 ตัว ทำหน้าที่เป็น signaling sequence³²

Defensins แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ alpha-defensins และ beta-defensins กลุ่ม alpha-defensins มีกรดอะมิโนประมาณ 29-35 ตัว สมาชิกภายในกลุ่มมี 6

ชนิด ได้แก่ HNP-1 ถึง -4 และ HD-5 และ -6 ซึ่ง 4 ชนิดแรกพบในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล นอกจากนี้ยังสามารถพบ HNP-1 ถึง-3 ได้ในเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่นๆ ด้วย เช่น B-lymphocytes และ NK cells เป็นต้น ส่วน HD-5 และ -6 นั้นพบภายในแกรนูลของเซลล์ paneth ในส่วนของลำไส้เล็กและเยื่อผิวหนังในอวัยวะสืบพันธุ์เพศหญิง โดยเปปไทด์ทั้งสองชนิดนี้นอกจากมีส่วนช่วยในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากภายนอกแล้วยังสนับสนุนว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการควบคุมสมดุลของเชื้อประจำถิ่นในบริเวณดังกล่าวด้วย³³ เปปไทด์ต้านเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม beta-defensins ประกอบด้วยกรดอะมิโนตั้งแต่ 35 ถึงมากกว่า 100 ตัว ปัจจุบันมีสมาชิกภายในกลุ่ม 33 ชนิดคือ HBD-1 ถึง -33 โดยแบ่งย่อยออกได้เป็น beta-defensins ที่จำเพาะกับเซลล์ของหลอดเก็บสเปิร์ม (epididymis) และอัณฑะ (testis) เช่น HBD-5, HBD-19 ถึง HBD-21 เป็นต้นและ beta-defensins ชนิดอื่นๆ ซึ่งพบการแสดงออกในเซลล์หลายชนิด เช่น เปปไทด์ HBD-1 พบได้ในเซลล์ร่างกายที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมโดยตรง เช่น เซลล์เยื่อทางเดินหายใจ (epithelial cells of respiratory tract) เซลล์เยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ (epithelial cells of urogenital tract) เซลล์เยื่อบุช่องปาก (buccal mucosa) เป็นต้น และ HBD-7 ถึง HBD-14 พบในเซลล์ gingival tissues และ keratinocytes เป็นต้น^{34,35} ภายหลังจากการถูกกระตุ้นด้วยเชื้อจุลินทรีย์หรือสารที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้น เช่น LPS เปปไทด์ defensins จะถูกตัดย่อยด้วยเอนไซม์ protease หรือ metalloproteinase ได้เป็นส่วนที่สามารถออกฤทธิ์ด้าน C-terminus มีขนาดเพียง 29-42 กรดอะมิโน และมีโครงสร้างทุติยภูมิเป็นแบบ beta-sheet โดยอาศัยพันธะไดซัลไฟด์จากกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) จำนวน 6 ตัว ในการคงรูปร่าง โดยที่ซิสเทอีนตัวที่ 1 สร้างพันธะกับซิสเทอีนตัวที่ 6 ซิสเทอีนตัวที่ 2 สร้างพันธะกับซิสเทอีนตัวที่ 4 และซิสเทอีนตัวที่ 3 สร้างพันธะกับซิสเทอีนตัวที่ 5 (รูปที่ 1) น้ำหนักโมเลกุลของเปปไทด์นั้นอยู่ระหว่าง 3.5-6 กิโลดาลตัน (kDa)³⁶

รายงานวิจัยพบว่า defensins ทั้งสองกลุ่มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบเช่นเดียวกับ LL-37 นอกจากนี้ยังสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายชนิด เช่น *S. aureus* สายพันธุ์ดื้อยา methicillin (MRSA) และ *E. faecalis* สายพันธุ์ดื้อยา vancomycin (VRE), *Burkholderia cepacia* รวมถึงเชื้อจุลินทรีย์ดื้อยาหลายชนิดอย่าง multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* เป็นต้น^{37, 38}

นอกจากนี้เปปไทด์ defensins ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ เช่น *C. albicans*, *C. tropicalis*,

C. parapsilosis และราเส้นสาย (mold) ซึ่งก่อให้เกิดโรคผิวหนังบางชนิด เช่น *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* และ *Epidermophyton floccosum* ได้³⁹ เนื่องจากลำดับกรดอะมิโน และการจัดเรียงของพันธะไดซัลไฟด์ รวมถึงประจุสุทธิที่แตกต่างกันของเปปไทด์ defensins ทำให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มแตกต่างกันด้วย จากการศึกษาศักยภาพในการต้านเชื้อ *C. albicans* ของ HBD-1 ถึง-3 พบว่า HBD-3 มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อได้ดีและกว้างกว่าอีกสองชนิด จากการศึกษาประจุภายในสายของเปปไทด์ทั้งสามชนิดที่ใช้ทดสอบโดยอาศัยการคำนวณกรดอะมิโนที่มีประจุบวกอย่างกรดอะมิโนไลซีน และ อาร์จินีน พบว่า HBD-3 มีมากถึง +11 ในขณะที่ HBD-1 และ -2 มีเพียง +4 และ +6 ตามลำดับ ซึ่งผลของประจุดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการมีประจุบวกมากสามารถเหนี่ยวนำให้จับกับประจุลบของผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น³⁵ จากการวิจัยของ Vylkova และคณะ (2007) พบว่ากลไกการทำลายเชื้อของ HBD-1 และ -2 จำเป็นต้องอาศัยกระบวนการหายใจของเซลล์ (cellular respiration) โดยเมื่อทดสอบเปปไทด์กับเชื้อในสภาวะที่ได้รับสารยับยั้งกระบวนการสร้างพลังงานของเซลล์ เช่น สาร carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) และ sodium azide พบว่าฤทธิ์ของเปปไทด์ทั้งสองถูกยับยั้งและทำให้ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ ในขณะที่ HBD-3 ยังคงสามารถฆ่าเชื้อได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูง หรือมีสาร divalent cation บางชนิด เช่น $MgCl_2$ และ $CaCl_2$ สามารถส่งผลให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของเปปไทด์ลดลงได้เช่นเดียวกันกับเปปไทด์ LL-37⁴⁰ นอกจากนี้ Routsias และคณะ (2010) ยังพบว่าพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งใช้ในการคงรูปร่างของเปปไทด์มีผลต่อความสามารถในการฆ่าเชื้อเช่นกัน โดยหากทำลายพันธะดังกล่าวหรือสังเคราะห์กรดอะมิโนอื่นแทนกรดอะมิโนซิสเทอีนจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลดลงถึง 7 เท่า³⁸ เมื่อนำเปปไทด์ HBD-3 ไปทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ดื้อยาหลายชนิด เช่น *S. aureus*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* และ *A. baumannii* พบว่าสามารถฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 90 นาที อย่างไรก็ตามเมื่อนำเปปไทด์ไปทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีสาร biological fluids เช่น ซีรัมซึ่งผ่านการ inactivate ด้วยความร้อน พบว่าประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลดลงอย่างเห็นได้ชัด แสดงให้เห็นว่าสารบางชนิดในซีรัมอาจมีผลยับยั้งการทำงานของเปปไทด์⁴¹ เมื่อศึกษาถึงการแสดงออกของเปปไทด์ beta-defensins ภายหลังจากได้รับเชื้อจุลินทรีย์ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการอักเสบและแผลในกระเพาะ

อาหาร โดยจำลองการติดเชื้อในหลอดทดลองด้วยการบ่มเชื้อจุลินทรีย์พร้อมกับเซลล์ของเยื่อบุกระเพาะอาหาร 2 ชนิด คือ gastric epithelial cell line (MKN45) และ gastric cancer cell line (ASG) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจวัดการแสดงออกของเปปไทด์ beta-defensins ผ่านการวัดปริมาณของ mRNA พบว่ามีการแสดงออกของเปปไทด์ beta-defensins เพิ่มขึ้น เมื่อจำนวนแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อต่อหนึ่งเซลล์ (multiplicity of infection; MOI) มีมากขึ้น เมื่อทดสอบเซลล์กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ MOI มีค่าเท่ากับ 100 พบว่าการแสดงออกของเปปไทด์ HBD-2 เพิ่มขึ้นภายหลังจากบ่มร่วมกับเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลาเพียง 3-4 ชั่วโมง ในขณะที่เปปไทด์ HBD-1 นั้นจะเพิ่มขึ้นหลังจากที่มีการติดเชื้อไปแล้วประมาณ 8 ชั่วโมง และเปปไทด์ทั้งสองมีการแสดงออกของปริมาณ mRNA เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ประมาณ 12 ชั่วโมง โดยพบว่าการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของเปปไทด์ดังกล่าวนั้นถูกกระตุ้นผ่านทาง proinflammatory cytokine ชนิดหนึ่ง คือ interleukin-1 (IL-1) ในระหว่างที่เซลล์เริ่มมีการติดเชื้อ⁴² นอกจากนี้เปปไทด์ defensins จะมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียแล้วยังพบว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อไวรัสด้วย จากการวิจัยของ Crack และคณะ (2012) ได้นำเชื้อไวรัส Varicella zoster virus (VZV) ไปทำให้เกิดการติดเชื้อในเซลล์ human keratinocytes (HaCaT cells) และ human B-lymphocytes แล้วตรวจติดตามปริมาณไวรัสที่เวลาต่าง ๆ หลังจากได้รับเปปไทด์ HBD-2 พบว่าปริมาณเชื้อไวรัสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับเปปไทด์⁴³ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของ HBD-2 ยังเกี่ยวข้องกับการดำเนินโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินเช่นเดียวกับ LL-37 อีกด้วย⁴⁴ เมื่อศึกษาถึงปริมาณการแสดงออกของ alpha-defensin ภายใตเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล $CD8^+$ lymphocyte และ พลาสมาในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัส HIV-1 พบว่าปริมาณ alpha-defensin ในผู้ติดเชื้อไวรัสมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่ติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งกลุ่มผู้วิจัยได้ให้ข้อสรุปว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณ alpha defensin เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัส HIV-1 เรื้อรัง เนื่องจากการติดเชื้อดังกล่าวเป็นการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายตลอดเวลาจึงทำให้ร่างกายสร้างเปปไทด์ออกมาตลอดเวลาเช่นเดียวกัน⁴⁵ จากการศึกษาของ Bevins และ Salzman (2011) พบว่าการขาดหรือลดการสร้างเปปไทด์ alpha-defensin (HD-5 และ HD-6) ซึ่งสร้างจากเซลล์ Paneth เกี่ยวข้องกับโรคโครห์น (Crohn's disease) ซึ่งเป็นการอักเสบของลำไส้แบบเรื้อรัง (chronic inflammatory bowel disease)⁴⁶ และจากการศึกษาต่อมาพบว่าเปปไทด์ HD-5 มีส่วนสำคัญในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้^{47,48} ส่วน HD-6 พบว่าไม่มีฤทธิ์ใน

การฆ่าเชื้อโดยตรงแต่เปปไทด์สามารถประกอบกันเป็นโครงร่างตาข่าย (nanonets) ห่อหุ้มตัวเชื้อจุลินทรีย์ไว้และป้องกันการแทรกตัว (invade) ของเชื้อผ่านเนื้อเยื่อเข้าไปติดเชื้อในชั้นลึกต่อไป⁴⁹ จากผลการวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าเปปไทด์ defensins นั้นมีส่วนเกี่ยวข้องในการยับยั้งการเจริญและป้องกันการติดเชื้อโดยจุลินทรีย์จากภายนอกร่างกาย นอกจากนี้ยังพบว่าเปปไทด์ defensins ซึ่งเกี่ยวข้องกับการอักเสบ สามารถกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และสามารถดึงดูดเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเข้าไปยังบริเวณที่ติดเชื้อ (chemoattractant) ได้⁵⁰⁻⁵²

3. Histatins

Histatins เป็นเปปไทด์ต้านจุลินทรีย์ซึ่งสร้างจากเซลล์หลายชนิดภายในร่างกายของมนุษย์ เช่น เม็ดเลือดขาว อ่อนทะ และต่อมน้ำลาย⁵³ ประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 7-38 ตัว และมีกรดอะมิโน histatin เป็นองค์ประกอบหลัก มีโครงสร้างทุติยภูมิแบบ alpha-helix สามารถแยกได้เป็น 12 ชนิด (histatin-1 ถึง histatin-12) โดยมี histatins หลักเพียงสามชนิดคือ histatin-1, -3 และ -5 โดย histatin-1 และ -3 เป็นเปปไทด์ที่ถูกสร้างขึ้นจากยีน *HTN1* และ *HTN3* ตามลำดับ histatin-2 เป็นโปรตีนที่ถูกตัดย่อยจาก histatin-1 ส่วน histatins ชนิดอื่นๆเป็นโปรตีนที่ถูกตัดย่อยออกมาจาก histatin-3 ปัจจุบันพบว่า histatin-5 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด⁵⁴ histatin-5 ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 24 ตัว ซึ่งมีกรดอะมิโนฮิสติดีนเป็นองค์ประกอบประมาณ 29% หรือประมาณหนึ่งในสามของกรดอะมิโนทั้งหมดภายในสายของเปปไทด์ เปปไทด์ชนิดนี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดี⁵⁵ นอกจากนี้ยังพบว่าเปปไทด์ชนิดนี้มีกลไกการทำลายเชื้อแตกต่างจากเปปไทด์อื่นๆ ที่อาศัยการเกิดรูที่ผิวเซลล์เมมเบรน โดย histatin-5 สามารถจับกับเซลล์เมมเบรนและแทรกตัวเข้าไปเพื่อไปออกฤทธิ์ทำลายไมโทคอนเดรียซึ่งเป็นออร์แกเนลล์ที่สำคัญและเกี่ยวข้องในการสร้างพลังงานภายในเซลล์ให้กับสิ่งมีชีวิต ส่งผลทำให้เกิดการรั่วไหลของสารต่างๆ ภายในไมโทคอนเดรีย เช่น cytochrome C, ATP, potassium ions เกิด G1 cell cycle arrest และเกิดการสะสมของสาร reactive oxygen species (ROS) นำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด^{56, 57}

มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ของ histatin-5 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans*, *C. glabrata* ทั้งสายพันธุ์ต้นแบบ (wild type) และสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาในกลุ่ม azole, *Cryptococcus neoformans* ทั้งสายพันธุ์ต้นแบบและสายพันธุ์ที่ดื้อต่อ

ยา amphotericin B เชื้อ *C. krusei* และ *Saccharomyces cerevisiae*⁵⁸ และพบว่าประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อยีสต์ *C. albicans* ที่ดื้อต่อยาในกลุ่ม azole ลดลงประมาณ 8 หรือ 18 เท่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่งที่ 14 และ 15 จาก ฟีนีลอะลานีน (phenylalanine) และฮิสติดีนเป็นอะลานีนทั้งสองตำแหน่งหรือเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 18 และ 19 จากฮิสติดีนทั้งสองตำแหน่งเป็นอะลานีนทั้งสองตำแหน่ง แสดงให้เห็นว่ากรดอะมิโนฟีนีลอะลานีนและฮิสติดีนในตำแหน่งดังกล่าวจะมีความสำคัญต่อการคงรูปร่างและการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์⁵⁹

จากการทดสอบฤทธิ์ของเปปไทด์ histatin-5 ในการต้านเชื้อ *C. albicans* ที่เวลาต่างๆ พบว่าประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแปรผันตามระยะเวลา โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่มเชื้อกับเปปไทด์จะมีผลทำให้เชื้อ *C. albicans* มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นด้วย เมื่อศึกษาทางด้านโปรตีโอมิกส์ (proteomics) ของเชื้อ *C. albicans* ภายหลังจากการบ่มร่วมกับ histatin-5 ที่เวลาต่างๆ พบว่ามีการเพิ่มปริมาณของโปรตีนหลายชนิดภายในไมโทคอนเดรีย และเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการถอดรหัสพันธุกรรม เช่น elongation factor-1 alpha, ribosomal proteins รวมทั้งมีการเพิ่มขึ้นของ histones ซึ่งเป็นโปรตีนที่จับกับสายของดีเอ็นเอเพื่อคงสภาพดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรียไว้ ในขณะที่โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมและกระบวนการสร้างพลังงานนั้นมีการแสดงออกที่ลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจภายในเซลล์และวัฏจักรเครปส์ (Krebs' cycle) เช่น ATP synthase gamma chain, malate dehydrogenase เป็นต้น⁶⁰ ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเปปไทด์ histatins มีผลโดยตรงต่อไมโทคอนเดรียของเชื้อยีสต์ในขณะที่ยีสต์ที่เชื้อแบคทีเรียไม่มีไมโทคอนเดรีย จึงทำให้ histatins มีประสิทธิภาพน้อยในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

ในการศึกษาด้านจุลศาสตร์ของเปปไทด์ histatin-5 กับเชื้อ *C. albicans* ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส การเพิ่มความเข้มข้นของเปปไทด์ในระดับต่างๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้งในรูปของ germ tube และ blastoconidia ได้ดีขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มระยะเวลาที่เชื้อได้รับเปปไทด์เป็นการเพิ่มโอกาสให้เปปไทด์เข้าไปสะสมของภายในเซลล์ได้มากขึ้นและทำลายเชื้อได้ดีขึ้นเช่นกัน ในขณะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เชื้อยีสต์ยังคงมีการเจริญเติบโตตามปกติที่ความเข้มข้นต่างๆ ของเปปไทด์ อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบโดยการนำเชื้อยีสต์ที่บ่มร่วมกับเปปไทด์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที

ไปบ่มต่อที่ 37 องศาเซลเซียส และตรวจติดตามเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเซลล์ยีสต์พบว่ามีความลดลงจาก 90% เป็น 22% นอกจากนี้เมื่อบ่มเชื้อร่วมกับ sodium azide ซึ่งเป็นสารที่มีผลในการยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์พบว่าเปปไทด์มีความสามารถในการทำลายเชื้อลดลงแม้มีการเพิ่มความเข้มข้นของ histatin-5 ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของเปปไทด์ histatin-5 นั้นจำเป็นต้องอาศัยกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์เข้ามาเกี่ยวข้อง⁶¹ ในปี 2008 Torres และคณะ ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเปปไทด์ Histatin-5 กับการเกิดกระบวนการ colonization ของเชื้อราในช่องปาก ในน้ำลายของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 เปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ พบว่าผู้ป่วยมีโอกาสเกิดกระบวนการ colonization ของเชื้อ *C. albicans* ในช่องปากได้ถึง 45% ในขณะที่พบเพียง 17% ในคนปกติเท่านั้น และเมื่อทดสอบหาความเข้มข้นของ Histatin-5 ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 ด้วยวิธี Enzyme linked immunosorbent assay หรือ ELISA พบว่ามีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของเปปไทด์น้อยกว่าความเข้มข้นที่พบในคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสในกลุ่ม protease inhibitor (PI) มีปริมาณความเข้มข้นของเปปไทด์ histatin-5 น้อยกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาต้าน reverse transcriptase inhibitors (RTI) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่ายาในกลุ่ม PI อาจมีผลยับยั้งเอนไซม์ proteases ในร่างกายที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า histatin-5 ในน้ำลายมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการเกิดกระบวนการ colonization ของเชื้อยีสต์ในช่องปาก⁶²

4. Protegrins

Protegrins เป็นเปปไทด์ต้านจุลชีพประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 16-18 ตัว ในธรรมชาติสร้างขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดขาวของสุกร ปัจจุบันพบมี 5 ชนิด คือ protegrin-1 ถึง -5 โดยมีความเหมือนของลำดับกรดอะมิโน (amino acid sequence similarity) ภายในกลุ่มมากกว่า 77% เนื่องจากมีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อจุลชีพที่ดีกว่าชนิดอื่น protegrin-1 จึงถูกนำมาเพื่อศึกษาวิจัยมากกว่าชนิดอื่น โดยพบว่าประมาณ 1 ใน 3 ของกรดอะมิโนทั้งหมดภายในสายของเปปไทด์ protegrin-1 เป็นกรดอะมิโนอาร์จินีน จากการศึกษาคโครงสร้างของ protegrin-1 ที่สังเคราะห์ขึ้นด้วย NMR spectroscopy พบว่าการคงรูปร่างของโครงสร้างทุติยภูมิเป็นแบบ beta-hairpin โดยอาศัยการสร้างพันธะไดซัลไฟด์จากกรดอะมิโนซิสเตอีน 4 ตัว โดยที่ซิสเตอีนตำแหน่งที่ 6 สร้างพันธะกับซิสเตอีนตำแหน่งที่ 15 และ ซิสเตอีนตำแหน่งที่ 8 สร้างพันธะกับซิสเตอีนตำแหน่งที่ 13⁶³ นอกจากนี้เมื่อศึกษาโครงสร้างและกลไกในการฆ่าเชื้อจุลชีพของ protegrin-1 โดยทดสอบกับสารสังเคราะห์ palmitoyllecithylphosphatidyl ethanolamine (POPE) และ palmitoyllecithylphosphatidyl glycerol (POPG) ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายชั้นของเซลล์เมมเบรนด้วย NMR spectroscopy พบว่าเปปไทด์สามารถแทรกตัวเข้าไปในสารที่คล้ายชั้นของเซลล์เมมเบรนโดยการสานกันของเปปไทด์ 2 โมเลกุล (dimer) ในรูปแบบของ N-C terminus 1 โมเลกุลและ C-N terminus อีก 1 โมเลกุลเกิดเป็นโครงสร้าง NC-CN structure โดยอาศัยพันธะไฮโดรเจนระหว่างเปปไทด์ทั้งสอง แล้วใช้จำนวน 4-5 ชั้นของ dimer (octameric หรือ decameric) ในการสร้างรูที่ผิวเซลล์ (beta-barrel pore) ซึ่งรูที่เกิดขึ้นขนาดประมาณ 21 อังสตรอม จำนวน 10-100

Table 1 Amino acid sequence and secondary structure of some antimicrobial peptides

Antimicrobial peptide	No. of amino acids	Amino acid sequence	The secondary structure
LL-37	37	LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES	Alpha-helix
Alpha-defensin-1	30	ACYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRLWAFCC	Beta-sheet
Beta-defensin-1	36	DHYNCVSSGGQCLYSACPIFTKIQGTCTYRGKAKCCK	Beta-sheet
Histatin-5	24	DSHAKRHHGYKRFHEKHSHRGY	Alpha-helix
Protegrin-1	18	RGGRLCYCRRRFCVGVGR	Beta-sheet
Magainin-1	23	GIGKFLHSAGKFGKAFVGEIMKS	Alpha-helix
Magainin-2	23	GIGKFLHSAGKFGKAFVGEIMNS	Alpha-helix

รู่ ทำให้เกิดการรั่วของสารน้ำและโปรตีนต่าง ๆ ภายในเซลล์ ออกสู่ภายนอกและส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียตายในที่สุด^{64, 65}

รายงานวิจัยหลายฉบับได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ protegrin-1 ทั้งในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) พบว่ามีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เป็นแบบกว้าง โดยสามารถฆ่าหรือยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งในกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ เช่นเดียวกับกับ LL-37 และ defensins เช่น สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes*, *E. coli*, และ *Neisseria gonorrhoeae* รวมถึงเชื้อแบคทีเรียดื้อยาอย่าง methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) เชื้อยีสต์ *C. albicans* และไวรัสชนิดมีเปลือกอย่าง HIV-1 โดยทั่วไปมีค่าความเข้มข้นในการยับยั้งเชื้ออยู่ระหว่าง 1-10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร⁶⁶ และจากรายงานวิจัยของ สรศักดิ์ อินทรสูตร และคณะ (2011; unpublished) ซึ่งได้ทดสอบฤทธิ์ของ protegrin-1 สังเคราะห์ (ความบริสุทธิ์มากกว่า 95%) กับการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ หลายสายพันธุ์ทั้งที่เป็นสายพันธุ์มาตรฐานและที่แยกได้จาก ผู้ติดเชื้อ (clinical isolates) เช่น *S. aureus* ATCC 25923,

Bacillus subtilis, *E. coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*, *P. mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *S. Typhi*, *S. Enteritidis*, *Shigella flexneri*, *S. sonnei*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *P. aeruginosa* รวมถึงเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ซึ่งดื้อยาผ่านการสร้างเอนไซม์ beta-lactamase (extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli*) และเชื้อแบคทีเรีย *A. baumannii* ที่ดื้อต่อยาหลายชนิด (pan drug resistant) โดยวิธี standard broth macrodilution และใช้ยาปฏิชีวนะ gentamicin เป็นตัวควบคุม การวิจัยพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดเฉลี่ยที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) นั้นอยู่ระหว่าง 0.39-9.37 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับการวิจัยที่เคยรายงานมาก่อนกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ⁶⁶ อย่างไรก็ตาม จากผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าเชื้อ *P. mirabilis* สามารถทนต่อเปปไทด์ protegrin-1 ได้ดีโดยมีค่าของความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่า 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร กระบวนการต้านทานต่อเปปไทด์ของเชือดังกล่าวนั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่อาจเกิดจากหลายปัจจัย เช่น ส่วน

Table 2 *In vitro* antimicrobial activity testing of protegrin-1 peptide and gentamicin

Bacteria	Protegrin-1		Gentamicin	
	MIC ¹ (µg/ml)	MBC ² (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3.12	12.50	0.70	5.00
ESBL ³ producing <i>Escherichia coli</i>	9.37	25.00	0.62	0.62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.25	25.00	2.50	5.00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	3.12	12.50	0.31	1.25
<i>Bacillus subtilis</i>	9.37	12.50	0.46	0.93
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3.12	4.68	0.23	0.31
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6.25	12.50	> 40	ND ⁴
<i>Proteus mirabilis</i>	> 25	ND	1.25	3.75
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4.68	15.62	0.46	0.46
<i>Salmonella Typhi</i>	1.17	2.34	0.07	0.23
<i>Salmonella Enteritidis</i>	1.17	2.34	0.62	1.25
<i>Shigella flexneri</i>	1.56	2.34	1.25	2.50
<i>Shigella sonnei</i>	6.25	6.25	1.25	1.25
<i>Vibrio cholerae</i>	3.12	6.25	1.25	1.25
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.39	3.90	0.70	1.25

¹ MIC = Mean of minimal inhibitory concentration

² MBC = Mean of minimal bactericidal concentration

³ ESBL = Extended spectrum beta-lactamase

⁴ ND = Not determination

ประกอบของสารในชั้นของเซลล์เมมเบรนโดยธรรมชาติของเชื้อ *P. mirabilis* แตกต่างจากเชื้อแบคทีเรียอื่นหรือเชื้อที่มีการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของเซลล์เมมเบรน (bacterial cell envelope components) เช่น มีกรดอะมิโนที่มีประจุบวกอย่างไลซีนใน phosphatidylglycerol⁶⁷ ซึ่งทำให้เปปไทด์แทรกตัวเข้าไปในชั้นของเซลล์เมมเบรนไม่ได้หรือได้ไม่ดี หรือกลไกอื่นๆ เช่น การสร้าง outer membrane proteases⁶⁸ หรือการสร้าง efflux pumps เพื่อกำจัดเปปไทด์ด้านจุลชีพออกไป⁶⁹ เป็นต้น

นอกจากนี้ยังพบว่าเปปไทด์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่รวดเร็วโดยสามารถทำให้จำนวนเชื้อแบคทีเรีย MRSA และ *P. aeruginosa* ลดลงมากกว่า $3 \log_{10}$ ภายในเวลาเพียง 15 นาที และเมื่อทดสอบผลของการดื้อยาปฏิชีวนะโดยนำเชื้อแบคทีเรียไปเพาะเลี้ยงร่วมกับยาปฏิชีวนะหรือเปปไทด์ที่ความเข้มข้น 0.5 เท่าของความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (0.5 minimal inhibitory concentration; MIC) แล้วเพาะเลี้ยงต่อไปจำนวนมากกว่า 10 ครั้ง พบว่าค่าของความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้หรือ MIC มีค่าสูงขึ้นมากกว่า 10 เท่าในการเพาะเลี้ยงร่วมกับยาปฏิชีวนะ ในขณะที่ผลไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อทดสอบกับเปปไทด์ protegrin-1⁷⁰ จากผลการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเปปไทด์ด้านจุลชีพยังคงสามารถใช้ในการรักษาได้ในระยะยาวโดยไม่ทำให้เกิดการดื้อยาในเชื้อจุลชีพ นอกจากนี้ Qu และคณะ (1997) ได้ทำการเปรียบเทียบเปปไทด์สังเคราะห์หลายชนิดที่มีกรดอะมิโนคล้ายกับเปปไทด์ protegrin-1 แต่เปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนในบางตำแหน่งรวมถึงตัดบางส่วนของกรดอะมิโนทั้งปลายด้าน N-terminus และด้าน C-terminus กับ protegrin-1 เดิม พบว่าฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมีความหลากหลายอย่างไรก็ตามเปปไทด์ที่สั้นที่สุดที่ยังคงสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพได้ไม่แตกต่างจาก protegrin-1 เดิมคือ เปปไทด์ขนาด 12 กรดอะมิโน (LTYCRRRFCVTV) ซึ่งเกิดจากการตัดกรดอะมิโนด้าน N-terminus 4 ตัวแรกและด้าน C-terminus 2 ลำดับสุดท้ายออกไป และปรับให้มีการสร้างพันธะไดซัลไฟด์เพียงพันธะเดียวระหว่างกรดอะมิโนซิสเตอีนตำแหน่งที่ 8 และ 13 นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังพบว่าการการขาดหายไปของกรดอะมิโนซิสเตอีนตำแหน่งที่ 8 และ 13 แต่ยังคงมีกรดอะมิโนซิสเตอีนตำแหน่งที่ 6 และ 15 ส่งผลให้การสร้างพันธะไดซัลไฟด์ไม่คงตัวและไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย⁷¹ ผลดังกล่าวสรุปได้ว่ากรดอะมิโนช่วงกลางของเปปไทด์ protegrin-1 มีส่วนเกี่ยวข้องับประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อจุลชีพและพันธะไดซัลไฟด์ซึ่งเกิดจากกรดอะมิโนซิสเตอีน ตำแหน่งที่ 8 และ 13 มีความสำคัญในการ

คงรูปร่างและเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของเปปไทด์

5. Magainins

เปปไทด์ magainins แยกได้จากเซลล์ผิวหนังและลำไส้ของกบแอฟริกัน (African clawed frog หรือ *Xenopus laevis*) มีกรดอะมิโน 21-26 ตัว แต่มักพบใน 2 รูปแบบ (active forms) คือ magainin-1 และ -2 ซึ่งทั้งสองชนิดนี้มีกรดอะมิโนจำนวน 23 ตัวเท่ากัน แต่มีความแตกต่างของกรดอะมิโนภายในสายเปปไทด์เพียง 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 10 และ 22 magainin-1 เป็นกรดอะมิโนไกลซีนและไลซีน แต่ magainin-2 เป็นกรดอะมิโนไลซีนและแอสปาราจีนตามลำดับ มีโครงสร้างทุติยภูมิเป็น alpha-helix และมีเส้นผ่าศูนย์กลางของ helix ประมาณ 10-12 อังสตรอม⁷² จากการศึกษาเปปไทด์ magainins ทั้งสองชนิดในรูปแบบที่แยกได้จากธรรมชาติและรูปที่สังเคราะห์ขึ้นพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลชีพเป็นแบบกว้างผ่านกลไกของการทำให้เกิดรูที่เซลล์เมมเบรนตามแบบจำลอง toroid⁷³ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *E. faecalis*, Family Enterobacteriaceae เช่น *E. coli*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *S. Typhimurium*, *S. flexneri*, *A. calcoaceticus*, *H. pylori*, *B. cepacia* รวมถึงเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม anaerobe เช่น *Bacteroides fragilis*, *Clostridium difficile*, *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp. เป็นต้น^{74, 75} จากการศึกษาโดย Darveau และคณะ (1991) ถึงผลการรักษาโรคติดเชื้อซึ่งเกิดจากแบคทีเรีย *E. coli* ในหนูทดลองที่ทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ (neutropenic mice) โดยการกระตุ้นด้วย cyclophosphamide พบว่าเปปไทด์ magainin-2 ให้ผลของการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเสริมฤทธิ์กับยา cefepime เมื่อทดสอบร่วมกัน ในขณะที่ให้ผลในการฆ่าเชื้อได้เพียงเล็กน้อยเมื่อใช้ยาปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียวหรือไม่สามารถฆ่าเชื้อได้เมื่อทดสอบกับเปปไทด์หรือสาร phosphate buffer saline เพียงอย่างเดียว ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการใช้เปปไทด์ร่วมกับยาปฏิชีวนะ cefaloridine ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม cephalosporins หรือ imipenem ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม carbapenems และทั้งสองมีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านทางการยับยั้งการสร้างสาร peptidoglycan ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามไม่พบการออกฤทธิ์เสริมกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งใช้เปปไทด์ magainin-2 ร่วมกับยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกอื่นๆ เช่น เปปไทด์ร่วมกับยาปฏิชีวนะ ciprofloxacin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม fluoroquinolone และออกฤทธิ์ผ่านกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

DNA gyrase ซึ่งจำเป็นต่อการกระบวนการแบ่งเซลล์ หรือ เปปไทด์ร่วมกับยาปฏิชีวนะ amikacin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม aminoglycoside และออกฤทธิ์ผ่านกลไกการยับยั้งการทำงานของไลโปโซมซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนของจุลชีพ จากผลดังกล่าวกลุ่มผู้วิจัยตั้งสมมติฐานว่ายาปฏิชีวนะอาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์แล้วทำให้เปปไทด์มีประสิทธิภาพในการแทรกตัวผ่านผนังเซลล์ได้มากขึ้น นำไปสู่การทำลายเชื้อจุลชีพในที่สุด และกระบวนการกำจัดเชื้อจุลชีพในสิ่งมีชีวิตนั้นจำเป็นต้องอาศัยเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันอย่างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลร่วมด้วย⁷⁶ นอกจากนี้เมื่อทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อของเปปไทด์ใน biological fluids เช่น ซีรัม โดยกำจัดคอมพลีเมนต์ C8 ออกไปจากซีรัมพบว่าประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของเปปไทด์ลดลงอย่างมาก แสดงให้เห็นว่ากลไกการฆ่าเชื้อของเปปไทด์ต้องอาศัยคอมพลีเมนต์ช่วยในปฏิกิริยา⁷⁷ Fox และคณะ (2012) ได้สังเคราะห์เปปไทด์ลูกผสม (hybrid peptides) โดยนำบางส่วนของเปปไทด์ที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของ LL-37 (ลำดับกรดอะมิโนที่ 17-29) มารวมกับบางส่วนของเปปไทด์ magainin-2 (ลำดับกรดอะมิโนที่ 1-12) หรือนำบางส่วนที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ของเปปไทด์ cecropin A ซึ่งเป็นเปปไทด์ต้านเชื้อจุลชีพที่แยกได้จากแมลง silk moths (ลำดับกรดอะมิโนที่ 1-8) มารวมกับเปปไทด์ magainin-2 (ลำดับกรดอะมิโนที่ 1-12) แล้วนำไปทดสอบกับเชื้อก่อโรครุนแรงทั้ง 4 ชนิด คือ *B. anthracis* ทั้งตัวเชื้อและสปอร์ของเชื้อ, *B. cepacia*, *Francisella tularensis* และ *Yersinia pseudotuberculosis* พบว่าเปปไทด์ลูกผสมมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดีกว่าการใช้เปปไทด์ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามเมื่อนำเปปไทด์ลูกผสมทั้งสองชนิดไปทดสอบกับเม็ดเลือดแดงของมนุษย์พบว่าทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกที่ความเข้มข้นต่ำกว่าการทดสอบโดยใช้เปปไทด์ชนิดใดชนิดหนึ่ง (wildtype peptide) ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเปปไทด์อาจทำให้ประสิทธิภาพในการเลือกจับลดลง⁷⁸ นอกจากการยับยั้งเชื้อจุลชีพแล้ว ปัจจุบันยังพบว่าเปปไทด์ magainin-2 มีฤทธิ์ในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งผิวหนัง (melanoma) มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด lymphomas และ leukemia และมะเร็งในถุงน้ำดี (bladder tumor cells) เป็นต้น^{79, 80} และจากการศึกษาของ Edelstein และคณะ (1991) แสดงให้เห็นว่าเปปไทด์ magainins มีฤทธิ์ในการฆ่าสเปิร์ม (spermicide) ด้วย โดยเปปไทด์มีผลทำให้สเปิร์มเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการทำงานเสียไปจึงทำให้เกิด

แนวคิดที่จะนำเปปไทด์ magainins มาผลิตเป็นยาคุมกำเนิดอีกด้วย⁸¹

การประยุกต์ใช้ของเปปไทด์ต้านจุลชีพ

ปัจจุบันมีการค้นพบเปปไทด์ต้านเชื้อจุลชีพจำนวนมากในสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด และจากการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับโครงสร้างของเปปไทด์ ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพ ความคงตัว และความปลอดภัยเมื่อทดสอบกับเซลล์มนุษย์ ทำให้เปปไทด์หลายชนิดถูกเลือกเพื่อพัฒนาจนนำไปสู่การทดสอบในระดับ clinical trials ระยะต่าง ๆ เช่น Pexiganan ซึ่งเป็นชื่อทางการค้าของเปปไทด์ต้านเชื้อจุลชีพชนิดแรกที่มีการพัฒนาขึ้นในปี 1987 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการรักษาโรคแผลติดเชื้อที่เท้า (foot ulcers) องค์ประกอบหลักของกรดอะมิโนใน Pexiganan คล้ายกับ magainin-2⁸², Isegranin เป็นชื่อทางการค้าของเปปไทด์สังเคราะห์ protegrin-1 ถูกพัฒนาขึ้นในรูปแบบสเปรย์ชนิดฉีดพ่น (aerosolized Isegranin) เพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจหรือผู้ป่วยโรค cystic fibrosis ที่ติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจและโรคติดเชื้อในช่องปาก (oral mucositis)⁸³ P113 เป็นน้ำยาบ้วนปากซึ่งมีกรดอะมิโนในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของเปปไทด์ histatins จำนวน 12 ลำดับถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการรักษาโรคเชื้อราในช่องปาก (oral candidiasis) ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1⁸⁴ และ Omiganan ซึ่งเป็นชื่อทางการค้าของเปปไทด์ indolicidin โดยแยกได้ครั้งแรกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของวัว และพบว่ามีความสัมพันธ์ในการฆ่าเชื้อจุลชีพแบบกว้างรวมถึงเชื้อโปรโตซัวและเชื้อไวรัส HIV-1 เปปไทด์ดังกล่าวอยู่ในระหว่างการจดสิทธิบัตรเพื่อใช้เป็นสารเคลือบสายสวนเพื่อลดการติดเชื้อในผู้ป่วยต่อไป⁸⁵ ตัวอย่างของเปปไทด์ต้านจุลชีพซึ่งอยู่ระหว่างการทดสอบในระดับ clinical trial ดังแสดงในตารางที่ 3

บทสรุป

งานวิจัยในปัจจุบันของเปปไทด์ต้านจุลชีพนั้นมีความหลากหลาย โดยส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปในด้านการค้นหาเปปไทด์ชนิดใหม่จากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ การหาตำแหน่งของกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของเปปไทด์ที่ค้นพบแล้ว การทดสอบฤทธิ์ของเปปไทด์นอกเหนือจากเชื้อราและแบคทีเรีย เช่น การทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อปรสิต เชื้อไวรัส รวมถึงประสิทธิภาพในการฆ่าเซลล์มะเร็ง และการตรวจวัดปริมาณและคุณภาพของเปปไทด์ต้านจุลชีพในผู้ที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อเปรียบเทียบกับคนปกติ เพื่อหาความสัมพันธ์ของโรค อย่างไรก็ตามเนื่องจากการ

Table 3 Current status for clinical development of antimicrobial peptides⁸³

Antimicrobial peptide	Therapeutic uses	Clinical trial	Inventor
Pexiganan (A synthetic 22-amino acid analogue of magainin-2)	Diabetic foot ulcers	Phase III	Genaera, USA
Isegran (A synthetic protegrin-1)	Oral mucositis and respiratory infection	Phase III	Intrabiotic Pharmaceuticals, USA
Omiganan (A synthetic analogue of indolicidin)	Venous catheter-related bloodstream infections	Phase III	Microbiologix Biotech, Canada
MBI 594 AN (A Indolicidin-like peptide)	Acne associated with <i>Propionibacterium acne</i>	Phase IIb	Microbiologix Biotech, Canada
P113 (A12-amino acid based on histatins)	Oral candidiasis	Phase III	Demegen, USA
XMP.629 (A 9-amino acid of bactericidal/permeability-increasing protein; BPI)	Acne associated with <i>P. acne</i>	Phase I	Xoma, USA

สังเคราะห์เปปไทด์เพื่อให้ได้ปริมาณมากนั้นยังมีราคาสูง หลายกลุ่มวิจัยจึงได้เลือกให้มีการสร้างและแสดงออกของเปปไทด์ในแบคทีเรียหรือยีสต์เพื่อให้ได้เปปไทด์ที่มีปริมาณมาก และมีราคาถูก นอกจากนี้จากการศึกษาขององค์ประกอบของกรดอะมิโนและโครงสร้างทุติยภูมิของเปปไทด์ด้านจุลชีพหลายชนิดในปัจจุบันทำให้ทราบตำแหน่งของกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ซึ่งผลการวิจัยดังกล่าวนำไปสู่การสังเคราะห์เปปไทด์ลูกผสมชนิดใหม่โดยนำส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ของเปปไทด์หลายชนิดมาเชื่อมต่อกัน โดยมุ่งหวังให้มีการออกฤทธิ์สนับสนุนกัน (synergistic activity) และสามารถฆ่าเชื้อได้กว้างกว่าการใช้เปปไทด์เพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง

จากข้อมูลดังกล่าวมารวมถึงรายละเอียดในเปปไทด์ด้านจุลชีพแต่ละชนิดแสดงให้เห็นว่าเปปไทด์เหล่านี้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลชีพที่ดีและยังสามารถฆ่าเชื้อได้แม้เป็นเชื้อจุลชีพที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ เปปไทด์หลายชนิดยังมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันและช่วยทำให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้ดีขึ้น ซึ่งข้อมูลเหล่านี้นำไปสู่การพัฒนาหรือการประยุกต์ใช้เพื่อการรักษาโรคติดเชื้อในผู้ป่วยโดยอาจใช้เปปไทด์โดยตรงหรือใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะหรือยาต้านไวรัสเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาได้

ต่อไป อย่างไรก็ตามแม้เปปไทด์จะมีความเลือกจับที่ดี แต่หลายการวิจัยพบว่าหากใช้ในความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจส่งผลให้เกิดการจับอย่างไม่จำเพาะและมีผลต่อการทำลายเซลล์เจ้าบ้านได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้เปปไทด์บางชนิดแม้จะมีประสิทธิภาพดีมากในการฆ่าเชื้อจุลชีพแต่เปปไทด์เหล่านี้ได้จากสัตว์ซึ่งถือเป็นโปรตีนแปลกปลอมและอาจกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันวิทยาที่ไม่พึงประสงค์ตามมาได้เช่นกัน ดังนั้นหากจะนำไปพัฒนาเพื่อประยุกต์ใช้ในมนุษย์ จึงจำเป็นต้องหาปริมาณที่เหมาะสมและมีการทดสอบความปลอดภัยก่อนนำไปใช้เพื่อรักษาโรคต่อไป ปัจจุบันมีเชื้อก่อโรคหลายชนิดเกิดขึ้นใหม่ (emerging diseases; โรคอุบัติใหม่) หรือกลับมาทำให้เกิดโรคใหม่ (re-emerging diseases; โรคอุบัติซ้ำ) และเชื้อหลายชนิดมีการเปลี่ยนแปลงและปรับตัวตลอดเวลาเพื่อให้สามารถดำรงชีวิตต่อไป ซึ่งเชื่อดังกล่าวหลายชนิดเกิดการดื้อยา และหลายชนิดยังไม่มียารักษาให้หายขาดได้ เปปไทด์ด้านจุลชีพจึงน่าจะเป็นทางเลือกใหม่ในอนาคตซึ่งสามารถใช้รักษาหรือใช้ร่วมในการรักษาโรคติดเชื้อต่าง ๆ ตลอดจนเชื้อจุลชีพดื้อยา โรคติดเชื้อไวรัส ปรสิตรวมถึงโรคมะเร็งได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Mangoni ML. Host-defense peptides: from biology to therapeutic strategies. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68: 2157-9.
2. Zaiou M. Multifunctional antimicrobial peptides: therapeutic targets in several human diseases. *J Mol Med* 2007; 85: 317-29.
3. Jenssen H, Hamill P, Hancock REW. Peptide antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 491-511.
4. Llobet E, Tomas J M, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide is a bacterial decoy for antimicrobial peptides. *Microbiology* 2008; 154: 3877-86.
5. Oyston PCF, Fox MA, Richards SJ, Clark GC. Novel peptide therapeutics for treatment of infections. *J Med Microbiol* 2009; 58: 977-87.
6. Andreu D, Rivas L. Animal antimicrobial peptides: an overview. *Biopolymers* 1998; 47: 415-33.
7. Brogden KA. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol* 2005; 3: 238-50.
8. Japeli B, Pristovsek P, Majerle A, Jerala R. Structural origin of endotoxin neutralization and antimicrobial activity of a lactoferrin-based peptide. *J Biol Chem* 2005; 280: 16955-61.
9. Rosenfeld Y, Sahl HG, Shai Y. Parameters involved in antimicrobial and endotoxin detoxification activities of antimicrobial peptides. *Biochemistry* 2008; 47: 6468-78.
10. Bhattachariya S. De novo designed lipopolysaccharide binding peptides: structure based development of antiendotoxic and antimicrobial drugs. *Curr Med Chem* 2010; 17: 3080-93.
11. Bowdish DME, Davidson DJ, Scott MG, Hancock REW. Immunomodulatory activities of small host defense peptides. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1727-32.
12. Chen DYQ, Schmidt AP, Anderson GM, et al. LL-37, the neutrophil granule-and epithelial cell-derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor-like 1 (FPR1) as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophil, monocytes, and T cells. *J Exp Med* 2000; 192: 1069-74.
13. Niyonsaba F, Iwabuchi K, Someya A, et al. A cathelicidin family of human antibacterial peptide LL-37 induces mast cell chemotaxis. *Immunology* 2002; 106: 20-6.
14. Koczulla R, von Degenfeld G, Kupatt C, et al. An angiogenic role for the human peptide antibiotic LL-37/hCAP-18. *J Clin Invest* 2003; 111: 1665-72.
15. Nishikawa T, Nakagami H, Maeda A, et al. Development of a novel antimicrobial peptide, AG-30, with angiogenic properties. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 535-46.
16. Frantz S, Vincent KA, Feron O, Kelly RA. Innate immunity and angiogenesis. *Circ Res* 2005; 96: 15-26.
17. Sorensen OE, Cowland JB, Theilgaard-Monch K, Liu L, Ganz T, Borregaard N. Wound healing and expression of antimicrobial peptides/polypeptides in human keratinocytes, a consequence of common growth factors. *J Immunol* 2003; 170: 5583-9.
18. Radek KA, Gallo RL. Amplifying healing: The role of antimicrobial peptides in wound repair. *Inflammation* 2010; 34: 223-9.
19. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J Leuk Biol* 2004; 75: 39-48.

20. Hancock RE, Diamond G. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends Microbiol* 2000; 8: 402-10.
21. Cowland JB, Johnsen AH, Borregaard N. hCAP-18, a cathelin/pro-bactenecin-like protein of human neutrophil specific granules. *FEBS Lett* 1995; 368: 173-6.
22. Gudmundsson GH, Agerberth B, Odeberg J, Bergman T, Olsson B, Salcedo R. The human gene FALL39 and processing of the cathelin precursor to the antibacterial peptide LL-37 in granulocytes. *Eur J Biochem* 1996; 238: 325-32.
23. Dorschner RA, Pestonjamas VK, Tamakuwala S, et al. Cutaneous injury induces the release of cathelicidin anti-microbial peptides active against group A *Streptococcus*. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 91-7.
24. Turner J, Cho Y, Dinh NN, Waring AJ, Lehrer RI. Activities of LL-37, a cathelin-associated antimicrobial peptide of human neutrophils. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2206-14.
25. Hell E, Giske CG, Nelson A, Romling U, Marchini G. Human cathelicidin peptide LL-37 inhibits both attachment capability and biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Lett Appl Microbiol* 2010; 50: 211-5.
26. Dean SN, Bishop BM, van Hoek ML. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm to alpha-helical peptides: D-enantiomer of LL-37. *Front Microbiol* 2011; 2: 128.
27. Kanthawong S, Bolscher JG, Veerman EC, et al. Antimicrobial activities of LL-37 and its truncated variants against *Burkholderia thailandensis*. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36: 447-52.
28. Nizet V, Ohtake T, Lauth X, et al. Innate antimicrobial peptide protects the skin from invasive bacterial infection. *Nature* 2001; 414: 454-7.
29. Schaller-Bals S, Schulze A, Bals R. Increased levels of antimicrobial peptides in tracheal aspirates of newborn infants during infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 992-5.
30. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2002; 347: 1151-60.
31. Ramos R, Silva JP, Rodrigues AC, et al. Wound healing activity of the human antimicrobial peptide LL-37. *Peptides* 2011; 32: 1469-76.
32. Crovella S, Antcheva N, Zelezetsky I, et al. Primate beta-defensins: structure, function and evolution. *Curr Protein Pept Sci* 2005; 6: 7-21.
33. Shi J. Defensins and paneth cells in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 10: 1284-92.
34. Yamaguchi Y, Nagase T, Makita R, et al. Identification of multiple novel epididymis-specific beta-defensin isoforms in humans and mice. *J Immunol* 2002; 169: 2516-23.
35. Pazgier M, Hoover DM, Yang D, Lu W, Lubkowski J. Human beta-defensins. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 1294-313.
36. Lehrer RI. Primate defensins. *Nat Rev Microbiol* 2004; 9: 727-38.
37. Yanagi S, Ashitani J, Ishimoto H, et al. Isolation of human beta-defensin-4 in lung tissue and its increase in lower respiratory tract infection. *Respir Res* 2005; 6: 130.

38. Routsias JG, Karagounis P, Parvulesku G, Legakis NJ, Tsakris A. In vitro bactericidal activity of human beta-defensin 2 against nosocomial strains. *Peptides* 2010; 31: 1654-60.
39. Fritz P, Beck-Jendroschek V, Brasch J. Inhibition of dermatophytes by the antimicrobial peptides human beta-defensin-2, ribonuclease 7 and psoriasin. *Med Mycol* doi:10.3109/13693786.2012.660203.
40. Vylkova S, Nayyar N, Li W, Edgerton M. Human beta-defensins kill *Candida albicans* in an energy-dependent and salt-sensitive manner without causing membrane disruption. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 154-61.
41. Maisetta G, Batoni G, Esin S, et al. In vitro bactericidal activity of human beta-defensin 3 against multidrug-resistant nosocomial strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 806-9.
42. Bajaj-Elliott M, Fedeli P, Smith G, Domizio P, Maher L, Ali R. Modulation of host antimicrobial peptide (defensins1 and 2) expression during gastritis. *Gut* 2002; 51: 356-61.
43. Crack LR, Jones L, Malavige GN, Patel V, Ogg GS. Human antimicrobial peptides LL-37 and human beta-defensin-2 reduce viral replication in keratinocytes infected with Varicella zoster virus. *Clin Exp Dermatol* 2012 doi: 10.1111/j.1365-2230.2012.04305.x.
44. Jansen PAM, Rodijk-Olthuis D, Hollox EJ, et al. B-Defensin-2 protein is a serum biomarker for disease activity in psoriasis and reaches biologically relevant concentrations in lesional skin. *Plos One* 2009; 4: 1-9.
45. Dagostino C, Lichtner M, Mastroianni CM, et al. In vivo release of alpha-defensins in plasma, neutrophils and CD8-lymphocytes of patients with HIV infection. *Curr HIV Res* 2009; 7: 650-5.
46. Bevins CL, Salzman NH. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 346-68.
47. Porter EM, van Dam E, Valore EV, Ganz T. Broad-spectrum antimicrobial activity of human intestinal defensin 5. *Infect Immun* 1997; 65: 2396-401.
48. Salzman NH, Ghosh D, Huttner KM, Paterson Y, Bevins CL. Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin. *Nature* 2003; 422: 522-6.
49. Chu H, Pazgier M, Jung G, et al. Human alpha-defensin 6 promotes mucosal innate immunity through self-assembled peptide nanonets. *Science*; 337: 477-81.
50. Lee S, Bake D. Antibacterial and neutralizing effect of human beta-defensins on *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecalis* lipoteichoic acid. *Biology* 2011. doi:10.1016/j.jioen.2011.12.026
51. Murphy CJ, Foster BA, Mannis MJ, Selsted ME, Reid TW. Defensins are mitogenic for epithelial cells and fibroblasts. *J Cell Physiol* 1993; 155: 408-13.
52. Nishimura M, Abiko Y, Kurashige Y, et al. Effect of defensin peptides on eukaryotic cells: primary epithelial cells, fibroblasts and squamous cell carcinoma cell lines. *J Dermatol Sci* 2004; 36: 87-95.
53. MacKay BJ, Pollock JJ, Iacono VJ, Baum BJ. Isolation of milligram quantities of a group of histidine-rich polypeptides from human parotid saliva. *Infect Immun* 1984; 44: 688-94.
54. Sabatini LM, Azen EA. Histatins, a family of salivary histidine-rich proteins, are encoded by at least two loci (HIS1 and HIS2). *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 160: 495-502.

55. Pollock JJ, Denepitiya L, MacKay BJ, Iacono VJ. Fungistatic and fungicidal activity of human parotid salivary histidine-rich polypeptides on *Candida albicans*. *Infect Immun* 1984; 44: 702-7.
56. Helmerhorst EJ, Breeuwer P, van't Hof W, et al. The cellular target of histatin 5 on *Candida albicans* is the energized mitochondrion. *J Biol Chem* 1999; 274: 7286-91.
57. Koshlukova SE, Araujo MW, Baev D, Edgerton M. Released ATP is an extracellular cytotoxic mediator in salivary histatin 5-induced killing of *Candida albicans*. *Infect Immun* 2000; 68: 6848-56.
58. Tsai H, Bobek L. Studies of the mechanism of human salivary histatin-5 candidacidal activity with histatin-5 variants and azole-sensitive and -resistant *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 2224-8.
59. Situ H, Bobek LA. In vitro assessment of antifungal therapeutic potential of salivary histatin-5, two variants of histatin-5, and salivary mucin (MUC7) domain 1. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1485-93.
60. Komatsu T, Salih E, Helmerhorst EJ, Offner GD, Oppenheim FG. Influence of histatin 5 on *Candida albicans* mitochondrial protein expression assessed by quantitative mass spectrometry. *J Proteome Res* 2011; 10: 646-55.
61. Gyurko C, Lendenmann U, Helmerhorst EJ, Troxler RF, Oppenheim FG. Killing of *Candida albicans* by histatin 5: cellular uptake and energy requirement. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2001; 79: 297-309.
62. Torres SR, Garzino-Demo A, Meiller TF, Meeks V, Jabra-Rizk MA. Salivary histatin-5 and oral fungal colonisation in HIV+ individuals. *Mycoses* 2008; 52: 11-5.
63. Aumelas A, Mangoni M, Roumestand C, et al. Synthesis and solution structure of the antimicrobial peptide protegrin-1. *Eur J Biochem* 1996; 237: 575-83.
64. Mani R, Cady SD, Tang M, Waring AJ, Lehrer RI, Hong M. Membrane-dependent oligomeric structure and pore formation of a beta-hairpin antimicrobial peptide in lipid bilayers from solid-state NMR. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103: 16242-7.
65. Bolintineanu D, Hazrati E, Ted Davis H, Lehrer RI, Kaznessis YN. Antimicrobial mechanism of pore-forming protegrin peptides: 100 pores to kill *E. coli*. *Peptides* 2010; 31: 1-8.
66. Steinberg BA, Hurst MA, Fujii CA, et al. Protegrin-1: a broad-spectrum, rapidly microbial peptide with in vivo activity. *Antimicrob agents Chemother* 1997; 41: 1738-42.
67. Peschel A. How do bacteria resist human antimicrobial peptides. *Trends Microbiol* 2002; 10: 179-86.
68. Resnick NM, Maloy WL, Guy HR, Zasloff M. A novel endopeptidase from *Xenopus* that recognizes alpha-helical secondary structure. *Cell* 1991; 66: 541-54.
69. Shafer WM, Qu X, Waring AJ, Lehrer RI. Modulation of *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility to vertebrate antibacterial peptides due to a member of the resistance/nodulation/division efflux pump family. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 1829-33.
70. Kokryakov VN, Harwig SSL, Panyutich EA, et al. Protegrins: leukocyte antimicrobial peptides that combine features of corticostatic defensins and tachyplesins. *FEBS Lett* 1993; 327: 231-6.
71. Qu XD, Harwig SSL, Shafer WM, Lehrer R. Protegrin structure and activity against *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect Immun* 1997; 65: 636-9.

72. Zasloff M. Magainin, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: Isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 87: 5449-53.
73. Bechinger B. Structure and function of channel-forming peptides: Magainins, cecropins, melittin and alamethicin. *J Membrane Biol* 1997; 156: 197-211.
74. Zasloff M, Martin B, Chen HC. Antimicrobial activity of synthetic magainin peptides and several analogues. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 910-3.
75. Oh H, Hedberg M, Wade D, Edlund C. Activities of synthetic hybrid peptides against anaerobic bacteria: Aspects of methodology and stability. *Antimicrob agents Chemother* 2000; 44: 68-72.
76. Darveau RP, Cunningham MD, Seachord CL, et al. Beta-lactam antibiotics potentiate magainin 2 antimicrobial activity in vitro and in vivo. *Antimicrob agents Chemother* 1991; 35: 1153.
77. Vaara M, Vaara T. Sensitization of gram-negative bacteria to antibiotics and complement by a nontoxic oligopeptide. *Nature* 1983; 303: 526-8.
78. Fox MA, Thwaite JE, Ulaeto DO, Atkins TP, Atkins HS. Design and characterization of novel hybrid antimicrobial peptides based on cecropin A, LL-37 and magainin II. *Peptides* 2012; 33: 197-205.
79. Baker MA, Maloy WL, Zasloff M, Jacob LS. Anticancer efficacy of magainin 2 and analogue peptides. *Cancer Res* 1993; 53: 3052-7.
80. Lehmann J, Retz M, Sidhu SS, et al. Antitumor activity of the antimicrobial peptide magainin I against bladder cancer cell lines. *Eur Urol* 2006; 50: 141-7.
81. Edelstein MC, Gretz JE, Bauer TJ, Fulqham DL, Alexander NJ, Archer DF. Studies on the in vitro spermicidal activity of synthetic magainins. *Fertil Steril* 1991; 55: 647-9.
82. Ge Y, Macdonald DL, Holroyd KJ, Thomsberry C, Wexler H, Zasloff M. In vitro antimicrobial properties of Pexiganan, an analog of magainin. *Antimicrob agents Chemother* 1999; 43: 782-8.
83. Gordon YJ, Romanowski EG. A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr Eye Res* 2005; 30: 505-15.
84. Kavanagh K, Dowd S. Histatins: Antimicrobial peptides with therapeutic potential. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56: 285-9.
85. Giuliani A, Pirri G, Nicoletto SF. Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. *Cent Eur J Biol* 2007; 2, 1-33.

Diagnosis of thalassemia carriers commonly found in Northern Thailand via a combination of MCV or MCH and PCR-based methods

Wibhasiri Srisuwan, Thanusak Tatu*

Division of Clinical Microscopy, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200 Thailand.

*Corresponding author (Email: tthanu@hotmail.com)

Abstract

Background: Conventional diagnostic strategy for thalassemia carriers is time-consuming and requires many types of laboratory tests.

Objective : To demonstrate the possibility of a combination of MCV or MCH and a PCR-based technique in identifying α - and β -thalassemia carriers in the population of the Northern Thailand in which molecular defects causing thalassemia are well documented.

Materials and methods: Seventy northern Thai healthy adults with Hb12 g/dL, MCV 80 fL and MCH 27 pg were tested for the α - and β -globin gene mutations commonly found in Northern Thailand by a modified multiplex allele-specific PCR. The nucleotide sequencing was employed to confirm the results obtained from the PCR-based method.

Results: A combination of MCV 80 fL or MCH 27 pg and a modified multiplex allele-specific PCR was able to definitely diagnose α - and β -thalassemia carriers in 81.4% of the samples tested. These included single carriers of SEA- α thalassemia 1, of α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion), of Hb Constant Spring, of HbE, of $\beta^{41/42(-TTCT)}$ -thalassemia and of $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia. These also included double carriers of α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion) and $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia, double carrier of Hb Constant Spring and HbE, double carrier of SEA- α thalassemia 1 and $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia and double carrier of α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion) and HbE. The results obtained from the modified multiplex allele-specific PCR completely agreed with those generated from the standard nucleotide sequencing.

Conclusion: Combination of MCV or MCH and a modified multiplex allele-specific PCR might be an alternative means in detecting common α - and β -thalassemia carriers in northern Thailand. This strategy may be applied in other regions where thalassemia is endemic and globin gene mutations are well documented. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2013; 46(1): 22-32

Keywords: Thalassemia carrier, thalassemia screen, red cell indices, multiplex allele-specific PCR, globin gene mutations

การใช้ MCV หรือ MCH ร่วมกับเทคนิค PCR เพื่อวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียชนิดที่พบบ่อยในภาคเหนือของประเทศไทย

วิภาสรี ศรีสุวรรณ ธนศักดิ์ ตาตุ*

แขนงวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: tthanu@hotmail.com)

บทคัดย่อ

บทนำ: การวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียในปัจจุบันใช้เวลานานและอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการหลายชนิดเพื่อให้ได้ผลการวินิจฉัยที่ถูกต้อง

วัตถุประสงค์: เพื่อแสดงความเป็นไปได้ของการใช้ MCV หรือ MCH ร่วมกับเทคนิค PCR ในการตรวจวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียได้อย่างรวดเร็วในกลุ่มประชากรทางภาคเหนือของประเทศไทยซึ่งทราบความผิดปกติระดับโมเลกุลของโรคธาลัสซีเมียเป็นอย่างดี

วัสดุและวิธีการศึกษา: ทำการศึกษาในตัวอย่างเลือดจากผู้มีสุขภาพดีและมีระดับฮีโมโกลบินมากกว่า 12 g/dL จำนวน 70 ราย ที่มีค่า MCV <80 fL และ MCH <27 pg โดยตรวจหาความผิดปกติของ α - และ β -globin genes ด้วยเทคนิค multiplex allele-specific PCR ชนิดปรับปรุง และใช้เทคนิคการหาลำดับเบสในการยืนยันความถูกต้อง

ผลการศึกษา: การใช้ MCV หรือ MCH ร่วมกับเทคนิค multiplex allele-specific PCR ที่ปรับปรุงสามารถวินิจฉัยชนิดของพาหะ α - และ β -thalassemia ได้อย่างถูกต้องใน 81.4% ของจำนวนตัวอย่างซึ่งประกอบด้วยพาหะเดี่ยวของ SEA- α thalassemia 1, α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion), Hb Constant Spring, of HbE, $\beta^{41/42(-TTCT)}$ -thalassemia และพาหะ $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia ได้ และพาหะซ้อนของ α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion) ร่วมกับ $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia, Hb Constant Spring ร่วมกับ HbE, SEA- α thalassemia 1 ร่วมกับ $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia และ α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion) ร่วมกับ HbE ผลการตรวจที่ได้จากวิธี multiplex allele-specific PCR ตรงกับผลที่ได้จากวิธีการหาลำดับเบส

สรุปผลการศึกษา: การใช้ MCV หรือ MCH ร่วมกับ multiplex allele-specific PCR อาจจะเป็นทางเลือกในการตรวจวินิจฉัยพาหะ α - และ β -thalassemia ที่พบบ่อยในภาคเหนือของประเทศไทย การตรวจทางห้องปฏิบัติการรูปแบบนี้อาจจะนำไปใช้ในพื้นที่ที่มีอุปกรณ์ของธาลัสซีเมียสูงและทราบความผิดปกติของ globin gene เป็นอย่างดี *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 22-32*

คำรหัส: พาหะธาลัสซีเมีย การคัดกรองธาลัสซีเมีย ดัชนีเม็ดเลือดแดง การขยายยีนแบบจำเพาะ ความผิดปกติของยีนโกลบิน

Introduction

Thalassemia is an inherited hemolytic anemia caused by abnormality of globin chain production. It is caused by defects of globin genes which are inherited in an autosomal recessive manner. Those homozygous and compound heterozygous for abnormal globin genes are

affected by the disease characterized by chronic anemia requiring frequent blood transfusions followed by several fatal complications. In contrast, those heterozygous and doubly heterozygous for these abnormalities are clinically asymptomatic with obvious alteration of erythrocytic

parameters. Alpha (α)- and beta (β)-thalassemias are the most common types of thalassemia worldwide.¹

Thalassemia is a globally distributed hemolytic anemia spreading from the Mediterranean through Far Eastern regions including Thailand. In Thailand, approximately 40% of its population are heterozygotes or carriers of thalassemia comprising 20-30% α -thalassemia carriers, 3-9% β -thalassemia carriers, 10-60% HbE carriers and 1-6% Hb Constant Spring carriers.² High incidence of thalassemia carriers in Thailand leads to a high probability of producing new cases of thalassemia in this country. Thus, correct diagnosis of a thalassemia carrier should be essential in managing this disorder.

Presently, diagnostic strategy for thalassemia carriers consists of 3 consecutive steps including initial screening by the one-tube osmotic fragility test (OFT) with or without mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH), followed by hemoglobin identification by high performance liquid chromatography (HPLC), low pressure liquid chromatography (LPLC), capillary zone electrophoresis (CZE) and finally by analysis for globin gene defects by allele-specific polymerase chain reaction (allele-specific PCR).³⁻⁹ This conventional strategy is time-consuming and requires many steps to obtain definite diagnosis. Employing this strategy, a rapid and definite diagnosis of the thalassemia carriers is unlikely. To overcome this problem, a rapid and accurate protocol needs to be established.

In Northern Thailand, successful diagnosis of carriers of SEA- α thalassemia 1 has been demonstrated by a combination of OFT and Gap-PCR for α -globin gene deletion.¹⁰ However, this concept has never been tested for other types of thalassemia in this region. Thus, this study is aimed to test the possibility of a combination of MCV or MCH and the PCR-based method in making a definite diagnosis of both α - and β -thalassemia carriers common in the northern Thailand where specific globin gene mutations are well characterized. It is anticipated that the proposed strategy would be a prototype that can be applied in other regions where α - and β -thalassemia are common and globin gene mutations are also well documented.

Materials and Methods

This study was ethically approved by The Research Ethics Committee, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. EDTA blood samples were collected from 70 healthy subjects of the Northern Thailand. Hb, MCV and MCH levels were analyzed by an automated blood cell analyzer (Sysmex KX-21; Sysmex Corporation, Kobe, Japan). DNA was prepared from EDTA blood using the Chelex extraction method with some modifications.¹¹ A 100-microliter EDTA blood sample was firstly washed in 1 mL 0.5% (v/v) Triton X-100 and then in 1 mL deionised water (DI) before adding 110 μ L DI and 1-2 drops of Chelex suspension (5% (w/v) in DI). The mixture was then incubated in a 56°C-waterbath for 2 hours and then in a boiling water-bath for 10 minutes. Finally, the tube was centrifuged at 15,000 g for 1 minute, supernatant harvested and kept at -20°C until use.

Characterization of α -globin gene defects commonly found in Northern Thailand was performed using the protocols described elsewhere with some modifications.¹²⁻¹⁴ A 50 μ L-PCR reaction was performed containing 0.4 μ M each of the following primers; SEA1 (5'-TGA CTC CAA TAA ATG GAT GAG GA-3'), SEA3 (5'-GCC TGC GCC GGG GAA CGT AAC CA-3'), CS2 (5'- CCA TTG TTG GCA CAT TCC GG -3') and C3 (5'- CCA TTG TTG GCA CAT TCC GG -3') as well as 0.025 μ M of α G-17 (5'- AGA TGG CAC CTT CCT CTC AGG-3'), 1.2 μ M each of Alpha 3.7A (5'- CCC AGA GCC AGG TTT GTT TAT CTG-3') and Alpha3.7B (5'- GAG GCC CAA GGG GCA AGA AGC AT-3') in 10 mM Tris pH 8.5, 50 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 140 μ M dNTPs, 2% DMSO, 2M .betaine, 0.1 unit DNA polymerase (iTaQ; iNtRON Biotechnology, Inc.) and 5 μ L DNA. The amplification reaction was carried out in 29 thermal cycles comprising denaturation at 94°C for 6 minutes 30 seconds in the first cycle and for 1 minute 30 seconds in subsequent 28 cycles, primer annealing at 60°C for 1 minute 30 seconds and extension at 72°C for 2 minute 20 seconds in the first 28 cycles and for 7 minutes during the last cycle. 762-bp amplified products generated from SEA1 and SEA3 primers were produced in the presence of SEA deletion of α -thalassemia 1. 180-bp fragments were produced from C3 and CS2

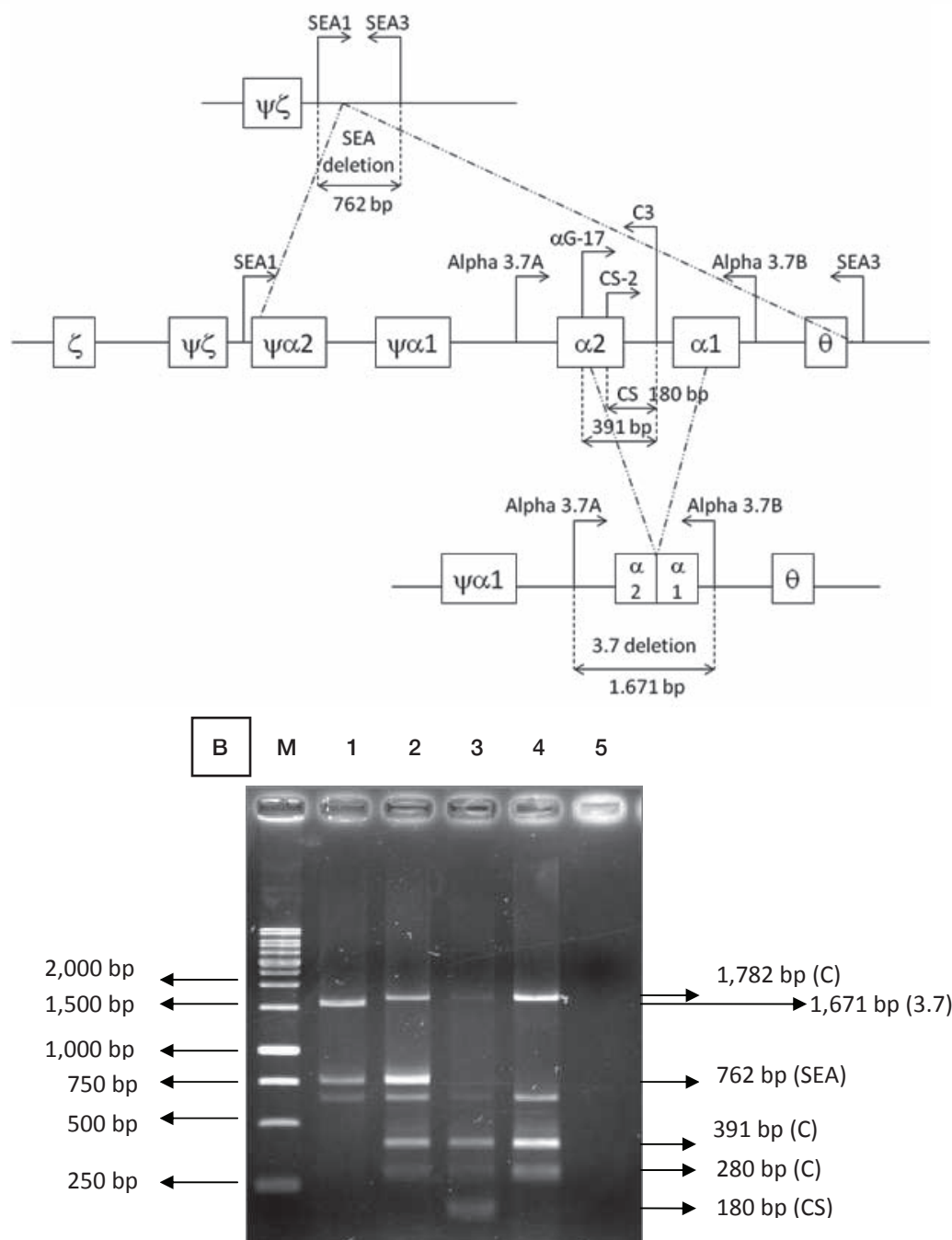


Figure 1 (A) Locations of binding sites of primers used in multiplex allele-specific PCR to identify α -globin gene defects. The corresponding amplified products of each primer pair are indicated. (B) Agarose gel pattern of amplified products in which the specific amplified products were produced. Lane 1 is the DNA from HbH disease (- $\alpha 3.7/-$ -SEA with 1,671-bp and 762-bp products), Lane 2 is the DNA from carrier of SEA- α thalassemia (- -SEA/ $\alpha\alpha$ with the 762-bp products), Lane 3 is the DNA from carrier of Hb Constant Spring ($\alpha CS\alpha/\alpha\alpha$ with the 180-bp products), Lane 4 is the DNA from normal individual in which only the 280-bp, 391-bp and 1,782-bp internal controls products are seen, Lane 5 is a blank control. M is a 1-kb DNA size marker. Note: "C" is internal control. "3.7" is 3.7-kb α -thalassemia 2. "SEA" is SEA- α thalassemia 1. "CS" is Hb Constant Spring.

primers in the presence of HbCS allele whereas 1,671-bp PCR products from Alpha3.7A and Alpha3.7B primers were generated in the presence of 3.7-kb deletion of α -thalassemia 2. 391-bp fragments generated from α G17 and C3 primers served as internal control (Figure 1).

A modification of the amplification protocol described by Tatu *et al* was performed to characterize the β -globin gene defects commonly found in Thailand.¹⁴ PCR was carried out in a 25 μ L PCR reaction containing 0.032 μ M of Beta-common multiplex primer (5'-AAG AGC CAA GGA CAG GTA CGG CTG T-3'), 0.056 μ M of Beta41/42 multiplex primer (5'-AGA TCC CCA AAG GAC TCA ACC T-3'), 0.054 μ M of Beta17 multiplex primer (5'-CCA ACT TCA TCC ACG TTC ACG TA-3'), 0.018 μ M of Beta E multiplex primer (5'-CGT ACC AAC CTG CCC AGG GCC AT-3') and 0.14 μ M of M-28M1 primer (5'-AGA AGC AAA TGT AAG CAA TAC ATG GCT CTG CCC TGC CAT C -3') in 10 mM Tris pH 8.5, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 140 μ M dNTPs, 2% DMSO, 0.1 unit DNA polymerase (iTaq; iNtRON Biotechnology, Inc.) and 5 μ L DNA. The amplification reaction was carried out in 27 thermal cycles comprising denaturation at 95°C for 5 minutes in

the first cycle and for 1 minute in subsequent 26 cycles, primer annealing at 62°C for 30 seconds and extension at 72°C for 30 seconds in the first 26 cycles and for 7 minutes during the last cycle. 469-bp amplified products generated from Beta-common multiplex and Beta41/42 multiplex primers were produced in the presence of TTCT deletion at codons 41/42. 267-bp fragments were produced from Beta-common multiplex and Beta17 multiplex primers in the presence of "T" instead of "A" at codon 17. 290-bp products were produced from Beta-common multiplex and Beta E multiplex primers in the presence of HbE allele. Finally, 136-bp fragments were produced from Beta-common multiplex and M-28M1 primers in the presence "G" instead of "A" at the nucleotide -28 in β -globin gene promoter. 391-bp fragments generated from α G-17 and C3 primers were used as an internal control (Figure 2). Blood samples positive for the multiplex allele-specific PCR were randomly selected for nucleotide sequencing to validate the mutation identification.

Results

The mean Hb level in 70 blood samples

Table 1 Frequencies of globin gene mutations in thalassemia carriers with MCV < 80 fL and MCH < 27 pg detected by the modified multiplex allele-specific PCR

	Number of samples (%)
α -thalassemia-1 (SEA type)	18 (25.7)
α -thalassemia-2 (3.7 type)	12 (17.1)
HbCS	1 (1.4)
β^{17} -thalassemia	1 (1.4)
$\beta^{41/42}$ -thalassemia	2 (2.8)
HbE	15 (21.4)
HbCS/HbE	2 (2.8)
α -thalassemia-1 (SEA type)/ β^{17} -thalassemia	1 (1.4)
α -thalassemia-2 (3.7 type)/ β^{17} -thalassemia	3 (4.2)
α -thalassemia-2 (3.7 type)/HbE	2 (2.8)
Negative for PCR analysis	13 (18.5)
Total	70

analysed was 13.1-1.0 g/dl (Mean-SD). The MCV and MCH levels were 73.1-5.6 fL (Mean-SD) and 23.-2.2 pg (Mean-D), respectively. In the cases with MCV<80

fL and MCH<27 pg, the modified multiplex allele-specific PCR analysis revealed that 57 samples (81.4%) were carriers of α - and β - thalassemia in both sin-

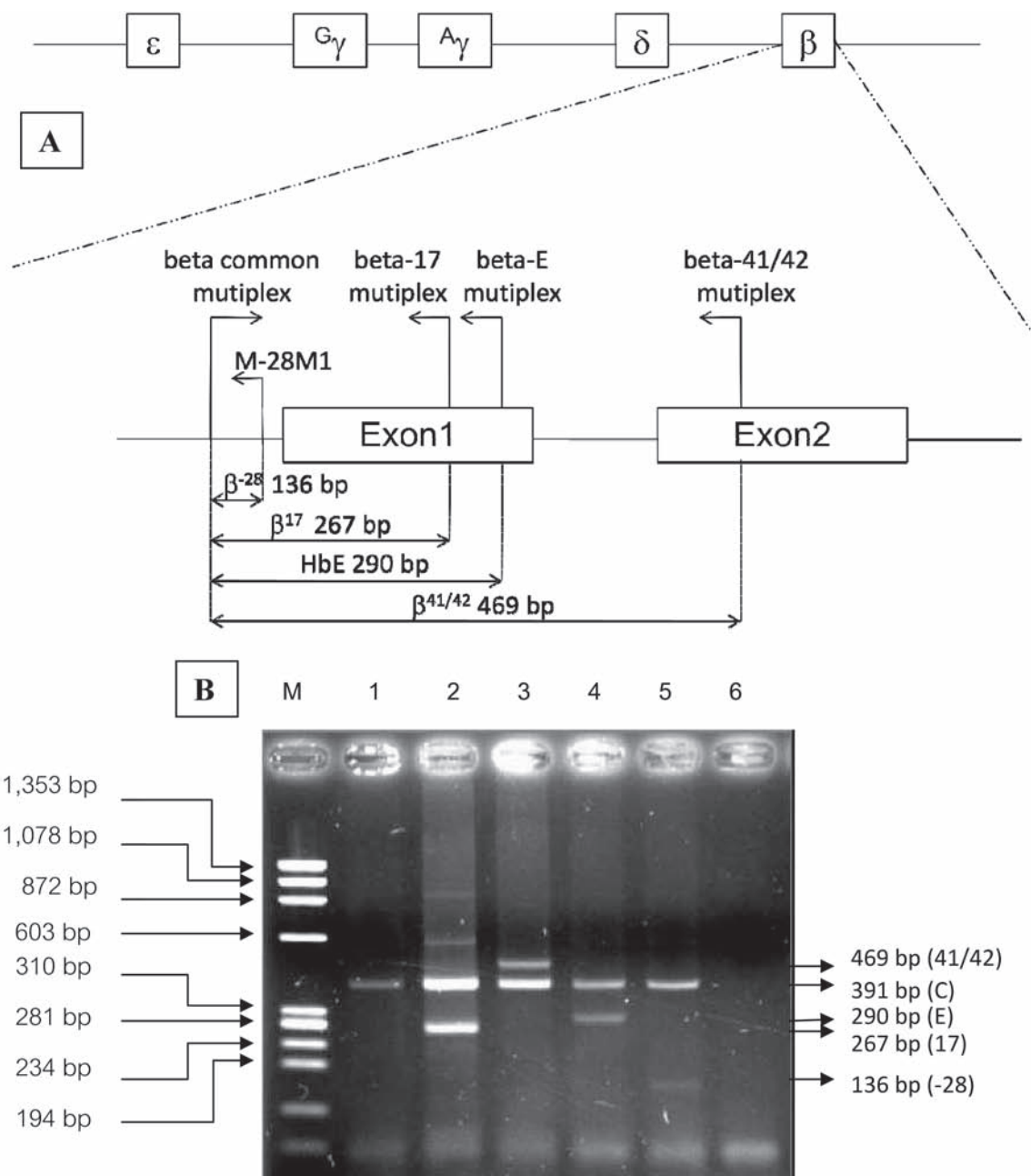


Figure 2 (A) Locations of binding sites of primers used in multiplex allele-specific PCR to identify β -globin gene defects. The corresponding amplified products of each primer pair are indicated. (B) Agarose gel pattern of amplified products in which the specific amplified products were produced. Lane 1 is the DNA from normal individual in which only the 391-bp internal control products is seen. Lane 2 is the DNA from carrier of $\beta^{17(A-T)}$ (β/β^{17} with the 267-bp products), Lane 3 is the DNA from carrier of $\beta^{41/42(-TTCT)}$ ($\beta/\beta^{41/42}$ with the 469-bp products), Lane 4 is the DNA from carrier of HbE (β/β^E with the 290-bp products), Lane 5 is the DNA from carrier of $\beta^{-28(A-G)}$ (β/β^{-28} with the 136-bp products), Lane 6 is the blank control. M is a 1-kb DNA size marker. Note : "C" is internal control. "41/42" is $\beta^{41/42(-TTCT)}$. "E" is HbE. "17" is $\beta^{17(A-T)}$ and "-28" is $\beta^{-28(A-G)}$.

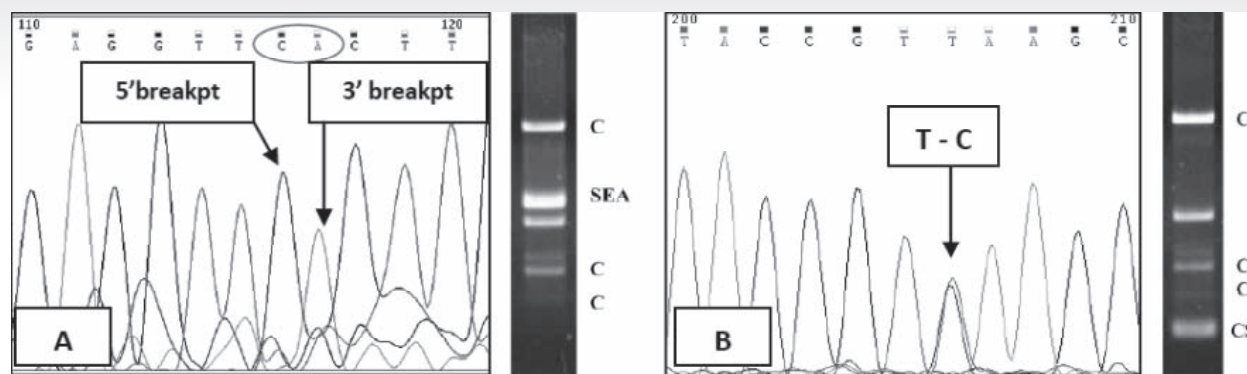


Figure 3 Comparison of α -globin gene mutations identified by the nucleotide sequencing (left box) and by the multiplex allele-specific PCR (right box) for SEA- α thalassemia 1 (A) and Hb Constant Spring (B). Note: "C" is internal control. "SEA" is SEA- α thalassemia 1. "CS" is Hb Constant Spring.

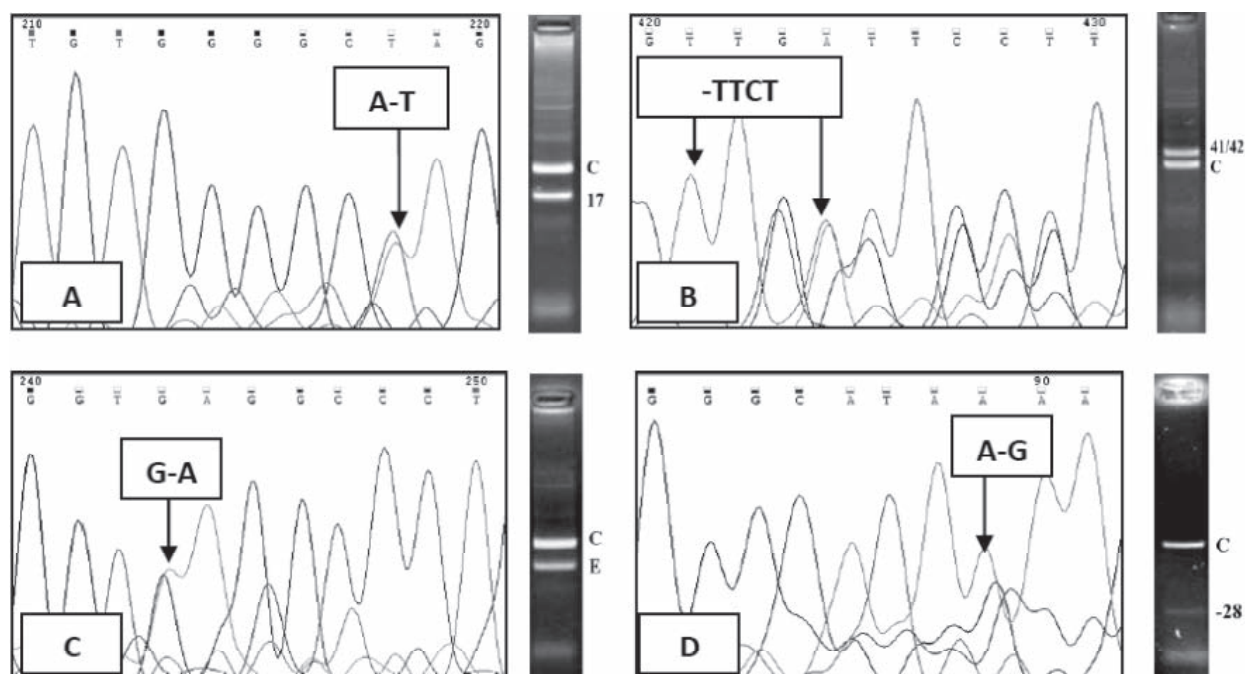


Figure 4 Comparison of β -globin gene mutations identified by the nucleotide sequencing (left box) and by the multiplex allele-specific PCR (right box) for $b^{17(A-T)}$ (A), $b^{41/42(-TTCT)}$ (B), HbE (C) and $b^{-28(A-G)}$ (D). Note: "C" is internal control. "41/42" is $\beta^{41/42(-TTCT)}$. "E" is HbE. "17" is $\beta^{17(A-T)}$ and "-28" is $\beta^{-28(A-G)}$.

gle and double states. These included single carriers of SEA- α thalassemia 1 ($-SEA/\alpha\alpha$), HbE (β/β^E), Hb Constant Spring ($\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$), α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion) ($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$), $\beta^{41/42(-TTCT)}$ -thalassemia ($\beta/\beta^{41/42}$) and $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia (β/β^{17}). These also included double carriers of α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion) ($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$) and $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia (β^{17}), double carrier of Hb Constant Spring ($\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$) and HbE (β/β^E), double carrier of SEA- α thalassemia 1 ($-SEA/\alpha\alpha$) and $\beta^{17(A-T)}$ -thalassemia (β^{17}) and double carrier of α -thalassemia 2 (3.7-kb deletion)

($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$) and HbE (β/β^E) as shown in Table 1. The globin gene mutations identified by the modified multiplex allele-specific PCR were completely identical to those generated by the standard nucleotide sequencing (Figures 3, 4).

Discussion

Conventional detection of thalassemia carriers in Thailand starts with initial screening tests including OFT or MCV and DCIP tests.^{8,15,16} Those positive for the initial screening tests are subjected to Hb identification

to determine HbA2/E levels to identify carrier states of β -thalassemia and HbE.³ Employing these two laboratory stages, one cannot determine types of β -globin mutations, α -thalassemia and double carriers of α - and β -thalassemia which require DNA analysis.

Rund et al and Sanguansermsri demonstrated that it was possible to carry out mutation analysis just after the initial screening of α - and β -thalassemia carriers by MCV and OFT in the area where mutations are well documented.^{10,17} Based on these notions, we attempted to characterize the α - and β -globin gene mutations common in northern Thailand by the modified multiplex allele-specific PCR in the 70 samples previously tested for MCV and MCH. The results clearly showed that common thalassemia in either single or double states was detected in the majority of samples having MCV and MCH below the cut-off points. This showed that the MCV and MCH were effective in screening thalassemia carriers and that a combination of these red cell indices and the modified multiplex allele-specific PCR was possible in detecting α - and β -thalassemia carriers of all statuses. MCV and MCH are the parameters accurately obtained by an automated blood cell analyzer. They have been intensively evaluated and proven to be effective parameters in screening of thalassemia carriers and the cut-off points of 80 fL for MCV and 27 pg for MCH are mostly widely accepted.^{6,8,9,17-22} However, MCV and MCH values of HbE carriers may overlapped with those of normal population and approximately 5% HbE carriers will be missed when this indices are relied on.^{23,24,25} Thus, HbE screening tests may be included in order to increase efficiency of this proposed protocol.

In Northern Thailand, the $\beta^{41/42}$, β^{17} , β^{28} , β^E and -^{SEA} α , - $\alpha^{3.7}$, α^{CS} are the common β - and α -globin gene defects.^{26,27} Molecular analysis of these mutations have been well established as stated earlier and we have modified these PCR methodologies to establish an in-house protocol. Employing this modified PCR protocol to test the 70 blood samples whose screening results were positive, the majority of the samples were diagnosed to be carriers of the common types of globin gene defects. This indicated that the PCR analysis of common globin

gene mutations directly after the MCV or MCH analysis was capable in identifying common α - and β -thalassemia in Northern Thailand. The modified multiplex allele-specific PCR employed in this study had previously been validated against the known samples. The standard nucleotide sequencing was employed to confirm the results generated by this multiplex allele-specific PCR. As shown, the mutations identified by both techniques were completely identical. This should indicate that the specificity and sensitivity of the proposed strategy were significant. In the minor portion of the samples that had positive screening results, the proposed multiplex allele-specific PCR failed to identify any globin gene mutations. These samples certainly harbored rare types of globin gene mutations and other tests, e.g. Hb identification is still required to make the definite diagnosis.

Another most significant advantage of molecular analysis of globin gene defects is an ability to detect the carriers of α -globin thalassemia either in a single carrier state or in double carrier state with β -thalassemia and HbE. In the Northern Thailand, double carriers of α - and β -thalassemia or HbE are fairly common.¹⁴ These double carriers cannot be detected by the conventional Hb identification techniques such as HPLC.

Skipping the Hb identification step as proposed in this report raised 2 major questions. These included ability of this new approach in nationwide carrier screen and in detecting complex thalassemia encountering in Thailand. As a national strategy for thalassemia screen, all samples having positive screening results are subjected for Hb identification (e.g. by HPLC, LPLC or CZE). Despite Hb identification is capable of identifying only carriers of β -thalassemia, $\delta\beta$ -thalassemia, but α -thalassemia and α/β -thalassemia cannot be detected by this method. Detection of α -thalassemia still needs DNA analysis. More importantly, mutation analysis of β -globin gene in those diagnosed as being the β -thalassemia carrier is always required in case prenatal diagnosis is planned. Thus, implementing this proposed strategy may be helpful in this situation. As stated, the carriers of $\delta\beta$ -thalassemia or abnormal hemoglobins can only be indicated by the

Hb identification and could be missed in situation where the proposed strategy is applied.^{3,28-31} Thus in situation where the $\delta\beta$ -thalassemia and abnormal hemoglobins are expected, the Hb identification is still necessary.

Although the presented strategy seemed to violate the national thalassemia diagnosis strategy, we herein only proposed an alternative means in detecting thalassemia carriers. Hb identification by HPLC or LPLC or CZE is still necessary in this context. Further intensive investigations are required to clarify this concept.

In conclusion, we have attempted to demonstrate possibility of combination of MCV or MCH and a multiplex allele-specific PCR in detecting common α - and β -thalassemia carriers. However, this strategy was only a preliminary model that could not identify all types of

globin gene mutations. Hb identification is still required in detecting thalassemia carriers. Additional studies are needed to extent its efficacy.

Acknowledgements

This study was supported by the NSTDA Research Chair Grant, National Sciences and Technology Development Agency (Thailand) and the National Research University Project under Thailand's Office of the Higher Education Commission. Wibhasiri Srisuwan was the MS student at the Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. We thanked Prof. Dr. Watchara Kasinrerak for valuable suggestions on the manuscript. We also thanked Dr. Denis Sweatman for proofreading the manuscript.

References

1. Weatherall DJ, Clegg JB. The Thalassaemia Syndromes (Fourth edition). Oxford: Blackwell Scientific; 2001.
2. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia in SouthEast Asia: problems and strategy for prevention and control. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1992; 23: 647-55.
3. Fucharoen S, Winichagoon P, Piankijagum A. Standardization on laboratory diagnosis of thalassemia and abnormal hemoglobin. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1999; 30 Suppl 3: 90-8.
4. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassaemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. Bull World Health Organ. 2004; 82: 364-72.
5. Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting beta- thalassaemia trait. J Med Genet. 1981; 18: 266-70.
6. Pranpanus S, Sirichotiyakul S, Srisupundit K, Tongsong T. Sensitivity and specificity of mean corpuscular hemoglobin (MCH): for screening α -thalassemia-1 trait and β -thalassemia trait. J Med Assoc Thai. 2009; 92: 739-43.
7. Sirichotiyakul S, Tantipalakorn C, Sanguansermisri T, Wanapirak C, Tongsong T. Erythrocyte osmotic fragility test for screening of α -thalassemia-1 and β -thalassemia trait in pregnancy. Int J Gynaecol Obstet. 2004; 86: 347-50.
8. Sirichotiyakul S, Maneerat J, Sa-nguansemsri T, Dhananjayanonda P, Tongsong T. Sensitivity and specificity of mean corpuscular volume testing for screening for α -thalassemia-1 and β -thalassemia traits. J Obstet Gynaecol Res. 2005; 31: 198-201.

9. The Working Party of the General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. The laboratory diagnosis of haemoglobinopathies. *Br J Haematol.* 1998; 101: 783-92.
10. Sanguansermsri T, Phumyu N, Chomchven S, Steger HF. Screening for α -thalassemia-1 heterozygotes in expecting couples by combination of a simple erythrocyte osmotic fragility test and a PCR-based method. *Community Genetics.* 1999; 2: 26-39.
11. Polski JM, Kimzey S, Percival RW, Grosso LE. Rapid and effective processing of blood specimens for diagnostic PCR using filter paper and Chelex-100. *Mol Pathol.* 1998; 51: 215-7.
12. Fucharoen S, Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Panyasai S, Devenish R, Luy L. Interaction of hemoglobin E and several forms of α -thalassemia in Cambodian families. *Haematologica.* 2003; 88: 1092-8.
13. Sutcharitchan P, Wang W, Settapiboon R, Amornsirawat S, Tan AS, Chong SS. Hemoglobin H disease classification by isoelectric focusing: molecular verification of 110 cases from Thailand. *Clin Chem.* 2005; 51: 641-4.
14. Tatu T, Kiewkarnkha T, Khuntarak S, Khamrin S, Suwannasin S, Kasinrerak W. Screening for co-existence of α -thalassemia in β -thalassemia and in HbE heterozygotes via an enzyme-linked immunosorbent assay for Hb Bart's and embryonic ζ -globin chain. *Int J Hematol.* 2012; 95: 386-93.
15. Winichagoon P, Thitivichianlert A, Lebnak T, Piankijagum A, Fucharoen S. Screening for the carriers of thalassemias and abnormal hemoglobins at the community level. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2002; 33 Suppl 2: 145-50.
16. Wiwanitkit V, Suwansaksri J, Paritpokee N. Combined one-tube osmotic fragility (OF) test and dichlorophenol- indolphenol (DCIP) test screening for hemoglobin disorders, an experience in 213 Thai pregnant women. *Clin Lab.* 2002; 48: 525-8.
17. Rund D, Filon D, Strauss N, Rachmilewitz EA, Oppenheim A. Mean corpuscular volume of heterozygotes for β -thalassemia correlates with the severity of mutations. *Blood.* 1992; 79: 238-43.
18. Jindadamrongwech S, Wisedpanichkij R, Bunyaratvej A, Hathirat P. Red cell parameters in α -thalassemia with and without β -thalassemia trait or hemoglobin E trait. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1997; 28 Suppl 3: 97-9.
19. Lafferty JD, Crowther MA, Ali MA, Levine M. The evaluation of various mathematical RBC indices and their efficacy in discriminating between thalassemic and non-thalassemic microcytosis. *Am J Clin Pathol.* 1996; 106: 201-5.
20. Liao C, Xie XM, Zhong HZ, Zhou JY, Li DZ. Proposed screening criteria for β -thalassemia trait during early pregnancy in southern China. *Hemoglobin.* 2009; 33: 528-33.
21. Karimi M, Rasekhi AR. Efficiency of premarital screening of β -thalassemia trait using MCH rather than MCV in the population of Fars Province, Iran. *Haematologia (Budap).* 2002; 32: 129-33.

22. Schubert S, Christofi Y, Papadatou A. [Routine hematologic parameters for thalassemia screening]. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch.* 1990; 117: 867-73.
23. Yeo GS, Tan KH, Liu TC. Screening for β thalassaemia and HbE traits with the mean red cell volume in pregnant women. *Ann Acad Med Singapore.* 1994; 23: 363-6.
24. Ittarat W, Ongcharoenjai S, Rayatong O, Pirat N. Correlation between some discrimination functions and hemoglobin E. *J Med Assoc Thai.* 2000; 83: 259-65.
25. Tatu T, Prakunwisit D, Chayajak S, Chiampanichayakul S, Kasinrerak W. RBC count and its differentiation potential between α -thalassemia (SEA type), β -thalassemia and HbE heterozygotes. *CMUJ for natural sciences* 2007; 6: 57-64.
26. Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia: molecular biology and clinical medicine. *Hemoglobin.* 1997; 21: 299-319.
27. Lemmens-Zygulska M, Eigel A, Helbig B, Sanguansermsri T, Horst J, Flatz G. Prevalence of α -thalassemias in northern Thailand. *Hum Genet.* 1996; 98: 345-7.
28. Bunn HF, Forget BG, Ranney HM. *Human Hemoglobins.* Toronto: W.B. Saunders Company; 1977.
29. Wood WG, Clegg JB, Weatherall DJ. Hereditary persistence of fetal haemoglobin (HPFH) and $\delta\beta$ thalassaemia. *British Journal of Haematology.* 1979; 43: 509-20.
30. Bollekens JA, Forget BG. $\delta\beta$ Thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Hematology/Oncology Clinics of North America.* Vol. 5; 1991: 399-422.
31. Wood WG. Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin and $d\beta$ Thalassemia. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, eds. *Disorder of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology and Clinical Management.* Cambridge: Cambridge University Press; 2001: 356-88.



The study of a rectal dose in cervical carcinoma: High dose rate brachytherapy calculated based on the ICRU Report 38 Recommendation and Multiple Points Calculation in Lampang Cancer Hospital

Jumneanphan Reunsri^{*} Tussawan Arsakit Duriya Fongmoon Somkiat Lalitwongsa

Lampang Cancer Hospital, Department of Medical Services, Ministry of Public health, Lampang, Thailand 52000

^{*} Corresponding author (E-mail: R_Jumneanphan@yahoo.com)

Abstract

Objective: To compare the rectal dose of high dose rate brachytherapy treatment planning based on ICRU 38 recommendation and multiple points calculation for evaluating the rectal dose and maximum point in rectum from brachytherapy treatment planning in Lampang Cancer Hospital.

Method: The high dose rate comparison of rectal dose from two methods was performed in 30 cervical cancer patients with brachytherapy treatment. The statistic analysis was paired t-test.

Results: A rectal dose relative to point A was calculated using reference point defined by multiple points. The result showed that mean of average maximum value of rectal dose from multiple reference six points was $60.87 \pm 16.97\%$ while average maximum value of rectal dose calculated from the ICRU 38 was $59.0 \pm 15.89\%$. Position of the maximum rectal dose was 1 cm upward the reference point of ICRU 38 calculation (43.3%). Comparison of doses calculated by marking the reference points from two methods showed that maximum dose of multiple point calculation was higher than that of ICRU 38 calculation significantly ($p < 0.009$).

Conclusion: A rectal dose calculation using the reference point according to ICRU 38 recommendation suggested only a single point. It may not be the maximum rectal dose point. Therefore, a multiple point calculation along the length of rectum should be suggested for informing radiologists to be applied to patients. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 33-39*

Keywords: cervical cancer, brachytherapy, treatment planning, rectum

การศึกษาปริมาณรังสีที่ลำไส้ตรงได้รับจากการใส่แร่ อัตราการแพ้ปริมาณรังสีสูง จากการคำนวณโดยกำหนดจุดอ้างอิงลำไส้ตรงแบบหลายจุด และการกำหนดตามมาตรฐาน ICRU ฉบับที่ 38 ในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูก ที่เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลมะเร็งลำปาง

จำเนียรพันธ์ เรือนศรี* ทศน์วรรณ อาษากิจ ดุริยา พองมูล สมเกียรติ ลลิตวงศา

โรงพยาบาลมะเร็งลำปาง กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดลำปาง 52000

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: R_Jumneanphan@yahoo.com)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบผลการคำนวณปริมาณรังสีที่ลำไส้ตรงได้รับจากการใส่แร่ อัตราการแพ้ปริมาณรังสีสูงจากการคำนวณโดยกำหนดจุดอ้างอิงลำไส้ตรงแบบหลายจุด และการกำหนดจุดอ้างอิงตามมาตรฐาน ICRU ฉบับที่ 38 รวมทั้งหาตำแหน่งที่ลำไส้ตรงได้รับปริมาณรังสีสูงสุด และพิจารณาปริมาณรังสีที่ลำไส้ตรงได้รับจากการใส่แร่ของโรงพยาบาลมะเร็งลำปาง

วิธีการวิจัย: ทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกที่ได้รับการรักษาโดยการฉายรังสีจากภายนอก และใส่แร่ด้วยอัตราการแพ้ปริมาณรังสีสูงจำนวน 30 ราย เปรียบเทียบปริมาณรังสีของลำไส้ตรงที่คำนวณได้ โดยใช้สถิติ paired t-test

ผลการวิจัย : ปริมาณรังสีที่ลำไส้ตรงได้รับเมื่อเทียบกับจุด A จากการคำนวณโดยการกำหนดจุดอ้างอิงลำไส้ตรงแบบหลายจุด มีค่าเฉลี่ยของปริมาณรังสีที่สูงสุดเท่ากับ $60.87 \pm 16.97\%$ ส่วนปริมาณรังสีที่คำนวณได้จากการกำหนดจุดอ้างอิงตามมาตรฐาน ICRU 38 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $59.0 \pm 15.89\%$ และตำแหน่งของลำไส้ตรงที่คำนวณได้ปริมาณรังสีสูงสุด ส่วนใหญ่อยู่เหนือขึ้นไปจากจุดอ้างอิงตามมาตรฐาน ICRU 38 ขึ้นไป 1 เซนติเมตร คิดเป็น 43.3% เมื่อเปรียบเทียบปริมาณรังสีที่คำนวณโดยการกำหนดจุดอ้างอิงทั้ง 2 วิธี พบว่าปริมาณรังสีสูงสุดที่ลำไส้ตรงได้รับจากการคำนวณโดยกำหนดจุดอ้างอิงแบบหลายจุดมีค่าสูงกว่าการกำหนดจุดอ้างอิงตามมาตรฐาน ICRU 38 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.009$)

สรุปผลการวิจัย: การคำนวณปริมาณรังสีที่ลำไส้ตรงได้รับจากการกำหนดจุดอ้างอิงลำไส้ตรงตามมาตรฐานที่ ICRU 38 แนะนำเพียงจุดเดียว อาจไม่ใช่จุดที่ลำไส้ตรงได้รับปริมาณรังสีสูงสุด ดังนั้นจึงควรกำหนดจุดอ้างอิงแบบหลายจุดตามแนวความยาวของลำไส้ตรง เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับรังสีแพทย์ในการนำมาใช้ประกอบการรักษาผู้ป่วยต่อไป *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1) : 33-39*

คำรหัส: มะเร็งปากมดลูก การใส่แร่ การวางแผนรักษา ลำไส้ตรง

Introduction

A Cancer registration of the National Cancer Institute reported that cervical cancer is the second order among Thai women cancer follows breast cancer¹. Patients diagnosed with cervical cancer will be planned for each course of treatment which depends on a stage of disease. There are three approaches which are surgery, radiotherapy and chemotherapy. Radiotherapy is an im-

portant one for cancer treatment, especially in the case with a spreading of cancer which cannot be treated by surgery. Radiotherapy aims to deliver the maximum dose of radiation to a local tumor, but protecting a normal tissue from ray. This will expand the quality of life of patients who undergo radiation.

For cervical cancer treatment, external beam radiotherapy is given to a whole pelvis for inducing primary tumor shrinkage and sterilization of microscopic disease within pelvic lymph-node. Therefore, the major organs (bladder and rectum) are affected and must be taken into account. They must not be received exceed dose limit in order to prevent the side effects. An accuracy of bladder and rectal radiation dose has been introduced as an important component of medical treatment.

In addition, an intracavitary application of cervical carcinoma also need an accuracy of the bladder and rectal doses which are associated with several factors, such as a variation of position, a reference point of bladder and rectum. Recently, it is admired to use a reference point as recommended by ICRU (International Commission on Radiation Units and Measurements) report 38. However, in practical, the reference point (the location calculated follows the rectal ICRU 38) which is believed to be the

maximum rectal dose location may be discrepant from the recommendation because of several reasons. First, the differences of patient's rectal shape which leads to an in-corrected applicator positioning. Second, types of an applicator used. Therefore, the dose calculated by standard point of reference may not be the maximum rectal dose.

Materials and methods

This prospective study was performed in 30 cases/ applications using BEBIG Multi-Source high dose rate brachytherapy treatment unit and its standard applicator set. The 3rd time of brachytherapy of each case was selected for the study. The prescribed dose was 6-7.5Gy to point A for each application. Each patient was treated with radical irradiation (external beam irradiation and HDR brachytherapy) without hysterectomy. Patients received external beam irradiation using 6MV or 10MV photons

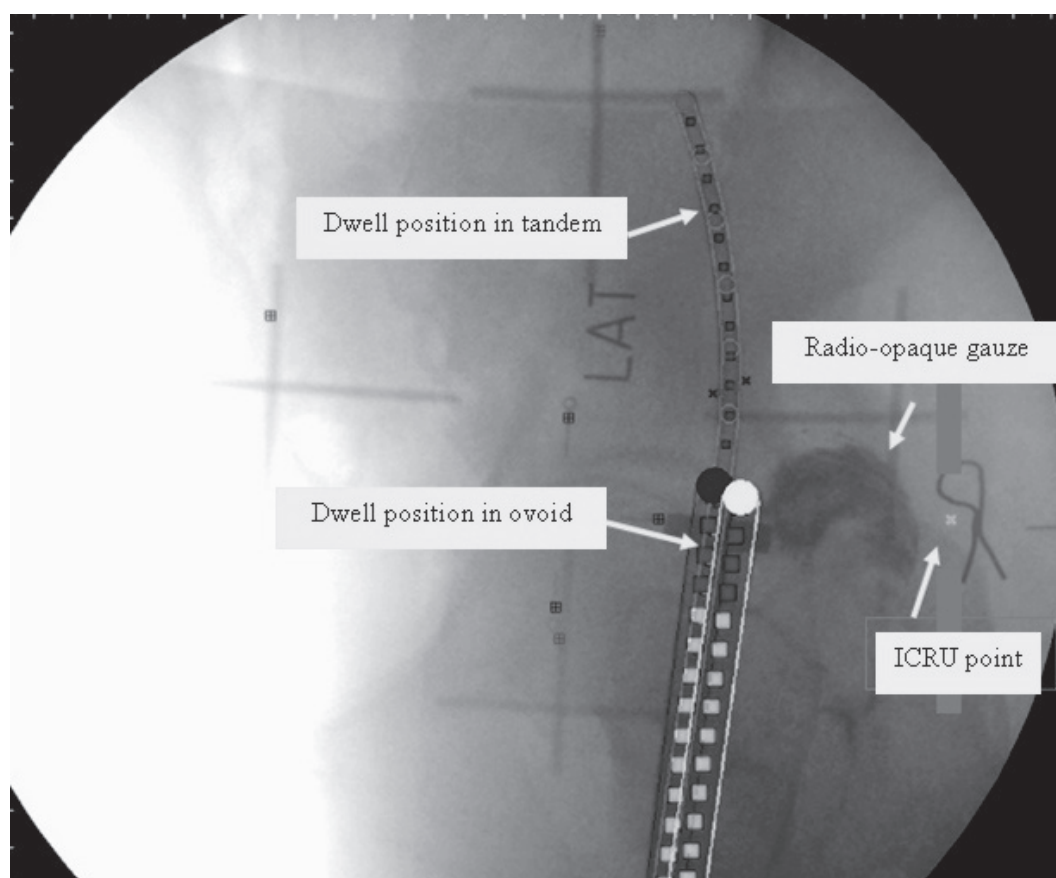


Figure 1 Rectal reference point recommended in ICRU reported 38

refer to a dose of 56Gy in 28 fractions over a 6 weeks period. Of these, the first 40Gy in 20 fractions were given with open fields and the remaining 16Gy in 8 fractions were given with a midline block and reduced field. Size of the field was determined individually according to the stage and patient anatomy. Brachytherapy part of the treatment consists of 3-4 HDR weekly fractions of 6–7.5Gy to point A. The treatment was carried out on MultiSource HDR which uses Co-60 as a radioactive source. Activity of the source, about 1.05Ci in all 30 applications was

administered. Standard applicator set consists of a tandem 15° and two ovoid with 20 mm in diameter. Rectal mucosa was marked using back of the posterior vaginal wall for 0.5 cm. Posterior vaginal wall was marked by means of intra-vaginal radio-opaque gauze. Intracavitary treatment planning was performed on treatment planning unit MultiSource TPS for each insertion, based on AP and lateral orthogonal radiographs. Rectal doses were calculated using 2.2 version of Eckert & Ziegler BEBIG

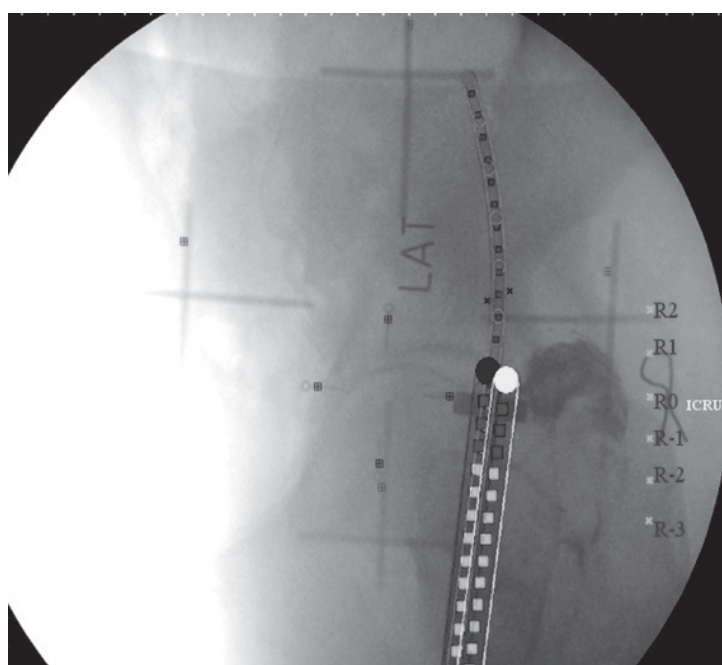


Figure 2 Rectal reference points in multiple points

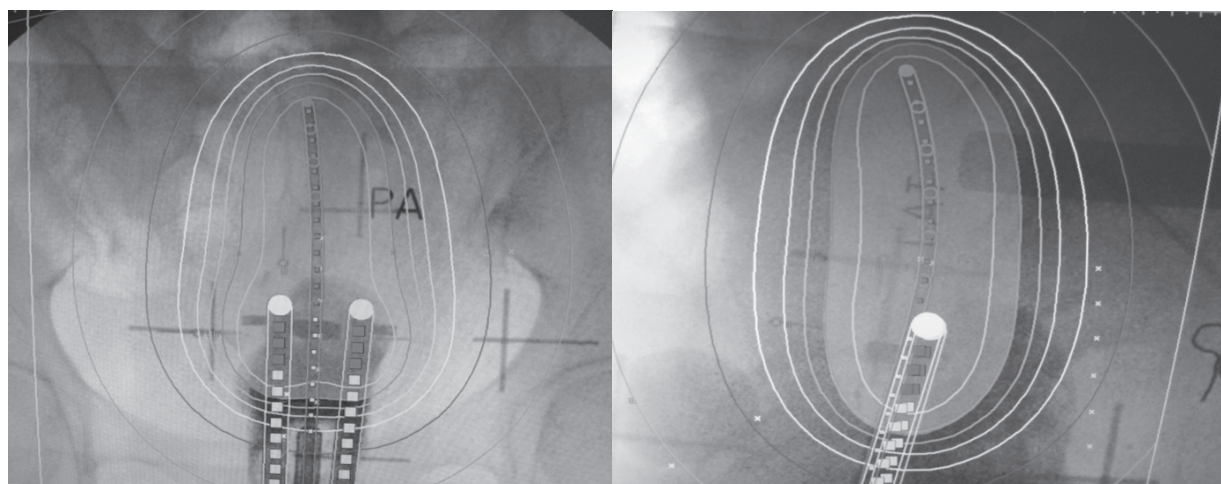


Figure 3 Intra-cavitary brachytherapy dose distribution

Gmbh treatment planning software. Rectal reference point recommended in ICRU 38 is shown in Figure 1.

This study investigated the rectal reference point as multiple points by adding reference points which are higher than a recommended point of ICRU 38 for 2 points (R1, R2) and positions which are lower than recommended in ICRU 38 for 3 points (R-1, R-2 and R-3) respectively. A gap between each point is 1cm as shown in Figure 2. Therefore, there are totally six reference points including the reference point of ICRU 38 recommendation (R0).

In treatment planning, an assign dwell position in tandem was activated from the tip to the level of tandem

flange depending on the length of tandem used step size 0.5cm. Four dwells were activated within each ovoid. Out of 30 executed applications, in just one, length of the tandem was 40-60mm as shown in Figure 3.

Statistical comparison between rectal doses on an ICRU 38 rectal reference point and a maximum dose from the reference point of multiple points was done using paired t-test. Statistical significance was considered at the level of $p < 0.05$.

Results

The rectal dose shown in percentage normalized to prescribed dose to point A was calculated by

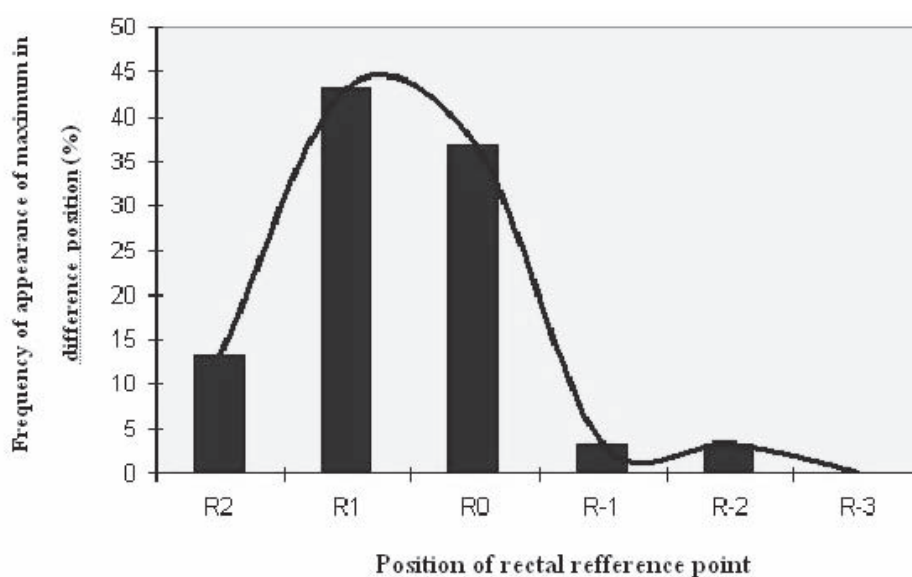


Figure 4 Distribution of maximum dose along rectal position expressed in percentage

Table 1 Rectal dose on multiple reference points and recommended in ICRU 38 calculated by treatment planning system (shown in percentage normalized to prescribed dose to point A)

Method define reference point		% Normalized to prescribed to point A			Standard Deviation
	Position	Minimum	Maximum	Average	
Multiple Point	R2	30.3	97.7	57.75	16.46
	R1	31.3	91.3	59.48	16.35
	R0	30.4	88.6	59.00	15.89
	R-1	27.5	80.6	55.27	15.06
	R-2	24.1	66.3	47.96	13.16
	R-3	21.4	54.0	38.28	10.08
	average 6 points	28.1	77.2	52.97	13.99
	Maximum 6 points	31.4	97.7	60.87	16.97
ICRU reported 38		30.4	88.6	59.00	15.89

treatment planning. The mean of the average maximum value of rectal dose from multiple reference six points was $60.87 \pm 16.97\%$ whereas the mean of the average maximum value of rectal dose calculated from the ICRU 38 was 59.0 ± 15.89 as shown in Table 1.

The location of a maximum rectal dose calculated by treatment planning using multiple reference points was not as same as a location that ICRU 38 recommended for 19 cases (63.3%). The location of a maximum rectal dose of multiple reference point method was higher than that of ICRU 38 for 2 cm (R2) in 4 cases (13.3%) and for 1cm (R1) in 13 cases (43.3%), was lower than that of ICRU 38 for 1cm (R1) and 2cm (R2) in 1 case each (3.3%). No maximum rectal dose was found lower than 3cm of ICRU 38 recommended point. However, the rectal maximum dose location of multiple reference points was identical to ICRU 38 for 11 cases (36%).

These results showed the location of maximum rectal dose is usually higher than the reference point of ICRU 38 approximately 1 cm as shown in Figure 4.

An absolute rectal dose received in the Gray (Gy) and percent normalized to prescribed dose to point A calculated from treatment planning by defining reference point recommended in ICRU 38 (which is believed to be the location where the maximum rectal dose was found) and by multiple points showed the maximum rectal dose of the multiple points was tended to be higher than that of ICRU 38 recommendation. The rectal maximum dose position of multiple reference points was higher and lower than that of ICRU38 recommendation point 17 out of 30 cases (56.7%) and 2 out of 30 cases (6.6%), respectively. The statistic comparison found that the reference point specify by multiple points was significantly higher than that set by ICRU 38 ($p < 0.009$). Each of the total 30 cases was compared and data not shown.

Discussion

A rectal dose obtained from intracavitary brachytherapy is important for considering and predicting the side effects of the treatment. It should not exceed the dose limit which rectum can be accepted. In this study, we determined the rectal dose calculated from treatment

planning by defining a reference point of rectum. The rectum as a posterior vaginal wall was defined by intra-vaginal radio-opaque gauze. The marked point was at the shadow behind the gauze moistened modalities for 0.5 cm. Then, we calculated percentage normalized a prescribed dose to point A of two methods. The multiple point method showed the maximum dose in the range from 31.4-97.7% and the reference point calculated by ICRU 38 was in the range from 30.4-88.6%. It was higher and wider than the study of Deshpande et al.¹ They reported that about 70% of applications, a rectal dose using rectal marker and calculated by orthogonal radio-graphs was in range from 40-70% of prescribed dose to point A.

A position of the maximum rectal dose obtaining (about 43.3%) was above the reference point recommended by ICRU 38 for 1cm. However, about 11% of maximum rectal dose position was identically to the ICRU 38 recommended position. This is consistent to the study of Çetingöz et al.² They reported that the most exposed region of a rectum is located along the point of a rectal marker which covers the length from 1.5 to 3 cm. Mostly, the maximum dose point is higher than that of ICRU 38 point and it is rarely lower than ICRU 38 recommended.³ A comparison of rectal doses obtained from brachytherapy calculated by the standard reference point recommended in ICRU 38 and by multiple points was significantly different. A rectal dose calculated by the multiple points showed a mean of 4.12Gy (60.68% of the dose point A), whereas the dose measured by ICRU 38 showed a mean of 3.95Gy (59% of the dose point A). These results were tally with the study of Baucal M who found that the maximum dose obtained using rectal marker dose calculation was at 74.3% compared to point A). It was higher than the dose calculated by the reference point according to ICRU 38, which was 66.2%.

Currently, they are many ways to specify the exact position of the rectum. There are also advantages and disadvantages for each method. For example, the exact location of the rectum assigning by inserting marker directly into rectum mostly leads to a lower dose than the standard ICRU 38 determining method. The reasons

were, first, inserting marker into the rectum was not close to the front wall of the rectum and second, a rectum is a hollow structure.⁴ In 2002, Baucal M and his colleagues designed equipment which looks like a balloon. They inserted it into rectum followed by air spraying into an inflatable air bag for fitting the size of rectum. They found that the rectal dose was higher than that of ICRU 38 point determination. Another method, which injecting a contrast medium into rectum, made patients felt uncomfortable and it is complicated for implanter. Moreover, a rectal dose measured by placing rectal probe directly to rectum was lower than that of ICRU 38 recommended for 1.5 times. This error may occur because of a shifting of rectal probe and the probe position is not close to a rectal wall.⁵ In 1993, Schoepel SL examined that a maximum rectal dose of dose – volume histogram (5cc) obtained by CT planning was 1.6 times higher than that predicted by ICRU method.⁶

From all of results, a rectal dose calculation is important for evaluating patient complication. The radiation dose is associated with the complications in patients. Therefore, it should be evaluated and followed

up to provide information for radiologist decision and treatment. Moreover, this study showed that the rectal reference point according to ICRU 38 recommendation (single point) may not reflect the maximum rectal dose received. Thus, the defining of the maximum rectal dose by multiple points must be determined along the length of the rectum. To specify a rectal location by this method, radiograph has to be clear in defining the extent of the vagina back wall. Thick body of patient can make unclear boundaries. Recently, there are approaches to determine the rectal dose, such as marker insertion directly into the rectum and 3D dose calculation using computerized tomography images. Each method has both advantages and disadvantages. However, our method is a simple one, saving time and easy to use in a daily clinical practice.

Acknowledgements

This work was supported by Routine to Research Budget from Lampang Cancer Hospital, Ministry of Medical Services, Thailand. The authors would like to thank Dr. Sommai Kodchanam for his advices during this study.

References

1. Attasara P, Buasom R. Hospital Base Cancer Registry. 1st ed. Bangkok : Rumthaiplace Ltd, 2010.
2. Deshpande DD, Shrivastav SK, Pradhan AS, Viswanathan PS, Dinshaw KA. Dosimetry of intracavitary applications in carcinoma of the cervix: rectal dose analysis. *Radiother Oncol.* 1997; 42(2): 163-6.
3. Çetingöz R, Ataman ÖU, Tunçel N, et al. Rectum dose analysis of intracavitary applications in gynecologic cancers. *Journal of BUON.* 1998; 4: 307-13.
4. Baucal M, Babic J, Kuzmanovic Z. Rectal dosimetry in intracavitary applications of cervix carcinoma: Comparison of two methods. *Archive of Oncology.* 2002; 10(4): 253-59.
5. Serkies K, Badzio A, Jereczek-Fossa B, Tarnawska Z, Nowak R, Szewczyk P, et al. Rectal doses in intracavitary brachytherapy of gynecological malignancies: comparison of two dosimetric methods. *Radiother Oncol.* 2001; 58(1): 37-41.
6. Eich HT, Haverkamp U, Micke O, Prott FJ, Müller RP. Dosimetric analysis at ICRU reference points in HDR-brachytherapy of cervical carcinoma. *Röntgenpraxis.* 2000; 53(2): 62-6.

Research article

The survey of stroke risk level in taxi drivers of Nakorn Lanna Transport Cooperation, Chiang Mai Province

Jutarat Duangjuntui¹ Peeraya Munkhetvit²*

¹ Department of Public Health, The Graduate School, Chiang Mai University

² Department of Occupational Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

* Corresponding author (E-mail: peeraya_m@hotmail.com)

Abstract

The purpose of this study was to explore stroke risk level in taxi drivers of Nakorn Lanna Transport Cooperation, Chiang Mai Province. Three hundred and fifty two taxi drivers were conveniently included in this study. The research instrument was the Stroke Risks Take Test which was developed by the British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular Disease. The original Stroke Risks Take Test was translated into Thai by Chalernpol Puntachot in 2003. The Thai version test was investigated for content validity and reliability. Data obtained from this study were analyzed using descriptive statistics. The results showed that most participants, 86.1%, had low level of stroke risk, 13.3% had slightly low stroke risk level, and only 0.6% had moderate stroke risk level. Although the results from this study demonstrated low level of stroke risk level in this sample, the additional information obtained from the test indicated that the participants had some behaviors that were likely to have stroke risk when they got older. This required attention to prevent the likelihood of having stroke in the future and lower the level of stroke risk in the slightly low and moderate level participant groups in the order to improve health and well-being in the long run. ***Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 40-48***

Keywords: stroke risk level, Stroke Risks Take Test, taxi drivers of Nakorn Lanna Transport Cooperation, cerebrovascular disease

นิพนธ์ต้นฉบับ

การสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของพนักงานขับรถโดยสารรับจ้าง ของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่

จุฑารัตน์ ดวงจันทร์ดุษฎี¹ พิรยา มั่นเขตวิทย์²

¹ ภาควิชาสาธารณสุขศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

² ภาควิชาการพยาบาล คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: peeraya_m@hotmail.com)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของพนักงานขับรถโดยสารรับจ้างของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 352 คน สุ่มตัวอย่างแบบตามความสะดวก เครื่องมือวิจัยเป็นแบบประเมินระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ชื่อ Stroke Risks Take Test ของสถาบัน British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular Disease ซึ่งทำการแปลเป็นฉบับภาษาไทยโดยเฉลิมพล ในปี พ.ศ. 2546 และผ่านการตรวจสอบความตรงตามเนื้อหาและความเชื่อมั่นของแบบประเมินฉบับภาษาไทย ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้วิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ผลการศึกษาพบว่าระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของกลุ่มตัวอย่าง ส่วนใหญ่อยู่ในระดับความเสี่ยงต่ำ คิดเป็นร้อยละ 86.1 รองลงมาอยู่ในกลุ่มระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำ คิดเป็นร้อยละ 13.3 และระดับความเสี่ยงปานกลาง คิดเป็นร้อยละ 0.6 จากผลการศึกษาครั้งนี้ แม้ว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่จะมีระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับต่ำ แต่ก็พบข้อมูลเพิ่มเติมที่ชี้ให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างยังมีพฤติกรรมที่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่อาจก่อให้เกิดระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่สูงขึ้นได้หากยังคงมีพฤติกรรมเสี่ยงนี้อย่างต่อเนื่อง จึงควรที่จะมีการป้องกัน และหลีกเลี่ยงปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เพื่อป้องกันการเกิดระดับความเสี่ยงที่สูงขึ้นในกลุ่มระดับความเสี่ยงต่ำ และลดโอกาสในการที่จะเกิดระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่สูงขึ้นในกลุ่มระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำและปานกลาง อันจะมีผลต่อภาวะสุขภาพต่อไป **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 40-48**

คำรหัส: ระดับความเสี่ยงโรคหลอดเลือดสมอง แบบประเมินระดับความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง พนักงานขับรถโดยสารรับจ้างของสหกรณ์นครลานนาเดินรถจำกัด โรคหลอดเลือดสมอง

บทนำ

โรคหลอดเลือดสมอง (cerebrovascular disease หรือ stroke) นับเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาสาธารณสุขของโลก ซึ่งเกิดขึ้นได้กับทุกๆ คนทั่วโลก ไม่จำกัดอายุ เพศ และช่วงใดของชีวิต ในประเทศไทย โรคหลอดเลือดสมองเป็นโรคที่พบบ่อยเป็นอันดับสามรองจากโรคหัวใจและโรคมะเร็ง¹ ส่วนมากพบในผู้ที่มีอายุ 45 ปีขึ้นไป และเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับแรกของหญิงไทย คิดเป็น 15% สำหรับเพศชายคิดเป็น 10% ของการเสียชีวิต ซึ่งนับว่าเป็นอัตราที่ค่อนข้างสูง อัตรา

ผู้ป่วยด้วยโรคหลอดเลือดสมองในประชากรต่อหนึ่งแสนคนของประเทศไทย เรียงตามภาคจากมากไปน้อยพบดังนี้ ภาคกลาง (ไม่รวมกรุงเทพมหานคร) และภาคเหนือ พบมีอัตราการป่วยสูงใกล้เคียงกัน ตามด้วยภาคใต้ ส่วนภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบน้อยที่สุด² ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับขนาดและตำแหน่งพยาธิสภาพ โรคนี้หากเป็นแล้วแม้รอดชีวิตก็มักจะมี ความพิการหลงเหลืออยู่ ทำให้มีอาการก้ำกึ่งเนื้ออ่อนแรงจนอาจไม่สามารถดูแลตนเองได้เลย ส่งผลกระทบต่อคุณภาพ

ชีวิตและความสามารถในการดำเนินชีวิตประจำวัน ตลอดจนผลกระทบทางด้านจิตใจตามมาในที่สุด สำหรับสาเหตุของโรคเกิดจากการมีการอุดตันหรือตีบของหลอดเลือดสมอง (ischemic stroke) พบได้ประมาณร้อยละ 85 หรือเกิดจากการแตกของหลอดเลือดสมอง (hemorrhagic stroke) พบได้ประมาณร้อยละ 15 ปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรค แบ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ปรับเปลี่ยนไม่ได้ ได้แก่ อายุ เพศ เชื้อชาติ พันธุกรรม ปัจจัยเสี่ยงที่มีหลักฐานสนับสนุนชัดเจนและปรับเปลี่ยนได้ ได้แก่ ภาวะความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด ภาวะสมองขาดเลือดชั่วคราว (TIA) โรคเบาหวาน ภาวะไขมันในเลือดสูง การสูบบุหรี่ และปัจจัยเสี่ยงที่มีหลักฐานสนับสนุนน้อยและอาจปรับเปลี่ยนได้ ได้แก่ ภาวะอ้วน การขาดการออกกำลังกาย การรับประทานยาที่ไม่เหมาะสม ภาวะโฮโมซิสเตอีนในเลือดสูง (hyperhomocysteine) การดื่มสุรา การใช้ยาคุมกำเนิด การใช้ยาสีเอนิม³⁻⁴

อาชีพพนักงานขับรถโดยสารรับจ้าง เป็นอาชีพหนึ่งที่มีชีวิตการทำงานส่วนใหญ่อยู่ท่ามกลางการจราจรที่ติดขัด ประกอบกับการมีรายได้ที่ไม่แน่นอน และมีชั่วโมงการทำงานที่ยาวนานจากระยะทางที่มากในการขับรถ ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ก่อให้เกิดพฤติกรรมเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง เช่น ความเร่งรีบจากงานทำให้การบริโภคอาหารที่ไม่เหมาะสม วิธีการบริโภคเปลี่ยนแปลงไปโดยเน้นอาหารแบบจานด่วนกันมากขึ้น ชีวิตการทำงานส่วนใหญ่อยู่บนรถโดยสารทำให้มีเวลาในการออกกำลังกายลดลง อาจก่อให้เกิดโรคอ้วนตามมา เพิ่มโอกาสในการเกิดภาวะความดันโลหิตสูงได้ง่าย ลักษณะการทำงานเป็นช่วง และการทำงานล่วงเวลาที่มากขึ้นทำให้ร่างกายต้องปรับตัวกับวงจรการหลับและตื่นให้เข้ากับการทำงาน มีผลทำให้ร่างกายพักผ่อนไม่เพียงพอ เกิดความเหนื่อยล้า การทำงานของสมองมีประสิทธิภาพลดลง รวมไปถึงการที่ต้องนั่งขับรถเป็นเวลานานหลายชั่วโมงเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดดำอุดตัน หลุดไปอุดตันหลอดเลือดแดงในสมอง ส่งผลทำให้เกิดอัมพฤกษ์ได้ ซึ่งหากเกิดลักษณะการดำเนินโรคในระยะเฉียบพลันอาจทำให้เกิดอาการหมดสติได้ในระหว่างขับรถโดยสาร ก่อให้เกิดอุบัติเหตุทางการจราจรได้ในที่สุด ซึ่งไม่เพียงแต่ส่งผลกระทบต่อตนเอง ยังทำให้เกิดความสูญเสียต่อผู้โดยสาร และผู้ใช้นถนนคนอื่น ๆ ตามมาอีกมากมาย จากการที่ลักษณะการดำเนินชีวิตของอาชีพพนักงานขับรถโดยสาร อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงในการเป็นโรคหลอดเลือดสมองและอัมพาตอัมพฤกษ์ตามมาได้ และส่งผลกระทบต่อสวัสดิภาพทั้งตนเอง ผู้โดยสาร รวมไปถึงผู้ใช้เส้นทางการจราจรคนอื่น ๆ ตามมาอีกมากมาย ประกอบกับที่ผ่านมา ถึงแม้จะมี

การศึกษาวิจัยที่ยังไม่ได้มีการตีพิมพ์เผยแพร่ทางวิชาการเรื่องความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในกลุ่มตัวอย่างกลุ่มต่าง ๆ ระหว่างปี พ.ศ. 2546 - 2550 เช่น การศึกษาของเฉลิมพล⁵ ในปี พ.ศ. 2546 ซึ่งสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การศึกษาของธนขพร⁶ ในปี พ.ศ. 2548 ซึ่งสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของเจ้าหน้าที่รักษาความปลอดภัยคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สุภาพ⁷ ในปี พ.ศ. 2548 ซึ่งสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของเจ้าหน้าที่ตำรวจจราจรในศูนย์การจราจรตำรวจภูธร จังหวัดเชียงใหม่ และในปี พ.ศ. 2550 ศรีนิญา⁸ และพิพัฒน์⁹ ซึ่งสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในผู้ใหญ่วัยกลางคนที่มีอายุ 40-65 ปี ในอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ และบุคคลอายุ 45 ปี ขึ้นไป ใน อำเภอแกลง จังหวัดระยอง ตามลำดับ และผลการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างต่าง ๆ ข้างต้นได้ผลคล้ายคลึงกัน นั่นคือ กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับปานกลางและต่ำ ซึ่งอาจเกิดจากกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา ยังไม่มีพฤติกรรมสำคัญ ๆ ที่ถือเป็นปัจจัยเสี่ยง เช่น ความดันโลหิตสูง เบาหวาน ระดับคอเลสเตอรอลสูง ฯลฯ ซึ่งอาจให้ผลที่แตกต่างจากกลุ่มตัวอย่างที่เป็นพนักงานขับรถโดยสารรับจ้าง ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของพนักงานขับรถโดยสารรับจ้างของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ โดยคาดหวังว่าข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ จะถูกนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงสาธารณสุขต่อไปได้

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. โรคหลอดเลือดสมอง ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ หมายถึง โรคที่มีกลุ่มอาการทางระบบประสาท ซึ่งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและอาการคงอยู่นานเกิน 24 ชั่วโมง โดยมีสาเหตุจากหลอดเลือดสมองมีพยาธิสภาพอย่างใดอย่างหนึ่ง ได้แก่ การตีบ ตัน และแตก
2. พนักงานขับรถโดยสารรับจ้าง ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ หมายถึง บุคคลที่ทำหน้าที่ขับรถรับจ้างสี่ล้อแดงของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่
3. ระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ หมายถึง โอกาสที่ปัจจัยนั้น ๆ เมื่อบุคคลปกติได้รับเป็นเวลานานพอสมควร จะทำให้เกิดพยาธิสภาพหรือเกิดโรค ส่งผลต่อสุขภาพและชีวิต ซึ่งสามารถประเมินได้จากแบบสอบถาม Stroke Risks Take

Test ที่พัฒนาโดย British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular Diseases ในปี ค.ศ. 2003 และแปลเป็นภาษาไทยโดย เฉลิมพล ในปี พ.ศ. 2546

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของพนักงานขับรถโดยสารรับจ้างของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่

วิธีดำเนินการศึกษา

เป็นการศึกษาเชิงสำรวจ ทำการศึกษาในประชากรที่เป็นพนักงานขับรถโดยสารรับจ้างของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ โดยการสุ่มแบบตามความสะดวก (convenience sampling) จำนวน 352 คน และมีการกำหนดเลือกคุณสมบัติของกลุ่มตัวอย่างดังนี้

1. มีอายุตั้งแต่ 45 ปีขึ้นไป
2. เป็นผู้ที่ได้รับใบอนุญาตขับรถโดยสารสาธารณะจากกรมการขนส่งทางบก
3. เป็นผู้ที่ไม่ประวัติเป็นโรคหลอดเลือดสมอง

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นแบบสอบถามสำหรับเก็บรวบรวมข้อมูล ประกอบด้วย

ตอนที่ 1 แบบสอบถามข้อมูลทั่วไป ได้แก่ น้ำหนัก ส่วนสูง สถานภาพสมรส การศึกษา รายได้ต่อเดือน และจำนวนชั่วโมงที่ขับรถในแต่ละวัน

ตอนที่ 2 แบบประเมินระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ซึ่งเป็นแบบสอบถามที่ เฉลิมพล ในปี พ.ศ. 2546 ได้นำแบบประเมินระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ชื่อ Stroke Risks Take Test ของ British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular diseases ในปี ค.ศ. 2003 มาแปลเป็นภาษาไทยและทำการศึกษาคำเชื่อมั่นและเที่ยงตรงในฉบับภาษาไทย พบความเชื่อมั่นเท่ากับ 0.98 โดยลักษณะของแบบสอบถามเป็นคำถามเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงด้านต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดสมอง ซึ่งมีจำนวนทั้งหมด 23 ข้อ โดยให้คะแนนในแต่ละข้อตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ของแบบประเมิน

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากแบบสอบถามตอนที่ 1 และตอนที่ 2 โดยใช้สถิติเชิงพรรณนาเพื่อแจกแจงความถี่และร้อยละ

ผลการศึกษา

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลช่วงเวลาระหว่างเดือนมิถุนายน-สิงหาคม พ.ศ. 2554 จากแบบสอบถามข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีสถานภาพคู่คือร้อยละ 92.6 โสด ร้อยละ 1.4 หม้าย ร้อยละ 2.9 หย่าร้าง ร้อยละ 3.1 การศึกษาส่วนใหญ่อยู่ระดับประถมศึกษาและมัธยมศึกษา ร้อยละ 50.6 และร้อยละ 48.3 ตามลำดับปริญญาตรี ร้อยละ 0.8 ไม่ได้เรียนเพียงร้อยละ 0.3 จำนวนชั่วโมงที่ขับรถในแต่ละวัน 1- 5 ชั่วโมง ร้อยละ 24.4 จำนวน 6-10 ชั่วโมง ร้อยละ 71.6 ขับรถมากกว่า 10 ชั่วโมง ร้อยละ 4.0 รายได้เฉลี่ยต่อเดือนส่วนใหญ่อยู่ที่ 5,000-10,000 บาท ร้อยละ 61.1 (ตารางที่ 1)

ผลการสอบถามพฤติกรรมเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองจากแบบประเมินระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในช่วงอายุระหว่าง 45 - 55 ปี คิดเป็นร้อยละ 85.5 เป็นเพศชาย ร้อยละ 99.4 เป็นเพศหญิง ร้อยละ 0.6 โดยทั้งหมดเป็นชนชาติเอเชีย ไม่เคยมีภาวะสมองขาดเลือดชั่วคราวร้อยละ 99.4 ไม่มีภาวะความดันโลหิตสูงร้อยละ 47.2 มีภาวะความดันโลหิตสูงร้อยละ 6.5 ส่วนใหญ่อยู่ระหว่างการรักษา และสามารถควบคุมความดันโลหิตให้ต่ำกว่า 140/90 mmHg ได้ ไม่มีภาวะไขมันในเลือดสูงร้อยละ 19.9 ในผู้ที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงได้รับการรักษาทั้งหมด กลุ่มตัวอย่างทั้งหมดไม่ทราบระดับโฮโมซิสเตอีน ไม่มีโรคเบาหวานร้อยละ 95.7 ไม่เคยเป็นโรคหัวใจหรือเจ็บบริเวณทรวงอกร้อยละ 98.9 ไม่มีการเต้นของหัวใจผิดปกติทั้งหมด สูบบุหรี่ถึงร้อยละ 47.2 ดื่มแอลกอฮอล์ ร้อยละ 61.4 โดยส่วนใหญ่ดื่ม 1-2 แก้วต่อวัน มีน้ำหนักเกินมาตรฐาน 13 กิโลกรัม ร้อยละ 5.4 ไม่ออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอร้อยละ 91.5 ทั้งหมดไม่รับประทานยาคุมกำเนิด และไม่รับประทานฮอร์โมนทดแทน (ตารางที่ 2)

เมื่อวิเคราะห์คะแนนเพื่อหาระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองพบว่า ร้อยละ 86.1 ของกลุ่มตัวอย่างอยู่ในระดับความเสี่ยงต่ำ รองลงมาอยู่ในกลุ่มระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำ ร้อยละ 13.3 และมีระดับความเสี่ยงปานกลาง คิดเป็นร้อยละ 0.6 (ตารางที่ 3)

ผลการประเมินปัจจัยเสี่ยงด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องพบว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในทุกะดับ (ระดับต่ำ ค่อนข้างต่ำ และระดับปานกลาง) มีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองดังนี้ ในด้านความดันโลหิตสูง ระดับคอเลสเตอรอลและระดับโฮโมซิสเตอีน พบว่า กลุ่มระดับความเสี่ยงต่ำไม่ทราบเกี่ยวกับภาวะความดันโลหิตสูง คิดเป็นร้อยละ 39.9 กลุ่มระดับ

Table 1 Demographic data of the participants (n=352)

Participants' demographic data	Numbers (%)
Marriage Status	
Single	5 (1.40)
Married	326 (92.60)
Widows/Widowers	10 (2.90)
Divorced	11(3.10)
Education	
Uneducated	1 (0.30)
Primary school	178 (50.60)
Secondary school	170 (48.30)
Graduated	3 (0.80)
Driving hours per day	
1-5	86 (24.40)
6-10	252 (71.60)
>10	14 (4.00)
Income per month (Baht)	
<5,000	6 (1.70)
5,000-10,000	215 (61.10)
10,001-15,000	113 (32.10)
>15,000	18 (5.10)

ความเสี่ยงค่อนข้างต่ำไม่ทราบภาวะความดันโลหิตสูงของตนเองถึงร้อยละ 89.4 กลุ่มที่มีระดับความเสี่ยงต่ำไม่ทราบระดับคอเลสเตอรอล ร้อยละ 76.6 ในขณะที่กลุ่มระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำไม่ทราบระดับคอเลสเตอรอลถึงร้อยละ 100 และกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่มร้อยละ 100 ไม่ทราบเกี่ยวกับระดับโฮโมซิสเตอีน สำหรับพฤติกรรมเสี่ยงที่เกิดจากลักษณะการดำเนินชีวิต ได้แก่ การสูบบุหรี่ ดื่มแอลกอฮอล์ และการออกกำลังกาย พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีระดับความเสี่ยงต่ำมีการสูบบุหรี่ ร้อยละ 39.9 กลุ่มระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำมีการสูบบุหรี่ ร้อยละ 91.5 และในกลุ่มระดับความเสี่ยงปานกลางมีการสูบบุหรี่ถึงร้อยละ 100 สำหรับการดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้น ในกลุ่มระดับความเสี่ยงต่ำร้อยละ 52.5 ดื่ม 1-2 แก้วต่อวัน กลุ่มที่มีระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำและระดับความเสี่ยงปานกลาง ส่วนใหญ่ดื่มมากกว่า 2 แก้วต่อวันถึงร้อยละ 74.5 และร้อยละ 100 ตามลำดับ ด้านการออกกำลังกายทั้งกลุ่มที่มีระดับความเสี่ยงต่ำและระดับค่อนข้างต่ำไม่ออกกำลังกายหรือออกกำลังกายไม่สม่ำเสมอถึงร้อยละ

ละ 91.1 และร้อยละ 97.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

วิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า กลุ่มตัวอย่างมีระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับต่ำ ร้อยละ 86.1 รองลงมาคือกลุ่มระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำและปานกลาง คิดเป็น ร้อยละ 13.3 และ 0.6 ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษานี้ตรงกับในหลายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกันในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดระยอง ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2550 ได้แก่ เฉลิมพล⁵ ซึ่งสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมทั้งเปรียบเทียบความเสี่ยง ระหว่างเพศชาย 20 คน และเพศหญิง 20 คน อายุระหว่าง 30-60 ปี ผลการศึกษาพบว่าบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ ทั้งเพศชายและเพศหญิงมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในระดับต่ำ (ร้อยละ 67.5) และพบว่า

Table 2 Numbers and percent of the participants' stroke risk factors (n=352)

Risk factors	Numbers (%)	Risk factors	Numbers (%)
Age (years)		Hypertension	
45-55	301 (85.5)	Yes	23 (6.5)
56-65	48 (13.6)	No	166 (47.2)
66-75	3 (0.9)	N/A	163 (46.3)
Gender		Hypertension and being treated	
Male	350 (99.4)	Yes	21 (91.3)
Female	2 (0.6)	No	2 (8.7)
Transient Ischaemic Attract (TIA)		During treatment, blood pressure lower than 140/90	
Yes	2 (0.6)	Yes	17 (81.0)
No	350 (99.4)	No	4 (19.0)
Cholesterol		Alcohols	
High	3 (0.8)	No	136 (38.6)
Low	70 (19.9)	1-2 glasses/day	159 (45.2)
N/A	279 (79.3)	More than 2 glasses/day	57 (16.2)
High cholesterol and being treated			
Yes	3 (100)		
Diabetes		History of Stroke in Family	
Yes	15 (4.3)	Yes	3 (0.9)
No	337 (95.7)	No	349 (99.1)
Smoking		Heart diseases	
Yes	166 (47.2)	Yes	4 (1.1)
No	186 (52.8)	No	348 (98.9)
Homocysteine		Atrial Fibrillation	
N/A	352 (100)	No	352 (100)
Over Weight (13 kg. or more)		exercise (30 minutes at least 3 times a week)	
Yes	19 (5.4)	Yes	30 (8.5)
No	333 (94.6)	No	322 (91.5)
Taking contraceptive		Taking hormone after menopause	
No	352 (100)	No	352 (100)

ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรเพศชายและเพศหญิงไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของธนัชพร⁶ ซึ่งสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของเจ้าหน้าที่รักษาความปลอดภัยคณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทั้งหมด 56 คน อายุ 25-60 ปี พบว่า

เจ้าหน้าที่รักษาความปลอดภัยร้อยละ 85.6 มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับต่ำ รองลงมา ร้อยละ 5.4 มีระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำ และร้อยละ 5.4 และ 3.6 มีระดับความเสี่ยงปานกลางและสูงตามลำดับสุขภาพ⁷ สำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือด

Table 3 Numbers and percent of the participants' stroke risk factor levels (n=352)

Risk factor level	Scores	Numbers (%)
Low	13.50-19.50	303 (86.1)
Fairly low	19.75-22.25	47 (13.3)
Moderate	23.00	2 (0.6)
High	> 25.00	0 (0)
Total		352 (100)

Table 4 Numbers and percent of the participants' stroke risk factors in three groups; low, fairly low and moderate (n=352)

Risk factors	Risk Factor Level		
	Low (n=303) Number (%)	Fairly low (n=303) Number (%)	Moderate (n=303) Number (%)
Hypertension			
Yes	20 (6.6)	3 (6.4)	0 (0)
No	162 (53.5)	2 (4.2)	2 (100)
N/A	121 (39.9)	42 (89.4)	0 (0)
Cholesterol			
High	3 (1.00)	0 (0)	0 (0)
Low	68 (22.4)	0 (0)	2 (100)
N/A	232 (76.6)	47 (100)	0 (0)
Homocysteine			
High	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Low	0 (0)	0 (0)	0 (0)
N/A	303 (100)	303 (100)	2 (100)
Smoking			
Yes	121 (39.9)	43 (91.5)	43 (91.5)
No	182 (60.1)	4 (8.5)	0 (0)
Alcohols			
No	126 (41.6)	10 (21.3)	0 (0)
1-2 glasses/day	159 (52.5)	2 (4.2)	0 (0)
More than 2 glasses/day	18 (5.9)	35 (74.5)	2 (100)
Exercise 30 minutes at least 3 times a week			
Yes	27 (8.9)	1 (2.1)	2 (100)
No	276 (91.1)	46 (97.9)	0 (0)

สมองของเจ้าหน้าที่ตำรวจจราจรในศูนย์การจราจรตำรวจภูธร จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 157 คน พบว่ากลุ่มตัวอย่างร้อยละ 73.9 มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับต่ำ รองลงมาร้อยละ 19.7 มีความเสี่ยงในระดับค่อนข้างต่ำ และร้อยละ 2.0 และ 4.4 มีความเสี่ยงในระดับปานกลางและสูงตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของ ศรีณญา⁶ ซึ่งสำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในผู้ใหญ่วัยกลางคนที่มียาอายุ 40 - 65 ปี ในอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 60 คน เพศชาย 30 คน เพศหญิง 30 คน ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มตัวอย่างร้อยละ 53.3 มีระดับความเสี่ยงต่ำ ร้อยละ 20.0 มีระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำ ร้อยละ 18.3 มีระดับความเสี่ยงปานกลาง และร้อยละ 8.30 มีระดับความเสี่ยงสูง ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของพิพัฒน์⁹ ที่สำรวจระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในคนอายุ 45 ปี ขึ้นไป ในอำเภอแกลง จังหวัดระยอง จำนวน 103 คน ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มตัวอย่างร้อยละ 45.63 มีความเสี่ยงในระดับต่ำ ร้อยละ 31.07 มีระดับความเสี่ยงค่อนข้างต่ำ และร้อยละ 23.3 มีความเสี่ยงในระดับปานกลาง

จากผลการศึกษาพบกลุ่มตัวอย่างที่มีระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในระดับค่อนข้างต่ำ และระดับปานกลาง มีปัจจัยที่เป็นพฤติกรรมเสี่ยงส่วนใหญ่เป็นการไม่ออกกำลังกาย 30 นาทีต่อครั้ง อย่างน้อย 3 ครั้ง ต่อสัปดาห์ ถึงร้อยละ 93.9 มีการสูบบุหรี่ร้อยละ 91.80 ดื่มแอลกอฮอล์ร้อยละ 79.6 กลุ่มตัวอย่างที่มีระดับความเสี่ยงกลุ่มนี้ส่วนมากไม่ทราบเกี่ยวกับระดับโฮโมซิสเตอีน ระดับคอเลสเตอรอล และภาวะความดันโลหิตสูง ถึงร้อยละ 100 ร้อยละ 95.9 และร้อยละ 85.7 ตามลำดับ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองจะเพิ่มขึ้น 2 เท่า ทุก ๆ 10 ปีที่อายุเพิ่มขึ้นหลังอายุ 55 ปี¹⁰ แต่กลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีอายุระหว่าง 45 - 55 ปี มากถึงร้อยละ 85.5 มีเพียงร้อยละ 14.5 ที่มีอายุมากกว่า 55 ปีขึ้นไป ซึ่งตรงกับการศึกษาของสุภาพ⁷ ที่กลุ่มตัวอย่างมีอายุน้อยกว่า 45 ปี ถึงร้อยละ 66.2 และอายุมากกว่า 45 ปีขึ้นไป ร้อยละ 33.8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ต่ำกว่าอายุที่มีความเสี่ยงสูงจึงทำให้ผลระดับความเสี่ยงที่ได้ออกมาอยู่ในระดับต่ำและค่อนข้างต่ำ แม้จะพบว่ากลุ่มตัวอย่างมีระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับต่ำถึงร้อยละ 86.1 แต่มีประเด็นที่น่าสนใจคือ จากการประเมินปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง พบว่า มีกลุ่มตัวอย่างที่มีระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับต่ำไม่ทราบว่าตัวเองมีภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในเลือดสูง และภาวะโฮโมซิสเตอีนในเลือดสูงถึงร้อยละ 46.3 ร้อยละ 79.3 และ

ร้อยละ 100 ตามลำดับ ซึ่งการไม่ทราบข้อมูลภาวะโรคทำให้ได้ข้อมูลกลุ่มตัวอย่างที่เป็นและไม่ได้ไม่ชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามการไม่ทราบเป็นปัจจัยหนึ่งที่น่าจะก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองตามมาได้ ซึ่งภาวะโรคเหล่านี้ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอย่างชัดเจน และเป็นที่น่าสังเกตว่ากลุ่มตัวอย่างมีพฤติกรรมการบริโภคที่ไม่เหมาะสม ได้แก่ มีการสูบบุหรี่ และดื่มแอลกอฮอล์เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะในกลุ่มตัวอย่างที่มีระดับความเสี่ยงปานกลาง อาจเป็นเพราะกลุ่มตัวอย่างในการศึกษารั้งนี้ เป็นเพศชายถึงร้อยละ 99.4 ซึ่งจากงานวิจัยของสุภาวดี¹⁰ ในปี พ.ศ. 2542 ที่ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อความเครียดของพนักงานขับรถโดยสารประจำทาง ขององค์การขนส่งมวลชนกรุงเทพ พบว่าพนักงานขับรถโดยสารประจำทางขององค์การขนส่งมวลชนกรุงเทพ มีพฤติกรรมจัดการความเครียดโดยการสูบบุหรี่ ร้อยละ 65.9 โดยสูบบุหรี่เป็นประจำทุกวัน ร้อยละ 57.4 มีพฤติกรรมการดื่มสุราร้อยละ 65.6 โดยมีนิสัยการดื่มสุราเพื่อสังสรรค์ร้อยละ 59.5 ทำให้พบว่า ไม่ว่าจะเป็นพนักงานขับรถทั้งในกรุงเทพหรือเชียงใหม่ต่างก็มีพฤติกรรมการสูบบุหรี่ ดื่มแอลกอฮอล์กันเป็นอย่างมาก หากมีการสูบบุหรี่ และดื่มแอลกอฮอล์เป็นระยะเวลานานและในปริมาณที่มากขึ้น อาจเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองที่สูงขึ้นได้ ทั้งกลุ่มที่อยู่ในระดับความเสี่ยงต่ำ ระดับค่อนข้างต่ำ และระดับปานกลาง จึงควรมีการป้องกัน ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมที่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่จะก่อให้เกิดระดับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่สูงขึ้นต่อไป เพื่อลดผลกระทบและผลเสียต่าง ๆ ที่จะเกิดจากโรคตามมา

จากข้อมูลที่น่าเสนอสรุปได้ว่า ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในพนักงานขับรถโดยสารประจำทางของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนใหญ่ยังอยู่ในระดับต่ำ แต่เมื่อดูผลการสำรวจพฤติกรรม การดูแลสุขภาพในเรื่องเกี่ยวกับการตรวจร่างกายเพื่อทราบระดับความดันโลหิตสูง ระดับคอเลสเตอรอล และระดับโฮโมซิสเตอีน พบว่า ส่วนใหญ่ขาดความรู้ความเข้าใจในการให้ความสำคัญกับเรื่องดังกล่าวซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองที่สำคัญ ตลอดจนมีพฤติกรรมอื่น ๆ ในชีวิตประจำวันที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ได้แก่ การสูบบุหรี่ การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และการไม่ได้ออกกำลังกาย พฤติกรรมเหล่านี้อาจส่งผลให้กลุ่มตัวอย่างมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองมากขึ้นเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น ดังนั้นบุคลากรสุขภาพควรรู้และขอแนะนำในการปฏิบัติตนเองในการดูแลสุขภาพที่ถูกต้อง สำหรับข้อ

เสนอแนะในการศึกษาวิจัยครั้งต่อไป ควรมีการศึกษาในเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคหลอดเลือดสมองและปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคุณลิ่งคำ นันติ ประธานสหกรณ์นครลานนาเดินรถ และพนักงานขับรถโดยสารรับจ้างของสหกรณ์นครลานนาเดินรถ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการเก็บรวบรวมข้อมูลในครั้งนี้

References

1. Bureau of Non Communicable Disease, Department of Disease Control, Ministry of Public Health (2011) WSO Newsletter (fiscal year 2010) [cited 2010 Dec 25]. Available from <http://www.ncd.ddc.maph.go.th>
2. Bureau of Policy and Strategy, Ministry of Public Health. Thai Public health (2001-2004) [cited 2010 Dec 20]. Available from <http://www.moph.go.th/ops/health48>
3. Pajarya K. Risks factors for stroke rehabilitation for stroke patients. In Kingkaew Pajarya (editor) Reha bilitation of stroke patients (pp. 12-25). Bangkok: Medical Education Technology Center, Faculty of Medicine Siriraj Hospital; 2004 (in Thai).
4. Pongvarin N. Risk factors of stroke. In Nippon Pongvarin (editor) Stroke (pp. 39-52). Bangkok: Ruenkaewkarnpim; 2001 (in Thai).
5. Puntachot C. The Survey study of stroke risk in personnels of Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University [Term paper] Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2003 (in Thai).
6. Wandang T. The survey study of stroke risk in securities of Faculty of Medicine, Chiang Mai University [Term paper] Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2003 (in Thai).
7. Chunwirat S. The Survey study of stroke risk in traffic police station center, Chiang Mai province [Term paper] Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2005 (in Thai).
8. Laungsa S. The survey study of stroke risk level in adult 40-65 years old in Chiangmai [Term paper] Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2007 (in Thai).
9. Jaiyen P. The Survey study of stroke risk level in adults aged 45 years and over who live in Moo 13, Tumbol Bahnna, Aumpur Klang, Rayong [Term paper] Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2007 (in Thai).
10. Phengphol S. Factors affecting stress of Bangkok Mass Transit Authority Drivers [Thesis] Kasetsart University; 1999 (in Thai).

Comparison of resting scapular position and range of combined shoulder elevation between junior swimmer players with and without shoulder pain

Issaraporn Channaiyana¹ Suwit Ariyachaikul¹
Witaya Mathiyakom² Jonjin Ratanapinunchai^{1*}

¹Department of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences

²Department of Physical Therapy, California State University, Northridge

* Corresponding author (Email: asijrttn@chiangmai.ac.th)

Abstract

Objective: The present study was aimed to compare the resting scapular position, combined range of shoulder elevation, and pectoralis minor length in the junior swimmers with and without shoulder pain.

Methods: Thirty-nine swimmers in both gender aged 13-20 years participated in this study. The primary parameters were Superior Kibler (SK), Inferior Kibler (IK), Scapular Index (SI), Muscle length of pectoralis minor (PMi), and the combined range of shoulder elevation (CSE). Comparisons were made a) between the bilateral shoulder pain and control group and b) between shoulders within the unilateral shoulder pain group.

Results: When compared between the bilateral and control group, the mean values of SK (6.04 ± 1.19 cm. vs. 5.94 ± 0.97 cm.), IK (7.82 ± 1.31 cm. vs. 7.67 ± 1.38 cm.), PMi (3.97 ± 1.27 cm. vs. 3.94 ± 1.25 cm.), and CSE ($-0.99 \pm 6.80^\circ$ vs. $-4.02 \pm 7.88^\circ$) were not significantly different. However, the mean value of SI of the bilateral shoulder pain group (53.83 ± 6.58 cm.) was significantly less ($p < 0.05$) than that of the control group (56.83 ± 5.4 cm). When compared within the unilateral shoulder pain group, there was no statistically significant noted in these parameters.

Conclusion: The present study demonstrated that the SI which could inform the forward scapular posture was the best parameter to differentiate swimmers with and without shoulder pain. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 49-58*

Keywords: shoulder pain, forward shoulder, superior kibler, inferior kibler, length of pectoralis minor

การเปรียบเทียบตำแหน่งของกระดูกสะบักขณะพักและช่วงการเคลื่อนไหว รวมของข้อไหล่ระหว่างนักกีฬาว่ายน้ำเยาวชนที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บ

อิสราภรณ์ จันนัยนา¹ สุวิทย์ อริยชัยกุล¹
วิทยา เมธียาคม² จงจิณทร์ รัตนานันทชัย^{1*}

¹ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²ภาควิชากายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย

*ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: asijrttn@chiangmai.ac.th)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบ การวางตัวของกระดูกสะบักขณะพัก และช่วงการเคลื่อนไหวข้อไหล่ในท่ายกแขน ความยาวของกล้ามเนื้อ pectoralis minor ในนักกีฬาว่ายน้ำเยาวชนที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บ

วิธีการศึกษา: ผู้เข้าร่วมการศึกษานักกีฬาว่ายน้ำเพศหญิงและชาย อายุ 13-20 ปี รวม 39 คน ประเมินตัวแปร Superior Kibler (SK), Inferior Kibler (IK), Scapular Index (SI), ความยาวของกล้ามเนื้อ Pectoralis minor (PMi) และมุมการเคลื่อนไหวรวมของข้อไหล่ในการยกแขน (CSE) เปรียบเทียบความแตกต่างของตัวแปรระหว่างกลุ่มที่มีอาการเจ็บไหล่ทั้งสองข้าง (pain) และกลุ่มควบคุม (control) และระหว่างแขนข้างที่มีข้อไหล่เจ็บกับไม่เจ็บในกลุ่มที่มีอาการเจ็บไหล่ทั้งสองข้าง (unilateral pain)

ผลการศึกษา: พบว่าค่าเฉลี่ยของตัวแปรระหว่างกลุ่ม pain และ control ของ SK (6.04 ± 1.19 cm. vs. 5.94 ± 0.97 cm.), IK (7.82 ± 1.31 cm. vs. 7.67 ± 1.38 cm.), PMi (3.97 ± 1.27 cm. vs. 3.94 ± 1.25 cm.), and CSE ($-0.99 \pm 6.80^\circ$ vs. $-4.02 \pm 7.88^\circ$) การวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม pain และ control หรือระหว่างแขนสองข้างในกลุ่ม unilateral pain ยกเว้น ค่า SI ของกลุ่ม pain (53.83 ± 6.58 cm.) มีค่าน้อยกว่ากลุ่ม control (56.83 ± 5.4 cm.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุปผลการศึกษา: ค่า SI ซึ่งบอกถึงลักษณะของ forward scapular posture เป็นตัวแปรที่ดีที่สุดในการแยกความแตกต่างระหว่างนักกีฬาว่ายน้ำที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บ **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 49-58**

คำรหัส: ข้อไหล่เจ็บ ข้อไหล่รั้งไปด้านหน้า ตำแหน่งกระดูกสะบักขณะพัก ช่วงการเคลื่อนไหวข้อไหล่ ความยาว pectoralis minor

บทนำ

มีรายงานการเกิดข้อไหล่เจ็บในนักกีฬาว่ายน้ำตั้งแต่ 60-91%^{1,2} ซึ่งมากกว่ากีฬาอื่นที่ต้องใช้ข้อไหล่ในการเล่นกีฬา³ เช่น นักกีฬาวอลเลย์บอล ผู้เล่นตำแหน่งพิชเชอร์ในกีฬาซอฟต์บอล ในระยะแรก ปัญหาข้อไหล่เจ็บเกิดขึ้น เนื่องจากการใช้แขนอย่างต่อเนื่องจนระคายเคือง ทำให้เกิดความผิดปกติจากการใช้แขนมากเกินไป (overuse injuries)⁴ นอกจากนี้ การเกิดข้อไหล่เจ็บในนักกีฬาว่ายน้ำยังขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ อายุ โดยนักกีฬาที่มีอายุมากมีแนวโน้มจะ

เกิดข้อไหล่เจ็บมากกว่า⁵⁻⁷ ระดับการแข่งขันของนักกีฬา คือนักกีฬาระดับนานาชาติ หรือระดับชาติจะพบการเกิดข้อไหล่เจ็บได้มากกว่านักกีฬาระดับท้องถิ่น² รวมทั้งจำนวนชั่วโมงของการฝึกซ้อมก็มีผลต่อการเกิดข้อไหล่เจ็บ หากฝึกซ้อมมากก็มีโอกาสเกิดข้อไหล่เจ็บมากกว่า⁶ และปัจจัยอื่น ๆ

ลักษณะการเคลื่อนไหวของข้อไหล่และแขนติดต่อกัน ในขณะว่ายน้ำมีผลต่อลักษณะท่าทางของข้อไหล่ (shoulder posture) การยกแขน (shoulder flexion) ร่วมกับการหมุนแขน

เข้าด้านใน (internal rotation) ขณะว่ายน้ำในระยะ hand entry ของท่าฟรีสไตล์ และการทำงานของ pectoralis major และ latissimus dorsi ในการเคลื่อนแขนไปด้านหลัง (shoulder extension) ในระยะ pull และ push^{8,9} ซ้ำ ๆ กันอย่างต่อเนื่อง อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะข้อไหล่เจ็บ โดยทั่วไปกล้ามเนื้อที่มีการทำงานมากหรือซ้ำ ๆ กันในลักษณะใดลักษณะหนึ่ง มักมีแนวโน้มที่จะมีความแข็งแรงมากขึ้น หรือ stiff กว่ากล้ามเนื้อที่ทำงานน้อยกว่า¹⁰ ดังนั้น จึงพบว่านักกีฬาว่ายน้ำอาจมีลักษณะข้อไหล่รุ่มไปทางด้านหน้า (forward shoulder posture) หรือที่เรียกว่า swimmer's shoulder^{1, 11, 12} ซึ่งเกิดจากการใช้กล้ามเนื้อ pectoralis major, pectoralis minor และ latissimus dorsi ตลอดเวลา ในช่วง pull และ push ของการว่ายน้ำส่งผลให้เกิดภาวะหดสั้นหรือ stiff ของกล้ามเนื้อกลุ่ม pectoralis และ latissimus dorsi แต่มีการยืดยาวออกของกล้ามเนื้อสะบักทางด้านหลัง ได้แก่ middle trapezius และ rhomboid การเคลื่อนไหวขณะว่ายน้ำนี้จึงมีผลต่อลักษณะของข้อไหล่ โดยอาจมีผลต่อตำแหน่งของกระดูกสะบักขณะพัก และส่งผลให้ช่วงการเคลื่อนไหวของ shoulder flexion ในนักกีฬาว่ายน้ำที่มีข้อไหล่เจ็บ มีค่าแตกต่างจากนักกีฬาว่ายน้ำที่ไม่มีข้อไหล่เจ็บ

เชื่อกันว่าลักษณะข้อไหล่รุ่มไปด้านหน้าอาจเป็นสาเหตุของการเกิดข้อไหล่เจ็บ ในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานเปรียบเทียบลักษณะของข้อไหล่รุ่มไปด้านหน้ากับการเกิดข้อไหล่เจ็บในนักกีฬาว่ายน้ำ อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Borstad¹³ พบว่าภาวะ thoracic kyphosis มีผลทำให้เกิดอาการข้อไหล่เจ็บได้ง่ายกว่าผู้ที่มีลักษณะข้อไหล่และหลังเป็นปกติเพราะภาวะ thoracic kyphosis มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งของกระดูกสะบักขณะพัก ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้อัตราส่วนการเคลื่อนไหวของข้อไหล่และสะบัก (scapulohumeral rhythm) เปลี่ยนแปลงไป และทำให้เกิดการบาดเจ็บสะสมที่เนื้อเยื่อรอบข้อไหล่ ก่อให้เกิดปัญหาข้อไหล่เจ็บตามมา

การหดสั้นของ pectoralis minor อาจเป็นสาเหตุอีกข้อหนึ่งของการเกิดข้อไหล่รุ่มไปด้านหน้า ทำให้เกิด scapular anterior tilting และมีผลขัดขวางการเกิด scapular upward rotation และ scapular posterior tilting ซึ่งเป็นลักษณะการเคลื่อนไหวที่จำเป็น ขณะเมื่อยกแขน (shoulder flexion) ช่วง การมี pectoralis minor หดสั้นจึงอาจทำให้ข้อไหล่เกิดภาวะ impingement ได้ง่าย¹⁰ การวัดความยาวของ pectoralis minor ที่นิยมใช้ในทางคลินิก คือการวัดระยะทางตั้งฉากจากพื้นเตี้ยมายัง posterolateral border ของ acromion process (PMi) หรือการวัดด้วยค่า scapular index (SI) หรือ

สัดส่วนของความยาวช่วงไหล่ด้านหน้าเทียบกับด้านหลัง¹³ ในภาวะปกติระยะทาง PMi มีค่าไม่เกิน 2.5 เซนติเมตร (ซม.) สำหรับค่า SI ที่มีค่าน้อยกว่า แสดงว่าข้อไหล่มีการรุ่มไปด้านหน้ามากกว่า

การวัดตำแหน่งของกระดูกสะบักขณะพัก (scapular resting position) ที่นิยมใช้ทางคลินิก และมีความเชื่อมั่นของการวัดอยู่ในระดับสูง¹³ คือ การวัดระยะ Superior Kibler (SK) และ Inferior Kibler (IK) ระยะ SK ในผู้ที่มีข้อไหล่ปกติ มีค่าประมาณ 7.62 ซม. (ประมาณ 3 นิ้ว)¹⁰ ความแตกต่างจากค่า 7.62 ซม. อาจบ่งบอกถึงความผิดปกติของตำแหน่งกระดูกสะบักและอาจเกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะข้อไหล่เจ็บได้¹⁰ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการศึกษาค่าปกติของ SK และ IK ในนักกีฬาว่ายน้ำไทย รวมทั้งจากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาไม่พบรายงานเปรียบเทียบระยะ SK และ IK ระหว่างกลุ่มข้อไหล่ที่มีและไม่มีภาวะเจ็บปวดในนักกีฬาว่ายน้ำ อย่างไรก็ตาม พบว่าตำแหน่งของกระดูกสะบักขึ้นกับ อายุ⁷ เพศ¹⁴ ความอ้วน¹⁵ การใช้งานของแขน หรือความถนัดของแขน¹⁶ โดยผู้ที่ใช้แขนข้างใดข้างหนึ่งทำงานหรือ เล่นกีฬาเป็นประจำ จะมีความแตกต่างของตำแหน่งของกระดูกสะบักของแขนแต่ละข้าง ทั้งนี้ McKenna และคณะ¹⁶ พบว่านักกีฬาว่ายน้ำซึ่งมีการใช้แขนทั้งสองข้างเท่ากันและไม่มีปัญหาข้อไหล่เจ็บ มีความแตกต่างของ SK ระหว่างแขนแต่ละข้างเท่ากับ 0.5 ซม. ซึ่งมีค่าน้อยมาก

วิธีการทดสอบทางคลินิกที่นิยมใช้ในการวัดช่วงการเคลื่อนไหวของข้อไหล่ในนักกีฬาว่ายน้ำ คือ combined range of shoulder elevation (CSE) หรือ หมายถึงช่วงการเคลื่อนไหวของการทำ shoulder flexion ของแขนพร้อมกันทั้งสองข้าง ในขณะที่นอนคว่ำมือประสานกัน โดยขณะยกแขนต้องให้หน้าผาก ท้อง และต้นขาแนบกับพื้น และพยายามยกแขนขึ้นจากพื้นเตียงให้มากที่สุด โดยที่ค่าปกติของ CSE ในนักกีฬาว่ายน้ำมีค่า 5-15 องศา⁴ การวัดค่า CSE สามารถกระทำได้ง่ายในทางคลินิก และเป็นค่าที่แสดงถึงช่วงการเคลื่อนไหวของข้อต่อ glenohumeral และ scapulothoracic เต็มช่วงการเคลื่อนไหว รวมทั้งความยาวของกล้ามเนื้อ ข้อไหล่ทางด้านหน้าที่พอเพียง ดังนั้น ผู้ที่มีภาวะข้อไหล่ รุ่มไปด้านหน้าจึงน่าจะมีค่า CSE ลดลง ในปัจจุบัน ยังไม่พบการรายงานเปรียบเทียบค่า CSE ระหว่างนักกีฬาว่ายน้ำที่มี และไม่มีข้อไหล่เจ็บ การศึกษานี้สนใจศึกษาวิธีการตรวจประเมินข้อไหล่ที่กระทำได้ง่ายทางคลินิก ว่าสามารถแยกความแตกต่างของนักกีฬาว่ายน้ำที่มี และไม่มีข้อไหล่เจ็บหรือไม่ โดยมีสมมติฐานว่า นักกีฬาว่ายน้ำที่มีข้อไหล่เจ็บน่าจะมีลักษณะของข้อไหล่รุ่มไปด้านหน้ามากกว่า ซึ่งเมื่อประเมินด้วยค่า SK, IK, SI, PMi

น่าจะพบว่ามีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่มีข้อไหล่เจ็บ นอกจากนี้ค่า CSE ในกลุ่มที่มีข้อไหล่เจ็บก็น่าจะมีความแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่มีข้อไหล่เจ็บ ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมยังไม่พบมีการรายงานข้อมูลดังกล่าวนี้ ดังนั้น การศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ เปรียบเทียบระยะ SK, IK, SI, PMi และ CSE ระหว่างกลุ่มที่มี และไม่มีข้อไหล่เจ็บ ด้วยวิธีการวัดที่นิยมใช้และกระทำได้ง่ายในทางคลินิก ผลการศึกษาสามารถนำไปใช้ในการตรวจประเมินข้อไหล่เพื่อการรักษา และการป้องกันปัญหาการเกิดข้อไหล่เจ็บอย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีการวิจัย

งานวิจัยนี้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมงานวิจัย โดยกรรมการจริยธรรมงานวิจัย คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อาสาสมัคร

นักกีฬาเยาวชนที่ว่ายน้ำเป็นประจำที่มีและไม่มีภาวะข้อไหล่เจ็บ ไม่จำกัดเพศ อายุ 13-20 ปี จำนวนอย่างน้อย 30 คน นักกีฬาทั้งสองกลุ่มต้องว่ายน้ำติดต่อกันมาไม่น้อยกว่า 1 ปี โดยมีชั่วโมงการฝึกซ้อมอย่างน้อย 5 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ กลุ่มที่มีข้อไหล่เจ็บขณะพัก ต้องมีข้อไหล่เจ็บไม่มาก (VAS น้อยกว่าหรือเท่ากับระดับปานกลาง) และต้องสามารถฝึกซ้อมว่ายน้ำได้ รวมทั้งไม่เคยได้รับบาดเจ็บรุนแรงบริเวณแขน หรือข้อไหล่ หรือเคยมีกระดูกหัก หรือต้องผ่าตัด หรือมีภาวะกระดูกสันหลังคด นักกีฬาทุกคนต้องลงลายมือชื่อในแบบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา

เครื่องมือ

เครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่า SK, IK, SI คือ Palpation Meter (PALM[®]) ซึ่งเป็นเครื่องมือในการวัดระยะทาง ความยาวไม่เกิน 30 ซม. มีความละเอียด 1 มิลลิเมตร และ digital inclinometer สำหรับวัดค่ามุมการเคลื่อนไหวรวมของข้อไหล่ (combined range of shoulder elevation : CSE) มีความละเอียด 0.1 องศา มาตรวัดแนวระดับ (horizontal level) จะติดไว้บนเครื่อง Palpation Meter และ digital inclinometer ในขณะทำการวัด เพื่อให้ผู้วัดสามารถควบคุมเครื่องมือให้อยู่ในแนวระนาบได้อย่างถูกต้อง สำหรับการวัดค่า PMi กระทำโดยใช้ thermoplastic jig ที่มีแถบสายวัดมาตรฐานติดอยู่ การทดสอบหาค่า intra-rater reliability ของผู้วัดในการวัดค่า SK, IK, SI, PMi และ CSE ดำเนินการในอาสาสมัครที่ไม่ใช่นักกีฬาว่ายน้ำก่อนการเก็บข้อมูลจริง

วิธีการวัดค่าตัวแปร

อาสาสมัครที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเลือก ลงลายมือชื่อในแบบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา ผู้วิจัยวัดค่าสัดส่วนร่างกาย ได้แก่ น้ำหนักและส่วนสูง ประสิทธิภาพการว่ายน้ำ จำนวนชั่วโมงการว่ายน้ำต่อสัปดาห์ และประวัติการเข้าร่วมการแข่งขันที่สมาคมการว่ายน้ำแห่งประเทศไทย ให้การรับรอง การประเมินความเจ็บปวดของข้อไหล่กระทำโดยให้นักกีฬาเขียนแบบท่าทางที่ใช้ในการว่ายน้ำ เพื่อพิจารณาภาวะการบาดเจ็บข้อไหล่ว่ามีอาการที่ระยะใดของการว่ายน้ำ และประเมินระดับความเจ็บข้อไหล่ ตามนิยามระดับความเจ็บปวดของ Jensen และคณะ¹⁷ ซึ่งแบ่งความเจ็บปวดเป็นระดับต่าง ๆ โดยให้อาสาสมัครบอกระดับความเจ็บปวดโดยใช้เลข 0-10

ลำดับการวัดค่าตัวแปร กระทำโดยการสุ่มระหว่าง การวัดค่า SK, IK, และ SI, หรือ PMi และ CSE ก่อน โดยนักกีฬาว่ายน้ำทุกคนได้รับการประเมินลักษณะท่าทางข้อไหล่ และทรวงอก โดยนักกายภาพบำบัดที่มีความชำนาญ และมีประสบการณ์ในให้การรักษานักกีฬาว่ายน้ำที่มีปัญหากระดูก โครงสร้างและกล้ามเนื้อ การประเมินลักษณะข้อไหล่ กระทำโดยใช้การสังเกตและการถ่ายภาพนิ่งเป็นหลักฐาน การวัดค่า SK และ IK กระทำโดยใช้เครื่อง PALM[®] (รูปที่ 1) โดยวัดในท่ายืนเท้าชิด มือวางแนบลำตัว ค่า SK วัดระยะจาก medial border of root of spine ของกระดูกสะบักถึง spinous process ของกระดูกสันหลังในแนวระดับ (horizontal level) และค่า IK วัดระยะจาก inferior angle ของกระดูกสะบักถึง spinous process ของกระดูกสันหลังในแนวระดับ (horizontal level) ทำการวัดค่าตัวแปร 2 รอบเพื่อหาค่าเฉลี่ยก่อนนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ

การวัดค่า SI กระทำโดยให้อาสาสมัครยืนตรง แขนปล่อยข้างลำตัว วัดระยะจาก coracoids process (CP) ถึง sternal notch (SN) และระยะจาก posterior angle of acromion process (PLA) กับ spinous process ของกระดูกสันหลังระดับอก (TS) ค่า SI = (ระยะจาก CP to SN) x100/ (ระยะจาก PLA to TS)¹³ สำหรับการวัดค่า PMi กระทำโดยให้อาสาสมัครนอนหงายชันเข่าไม่หนุนหมอน แขนและมือวางข้างลำตัว ผู้วิจัยใช้ thermoplastic jig วัดระยะทางตั้งฉากจาก posterior border of acromion process ถึงพื้นเตียง

การวัดค่า CSE กระทำโดยใช้ digital inclinometer โดยจัดให้อาสาสมัครนอนคว่ำไม่หนุนหมอน ยกแขนทั้งสองข้างขึ้นเหนือศีรษะ มือทั้งสองข้างประสานกัน ข้อศอกเหยียดตรง จากนั้นให้อาสาสมัครยกแขนขึ้นให้พื่นพื้นเตียงให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยหน้าผาก หน้าอก และขาต้องแตะกับ



Figure 1 Measurement Inferior Kibler (IK) using PALM®

พื้นที่เพียงตลอดเวลาที่ทำการวัด วัดมุมข้อไหล่โดยใช้ digital inclinometer วางที่กระดูกต้นแขน หน่วยเป็นองศา

การทดสอบความเชื่อมั่นในผู้วัด

การทดสอบความเชื่อมั่นในผู้วัดทำในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ใช่ นักกีฬาว่ายน้ำ ทั้งเพศหญิงและชาย จำนวน 12 คน อายุ 18-23 ปี โดยทำการวัดค่า SK, IK, SI, PMi, และ CSE ซ้ำ 2 วัน ในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน ในแต่ละวันวัดค่าตัวแปรซ้ำ 2 ครั้ง นำค่าเฉลี่ยมาใช้ในการวิเคราะห์ค่าความเชื่อมั่นโดยใช้สถิติ intraclass correlation coefficient, ICC [3,2] ค่าความเชื่อมั่นในตัวผู้วัดในการวัดค่า SK, IK, SI, PMi และ CSE คือ 0.842, 0.940, 0.894, 0.941 และ 0.929 ตามลำดับ จัดอยู่ในเกณฑ์ดีมาก

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS แบ่งนักกีฬาเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีข้อไหล่เจ็บทั้งสองข้าง (bilateral shoulder pain) กลุ่มที่ไม่มีข้อไหล่เจ็บ (control) และกลุ่มที่มีข้อไหล่เจ็บข้างเดียว (unilateral pain) ทดสอบการแจกแจงของตัวแปรที่ศึกษาโดยใช้ Shapiro-Wilk Test สำหรับการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมการศึกษา เช่น น้ำหนัก ส่วนสูง และตัวแปรอื่นในแต่ละกลุ่มกระทำโดยใช้ one-way ANOVA โดยตรวจค่าแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Levene's test และใช้ Tamhane's T2 เป็น post-hoc test แต่สำหรับการเปรียบเทียบค่าตัวแปร SK, IK, SI, PMi, และ CSE ระหว่างกลุ่ม pain และ control กระทำโดยใช้ independent t-test และสำหรับกลุ่ม unilateral pain ทำการเปรียบเทียบค่าตัวแปรแบบ arm to arm comparison โดยใช้ paired t-test กำหนดค่า $p < 0.05$

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบด้วย Shapiro-Wilk Test พบว่าการแจกแจงของตัวแปร SK, IK, SI, PMi, และ CSE เป็นแบบ normal distribution ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของนักกีฬาว่ายน้ำ ที่เข้าร่วมการศึกษา จำนวน 39 คน ช่วงอายุ 13-20 ปี พบว่า อายุ และ จำนวนเวลาที่ฝึกซ้อม (ชั่วโมง/สัปดาห์) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างกลุ่ม โดยพบว่าอายุเฉลี่ยของกลุ่ม pain มีค่าน้อยกว่ากลุ่ม control (14.28 ± 1.07 vs. 15.93 ± 2.02 ปี) อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างของอายุมีค่าน้อยกว่า 2 ปี สำหรับจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการฝึกซ้อมพบว่า กลุ่ม pain มีจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการฝึกซ้อม มากกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (25.28 ± 7.26 vs. 18.56 ± 6.59 ชั่วโมงต่อสัปดาห์) ระดับของความเจ็บปวดข้อไหล่พบว่าในขณะที่พัก นักกีฬาส่วนใหญ่ (69.05%) ไม่มีอาการเจ็บแต่ในขณะว่ายน้ำ นักกีฬาส่วนใหญ่มีอาการเจ็บน้อยถึงปานกลาง (69.05%) และพบว่าค่ามัธยฐานของความเจ็บปวดในขณะว่ายน้ำเท่ากับ 5 แต่ในขณะที่พักเท่ากับ 0 (ตารางที่ 2)

สำหรับลักษณะท่าทางของข้อไหล่ เมื่อประเมินด้วยการสังเกตพบว่านักกีฬาว่ายน้ำทั้งสามกลุ่ม มีลักษณะ forward shoulder และ thoracic kyphosis ใกล้เคียงกัน คือ ในนักกีฬาที่มีข้อไหล่เจ็บทั้งสองข้างพบลักษณะท่าทางที่ผิดปกติร้อยละ 50 (9 จาก 18 คน) นักกีฬาที่มีข้อไหล่เจ็บข้างเดียวพบร้อยละ 66.67 (4 จาก 7 คน) และนักกีฬาที่ไม่มีข้อไหล่เจ็บพบร้อยละ 53.33 (8 จาก 15 คน)

เมื่อเปรียบเทียบค่า SK, IK, PMi, และ CSE ระหว่างกลุ่ม pain ซึ่งมีอาการข้อไหล่เจ็บทั้งสองข้าง และกลุ่ม control ซึ่งไม่มีอาการข้อไหล่เจ็บ (ตารางที่ 3) พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มของทุกค่าตัวแปร ยกเว้นค่า SI พบว่ากลุ่ม

Table 1 Mean, standard deviation, and range of demographic data in each group

Parameters	Bilateral pain (n = 18)	Control (n = 15 คน)	Unilateral pain (n = 6 คน)	p *
Gender Male	9 (50%)	11 (73.33%)	4 (66.67%)	
Female	9 (50%)	4 (26.67%)	2 (33.33%)	
Age (yr)	14.28±1.07	15.93±2.02	15.50±0.56	0.013
(min-max)	(13-17)	(13-20)	(14-17)	(F = 4.926, df = 2)
	p = 0.028 (Tamhane's T2 test)			
Weight (kg)	56.62±8.34	62.97±9.70	60.00±8.00	0.071
(min-max)	(45-70)	(46.5-83)	(50-70)	(F = 2.851, df = 2)
Height (cm)	163.78±7.04	169.8±7.27	164.67±9.00	0.071
(min-max)	(154-178)	(160-187)	(153-176)	(F = 2.843, df = 2)
Experience (yr)	6.36±2.29	8.00±3.46	7.83±1.94	0.214
(min-max)	(3-12)	(3-15)	(6-11)	(F = 1.610, df = 2)
Duration of training	25.28±7.26	18.56±6.59	24.33±10.71	0.045
(hr/week)	(12-33)	(6-30)	(15-42)	(F = 3.388, df = 2)
(min-max)	p = 0.028 (Tamhane's T2 test)			

* p<0.05 One-way ANOVA

Table 2 Number of shoulders % at different level of pain during resting and swimming (n = 42 shoulders)

Activity	Level of pain			
	no pain (0)	mild (1 – 3)	moderate (4 – 6)	severe (7 – 9)
Resting (%)	29 (69.05)	11 (26.19)	2 (4.76)	-
Swimming (%)	-	10 (23.81)	29 (69.05)	3 (7.14)

Table 3 Mean and standard deviation of measured parameters in the bilateral shoulder pain and the control group

Parameters	Bilateral Shoulder Pain group (n = 36)	Control group (n = 30)
Superior Kibler (SK) (cm)	6.04±1.19	5.94±0.97
Inferior Kibler (IK) (cm)	7.82±1.31	7.67±1.38
Scapular index (SI)*	53.83±6.58	56.83±5.41
Pectoralis minor (PMi) (cm)	3.97±1.27	3.94±1.25
Combined range of shoulder elevation (CSE) (degree)	-0.99±6.80	-4.02±7.88

*significant difference ($p < 0.05$) using independent t-test

pain มีค่า SI น้อยกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หรือกล่าวได้ว่ากลุ่ม pain มีลักษณะข้อไหล่รั้งมากกว่ากลุ่ม control สำหรับการเปรียบเทียบค่าตัวแปรระหว่างแขนข้างที่มีกับไม่มีข้อไหล่เจ็บในกลุ่ม unilateral pain ไม่พบว่ามี ความแตกต่างของค่าตัวแปรที่ศึกษาระหว่างแขนทั้งสองข้าง (ตารางที่ 4)

บทวิจารณ์

การศึกษานี้เปรียบเทียบตำแหน่งของกระดูกสะบักซึ่งวัดด้วยวิธีการทางคลินิกหลายแบบ และช่วงการเคลื่อนไหวรวมของข้อไหล่ว่ามีความแตกต่างกันระหว่างนักกีฬาว่ายน้ำในกลุ่ม bilateral shoulder pain กับกลุ่ม control หรือไม่ ผลการศึกษาพบว่าเฉพาะค่า SI ของกลุ่ม bilateral

Table 4 Mean and standard deviation of measured parameters of the shoulders with and without pain in the unilateral pain group

Parameters	Pain (n = 6)	No pain (n = 6)
Superior Kibler (SK) (cm)	6.04±0.79	6.38±0.48
Inferior Kibler (IK) (cm)	8.38±1.62	7.59±1.79
Scapular index (SI)	53.08±5.99	53.89±5.69
Pectoralis minor (PMi) (cm)	3.77±1.41	3.88±1.22
Combined ROM of shoulder elevation (CSE) (degree)	-4.17±8.12	-4.92±6.94

$p < 0.05$ using paired t-test

shoulder pain มีค่าน้อยกว่ากลุ่ม control แสดงว่ากลุ่ม bilateral shoulder pain มีลักษณะข้อไหล่รั้งไปด้านหน้ามากกว่ากลุ่ม control แต่ SI ของแขนข้างที่มีข้อไหล่เจ็บไม่ต่างจากข้างที่ไม่มีข้อไหล่เจ็บในกลุ่ม unilateral pain ค่า SI แสดงถึงความยาวของกล้ามเนื้อ pectoralis minor โดยเป็นการเปรียบเทียบระยะของช่วงป่าด้านหลัง ต่างจากการวัดความยาวของ pectoralis minor ที่วัดระยะห่างของ acromion process จากพื้นเตียง ซึ่งไม่พบว่ามีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานของ Borstad¹³ ที่พบว่าค่า SI สามารถแยกผู้ที่มีภาวะกล้ามเนื้อ pectoralis minor หดสั้นและมี thoracic kyphosis ได้ดีกว่าการวัดความยาวของกล้ามเนื้อโดยวัดระยะห่างของ acromion process จากพื้นเตียง อย่างไรก็ตาม จากการสังเกตโดยนักกายภาพบำบัดที่มีประสบการณ์ ลักษณะ forward shoulder posture ร่วมกับ thoracic kyphosis สามารถพบได้ในนักกีฬาว่ายน้ำทุกกลุ่มในจำนวนใกล้เคียงกัน ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า SI สามารถแยกความแตกต่างของลักษณะข้อไหล่รั้งในนักกีฬาว่ายน้ำที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บได้ดีกว่าการประเมินภาวะข้อไหล่รั้งด้วยวิธีการอื่น นอกจากนี้ยังเห็นว่าความแตกต่างของ SI ในแต่ละกลุ่มมีค่าประมาณ 3% เท่านั้น หมายความว่าหาก SI ลดลงแม้เพียงเล็กน้อย อาจทำให้สมดุลของกล้ามเนื้อ pectoralis minor เทียบกับกล้ามเนื้อรอบสะบักมัดอื่นเปลี่ยนไป และส่งผลให้เกิดข้อไหล่เจ็บได้ โดย Sahrman¹⁰ อธิบายถึงการยืดกล้ามเนื้อ pectoralis minor ว่าควรคำนึงถึงภาวะ stiffness ของกล้ามเนื้อมัดอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น abdominal muscle โดยภาวะ stiffness ของ abdominal muscle จะจำกัดการเคลื่อนไหวของกระดูกซี่โครง (rib cage) ซึ่งจะยิ่งเสริมให้กระดูกสะบักเคลื่อนได้ยากมากขึ้น อย่างไรก็ตาม การศึกษาเพื่อยืนยันความเกี่ยวข้องของ abdominal muscles กับการเคลื่อนไหวของกระดูกสะบักเป็นสิ่งจำเป็น ดังนั้น การยืดกล้ามเนื้อ pectoralis minor จึงน่าจะเป็นสิ่งจำเป็นในการแก้ไขภาวะข้อไหล่เจ็บในนักกีฬาว่ายน้ำ โดยการยืดกล้ามเนื้อ pectoralis minor ควรกระทำโดยพิจารณาถึงภาวะ stiffness ของกล้ามเนื้อรอบสะบักหรือกล้ามเนื้อ abdominal muscle ที่อาจเกี่ยวข้องร่วมด้วย

ค่า SK และ IK ในกลุ่ม bilateral shoulder pain และ control ไม่มีความแตกต่างกัน ค่า SK ที่ได้จากการศึกษานี้ (ประมาณ 6 ซม.) มีค่าน้อยกว่าที่ McKenna และคณะ¹⁸ รายงาน (ค่า SK ของเพศชายและหญิงอยู่ในช่วง 7.7-7.9 ซม. และ 5.7-6.4 ซม. ตามลำดับ) แต่ใกล้เคียงกับการศึกษาดำแหน่งของกระดูกสะบักขณะพัก (scapular resting position)

ในคนไทยที่มีสุขภาพดีที่ไม่ใช่นักกีฬาว่ายน้ำในช่วงอายุ 15 -20 ปี ในแขนด้านที่ถนัดและไม่ถนัดจำนวน 306 คน¹⁹ ซึ่งพบว่าค่าเฉลี่ย SK ของแขนด้านถนัดและด้านไม่ถนัด ค่าเฉลี่ย IK ของแขนข้างถนัดและไม่ถนัด เท่ากับ 6.77+0.83 ซม., 6.56+0.83 ซม., 8.11±1.04 ซม. และ 7.70 ซม. ตามลำดับ นอกจากนี้ค่า SK ของการศึกษานี้ (6 ซม.) ยังมีค่าน้อยกว่า 7.62 ซม. (3 นิ้ว)¹⁰ ซึ่งเป็นค่าที่ใช้อ้างอิงในการประเมินระยะ SK ความแตกต่างนี้อาจเนื่องมาจากอายุ ขนาดและสัดส่วนของร่างกายของกลุ่มตัวอย่างชาวตะวันตกมีขนาดและรูปร่างใหญ่กว่าคนไทย รวมทั้งความแตกต่างของช่วงอายุของกลุ่มตัวอย่าง

ค่าเฉลี่ยปกติของ CSE ของนักกีฬาว่ายน้ำมีค่า 5-15^o แต่ผลการศึกษาพบว่ากลุ่ม bilateral shoulder pain และกลุ่ม control ได้ค่าเฉลี่ย CSE ไม่แตกต่างกันและมีค่าติดลบ หรือแสดงว่านักกีฬาไม่สามารถยกแขนให้สูงพ้นศีรษะในท่านอนคว่ำ แสดงว่าช่วงการเคลื่อนไหวของการทำ CSE ในนักกีฬาว่ายน้ำเยาวชนชาวไทย มีค่าน้อยกว่านักกีฬาว่ายน้ำต่างชาติ ความแตกต่างนี้อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของเชื้อชาติและขนาดของโครงสร้างของร่างกาย หรือจากสาเหตุอื่น อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานค่าปกติของ CSE ในนักกีฬาว่ายน้ำไทย

ค่า SK, IK, PMi, และ CSE ของกลุ่ม bilateral shoulder pain ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม control และไม่มี ความแตกต่างระหว่างแขนทั้งสองข้างในกลุ่ม unilateral pain อาจเนื่องมาจากค่าตัวแปรดังกล่าวไม่มีความเฉพาะเจาะจงมากพอ และนักกีฬาทั้งสามกลุ่มมีผู้ที่ทำท่า forward shoulder posture ร่วมกับ thoracic kyphosis จำนวนใกล้เคียงกัน รวมทั้งกลุ่มที่มีข้อไหล่เจ็บมีระดับความเจ็บปวดปานกลาง หรือ VAS ขณะว่ายน้ำไม่เกิน 6 (คะแนนเต็มเท่ากับ 10) และนักกีฬาสามารถทำการฝึกซ้อมว่ายน้ำได้ ไม่มีความเจ็บปวดขณะพัก ระดับความเจ็บปวดของข้อไหล่ที่ไม่มากนักจึงอาจทำให้ค่าตัวแปรที่ศึกษาของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน อย่างชัดเจน

ข้อจำกัดของการวิจัย

จำนวนอาสาสมัครในแต่ละกลุ่มมีไม่เท่ากัน และบางกลุ่มมีจำนวนน้อย และระดับความเจ็บปวดของนักกีฬาว่ายน้ำเยาวชนของการศึกษานี้อยู่ในระดับน้อยถึงปานกลาง นักกีฬายังสามารถว่ายน้ำได้ตามปกติ จึงอาจทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้ ดังนั้น การศึกษาต่อไปจึงอาจเพิ่มจำนวนอาสาสมัครและกำหนดเกณฑ์ระดับความเจ็บปวดข้อไหล่ที่มากขึ้น รวมทั้งเลือกประเมินตัวแปรอื่นที่มีความจำเพาะต่อการเคลื่อนไหวข้อไหล่และการทำงานของ

กล้ามเนื้อข้อไหล่มากขึ้น

สรุปผลการศึกษา

ค่า SI สามารถบอกความแตกต่างของนักกีฬาว่ายน้ำที่มีข้อไหล่เจ็บกับกลุ่ม control ถึงแม้ระดับของความเจ็บปวดข้อไหล่ของนักกีฬาว่ายน้ำในการศึกษานี้จะมีค่าไม่มากนัก ลักษณะ forward shoulder posture ร่วมกับ thoracic kyphosis สามารถพบได้ในนักกีฬาว่ายน้ำทั้งที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บใกล้เคียงกัน และระยะ SK, IK, PMi, และ CSE ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บในนักกีฬาว่ายน้ำน้ำเยาวชน แสดงว่าการประเมินจากค่า SK, IK, PMi, และ CSE ซึ่งเป็นวิธีการวัดที่กระทำได้ง่ายในทางคลินิกไม่สามารถบอกความแตกต่างของข้อไหล่ที่มีและไม่มีข้อไหล่เจ็บ ดังนั้น การตรวจประเมินการเคลื่อนไหว และตรวจการทำงานของกล้ามเนื้อ

ข้อไหล่ที่มีความเฉพาะเจาะจงมากขึ้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้ทราบสาเหตุของการเกิดข้อไหล่เจ็บ ที่ชัดเจนในนักกีฬาว่ายน้ำที่มีข้อไหล่เจ็บน้อยถึงปานกลางต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสระว่ายน้ำกิตติยะ สระว่ายน้ำโรงเรียนกาวิละอนุกุล สระว่ายน้ำโรงแรมอิมพีเรียลแม่ปิง และสระว่ายน้ำจุฬารัตน์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตลอดจนนักกีฬาว่ายน้ำเยาวชน และผู้ปกครอง ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูลจนบรรลุผลสำเร็จด้วยดี บทความวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของชุดโครงการวิจัย เรื่อง การวิจัยเพื่อการตรวจประเมินข้อไหล่ในนักกีฬาว่ายน้ำน้ำเยาวชน: ตำแหน่งของกระดูกสะบักและความยาวของกล้ามเนื้อข้อไหล่ งานวิจัยนี้เกิดจากการจัดจ้างของการกีฬาแห่งประเทศไทย กระทรวงการท่องเที่ยวและกีฬา ปีงบประมาณ 2554

เอกสารอ้างอิง

1. Richardson AR, Jobe FW, Collins HR. The shoulder in competition swimming. Am J Sport Med 1980; 8: 159-63.
2. Stocker D, Pink M, Jobe F. Comparison of shoulder injury in collegiate- and master's-level swimmers. Clin J Sport Med 1995; 5: 4-8.
3. Pink MM, Tibone JE. The painful shoulder in the swimming athlete. Orthop Clin North Am 2000; 31: 247-61.
4. Blanch P. Conservative management of shoulder pain. Phys Ther Sport 2004; 5: 109-24.
5. Endo K, Yukata K, Yasui N. Influence of age on scapulo-thoracic orientation. Clin Biomech 2004; 19: 1009-13.
6. McMaster WC, Troup J. A survey of interfering shoulder pain in United States competitive swimmers. Am J Sport Med 1993; 21: 67-70.
7. Tanaka N, Otsuki S, Okubo M. Decrease of the range of motion of the scapula with ageing. J Shoulder Elbow Surg 1995; 4 Suppl 1: S86.
8. Nuber GW, Jobe FW, Perry J, Moynes DR, Antonelli D. Fine wire electromyography analysis of muscles of the shoulder during swimming. Am J Sport Med 1986; 14: 7-11.
9. Pink M, Perry J, Browne A, Scovazzo ML, Kerrigan J. The normal shoulder during freestyle swimming. An electromyographic and cinematographic analysis of twelve muscles. Am J Sport Med 1991; 19: 569-76.

10. Sahrmann SA. Diagnosis and treatment of movement impairment syndromes. St.Louis: Mosby; 2002.
11. Ciullo V, Stevens C. The prevention and treatment of injuries to the shoulder in swimming. *Sport Med* 1989; 7: 182-204.
12. Hawkins RJ, Kennedy JC. Impingement syndrome in athletes. *Am J Sport Med* 1980; 8: 151-8.
13. Borstad. JD. Resting position variables at the shoulder: Evidence to support a posture-impairment association. *Phys Ther* 2006; 86: 549-57.
14. McKenna L, Strake L, Smith A. The inter-tester reliability of humeral head position in junior swimmers. *Phys Ther Sport* 2009; 10: 97-100.
15. McKenna L, Straker L, Smith A. The validity and intra-tester reliability of a clinical measure of humeral head position. *Man Ther* 2009; 14: 397-403.
16. McKenna L, Straker L, Smith A, Cunningham J. Differences in scapular and humeral head position between swimmers and non-swimmers. *Scan J Med Sci Sport*. 2009c (Article first published online: 18 DEC 2009 DOI: 10.1111/j.1600-0838.2009.01039.x).
17. Jensen MP, Chen C, Brugger AM. Interpretation of visual analog scale ratings and change scores: A reanalysis of two clinical trials of postoperative pain. *J Pain* 2003; 4: 407-14.
18. McKenna L, Cunningham J, Straker L. Inter-tester reliability of scapular position in junior elite swimmers. *Phys Ther Sport* 2004; 5: 146-55.
19. Chuatrakoon B, Ratanapinunchai J, Mathiyakom W, Ariyachaikul S. The distance of Superior Kibler and Inferior Kibler in normal subjects aged between 15–20 years old. *Thai J Phys Ther* 2011; 34: in press (in Thai).

The relationship of balance assessment by Nintendo Wii with Wii balance board and single leg balance test

Sarayoot Mongkol^{*} Khanitta Wonglungka Diana Wichiansang
Thanattha Saranyanurak Aisah Al-mabruk

Physical Therapy Department, School of Health Science, Mae Fah Luang University

^{*} Corresponding author (E-mail: gm_pt15@hotmail.com)

Abstract

Nintendo Wii with Wii balance board can be used as a test of the Single leg balance test. Thus, the objective of this study was to determine the relationship of balance assessment between Nintendo Wii with Wii balance board and Single leg standing test. The participants were 120 healthy volunteers, aged of 18-25 years old. All participants were evaluated for the ability to balance upon Nintendo Wii with Wii balance board and Single leg balance test. The relationship between the Nintendo Wii with Wii balance board and eyes open Single leg balance test was shown to have correlation coefficient of 0.21 which was positive and weak, as well as Nintendo Wii with Wii balance board and eyes close Single leg balance test with correlation coefficient of 0.14. Therefore Nintendo Wii with Wii balance board could not be used as Single leg balance test to assessment balance ability in 18-25 years old healthy participants. ***Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 59-65***

Keywords: balance, Nintendo Wii, Wii balance board, single leg balance test

ความสัมพันธ์ของการประเมินการทรงตัวด้วย นินเท็นโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ด กับการทดสอบการยืนบนขาข้างเดียว

สรายุทธ มงคล* ขนิษฐา วงศ์ลังกา เดียนา วิเชียรสว่าง
ธัญญา ศรีณยานุรักษ์ อัยชนะห์ แอลมาบุริก

สาขากายภาพบำบัด สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

* ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: grn_pt15@hotmail.com)

บทคัดย่อ

เครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ด สามารถใช้ประเมินการทรงตัวเหมือนกับการทดสอบการยืนบนขาข้างเดียว (Single leg balance test) ได้ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ของการประเมินการทรงตัวของร่างกายโดยใช้เครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ดกับการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว โดยอาสาสมัครประกอบด้วยผู้ที่มีสุขภาพดีอายุ 18-25 ปี จำนวน 120 คน อาสาสมัครเข้ารับการประเมินความสามารถในการทรงตัว ด้วยเครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ด และประเมินการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว ผลการศึกษาพบความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทรงตัวด้วยเครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ด กับการทดสอบด้วยการยืนบนขาข้างเดียวขณะลืมตาพบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.21 มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก อยู่ในระดับต่ำ และร้อยละของความสามารถในการทรงตัวด้วยเครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ดกับการยืนบนขาข้างเดียวขณะหลับตา พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.14 มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก อยู่ในระดับต่ำ ดังนั้นเครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ด ไม่สามารถใช้ประเมินการทรงตัวแทนการทดสอบด้วยการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวในกลุ่มคนสุขภาพดีอายุ 18-25 ปี ได้ *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 59-65*

คำหรัส: การทรงตัว นินเท็นโดวี วิบาลานซ์บอร์ด การยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว

บทนำ

การทรงตัวหมายถึงความสามารถในการรักษาตำแหน่งของร่างกายได้อย่างสมดุล ทั้งในขณะที่อยู่กับที่และมีการเคลื่อนไหว เป็นกระบวนการของร่างกายในการควบคุมตำแหน่งจุดศูนย์ถ่วงให้อยู่ในฐานรองรับ ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของร่างกายอย่างประสานสัมพันธ์กันในทุกระบบ เช่น ระบบกล้ามเนื้อ ระบบประสาท ระบบการมองเห็น ระบบการรับรู้บริเวณข้อต่อ และระบบการทรงตัวของหูชั้นใน¹ ถือได้ว่าการทรงตัวมีความจำเป็นในการดำเนินชีวิตประจำวันมาก ในทางคลินิกจึงให้ความสำคัญต่อการคัดค้นเครื่องมือประเมินความสามารถในการทรงตัว เช่น การทดสอบ tinetti

การทดสอบ gait and balance การทดสอบด้วย functional reach test การทดสอบด้วยการเดิน Time's up & go test การทดสอบ dynamic gait index การทดสอบ Berg balance scale และการทดสอบการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว (Single leg balance test) เป็นต้น² นอกจากนี้ ยังมีอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์อีกชนิดหนึ่งที่มีความนิยมอย่างสูงนั่นคือ force platform เนื่องจากสามารถวัดผลของการป้อนข้อมูลทางชีวภาพย้อนกลับได้ แต่ก็เป็นเครื่องมือที่มีราคาแพง ไม่สะดวกในการพกพาเคลื่อนย้าย และยากต่อการติดตั้งในคลินิก ซึ่งในปัจจุบันยังมีอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์อีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากมี

ราคาถูก สะดวกในการพกพาและสามารถวัดผลของการป้อนข้อมูลทางชีวภาพย้อนกลับได้เช่นกัน นั่นคือ นินเท็นโดวีร่วมกับอุปกรณ์เสริมที่เรียกว่า “วียาลานซ์บอร์ด (Wii balance board)” โดยใช้โปรแกรมทดสอบที่เรียกว่า “body test”³⁻⁴ โปรแกรมที่ใช้ทดสอบนี้สามารถวัดการทรงตัวบนขาข้างเดียว ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับการทดสอบการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว โดยที่การยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวถือเป็นหนึ่งในเครื่องมือทดสอบการทรงตัวที่มีมาตรฐาน รวมทั้งมีความเที่ยงตรงและความน่าเชื่อถือในการใช้ประเมินการทรงตัวในท่ายืน⁵ ทำให้ได้รับความนิยมอย่างสูง และใช้งานกันอย่างแพร่หลายในทุกช่วงอายุ แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ด กับการประเมินด้วยการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว

หากการใช้เครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ดมีความสัมพันธ์ในการประเมินการทรงตัว นินเท็นโดวีก็จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้ประเมินการทรงตัวทางคลินิกได้ โดยสามารถประยุกต์ใช้ได้ทั้งในกลุ่มของเด็ก ผู้สูงอายุ นักกีฬา และบุคคลทั่วไป ที่สนใจในการประเมินความสามารถในการทรงตัว ซึ่งเครื่องมือดังกล่าวสะดวกในการพกพา ราคาไม่แพง และง่ายต่อการติดตั้ง ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการประเมินการทรงตัวของร่างกาย โดยใช้เครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ดกับการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว

วัตถุประสงค์และวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

อาสาสมัครประกอบด้วยกลุ่มผู้ที่มีสุขภาพดี เพศชายและหญิง อายุระหว่าง 18-25 ปี จำนวน 120 คน และไม่มีประสบการณ์การใช้วียาลานซ์บอร์ด โดยมีเกณฑ์คัดออกได้แก่ ผู้ที่มีปัญหากระดูกข้อต่อหรือกล้ามเนื้อที่ส่งผลกระทบต่อระบบการทรงตัว ผู้ที่มีปัญหากระดูกข้อต่อ ผู้ที่มีความผิดปกติทางด้านการสื่อสาร การมองเห็น หรือการรับรู้ความเข้าใจ และผู้ที่มีประวัติการบาดเจ็บหรือเป็นโรคที่มีผลต่อของร่างกาย และขา ที่เป็นอุปสรรคต่อการเก็บข้อมูล เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบด้วย แบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคล นินเท็นโดวี วียาลานซ์บอร์ด โปรแกรม Wii Fit ของบริษัท Nintendo รุ่น Nintendo Wii โทรทัศน์ และนาฬิกาจับเวลา

2. วิธีการศึกษา

การศึกษานี้ผ่านการรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ ของสำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่

ฟ้าหลวง โดยขั้นตอนการวิจัยประกอบด้วย อาสาสมัครที่มีความสนใจเข้าร่วมงานวิจัยลงลายมือชื่อแสดงความยินยอมตอบแบบสอบถาม และผู้ที่ผ่านการคัดเลือกตามเกณฑ์คัดเข้าและเกณฑ์คัดออก จะได้รับการชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง หลังจากนั้นทดสอบความสามารถในการทรงตัวด้วยเครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ด และการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว ขณะลืมนตา และขณะหลับตาตามลำดับ

การประเมินทรงตัวด้วยเครื่องนินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ด

ประเมินโดยใช้นินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ดของบริษัท Nintendo รุ่น Nintendo Wii ซึ่งผลิตจากประเทศญี่ปุ่น โดยผู้ทำวิจัยคนที่ 1 สาธิตการประเมินโดยใช้นินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ดให้อาสาสมัครดูก่อน 1 ครั้ง แบ่งการประเมินดังนี้ เลือกการประเมินโดยเข้าที่เมนู body test กรอก วัน เดือน ปี เกิด ส่วนสูงของอาสาสมัคร จากนั้นอาสาสมัครขึ้นยืนบนวียาลานซ์บอร์ด เครื่องจะคำนวณร้อยละของการลงน้ำหนักของขาแต่ละข้างทั้งซ้ายและขวาน้ำหนักตัว และหาค่าดัชนีมวลกาย โดยเครื่องแสดงผลการลงน้ำหนักของขาทั้งสองข้างมีหน่วยเป็นร้อยละ น้ำหนักมีหน่วยเป็นปอนด์ และค่าดัชนีมวลกายมีหน่วยเป็นปอนด์ต่อตารางฟุต หลังจากนั้นเป็นการประเมินความสมดุลด้วยการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว โดยให้อาสาสมัครวางขาข้างที่ถนัดไว้ที่จุดกึ่งกลางของวียาลานซ์บอร์ด และพยายามคงจุดลงน้ำหนักให้อยู่ตรงกลางเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 30 วินาที เพื่อใช้ประเมินร้อยละของความสามารถที่จะยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวในตำแหน่งโดยไม่มีเกร็งหรือล้า ผลที่ได้จะแสดงเวลาที่สามารถยืนทรงตัวได้มีหน่วยเป็นวินาทีและร้อยละของความสามารถในการทรงตัวด้วยนินเท็นโดวีร่วมกับวียาลานซ์บอร์ด ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง และนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

การยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะลืมนตา และขณะหลับตา

การทดสอบการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว โดยผู้ทำวิจัยคนที่ 2 เป็นผู้จับเวลาที่อาสาสมัครสามารถทำได้ เมื่อให้ทดสอบยืนบนขาข้างเดียวและลืมนตาก่อน หลังจากนั้นจึงทดสอบยืนบนขาข้างเดียวและหลับตา ซึ่งก่อนการทดสอบจริงจะมีการซักซ้อมการยืนขาเดียวก่อน จำนวน 2 ครั้ง เพื่อความคุ้นเคย โดยให้ผู้เข้าร่วมวิจัยถอดรองเท้า ยืนบนขาทั้งสองข้าง ตามองตรงไปด้านหน้า วางมือทั้งสองข้างที่ไหล่ด้านตรงข้าม (มือซ้ายที่ไหล่ขวา มือขวาที่ไหล่ซ้าย) จากนั้นให้นินเท็นโดวียืนบนขาข้างที่จะทดสอบโดยยกขาอีกข้างขึ้นจากพื้น และห้ามนำขามาแตะกัน รักษาการทรงตัวให้นานที่สุดเท่าที่จะ

ทำได้ ทำ 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งของการทดสอบ ต้องห่างกันอย่างน้อยเป็นเวลา 3 นาที และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยโดยอ้างอิงการทดสอบจากการศึกษาของ Michikawa และ คณะในปี 2009⁵ โดยการทดสอบความน่าเชื่อถือของผู้วัดอยู่ในระดับ 0.97

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการวิเคราะห์ข้อมูลในครั้งนี้ ใช้สถิติในเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) ในการอธิบายเกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐาน และใช้ Pearson's correlation coefficient ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว และร้อยละของความสามารถในการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวด้วยวิบาลานซ์บอร์ด ($p < 0.05$)

ผลการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้มีอาสาสมัครเข้าร่วมจำนวน 141 คน จากการคัดเลือกตามเกณฑ์คัดเข้าและคัดออก คงเหลืออาสาสมัครจำนวนทั้งสิ้น 120 คน มีอาสาสมัครออกจาก

การศึกษาทั้งสิ้น 21 คน เนื่องจากอาสาสมัครยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวไม่ได้และไม่มาตามเวลาที่นัดหมาย อาสาสมัครทุกคนตอบแบบสอบถาม ทำการทดสอบความสามารถในการทรงตัวโดยเครื่องนินเทนโดวีร่วมกับวิบาลานซ์บอร์ด และการทดสอบการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวทั้งขณะลืมตาและขณะหลับตา โดยอาสาสมัครทั้งหมดมีอายุเฉลี่ย 20.66 ± 1.38 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 56.09 ± 11.78 กิโลกรัม ส่วนสูงเฉลี่ย 1.63 ± 0.07 เมตร สำหรับค่าดัชนีมวลกายพบว่า อาสาสมัครมีค่าดัชนีมวลกายเฉลี่ย 20.97 ± 3.73 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ปกติ และจำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดประกอบด้วยเพศชายจำนวน 28 คน (ร้อยละ 23.33) และเพศหญิงจำนวน 92 คน (ร้อยละ 76.67) อาสาสมัครถนัดขาข้างขวามากกว่าขาข้างซ้าย โดยผู้ที่ถนัดขาข้างซ้ายมีจำนวน 17 คน (ร้อยละ 14.17) และถนัดขาขวามีจำนวน 103 คน (ร้อยละ 85.83) ดังตารางที่ 1

จากตารางที่ 2 ในจำนวนอาสาสมัครทั้งสิ้น 120 คน พบว่า ความสามารถในการทรงตัวด้วยเครื่องวิบาลานซ์บอร์ดมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 74.36 ± 10.29 เวลาในการ

Table 1 Subject's demographic data (n=120)

Variables	Mean $\pm$ standard deviation	Number of subject (persons)
Age (Year)	20.6 ± 1.38	-
Weight (Kilogram)	56.09 ± 11.78	-
Height (Meter)	1.63 ± 0.07	-
Body mass index (kg/m^2)	20.97 ± 3.73	-
Gender (Male/Female)	-	28/92
Dominant leg (Left/Right)	-	17/103

Table 2 Result of Nintendo Wii with Wii balance board test, eyes open Single leg standing test, and eyes close Single leg standing test

Test	Mean $\pm$ standard deviation
Nintendo Wii with Wii balance board test (%)	74.36 ± 10.29
Eyes open Single leg balance test (second)	71.22 ± 51.67
Eyes close Single leg balance test (second)	11.51 ± 10.29

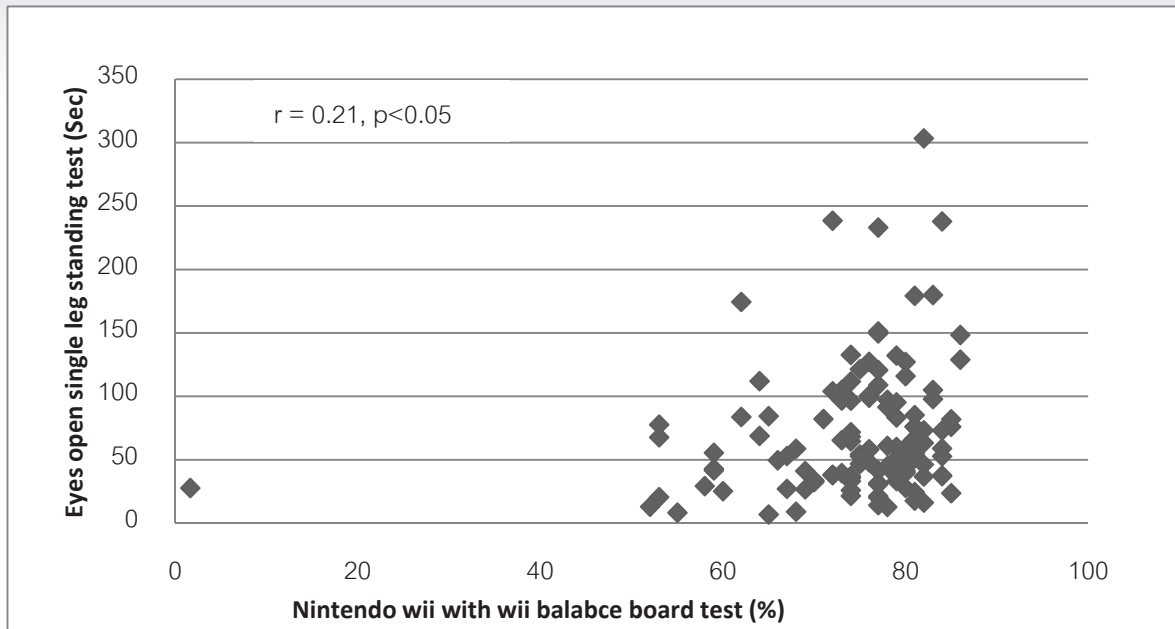


Figure 1 Correlation of Nintendo Wii with Wii balance board test and eyes open Single leg standing test

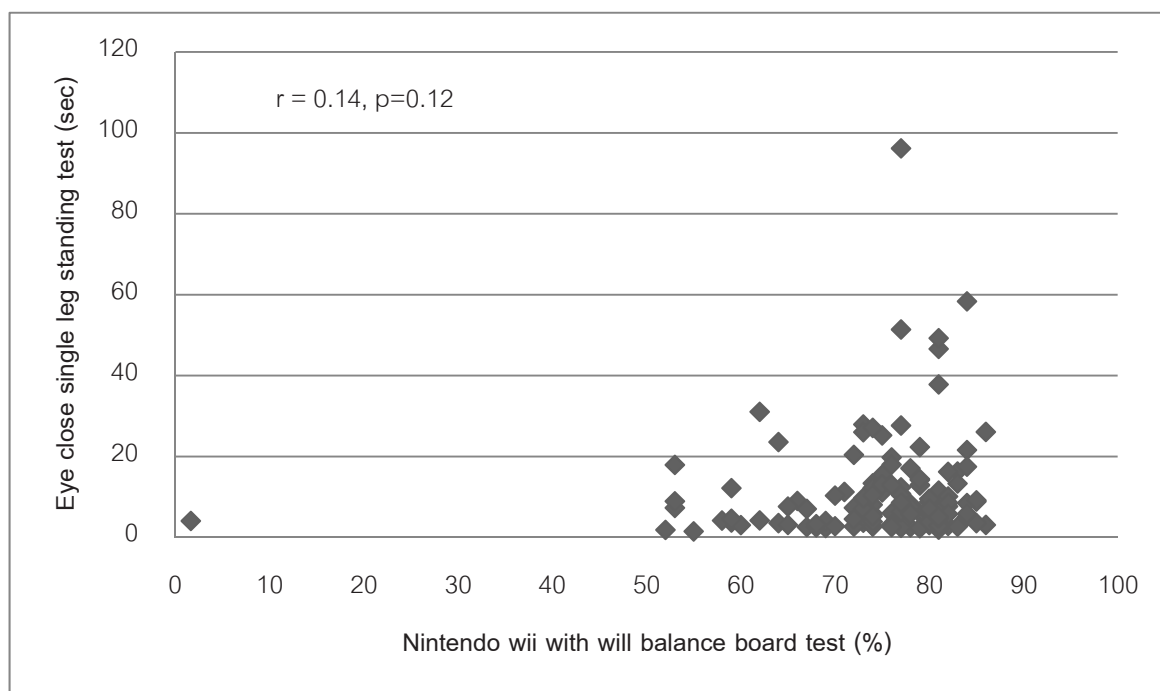


Figure 2 Correlation of Nintendo Wii with Wii balance board test and eyes close Single leg standing test

ยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะลืมตามีค่าเฉลี่ย 71.22 ± 51.67 วินาที ในขณะที่เวลาในการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะหลับตามีค่าเฉลี่ย 11.51 ± 10.29 วินาที

จากรูปที่ 1 และ 2 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของความสามารถในการทรงตัวด้วยเครื่องวีบาลานซ์บอร์ด กับเวลาในการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะลืมตา และเวลาในการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะหลับตา พบว่าระหว่างร้อยละของความสามารถในการทรงตัวด้วยเครื่อง

วีบาลานซ์บอร์ดกับเวลาการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะลืมตา มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.21 ($p < 0.05$) มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกในระดับต่ำ ($r = 0.21$) คือเมื่อร้อยละของความสามารถในการทรงตัวด้วยเครื่องวีบาลานซ์บอร์ดเพิ่มขึ้น ระยะเวลาในการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะลืมตาจะเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์กันในเชิงบวกอยู่ในระดับปานกลาง ระหว่างการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะลืมตากับการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวขณะหลับตา มีค่า

เอกสารอ้างอิง

1. Gulsatitporn S. Physical therapy in geriatrics. Bangkok: Offset Press; 2006 (in Thai).
2. Emery AC, Cassidy DJ, Klassen PT, Rosychuk JR, Rowe HB. Development of a clinical static and dynamic standing balance measurement tool appropriate for use in adolescents. The American Physical Therapy Association. 2005; 85:502-14.
3. Nintendo®. Wii Fit plus [Internet]. 2011. [Updated 2011 Oct; cited 2012 Oct 7]. Available from: <http://www.Wiifit.com/body-test>.
4. Clark RA, Bryant AL, Pua Y, McCrory P, Bennell K, Hunt M. Validity and reliability of the Nintendo Wii balance board for assessment of standing balance. Gait and Posture. 2010; 31: 307-10.
5. Michikawa T, Nishiwaki Y, Takebayashi T, Toyama Y. One-leg standing test for elderly populations. Journal of Orthopaedic Science. 2009; 14(5): 675-85.
6. Wikstrom E. Validating Wii Fit balance scores. Athletic Training. 2010; 43(5): 524.
7. Lee YJ, Park J, Lee D, Roh H. The effect of exercising on unstable surfaces on the balance ability of stroke patients. Physical Therapy Science. 2011; 23: 789-92.
8. Allan LA, Frank SJ, Carpenter GM, Peysar WG. Postural control is scaled to level of postural threat. Gait and Posture. 2000; 12: 87-93.
9. Springer AB, Marin R, Cyhan T, Robert H, Gill WN. Normative values for the unipedal stance test with eyes open and closed. Geriatric Physical Therapy. 2007; 30: 1-8.
10. Balogun JA, Ajayi LO, Alawale F. Determinant of single limb stance balance performance. Medicine and Medical Sciences. 1997; 26: 153-7.
11. Michikawa K, Nishiwaki Y, Takebayashi T, Toyama Y. One-leg standing test for elderly populations. Orthopaedic Science. 2009; 14: 675-85.
12. Suputtitada A. The assessment of balance and risk of falls by special techniques. Fall in Elderly: Biomedical Approach. 2010. p. 18 (in Thai).

The effect of balance training by program Wii Fit with Nintendo Wii and Wii balance board in female obese people

Sarayoot Mongkol^{*} Kanisorn Youngpaknam
Bundit Khunsuwan Pennapa Supinchompu Sujinda Bunpeng

Department of Physical Therapy, School of Health Sciences, Mae Fah Luang University

^{*} Corresponding author (Email: grn_pt15@hotmail.com)

Abstract

Nowadays, obesity is a problem in many countries, even in Thailand. Obese people tend to have a greater risk of falling in comparison to people who are not obese. The purpose of this study was to evaluate the effects of balance training by the use of Nintendo Wii and Wii balance board in obese females. This study used the Single leg standing test (SLS) and Timed up & go test (TUG) to inspect and help improve the balance of such females. Fifteen obese female students from Mae Fah Luang University were included in the study. Their average body mass index was $29.15 \pm 3.44 \text{ kg/m}^2$ and their average age was 20.57 ± 1.34 years. Before training, the participants attained an average score of 15.79 ± 5.01 in the SLS test and 7.00 ± 0.88 seconds in the TUG test. Participants were trained by the Nintendo Wii for 3 days in a week. Post-test results after 4-weeks of training were 29.36 ± 6.63 in the SLS test and 5.71 ± 0.11 seconds in the TUG test. Paired t-test was used compare both pre and post test scores, resulting in a significant difference between pretest and posttest in SLS and TUG tests. This study also helped to support the idea of using Nintendo Wii and Wii balance for training balance in obese people who have problems with balance. ***Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 66-71***

Keywords: balance, obesity, Nintendo Wii, Wii balance board

ผลการฝึกการทรงตัวโดยใช้โปรแกรม Wii Fit ร่วมกับ Nintendo Wii และ Wii Balance Board ในคนอ้วนเพศหญิง

สรายุธ มงคล* คณิศร ยังปากน้ำ บัณฑิต ชันธุ์สุวรรณ
เพ็ญนภา สุปิ่นชมภู สุจินดา บุญเพ็ง

สาขาวิชากายภาพบำบัด สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: grn_pt15@hotmail.com)

บทคัดย่อ

ปัจจุบันโรคอ้วนเป็นปัญหาทางสาธารณสุขในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย เนื่องจากคนอ้วนมีความเสี่ยงต่อการหกล้มมากกว่าคนปกติ การศึกษานี้จึงต้องการศึกษาผลของการฝึกความสมดุลในการทรงตัวของร่างกายโดยใช้ Nintendo Wii ร่วมกับ Wii balance board โดยใช้แบบประเมิน Time's up & go test (TUG) และ Single leg standing test (SLS) ในคนอ้วนเพศหญิง อาสาสมัครเป็นนักศึกษาหญิง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงจำนวน 15 คน มีดัชนีมวลกายเฉลี่ย 29.15 ± 3.44 กิโลกรัม/เมตร² อายุเฉลี่ย 20.57 ± 1.34 ปี ก่อนการฝึกอาสาสมัครได้รับการประเมินความสามารถในการทรงตัวโดยใช้แบบประเมิน SLS คะแนนเฉลี่ยอยู่ที่ 15.79 ± 5.01 วินาที และ TUG คะแนนเฉลี่ย 7.00 ± 0.88 วินาที จากนั้นอาสาสมัครได้รับการฝึกการทรงตัวด้วยโปรแกรม Wii fit ฝึกการทรงตัวจำนวน 3 วันต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และเข้ารับการประเมินหลังการฝึกด้วย TUG มีคะแนนเฉลี่ย 5.71 ± 0.11 วินาที และ SLS มีคะแนนเฉลี่ย 29.36 ± 6.63 วินาที และเมื่อใช้สถิติ Paired t-test วิเคราะห์ผลการศึกษพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเชิงสถิติ ก่อนและหลังการฝึกด้วยโปรแกรมการทรงตัว ดังนั้นการฝึกความสมดุลในการทรงตัวของร่างกายโดยใช้ Nintendo Wii ร่วมกับ Wii balance board สามารถเพิ่มความสามารถในการทรงตัวได้ *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 66-71*

คำรหัส ความสมดุล คนอ้วน นินเทนโดวี วิบาลานซ์บอร์ด

บทนำ

ความสมดุลในการทรงตัวของร่างกาย คือ ความสามารถในการควบคุมร่างกายให้อยู่ในแนวตั้งตรง และการที่จุดศูนย์ถ่วงหรือจุดที่น้ำหนักจากทุกส่วนของร่างกายรวมกัน (center of gravity) ตั้งฉากต่อฐานที่รองรับ (base of support) มีผลรวมของแรงกระทำในทุกทิศทางมีค่าเท่ากับศูนย์¹ ซึ่งความสมดุลในการทรงตัวของร่างกายเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเคลื่อนไหวในชีวิตประจำวัน การทรงตัวต้องอาศัยการประสานงานระหว่างสมอง ระบบหูชั้นใน การมองเห็น และการรับรู้ของข้อต่อและกล้ามเนื้อ สาเหตุที่ส่งผลกระทบต่อการเสียสมดุลของร่างกาย เนื่องมาจาก ระบบประสาท

ระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ และลักษณะทางชีวกลศาสตร์ของร่างกายผิดปกติ ซึ่งพบได้ในคนอ้วน หรือผู้ที่มีน้ำหนักตัวเกินมาตรฐาน² เนื่องจากร่างกายมีภาวะไขมันสะสมตามร่างกายมากเกินไป และในปัจจุบันโรคอ้วนเป็นปัญหาสุขภาพในหลายประเทศทั่วโลกโดยเฉพาะประเทศที่พัฒนาแล้ว เนื่องจากการใช้ชีวิตและลักษณะการบริโภคอาหารที่เปลี่ยนไป มีเวลาในการออกกำลังกายน้อยลงทำให้ไขมันสะสมในร่างกายมากกว่าคนปกติ โดยเฉพาะบริเวณหน้าท้อง เป็นผลให้จุดศูนย์ถ่วงของร่างกายเปลี่ยนไป ทำให้ความสมดุลในการทรงตัวของร่างกายลดลงและเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อ

การล้ม³ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าวัยกลางคนจนถึงผู้สูงอายุที่มีภาวะโรคอ้วนมีปัจจัยเสี่ยงต่อการล้มมากกว่าผู้สูงอายุสุขภาพดี⁴ พร้อมทั้งคุณภาพชีวิตของผู้สูงอายุที่มีภาวะอ้วนจะต่ำกว่าผู้สูงอายุที่สุขภาพดี เพราะในคนอ้วนมีการทำงานในเชิงกายภาพน้อยกว่าคนสุขภาพดี

การออกกำลังกายเพื่อเพิ่มการทรงตัวมีหลายประเภท เช่น การนั่งทรงตัวบนลูกบอล การเดินบนพื้นนุ่มและแข็ง การฝึกยืนลงน้ำหนัก การทรงตัวบนขาเดียว หรือแม้แต่การใช้อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ที่เรียกว่า Nintendo Wii ซึ่ง Nintendo Wii⁵ มีอุปกรณ์เสริมที่สามารถช่วยเพิ่มความสะดวกในการทรงตัวของร่างกายที่เรียกว่า Wii balance board เป็นแท่นยืนออกกำลังกายสำหรับฝึกการทรงตัวของร่างกาย รวมทั้ง Wii balance board มีซอฟต์แวร์ เรียกว่า Wii fit เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ร่วมกับ Wii balance board โดย Wii fit ประกอบด้วยเกมและโปรแกรมออกกำลังกายในลักษณะต่าง ๆ ทั้งการเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ การเพิ่มการไหลเวียนโลหิตที่สำคัญที่สุดคือ การเพิ่มการทรงตัวของร่างกาย⁶ ทางผู้วิจัยจึงเล็งเห็นว่า Nintendo Wii เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจประยุกต์ใช้ในการออกกำลังกายเพื่อเพิ่มการทรงตัว พร้อมทั้ง Nintendo Wii สามารถสร้างความสนุกสนานพร้อมกับการออกกำลังกาย ทำให้การออกกำลังกายนั้นเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ และนำไปสู่แนวทางในการป้องกันและลดปัจจัยเสี่ยงต่อการล้มในคนอ้วน ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการฝึกการทรงตัวโดยใช้โปรแกรม Wii fit ร่วมกับ Nintendo Wii และ Wii balance board ในคนอ้วนเพศหญิง

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

อาสาสมัครประกอบด้วยคนอ้วนเพศหญิงจำนวน 15 คน ช่วงอายุระหว่าง 18-23 ปี มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 25 กิโลกรัม/เมตร² ไม่มีประสบการณ์การใช้ Wii balance board ไม่เคยออกกำลังกายเพื่อเพิ่มการทรงตัว เช่น โยคะและไม่เคยออกกำลังกายเพื่อเพิ่มมวลของกล้ามเนื้อ เช่น การยกน้ำหนัก เป็นต้น สำหรับอาสาสมัครที่น้ำหนักตัวมากกว่า 150 กิโลกรัม หรือ มีภาวะเจ็บป่วยหรืออาการและอาการแสดง ของโรคทางระบบประสาท ความผิดปกติทางด้านการสื่อสาร การมองเห็นหรือการรับรู้ความเข้าใจ มีการบาดเจ็บหรือเป็นโรคที่มีผลต่อของรยางค์แขน และขา เช่น อาการปวดข้อ จำกัดช่วงการเคลื่อนไหว ของมือ เท้า และเข่า ในระดับที่เป็นอุปสรรคต่อการเก็บข้อมูล ถูกคัดออกจากการศึกษาครั้งนี้ โดยเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูลในครั้งนี้

ประกอบด้วย แบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคล แบบประเมิน Time's up & go test และ Single leg standing test และโปรแกรม Wii fit ซึ่งทำงานร่วมกับ เครื่อง Nintendo Wii และ Wii balance board

2. วิธีการศึกษา

การศึกษานี้ผ่านการรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ของสำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อาสาสมัครที่เข้าร่วมงานวิจัยลงลายมือชื่อแสดงความยินยอม ตอบแบบสอบถามและตอบคำถามที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยและอาสาสมัครทำการชั่งน้ำหนักและวัดส่วนสูง นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าดัชนีมวลกายจากสูตร “ดัชนีมวลกาย = น้ำหนัก (กิโลกรัม)/ส่วนสูง (เมตร)²” อาสาสมัครรับการประเมินการทรงตัวด้วยขั้นตอนที่เหมือนกันทุกขั้นตอน โดยใช้การประเมินทั้งสิ้น 2 การทดสอบ

2.1 การทดสอบความสามารถในการทรงตัว โดยใช้ Time's up & go test

ผู้วิจัยคนที่ 1 ให้อาสาสมัครนั่งเก้าอี้ แขนวางบนที่พนักแขนของเก้าอี้ หลังติดกับพนักพิง เมื่อได้ยินสัญญาณให้ลุกขึ้นยืน และเดินเป็นระยะ 3 เมตร จากนั้นหมุนตัว เดินกลับมานั่งเก้าอี้ ผู้วิจัยจับเวลาตั้งแต่ให้สัญญาณให้ลุกขึ้น จนกระทั่งอาสาสมัครกลับมานั่งเก้าอี้หลังแตะกับพนักพิง โดยให้อาสาสมัครทำการฝึกซ้อมก่อน 1 ครั้ง อาสาสมัครทดสอบและผู้วิจัยบันทึกผลทำซ้ำ 3 ครั้ง และเลือกครั้งที่ดีที่สุดมาใช้ในการวิเคราะห์ผล โดยอ้างอิงการทดสอบจากการศึกษาของ Wall และ คณะในปี 2000⁷ โดยการทดสอบความน่าเชื่อถือของผู้วัดอยู่ในระดับ 0.96

2.2 การทดสอบการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียว (single leg standing test)

ผู้วิจัยคนที่ 2 ชี้แจงวิธีการประเมินและสาธิตวิธีการให้กับอาสาสมัคร โดยถอดรองเท้า ยืนบนขาทั้งสองข้างวางมือทั้งสองข้างที่ไหลด้านตรงข้าม (มือซ้ายวางที่ไหลขวา มือขวาวางที่ไหลซ้าย) ยืนขาเดียวบนขาข้างที่ทดสอบ โดยยกขาอีกข้างขึ้นจากพื้น ห้ามนำเข่ามาแตะกัน สมองตรงไปด้านหน้า โดยเพ่งไปยังจุดใดจุดหนึ่งด้านหน้าประมาณ 3 ฟุตรักษาการทรงตัวให้นานที่สุดเท่าที่จะทำได้ ให้อาสาสมัครทำการฝึกซ้อมก่อน 1 ครั้ง อาสาสมัครทดสอบและผู้วิจัยบันทึกผลทำซ้ำ 3 ครั้ง และเลือกครั้งที่ดีที่สุดมาใช้ในการวิเคราะห์ผล โดยอ้างอิงการทดสอบจากการศึกษาของ Michikawa และ คณะในปี 2009⁸ โดยการทดสอบความน่าเชื่อถือของผู้วัดอยู่ในระดับ 0.97

โปรแกรมการฝึกการทรงตัวของร่างกายประกอบ

ด้วย ท่าโยคะซึ่งอยู่ในโปรแกรม Wii fit จะทำงานร่วมกับเครื่อง Nintendo Wii และ Wii balance Board ประกอบด้วยท่าโยคะ 3 ท่า คือ ท่าพระจันทร์เสี้ยว (half moon) ยืนตัวตรงยืดแขนขึ้นสูงเหนือศีรษะ ค่อยๆ เอนตัวไปทางซ้าย ค้างไว้สลับข้างทำท่านี้อีกครั้ง ท่านักรบ (warrior) ยืนตัวตรงแยกขาห่างกันพอประมาณ แล้วย่อตัวลงหรือย่อเข่าขวาลง 90 องศาจนสะโพกอยู่ในระดับหัวเข่า ลำตัวตรง กางแขนทั้งสองข้างให้ขนานกับพื้น บิดหน้าไปด้านขวา สลับเท้าทำท่านี้อีกครั้ง และท่าต้นไม้ (tree) ยืนตรง จากนั้นย่อเข่าขวา โดยใช้มือจับข้อเท้าขวาให้ฝ่าเท้าขวาติดด้านในของต้นขาซ้าย นิ้วเท้าขวาชี้ลงพื้นยืนทรงตัวด้วยขาข้างซ้าย ยกมือขึ้นเหนือศีรษะหรือพนมมือแล้ว ยกขึ้นเหนือศีรษะ สลับเท้าทำท่านี้อีกครั้ง ใช้เวลาในการฝึกท่าละ 5 นาที รวม 3 ท่า เวลาทั้งสิ้น 15 นาที อาสาสมัครมารับการฝึก 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากครบโปรแกรมการฝึก อาสาสมัครทุกคนเข้ารับการประเมินการทรงตัวอีกครั้งด้วยแบบประเมิน Time's up & go test และแบบประเมิน Single leg standing test ซึ่งนัดให้อาสาสมัครเข้ารับการประเมินในวันถัดไปจากวันที่ฝึกวันสุดท้าย และนำค่าที่วัดได้ไปเปรียบเทียบผลของการฝึกมาก่อนและหลังการฝึกด้วยโปรแกรมฝึกการทรงตัวในการศึกษาค้างนี้

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ของอาสาสมัคร โดยเมื่อทดสอบทาง

สถิติพบว่าข้อมูลของการศึกษาค้างนี้มีการกระจายตัวปกติ จึงใช้สถิติ paired t-test เพื่อเปรียบเทียบผลของการฝึกด้วยโปรแกรมการทรงตัวระหว่างก่อนและหลังการฝึก

ผลการศึกษา

ผลของการฝึกการทรงตัวของร่างกายโดยใช้โปรแกรม Wii fit ซึ่งทำงานร่วมกับเครื่อง Nintendo Wii และ Wii balance board ในคนอ้วนเพศหญิง จำนวนทั้งสิ้น 15 คน แต่มีอาสาสมัครเข้าร่วมโปรแกรมจนครบระยะเวลาจำนวน 14 คน และอาสาสมัคร 1 คน ไม่สามารถเข้าร่วมโปรแกรมได้ครบ จึงถูกคัดออกจากการวิจัยในครั้งนี้ ข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมการศึกษาพบว่าอาสาสมัครมีอายุเฉลี่ย 20.57 ± 1.34 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 76.07 ± 9.76 กิโลกรัม ส่วนสูงเฉลี่ย 1.62 ± 0.59 เมตร และค่าดัชนีมวลกายเฉลี่ย 29.15 ± 3.44 กิโลกรัม/เมตร² (ตารางที่ 1) อาสาสมัครทั้ง 14 คน เคยอาสาสมัครที่มีการออกกำลังกาย ประเภทเพิ่มความยืดหยุ่นของร่างกายเช่น โยคะ และมีอาสาสมัคร 2 คน เคยมีประสบการณ์การเล่นเกม Nintendo Wii มาแล้วในอดีต แต่ไม่มีอาสาสมัครคนใดที่มีประวัติการใช้ Wii balance board

การเปรียบเทียบคะแนนของแบบประเมิน Single leg standing test และ Time's up & go test ทั้งก่อนและหลังการฝึก พบว่าคะแนนของ Single leg standing test ก่อนการฝึกมีค่าเฉลี่ย 15.79 ± 5.01 วินาที และหลังการฝึกมีค่าเฉลี่ย 29.36 ± 6.63 วินาที (ตารางที่ 2) โดยมีความแตกต่างอย่างมี

Table 1 Subject's demographic data

Variables	Mean $\pm$ standard deviation	Min-Max
Age (Year)	20.57 ± 1.34	18 - 23
Weight (Kilogram)	76.07 ± 9.76	63 - 92
Height (Meter)	1.62 ± 0.59	1.60 - 1.67
Body mass index (kg/m ²)	29.15 ± 3.44	27.71 - 35.36

Table 2 Result of single leg standing test and time's up & go test before and after training

Balance test	Mean ± standard deviation	p-value
Single leg standing test (Second)		
Before training	15.79 ± 5.01*	0.003
After training	29.36 ± 6.63	
Time's up & go test (Second)		
Before training	7.00 ± 0.88*	0.004
After training	5.71 ± 0.11	

*significant between before and after training; $p < 0.01$

นัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คะแนนเฉลี่ยของแบบประเมิน Time's up & go test ก่อนการฝึกมีค่าเท่ากับ 7.00 ± 0.88 วินาที และหลังการฝึกมีค่าเท่ากับ 5.71 ± 0.11 วินาที โดยผลการทดสอบก่อนและหลังการฝึกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

วิเคราะห์และอภิปรายผลการศึกษา

การศึกษาผลของการฝึกการทรงตัวของร่างกายโดยใช้ โปรแกรม Wii fit ซึ่งทำงานร่วมกับ เครื่อง Nintendo Wii และ Wii balance board ในคนอ้วนเพศหญิง ที่มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่า 25 กิโลกรัม/เมตร² ผลของการฝึกการทรงตัวโดยใช้ โปรแกรม Wii fit ทำงานร่วมกับ Nintendo Wii และ Wii balance board ในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มการทรงตัวของร่างกายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของการประเมินด้วย Single leg standing test และการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการประเมินด้วย Time's up & go test ซึ่งแสดงให้เห็นความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัครทั้งในขณะที่ร่างกายอยู่นิ่ง และขณะที่ร่างกายเคลื่อนไหวดีขึ้น ที่ผ่านมามีการศึกษาถึงผลการฝึกโดยใช้โปรแกรม Wii fit ต่อสมรรถภาพของร่างกาย เช่น น้ำหนัก อัตราการเต้นของหัวใจ และดัชนีมวลกาย ซึ่งพบว่า การฝึกโดยใช้โปรแกรม Wii fit อาสาสมัครมีอัตราการเพิ่มขึ้นของสมรรถภาพทางกาย⁹ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และยังมีอีกหนึ่งการศึกษาของ Amanda และคณะ มีผลของการศึกษาไปในทิศทางเดียวกัน ได้ศึกษาการใช้โปรแกรม Wii fit เพื่อดูผลของการเข้าสังคม การใช้ชีวิตประจำวัน และศักยภาพทางปัญญาในกลุ่มของนักเรียนที่มีสภาวะอ้วน¹⁰ การศึกษาพบว่า การฝึกโดยใช้เกมสมาซช่วยนั้น ทำให้อาสาสมัครมีความสนุกสนานในการฝึกทำให้มีแรงจูงใจในการออกกำลังกายและทำให้การเข้าสังคมนั้นเป็นเรื่องง่ายขึ้น เมื่ออาสาสมัครมีอาการดีขึ้นหลังจากออกกำลังกายและที่สำคัญทำให้การใช้ชีวิตประจำวันดีขึ้นอีกด้วย ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้และการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการนำเครื่อง Nintendo Wii และ Wii balance board มาประยุกต์ใช้กับการออกกำลังกายนั้น นอกจากได้ทั้งความสนุกสนาน แรงจูงใจในการออกกำลังกาย ยังทำให้มีสุขภาพที่ดีขึ้นตามมา

จากข้อมูลคะแนนเฉลี่ยของแบบประเมิน Single leg standing test ก่อนการทดสอบคือ 15.79 ± 5.01 วินาที และ หลังการทดสอบคือ 29.36 ± 6.63 วินาที เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งได้ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคะแนนเฉลี่ยของแบบประเมิน Single leg standing test ในผู้ที่มีสุขภาพดีในช่วงอายุต่าง ๆ¹¹ พบว่า เพศหญิงที่มีช่วงอายุ

ระหว่าง 18-39 ปี มีคะแนน Single leg standing test เฉลี่ยอยู่ที่ 43.50 ± 3.80 วินาที ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าทั้งคะแนนเฉลี่ยของอาสาสมัครก่อนและหลังการทดสอบก็ยังมีคะแนนน้อยกว่า ในงานวิจัยนี้พบว่าคนอ้วนที่มีอายุระหว่าง 18-23 ปี มีคะแนนของแบบประเมิน Single leg standing test ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากในท่าสุดท้ายของวิจัย คือท่าต้นไม้ ต้องการทักษะจากการยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวประมาณ 20 วินาที ซึ่งในช่วงแรกของการทำวิจัย คณะผู้จัดทำวิจัยต้องคอยดูแลอย่างใกล้ชิดเพื่อเพิ่มความมั่นใจให้แก่อาสาสมัครเองด้วย ในช่วงแรกของการทำวิจัยอาสาสมัครทุกคนจะไม่สามารถทรงตัวบนขาข้างเดียวได้จนกระทั่งหมดเวลา แต่เมื่อการฝึกฝนดำเนินไปในอาทิตย์ที่ 2 และ 3 อาสาสมัครทุกคนก็สามารถทำได้ดีขึ้นตามลำดับ และในอาทิตย์สุดท้ายก็สามารถที่จะยืนทรงตัวบนขาข้างเดียวในท่าต้นไม้ ได้จนจบการฝึก

โปรแกรมการฝึกที่ใช้ในวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อเพิ่มความสามารถในการทรงตัวของร่างกายขณะอยู่นิ่ง ทั้ง 3 ท่า โดยแบบประเมิน Single leg standing test เป็นแบบประเมินที่ใช้ในการประเมินความสามารถในการรักษาสสมดุลของการทรงตัวของร่างกายขณะอยู่นิ่ง โดยค่าเฉลี่ยของแบบประเมิน Single leg standing test ที่อาสาสมัครทำได้เปรียบเทียบกับระหว่างก่อนและหลังการทดสอบพบว่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งเป็นผลโดยตรงที่ได้จากการฝึกการรักษาสสมดุลของร่างกายขณะอยู่นิ่ง และการทดสอบ Time's up & go test เป็นแบบประเมินความสามารถในการรักษาสสมดุลของการทรงตัวของร่างกายขณะเคลื่อนไหว งานวิจัยนี้พบว่า มีคะแนนของแบบประเมิน Time's up & go test ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ซึ่งพบว่าหากทำการฝึกการทรงตัวขณะอยู่นิ่ง มีผลทำให้มีความสามารถในการรักษาสสมดุลของร่างกายขณะเคลื่อนไหวเพิ่มตามมา การเพิ่มขึ้นนี้จะสอดคล้องกับแบบประเมิน single leg standing test ในชีวิตประจำวันต้องยกขาข้างเดียวอยู่บ่อยครั้ง เช่น ขณะที่เดินมีช่วงจังหวะของการก้าวขาโดยวงจรของการก้าวขาเกือบทั้งหมดที่ต้องทรงตัวอยู่บนขาอีกข้างหนึ่ง หรือแม้กระทั่งการก้าวขาเพื่อข้ามสิ่งกีดขวางหรือสิ่งของต่าง ๆ ดังนั้นหากมีความสามารถในการรักษาสสมดุลของร่างกายขณะอยู่นิ่งโดยเฉพาะการทรงตัวบนขาข้างเดียวเพิ่มขึ้น จะส่งผลทำให้ควบคุมการทรงตัวได้ดีและลดปัจจัยเสี่ยงต่อการล้มได้ ข้อจำกัดของการศึกษาในครั้งนี้ คือ มีอาสาสมัครที่ได้รับการฝึกโดยใช้ Nintendo Wii ร่วมกับ Wii Balance Board เพียงกลุ่มเดียว หากเพิ่มกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฝึก จะแสดงให้เห็นถึงผลการฝึกด้วย Nintendo Wii ร่วมกับ Wii Balance Board ได้อย่างชัดเจน และการศึกษารุ่นนี้ใช้ระยะเวลาฝึก

เพียง 4 สัปดาห์ ซึ่งการศึกษาต่อไปควรเพิ่มระยะเวลาของการฝึก Nintendo Wii ร่วมกับ Wii Balance Board ให้ยาวนานขึ้น เพื่อศึกษาผลระยะยาวของการฝึก Nintendo Wii ร่วมกับ Wii Balance Board ต่อความสมดุลในการทรงตัวของคนอ้วนต่อไป

การศึกษา

การศึกษาลักษณะของการฝึกความสมดุลในการทรงตัว

ของร่างกายโดยใช้ Nintendo Wii ร่วมกับ Wii balance board ในคนอ้วนเพศหญิง แสดงให้เห็นว่าการฝึกความสมดุลในการทรงตัวของร่างกายโดยใช้ Nintendo Wii ร่วมกับ Wii balance board ในคนอ้วนเพศหญิงที่มีอายุระหว่าง 18-23 ปีนั้นสามารถเพิ่มความสามารถในการทรงตัวของร่างกายทั้งในขณะที่ร่างกายหยุดนิ่ง และเคลื่อนไหวได้ ซึ่งผลของการฝึกนี้สามารถนำไปประกอบการฝึกไปประยุกต์ใช้กับผู้ที่มีน้ำหนักตัวมากและมีปัญหาในด้านของการทรงตัวได้

เอกสารอ้างอิง

1. Boonsiri P. Principles of stability of the balance. Science on the mechanism of the body. Bangkok: O. S. Printing House: 2000; 46-47(in Thai).
2. Fjeldstand C, Fjeldstand AS, Acree LS, Nickel KJ, Gardner AW. The Influence of obesity on falls and quality of life. BioMed Central. 2008; 1-6.
3. Louise S. A modeling investigation of obesity and balance recovery. Virginia Polytechnic Institute and State University. 2008; 1-38.
4. Cameron AJ, Magliano DJ, Dunstan DW, Zimmet PZ, Hesketh K, Peeters A, et al. A bi-directional relationship between obesity and health-related quality of life: evidence from the longitudinal AusDiab study. Macmillan Publishers. 2011; 1-9.
5. Nintendo©. Wii. Wii console. Wii feature. Nintendo of America incorporation. Retrieved August September 3, 2011; from <http://www.nintendo.com/Wii/console/features>.
6. Gill-Gomez J, Lloren R, Alcaniz, Colomer C. Effectiveness of a Wii balance board-based system (eBaViR) for balance rehabilitation: A pilot randomized clinical trial in patients with acquired brain Injury. BioMed Central. 2011; 8(30): 1-9.
7. Wall JC, Bell C, Campbell S, Davis J. The timed get-up-and-go test revisited: measurement of the component tasks. J Rehabil Res Dev. 2000; 37(1): 109-13.
8. Michikawa T, Nishiwaki Y, Takebayashi T, Toyama Y. One-leg standing test for elderly populations. J Orthop Sci. 2009; 14(5): 675-85.
9. Victoria ES. Fitness benefits of the Nintendo Wii fit. California State University, Chico. 2010; 1-73.
10. Amanda ES, Sandra LC. Exergames for physical education courses: physical, social and cognitive benefits. Child Development Perspectives. 2011; 5: 93-8.
11. Barbara AS, Marin R, Cyhan T, Roberts H, Gill NW. Normative values for the unipedal stance test with eyes open and closed. Physical Therapy. 2004; 30: 8-15.

Research article

HBV profile of the occult HBV infection in blood donors
at Maharaj Nakorn Chiang Mai HospitalNipapan Leetrakool^{*} Prajit Tanan Ladda Fongsatitkul

Blood Bank Section, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital Faculty of Medicine, Chiang Mai University 50200

^{*}Corresponding author (E-mail:nleetrak@mail.med.cmu.ac.th)

Abstract

Background: Since August 2008, NAT screening of blood donations by Procleic Ultrio test and Cobas TagScreen MPX test for detection of HIV-1 RNA, HCV RNA and HBV DNA has started at Blood Bank Section, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. A total of 118 HBV NAT-reactive hepatitis B surface antigen (HBsAg) negative donors were detected.

Objective: To study the HBV profile of the HBV DNA reactive donors who were HBsAg negative called occult hepatitis B infection (OBI).

Study Design and Methods: A total of 116,305 HBsAg negative blood donation collected from August 2008 to July 2012 were selected and screened by NAT. All 118 positive HBV DNA was performed for HBV serological markers. There were 73 followed-up blood donors. Determination of HBV DNA and HBV profile were repeated.

Results: Occult hepatitis B infection NAT yield was 1:985 according to 118 positive HBV DNA blood samples. Thirty three (27.96%) donors were negative for all HBV serologic markers and 16 (13.56%) carried both anti-HBc and anti-HBs. Fifty (42.37 %) and 19 (16.10%) samples were reactive for anti-HBc or anti-HBs. The majority of samples (66, 55.93%) showed anti-HBc. Of 118 HBV NAT-yield donors, 73 (61.86 %) were followed-up which found more in male than female. The HBV viral load was lower than 12 IU/ml.

Conclusions: NAT testing in routine blood donor screening can detect HBV DNA in the window period and late stage of infection. It was difficult to detect HBsAg in the low level of HBV DNA blood donors. The decision making for high sensitivity and specificity of the NAT test should be considered for routine testing according to blood transfusion safety. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 72-80*

Keywords: NAT, blood donation, HBV, occult hepatitis B

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจหา HBV profile ในระยะ occult HBV infection ในผู้ป่วยโรคโลหิตของโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่

นิภาพรรณ ลิ้มตระกูล* ไพรจิตร ตานัน ลัดดา ฟองสถิตยกุล

งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: nleetrak@mail.med.cmu.ac.th)

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำเทคโนโลยีการตรวจกรองการติดเชื้อในโลหิตบริจาคโดยวิธี Nucleic Acid Test (NAT) ด้วย Procleic Ultrio test และ Cobas TagScreen MPX test มาใช้ในงานประจำตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 เพื่อหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA, HCV RNA และ HBV DNA พบ HBV DNA ให้ผลบวกโดยที่ hepatitis B surface antigen (HBsAg) ได้ผลเป็นลบ จำนวน 118 ตัวอย่าง

วัตถุประสงค์: ศึกษา HBV profile ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ในผู้บริจาคโลหิตที่ให้ผล HBV DNA เป็นบวกและ HBsAg ให้ผลลบในระยะของการติดเชื้อที่เรียกว่า occult hepatitis B infection (OBI)

แผนการศึกษาและวิธีการ: โลหิตบริจาคระหว่างเดือนสิงหาคม 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม 2555 ที่ HBsAg ให้ผลลบ จำนวนทั้งสิ้น 116,305 ตัวอย่าง มีตัวอย่างเลือดจำนวน 118 ตัวอย่างที่ให้ผลบวก HBV DNA และนำไปทดสอบหา HBV serologic markers มีตัวอย่างติดตามจำนวน 73 ตัวอย่าง นำมาตรวจ HBV DNA และ HBV profile ซ้ำ

ผลการทดสอบ: ตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวก HBV DNA จำนวน 118 ตัวอย่าง คิดเป็นการตรวจพบการติดเชื้อในระยะ occult hepatitis B infection (OBI) เท่ากับ 1: 985 มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 33 ราย (ร้อยละ 27.96) ให้ผล HBV profile เป็นลบ พบ anti-HBc ร่วมกับ anti-HBs จำนวน 16 ราย (ร้อยละ 13.56) ตรวจพบ anti-HBs อย่างเดียวจำนวน 19 ราย (ร้อยละ 16.10) และพบ anti-HBc อย่างเดียวจำนวน 50 ราย (ร้อยละ 42.37) คิดเป็นการพบ anti-HBc จำนวน 66 ราย (ร้อยละ 55.93) มีผู้บริจาคโลหิตที่กลับมาตรวจติดตามจำนวน 73 ราย (ร้อยละ 61.86) เป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิงและพบปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml

สรุป: การนำ NAT มาใช้ในการตรวจกรองโลหิตบริจาคสามารถตรวจพบ HBV DNA ทั้งในระยะแรกและในระยะท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซึ่งผู้บริจาคโลหิตบางรายมีปริมาณของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในกระแสเลือดต่ำมากทำให้ตรวจไม่พบ HBsAg จึงควรพิจารณานำ NAT ที่มีความไวและความจำเพาะสูงมาใช้ในการตรวจกรองโลหิตเพื่อเพิ่มความปลอดภัยแก่ผู้ป่วย *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 72-80*

คำรหัส: NAT, blood donation, HBV, occult hepatitis B

บทนำ

งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้เพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจกรองการติดเชื้อในโลหิตบริจาคให้มีมาตรฐานสากล โดยนำเทคโนโลยีการตรวจด้วยวิธี Nucleic

Acid Test (NAT) มาใช้ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 โดยใช้ NAT assays ของ Procleic Ultrio test ซึ่งเป็นระบบกึ่งอัตโนมัติ eSAS (Chiron, Emeryville, CA) และ Cobas TagScreen MPX test ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Cobas s201 (Roche

Instrument Center, Rotkreuz, Switzerland) เพื่อหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA, HCV RNA และ HBV DNA พร้อมกันในหลอดเดียว โดย Cobas TagScreen MPX test ได้เพิ่มการตรวจหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA กลุ่ม O และ HIV-2 RNA ตัวอย่างเลือดจะถูกแบ่งตรวจสลับวันด้วยน้ำยาแต่ละชนิด โดยตรวจแบบตัวอย่างเดียวด้วย Procleix Ultrio test และตรวจด้วยตัวอย่างรวม 6 ตัวอย่างใน 1 หลอดด้วย Cobas TagScreen MPX test ตัวอย่างเลือดในถุงบรรจุหลอดมาที่ให้ผลบวกด้วยวิธีหนึ่งจะถูกนำไปตรวจซ้ำอีกวิธีหนึ่งสลับกันไปเพื่อยืนยันผลบวกพบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในระยะของการติดเชื้อที่เรียกว่า occult hepatitis B infection (OBI)¹ โดยสามารถตรวจพบ HBV DNA แต่ตรวจไม่พบ HBsAg และอาจจะตรวจพบหรือไม่พบ anti-HBc หรือ anti-HBs² การตรวจพบ HBV DNA อาจพบในระยะแรกเริ่มของการติดเชื้อ (window period) ในระยะท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง (tail-end of chronic HBV infection) หรืออาจตรวจพบ HBV DNA ในระดับต่ำๆ ในระยะฟื้นตัวภายหลังการตรวจพบ anti-HBs หรือการเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เพื่อหลีกเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายหลังการติดเชื้อ หรือจากการที่เคยได้รับวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี ในระยะต่างๆ ที่กล่าวมาจะไม่สามารถตรวจพบ HBsAg ด้วยน้ำยาที่ตรวจด้วยวิธีซีโรโลยีที่ใช้ในปัจจุบัน³ จึงน่าเป็นห่วงว่าผู้บริจาคโลหิตที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ occult hepatitis ที่ไม่ได้ตรวจการติดเชื้อเพิ่มเติมด้วยวิธี NAT สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีไปยังผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาโดยการให้เลือด ส่วนประกอบของเลือดและการได้รับอวัยวะบริจาค^{4,5} โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งองค์การอนามัยโลกยังคงจัดให้อยู่ในกลุ่มที่มีการระบาดของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระดับสูง⁶ จากรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยพบว่าผู้บริจาคโลหิตติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ occult hepatitis เป็นจำนวนมาก หลังจากที่มีการนำ NAT มาใช้ในการตรวจกรองโลหิตในงานประจำวันตั้งแต่ปี พ.ศ.2550^{7,8} การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษา HBV profile ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในผู้บริจาคโลหิตของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนครเชียงใหม่ที่ให้ผล HBV DNA เป็นบวกและ HBsAg ให้ผลลบในระยะของการติดเชื้อที่เรียกว่า occult hepatitis B infection (OBI)

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง HBV DNA ที่ให้ผลบวก

โลหิตบริจาคระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 ดำเนินการเจาะเก็บที่งาน

ธนาคารเลือดและหน่วยเคลื่อนที่ของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนครเชียงใหม่ จำนวน 122,320 ตัวอย่างและผ่านการตรวจกรองการติดเชื้อ anti-HIV1/2, p24 antigen, anti-HCV, HBsAg และ Syphilis ด้วยวิธีซีโรโลยีโดยใช้หลักการ Chemiluminescent micro-particle immunoassay (Architect Abbott, Wiesbaden, Germany) แล้วให้ผลลบจำนวน 116,305 ตัวอย่าง นำไปตรวจหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA, HCV RNA และ HBV DNA ด้วยวิธี NAT ทั้งสองวิธี แบบตัวอย่างเดียวด้วย Procleix Ultrio test ระบบกึ่งอัตโนมัติ eSAS และแบบรวม 6 ตัวอย่างด้วย Cobas TagScreen MPX test ระบบอัตโนมัติ Cobas s201 มีตัวอย่างเลือดจำนวน 118 ตัวอย่างที่ให้ผลบวก HBV DNA

การทดสอบหา HBV profile ในตัวอย่างที่ให้ผลบวก HBV DNA (Index)

ตัวอย่างที่ตรวจพบ HBV DNA จำนวน 118 ตัวอย่างนำไปทดสอบหา HBV profile ด้วย Architect anti-HBc immunoglobulin M (IgM), anti-HBc Immunoglobulin G (IgG), anti-hepatitis B e antigen (anti-HBe) และ anti-hepatitis B surface antigen (anti-HBs) (Architect, Abbott Diagnostics, Sligo, Ireland)

การติดตามติดตาม (follow up) ผู้บริจาคโลหิตที่ให้ผลบวก HBV DNA

ผู้บริจาคโลหิตที่ให้ผลบวก HBV DNA และได้รับการตรวจยืนยันผลบวกแล้วด้วยเครื่อง Cobas AmpliScreen Test ที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย หรือที่ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล จะมีการติดตาม (follow-up) ภายใน 2 สัปดาห์ถึง 1 เดือน และติดตามเป็นระยะภายใน 6 เดือน เพื่อเจาะเก็บตัวอย่างเลือดและตรวจกรองการติดเชื้อซ้ำทั้งวิธีซีโรโลยีที่ใช้ตรวจในงานประจำวันและทดสอบหา HBV DNA แบบตัวอย่างเดียวด้วย Procleix Ultrio test ระบบกึ่งอัตโนมัติ eSAS และ Cobas TagScreen MPX test ระบบอัตโนมัติ Cobas s201 รวมทั้งทดสอบหา HBV profile เช่นเดียวกับตัวอย่างที่เป็น index

ผลการศึกษา

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบตัวอย่างเลือดบริจาคของงานธนาคารเลือดโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนครเชียงใหม่ที่ผ่านการตรวจกรองการติดเชื้อโดยวิธีซีโรโลยีแล้ว ให้ผลเป็นลบและเป็นตัวอย่างเลือดที่ได้รับบริจาคระหว่าง

Table 1 Prevalence of HBV DNA in HBsAg-negative blood donors collected from August 2008 to July 2012 at Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital

Period	Number of donation	HBV DNA-positive	Prevalence of OBI
Aug 2008 - July 2009	27,235	30	1 : 907
Aug 2009 - July 2010	28,575	30	1 : 952
Aug 2010 - July 2011	29,491	27	1 : 1,092
Aug 2011 - July 2012	31,004	31	1 : 1,007
Total	116,305	118	1 : 985

OBI = occult hepatitis B infection

เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 จำนวนทั้งสิ้น 116,305 ตัวอย่าง พบตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวก HBV DNA จำนวน 118 ตัวอย่าง คิดเป็นการตรวจพบการติดเชื้อในระยะ occult hepatitis B infection (OBI) เท่ากับ 1: 985 แบ่งออกเป็นตัวอย่างเลือดที่ได้รับบริจาคระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 จำนวน 27,235 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 30 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ.2552 ถึงเดือนกรกฎาคม 2553 จำนวน 28,575 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 30 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ.2553 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ.2554 จำนวน 29,491 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 27 ตัวอย่างและระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ.2554 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 จำนวน 31,004 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 31 ตัวอย่าง คิดเป็นการตรวจพบการติดเชื้อในระยะ OBI เท่ากับ 1: 907, 1:952, 1:1,092 และ 1:1,007

ตามลำดับ

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจ HBV profile ในตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคโลหิตจำนวน 118 รายที่ตรวจพบ HBV DNA พบว่าตรวจพบโดยวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 74 ราย และตรวจพบโดยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 44 ราย มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 33 ราย (ร้อยละ 27.96) ให้ผล HBV profile เป็นลบ เป็นการตรวจพบโดยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 18 รายและวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 15 ราย ผู้บริจาคโลหิตจำนวน 16 ราย (ร้อยละ 13.56) พบ anti-HBc และ anti-HBs ซึ่งตรวจพบโดยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 6 ราย และวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 10 ราย พบผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจพบ anti-HBc เพียงอย่างเดียวจำนวน 50 ราย (ร้อยละ 42.37) โดยตรวจพบด้วยวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 40 ราย ซึ่งพบมากกว่าวิธี Procleic Ultrio test พบ

Table 2 Serological HBV profile of the 118 HBV DNA-positive blood donors

HBV serology markers	Total number detected (%)	HBV DNA detected by	
		Procleic Ultrio Test: IDT	Cobas TagScreen MPX Test: pool of 6
Negative for all markers	33 (27.96)	18	15
Anti-HBc plus anti-HBs	16 (13.56)	6	10
Anti-HBc only	50 (42.37)	10	40
Anti-HBs only	19 (16.10)	10	9
Total	118 (100.00)	44	74

IDT = Individual-donation testing.

Note: Anti-HBs antibody level of 5.65-72.96 mIU/ml found in 26 donors, 116.44- 441.09 mIU/ml in 7 donors and >1,000 mIU/ml in 2 donors

เพียง 10 ราย และตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวจำนวน 19 ราย (ร้อยละ 16.10) ด้วยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 10 ราย และวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 9 ราย จากผลการศึกษาพบว่าผู้บริจาคโลหิตจำนวน 66 ราย (ร้อยละ 55.93) มีผล anti-HBc เป็นบวก พบ anti-HBs จำนวน 35 ราย ที่มีค่าระหว่าง 5.65-72.96 mIU/ml. จำนวน 26 ราย, มีค่าระหว่าง 116.44-441.09 mIU/ml. จำนวน 7 ราย และมากกว่า 1,000 mIU/ml. จำนวน 2 ราย

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจ HBV profile ในตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคโลหิตที่สามารถติดตามจำนวน 73 ราย (ร้อยละ 61.86) แบ่งเป็นเพศชายจำนวน 57 ราย เพศหญิง จำนวน 16 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรก 35 ราย และเป็นผู้ที่เคยมาบริจาคโลหิตที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ภายใน 3 ปี จำนวน 38 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 56 ปี (ค่ากลาง 23 ปี) มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 189 IU/ml พบผู้บริจาคโลหิตที่มีผล HBV profile เป็นลบ จำนวน 22 ราย เป็นเพศชายจำนวน 18 ราย เพศหญิง จำนวน 4 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรก จำนวน 9 ราย เป็นผู้ที่เคยมาบริจาคโลหิตจำนวน 13 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 40 ปี (ค่ากลาง 22 ปี) มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 189 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 9 ราย ที่ตรวจพบ anti-HBc และ anti-HBs เป็นเพศชาย จำนวน 6 ราย เพศหญิง จำนวน 3 ราย เป็นผู้มาบริจาคโลหิตครั้งแรก จำนวน 5 ราย เคยมาบริจาคโลหิตแล้วจำนวน 4 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 56 ปี (ค่ากลาง 29 ปี) และมี

ปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ต่ำกว่า 12 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 28 รายที่ตรวจพบ anti-HBc อย่างเดียว เป็นเพศชายจำนวน 24 ราย เพศหญิงจำนวน 4 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรกจำนวน 15 ราย เคยมาบริจาคโลหิตแล้วจำนวน 13 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 52 ปี (ค่ากลาง 26 ปี) ผู้บริจาคโลหิตทั้ง 9 รายมีปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวจำนวน 14 ราย เป็นเพศชายจำนวน 9 ราย เพศหญิงจำนวน 5 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรก 6 ราย เคยมาบริจาคโลหิตแล้วจำนวน 8 ราย มีอายุระหว่าง 18 ถึง 28 ปี (ค่ากลาง 22 ปี) มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 47.9 IU/ml จากผลการศึกษาพบว่าผู้บริจาคโลหิตส่วนใหญ่จำนวน 37 ราย จะตรวจพบ anti-HBc ซึ่งพบในเพศชายมากกว่า เพศหญิงและมีปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml

ตารางที่ 4 แสดงระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี จากตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคโลหิตที่สามารถติดตามจำนวน 73 ราย พบว่ามีการติดเชื้อในระยะแรกจำนวน 17 ราย ซึ่งอยู่ในระยะ window period จำนวน 9 รายจากการตรวจพบ HBsAg, HBeAg, anti-HBc IgM, anti-HBc หรือ anti-HBs มีผู้บริจาคจำนวน 8 ราย อยู่ในระยะสุดท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี โดยตรวจพบ anti-HBc, anti-HBs, HBV DNA และ anti-HBe จากการศึกษาพบว่าผู้บริจาคส่วนใหญ่ (45 ราย, ร้อยละ 61.64) ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ occult HBV infection จากการตรวจพบ HBV DNA, anti-HBc หรือ anti-HBs หรือ anti-HBe โดยพบผู้บริจาคโลหิตจำนวน

Table 3 Serological HBV profile of the follow-up index donations of 73 HBV DNA-positive

HBV serology markers	Number of donors	Sex M/F	Status FD/RD	HBV viral load, IU/ml	Median age of donors, years (range)
Negative for all markers	22	18/4	9/13	< 12 - 189	22 (17-40)
Anti-HBc + anti-HBs	9	6/3	5/4	< 12	29 (17-56)
Anti-HBc only	28	24/4	15/13	< 12	26 (17-52)
Anti-HBs only	14	9/5	6/8	< 12 - 47.9	22 (18-28)
Total	73	57/16	35/38	< 12 - 189	23 (17-56)

M/F=male/female

FD = first time donors

RD = repeated donors

1 รายที่อยู่ในระยะของการติดเชื้อจากการตรวจพบ anti-HBs ในตัวอย่างเลือดครั้งแรกและพบ anti-HBc IgM, anti-HBc, HBV DNA และมีค่า anti-HBs เพิ่มขึ้นในตัวอย่างติดตาม และมีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 10 รายที่ไม่สามารถยืนยันระยะการติดเชื้อได้เพราะยังคงตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวเช่นเดียวกับตัวอย่างเลือดครั้งแรก

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากการที่รัฐบาลไทยกำหนดให้ทารกแรกเกิดทุกคนต้องได้รับวัคซีนตับอักเสบบี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 เป็นต้นมา⁹ ทำให้สถานการณ์โรคไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทยค่อนข้างคงที่มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 จากรายงานการเฝ้าระวังของสำนักงานระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

Table 4 Classification of HBV infection in follow-up donors

HBV infection status	Number of donors (%)	Serology of index donation	Serology and HBV DNA of follow-up donors
Primary, acute infection			
Window period	9 (12.33)	Negative	HBsAg Anti-HBc IgM Anti-HBc Anti-HBs HBeAg
Late stage	8 (10.96)	Anti-HBc	Anti-HBc Increasing anti-HBs HBV DNA Anti-HBe
Occult HBV infection	3 (4.11)	Negative	HBV DNA Anti-HBc
	10 (13.69)	Anti-HBc/anti-HBs	Anti-HBc Anti-HBs HBV DNA Anti-HBe
	25 (34.25)	Anti-HBc	Anti-HBs Anti-HBc HBV DNA Anti-HBe
Reinfection or breakthrough infection	7 (9.59)	Anti-HBs	Anti-HBs Anti-HBc
	1 (1.37)	Anti-HBs	Increasing anti-HBs Anti-HBc Anti-HBc IgM HBV DNA
Unconfirmed	10 (13.70)	Anti-HBs	Anti-HBs
Total	73 (100.00)		

ปี พ.ศ. 2553 แต่โรคไวรัสตับอักเสบบีที่พบส่วนใหญ่ยังคงเป็นไวรัสตับอักเสบบี โดยพบร้อยละ 57.03 เมื่อเทียบจากการติดเชื้อตับอักเสบบีทุกชนิด¹⁰ รายงานการศึกษาของวรรณ จงศรีสวัสดิ์และคณะ¹¹ พบความชุกของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทยหลังจากนโยบายการฉีดวัคซีนตับอักเสบบีแล้ว 12 ปี ร้อยละ 5-6 ในผู้ที่มีอายุมากกว่า 16 ปีขึ้นไปและพบเพียงร้อยละ 0.3-2.7 ในผู้ที่มีอายุน้อยกว่า 16 ปี แสดงให้เห็นว่าการได้รับวัคซีนตับอักเสบบีที่มีประสิทธิภาพทำให้อัตราการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในคนไทยลดลงอย่างเห็นได้ชัดแต่การได้รับวัคซีนอาจจะยังไม่ครอบคลุมทั้งประเทศ¹² จากรายงานการศึกษาของนิเวศน์ นันทจิตและคณะ¹³ ปี พ.ศ. 2550 ในผู้บริจาคโลหิตของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่พบ HBV NAT yield rate 1:800 ซึ่งเป็นอัตราที่สูงกว่าการรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยที่พบ HBV DNA 1:2,800⁷ อาจเป็นเพราะการศึกษาในครั้งก่อนหน้านี้นั้นส่วนใหญ่เป็นผู้บริจาคโลหิตทดแทนและมาบริจาคเป็นครั้งแรก แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าอัตราการตรวจพบ HBV DNA ลดลงอยู่ในอัตรา 1:900 ถึง 1:1,000 เพราะมีจำนวนผู้บริจาคโลหิตประจำเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามก็ยังคงเป็นอัตราการตรวจพบที่สูงมากเมื่อเทียบกับประเทศที่มีความชุกในระดับต่ำที่พบ HBV DNA 1:350,000 ถึง 1:610,000¹⁴ การศึกษารั้วนี้สอดคล้องกับรายงานของทัศนีย์ สกุลดำรงคพานิชและคณะ⁹ ที่ตรวจพบ HBV ด้วย NAT สูงสุดในโลหิตที่เจาะเก็บในภาคเหนือประมาณ 1:1,000 เมื่อเทียบกับโลหิตที่เจาะเก็บในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทย

การตรวจพบ HBV DNA โดยวิธี Cobas TagScreen MPX test แบบรวม 6 ตัวอย่างพบมากกว่าวิธี Procleic Ultrio test แบบตัวอย่างเดียวสอดคล้องกับการรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย^{7,15} อาจเป็นเพราะหลักการในการตรวจแตกต่างกัน การออกแบบ primer ที่ต่างกันทำให้เข้าไปจับกับสารพันธุกรรมของเชื้อในตำแหน่งเดียวกันหรือคนละตำแหน่งได้ไม่เท่ากันจึงมีความไวในการตรวจไม่เท่ากัน โดยพบว่าวิธี Procleic Ultrio test มีความไวในการตรวจ HBV DNA ที่ความเข้มข้น 10 IU/ml ในขณะที่วิธี Cobas TagScreen MPX test มีความไวในการตรวจที่ความเข้มข้น 3 IU/ml¹⁶ และจากคุณลักษณะของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มีอัตราการเพิ่มขยายเชื้อต่ำโดยใช้เวลาประมาณ 3 ถึง 4 วัน จึงทำให้พบจำนวนเชื้อน้อย¹⁷ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับกลุ่มของผู้บริจาคโลหิตที่เข้ามาบริจาคในแต่ละวันเพราะจะใช้น้ำยาในการตรวจสลับวันกันจึงอาจทำให้จำนวนการตรวจพบแตกต่างกัน หรือขึ้นอยู่กับ HBV genotype ที่ตรวจ

พบซึ่งตัวอย่างเลือดของศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทยที่ได้มีการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าเป็น HBV genotype B และ genotype C โดยที่ร้อยละ 64 เป็น genotype C¹⁸ และจากรายงานของกมล สุวรรณการและคณะในปี 2550 พบ HBV genotype C ร้อยละ 87.1 ส่วน genotype B พบร้อยละ 11.6 ในประเทศไทย และมีรายงานว่า HBV genotype C จะเกิดการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง pre-S สูงกว่า genotype B⁹ อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ตรวจไม่พบ HBsAg

ในการศึกษารั้วนี้ตรวจพบ anti-HBc อย่างเดียว ร้อยละ 42.37 สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยที่ตรวจพบ anti-HBc ร้อยละ 46.9¹⁵ เพราะประเทศไทยอยู่ในประเทศที่มีความชุกของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระดับสูง ผู้บริจาคโลหิตเคยสัมผัสเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมาแล้วแต่ไม่แสดงอาการตับอักเสบบี ในขณะที่ประเทศที่มีความชุกต่ำ ตรวจพบ anti-HBc ร้อยละ 10-13 แต่ตรวจพบ anti-HBc และ anti-HBs รวมด้วย ร้อยละ 70-90¹⁴ ซึ่งมีความแตกต่างจากการศึกษารั้วนี้ที่พบ anti-HBc ร่วมกับ anti-HBs ร้อยละ 13.56 และมีจำนวน HBV DNA ในระดับต่ำกว่า 12 IU/ml ส่วนผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจพบ anti-HBs อย่างเดียว ร้อยละ 16.10 ผู้บริจาคส่วนใหญ่จะมีค่า anti-HBs ต่ำกว่า 100 mIU/ml จากการศึกษาติดตามพบว่า ผู้บริจาคโลหิตร้อยละ 13.70 ยังคงตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวและมีเพียงรายเดียวที่พบว่ามียะดับ anti-HBs เพิ่มขึ้นและตรวจพบ anti-HBc IgM ร่วมด้วยแสดงให้เห็นว่าแม้ว่าจะได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีมาแล้วก็ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อซ้ำได้ เพราะอาจได้รับวัคซีนที่ด้อยคุณภาพ วัคซีนไม่ครอบคลุมทุก genotype หรือเกิดจากการกลายพันธุ์ของเชื้อเพื่อหลีกเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายซึ่งขึ้นอยู่กับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคล แต่ที่น่าสนใจคือกลุ่มที่ตรวจไม่พบ HBV sero-markers ร้อยละ 27.96 และมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ในช่วงต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 189 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตมาตรวจติดตาม 22 ราย มี 9 รายที่ตรวจพบ HBsAg, anti-HBc และ anti-HBc IgM ที่บ่งชี้ให้เห็นว่ามีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ window period อย่างชัดเจนและมีผู้บริจาคโลหิต 1 รายที่มีอาการตับอักเสบบี ตัวเหลืองตาเหลืองร่วมด้วยในวันที่ย้อนมาตรวจติดตาม และมีผู้บริจาคโลหิตบางรายกลับมาตรวจติดตามซ้ำมากทำให้เลยระยะเวลาที่จะตรวจพบ HBsAg หรือผู้บริจาคโลหิตรายนั้นมี HBsAg ในเลือดระดับต่ำมากจนตรวจไม่พบจึงพบเพียง anti-HBc และ anti-HBs ที่สามารถบ่งชี้ว่าเคยมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เนื่องจากผู้บริจาคโลหิตส่วนใหญ่เป็นเพศชายจึงพบ HBV DNA ใน

เพศชายมากกว่าเพศหญิง และจำนวนผู้ที่มาบริจาคโลหิตครั้งแรกกับมาบริจาคเป็นประจำไม่แตกต่างกัน ส่วนอายุของผู้บริจาคโลหิตที่ศึกษาในครั้งนี้อยู่ระหว่าง 17 ถึง 56 ปี มีค่ากลาง 23 ปี แสดงว่ามีทั้งกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน เพราะรัฐบาลไทยบรรจุวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีลงในแผนการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค 20 ปีก่อนหน้านี้ ผู้บริจาคโลหิตส่วนใหญ่อาจจะยังไม่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี และเคยสัมผัสเชื้อมาก่อนซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของวรรณุช จงศรีสวัสดิ์และคณะ¹¹ ในปี พ.ศ. 2547 ที่พบความชุกของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีร้อยละ 5-6 ในผู้ที่มีอายุ 16 ปีขึ้นไป แต่ที่น่าสนใจคือกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่มีอายุต่ำกว่า 20 ปี ที่คาดว่าจะได้รับวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีแล้วยังคงตรวจพบ HBV DNA ร่วมกับ anti-HBs จึงเป็นข้อควรระวังสำหรับผู้ที่เคยได้รับวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีแล้วและมีความเสี่ยงในการสัมผัสเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เช่น บุคลากรทางการแพทย์ จากรายงานการศึกษาในหลายแห่งพบว่าน้ำยาที่ใช้ในการตรวจหา HBsAg ที่ใช้ในปัจจุบันไม่สามารถตรวจหา HBsAg ในระดับต่ำๆ ได้^{15,19} จึงต้องมีการตรวจหา HBV DNA โดยวิธี NAT

ร่วมด้วยเพื่อเพิ่มความปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยที่ต้องรับเลือด ส่วนประกอบของเลือดหรืออวัยวะบริจาค

สรุปผลการศึกษา

จากการที่ประเทศไทยมีความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระดับสูง การนำ NAT มาใช้ในการตรวจกรองเลือดบริจาคสามารถตรวจพบ HBV DNA ทั้งในระยะแรกและในระยะท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เป็นการลดความเสี่ยงของการติดเชื้อจากการรับเลือดและส่วนประกอบของเลือด ซึ่งผู้บริจาคโลหิตบางรายมีปริมาณของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในกระแสเลือดต่ำมากทำให้ตรวจไม่พบ HBsAg และควรพิจารณานำชุดตรวจ NAT ที่มีความไวและความจำเพาะสูงมาใช้ทดสอบในงานประจำวัน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้นิพนธ์ ขอขอบคุณผู้บริจาคโลหิตที่เข้าร่วมงานวิจัยนี้และเจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมืออย่างดียิ่ง และขอขอบพระคุณ รศ.วราวุธ คุณาชีวะ เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและตรวจทานต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

1. Leetrakool N, Fongsatitkul L, Tanan P, et al. Screening donated blood for infectious agents in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital: Four-year experience of nucleic acid amplification technology (NAT). Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2012; 45: 36-44 (in Thai).
2. Allain J-P. Occult hepatitis B infection: implications in transfusion. Vox Sang 2004; 86: 83-91.
3. Reesink HW, Engelfriet P, Henn G, et al. Occult hepatitis B infection in blood donors. Vox Sang 2008; 94: 153-66.
4. Satake M, Taira R, Yuki H, et al. Infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in a look back program. Transfusion 2007; 47: 1197-205.
5. Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, et al. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. Gastroenterology 1997; 113: 1668-74.
6. Lui CJ, Chen DS, Chen PJ. Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: emphasis on occult HBV infection and the role of NAT. J Clin Virol 2006; 36: S33-44.
7. Pikulsod S, Oota S, Tirawatnpong T, et al. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. Transfusion 2009; 49: 1126-35.

8. Sakuldamrongpanich T, Oota S, Kramkratok P, et al. NAT screening for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus and hepatitis B virus in blood donations at the national blood centre and regional blood centre of the Thai Red Cross. *J Hematol Transfus Med* 2012; 22: 93-100 (in Thai).
9. Suwannakarn K, Tangkijvanich P, Thawornsuk N, et al. Molecular epidemiological study of hepatitis B virus in Thailand based on the analysis of pre-S and S genes. *Hepatology Research* 2008; 38: 244-51.
10. Hinjoy S, Choomkasien P. Hepatitis E Warning before Next Rainy Season. *Weekly Epidemiological Surveillance Report* 2012; 43: 273-6 (in Thai).
11. Chongsrisawat V, Yoocharoen P, Theamboonlers A, et al. Hepatitis B seroprevalence in Thailand: 12 years after hepatitis B vaccine integration into the national expanded programme on immunization. *Trop Med Int Health* 2006; 11: 1496-502.
12. Chimparlee N, Oota S, Phikulsod S, et al. Hepatitis B and hepatitis C virus in Thai blood donors. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011; 42: 609-15.
13. Nantachit N, Thaikruea L, Thongsawat S, et al. Evaluation of multiplex human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus and hepatitis B virus nucleic acid testing assay to detect viremic blood donors in northern Thailand. *Transfusion* 2007; 47: 1803-8.
14. Hollinger FB. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion* 2008; 48: 1001-26.
15. Louisirirochanakul S, Oota S, Khuponsarb K, et al. Occult hepatitis B virus infection in Thai blood donors. *Transfusion* 2011; 51: 1532-40.
16. Yang MH, Li L, Hung YS, et al. The efficacy of individual-donation and minipool testing to detect low-level hepatitis B virus DNA in Taiwan. *Transfusion* 2010; 50: 65-74.
17. Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, et al. Hepatitis B NAT virus-positive blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang* 2005; 88: 77-86.
18. Candotti D, Lin CK, Belkhiri D, et al. Occult hepatitis B infection in blood donors from South East Asia: molecular characterization and potential mechanisms of occurrence. *Gut* 2012; 61: 1744-53.
19. Togashi H, Hashimoto C, Yokozawa J, et al. What can be revealed by extending the sensitivity of HBsAg detection to below the present limit? *J Hepatol* 2008; 49: 17-24.



Engineered for Automation

The cobas® 4800 System

The **cobas® 4800 System** fully integrated sample preparation combined with real-time PCR technology for amplification and detection, plus software that suitable integrates both components.

- Streamlined workflow
- Handy **cobas® 4800 software**
- Results can be customized

© 2009 Roche Molecular Systems, Inc. All rights reserved.



cobas x 480 Instrument



cobas z 480 Analyzer

Roche Diagnostics (Thailand) Ltd.
18th Floor, Rasa Tower 1
555 Phaholyothin Road, Chatuchak
Chatuchak, Bangkok, 10900 Thailand
Tel: +662 791 2200
Fax: +662 937 0850



Notice warning on the label and
accompanying documents before use

ฉพ.เลขที่ 161/2554

cobas®
Life needs answers

คำแนะนำผู้เขียน

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นวารสารทางวิชาการของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ยินดีพิจารณาบทความที่มีคุณภาพด้านเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์สุขภาพ โดยผ่านระบบการตรวจประเมิน และได้รับการยอมรับจากผู้ทรงคุณวุฒิผู้เชี่ยวชาญในสาขานั้นๆ อย่างน้อย 2 ท่านบทความที่เสนอขอรับการพิจารณาต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการเสนอต่อวารสารอื่นใด บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้แล้ว ถือเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเภทของบทความที่ลงตีพิมพ์ แบ่งเป็น 8 ประเภท คือ

1. บทบรรณาธิการ (EDITORIAL) เป็นบทความซึ่งวิเคราะห์ผลงานทางวิทยาศาสตร์ใหม่ ๆ ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด หรือวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง หรืออาจเป็นบทความซึ่งมีเนื้อหาทางวิชาการโดยตรงแต่เป็นความคิดเห็นเพื่อประโยชน์ของการยกระดับวิชาชีพให้สูงขึ้น
2. นิพนธ์ต้นฉบับ (RESEARCH ARTICLE) เป็นรายงานผลงานวิจัยในด้านที่เกี่ยวข้องโดยที่บทความนั้นยังไม่ได้ตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารอื่นใด
3. รายงานเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค (SHORT TECHNICAL REPORT) เป็นรายงานการประยุกต์ใช้เทคนิคการตรวจในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค โดยแสดงรายละเอียดทั้งวิธีการและผลการใช้เทคนิคนั้น เปรียบเทียบกับวิธีเดิม รวมถึงการวิจารณ์และสรุปผล
4. นิพนธ์ปริทัศน์ (REVIEW ARTICLE) เป็นบทความที่รวบรวมเอาผลงานในเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งเคยลงตีพิมพ์แล้วนำมาวิเคราะห์ วิจารณ์เปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น
5. บทความทั่วไป (GENERAL ARTICLE) เป็นบทความที่มีวิชาการเฉพาะด้านรวมอยู่ด้วยค่อนข้างน้อย เขียนเพื่อให้บุคคลทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจตลอด
6. บันทึก (NOTE) เป็นบทความหรือรายงานผลการวิจัยคล้ายข้อ 1 และข้อ 2 แต่มีความกะทัดรัดกว่าทั้งในเนื้อหาและรายละเอียด
7. ปกิณกะ (MISCELLANY) เป็นบทความทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น การวิจารณ์ผลเวชศาสตร์ชันสูตร การตอบปัญหาทางด้านเวชศาสตร์ชันสูตร เป็นต้น
8. จดหมายถึงบรรณาธิการ (LETTER TO THE EDITOR) เป็นบทความทางวิชาการหรืออื่นๆ ที่เป็นบันทึกสั้นๆ ในรูปของจดหมายถึงบรรณาธิการ เพื่อแสดงความคิดเห็นและประสบการณ์ในทางวิชาการ
9. ย่อเอกสาร (ABSTRACT) เป็นเรื่องย่อของบทความที่น่าสนใจและได้รับการตีพิมพ์แล้วในวารสารต่าง ๆ

คำแนะนำสำหรับการเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษาที่ใช้มี 2 ภาษา คือ ภาษาไทยและ/หรือภาษาอังกฤษ (Cordia New 14) ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทยให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยใช้พจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทยฉบับราชบัณฑิตยสถานเป็นบรรทัดฐาน คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลายหรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาเดิมกำกับไว้ในวงเล็บหรือออนไลน์ให้ใช้ภาษาอังกฤษได้
2. ต้นฉบับ ใช้กระดาษสีขาวขนาด 8.5x11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว เว้นระยะระหว่างบรรทัด 2 ช่วง (2 spaces) ใช้โปรแกรม และตัวพิมพ์มาตรฐาน มีเลขที่หน้ากำกับทุกหน้า
3. ชื่อเรื่อง ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษเป็นข้อความสั้นๆ และสื่อความหมาย บ่งชี้ให้เห็นสาระสำคัญของเนื้อหาในตัวบทความ ไม่ควรใช้คำย่อนอกจากคำย่อนั้นเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป
4. ชื่อผู้แต่ง ให้ใส่ชื่อตัวและชื่อสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ กรณีที่ผู้แต่งหลายคนให้เรียงตามลำดับความสำคัญในงานนั้นๆ และให้ชื่อและสถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร หรือ E-mail address ของผู้รับผิดชอบบทความเพื่อการติดต่อได้สะดวก กรณีที่มีผู้วิจัยมากกว่าหนึ่งคน ให้ลำดับด้วยตัวเลขยกไว้ท้ายนามสกุล
5. นิพนธ์ต้นฉบับให้มีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (abstract) ความยาวไม่เกิน 400 คำ โดยแบ่งเป็น 5 หัวข้อดังนี้ วัตถุประสงค์ ตัวอย่างทดสอบ วิธีการ ผลการทดสอบและสรุป ทั้งนี้ให้มีคำรหัส (keyword) ไม่เกิน 3-5 คำ โดยลำดับเนื้อหา ดังนี้ บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (abstract) บทคัดย่อภาษาไทย บทนำ (introduction) วัสดุและวิธีการ (materials and methods) วิจารณ์ผลการศึกษา (discussion) สรุปผลการศึกษา (conclusion) กิตติกรรมประกาศ (acknowledgement) และเอกสารอ้างอิง (reference)
6. การจัดลำดับเนื้อเรื่องสำหรับนิพนธ์ต้นฉบับให้เรียงลำดับตามหัวข้อ ดังนี้ :-
 - บทนำ (Introduction) ซึ่งรวมถึงวัตถุประสงค์หรือสมมติฐานในการศึกษา
 - วัสดุและวิธีการ (Materials and Methods)
 - ผล (Results)
 - วิจารณ์ผล (Discussion)
 - กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)
 - เอกสารอ้างอิง (References)

7. กรณีที่งานวิจัยนั้นได้รับทุนวิจัยให้ระบุแหล่งที่มาของทุนวิจัยนั้นด้วย
8. การอ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่อง ให้อ้างอิงเรียงตามลำดับเลขที่ของเอกสารอ้างอิงซึ่งอยู่ท้ายเรื่อง โดยใส่ตัวเลขแบบยกต่อท้ายข้อความนั้นๆ
9. การเตรียมตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ
 - ตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ ให้แยกไว้ต่างหาก โดยใช้กระดาษ 1 แผ่น ต่อ 1 ตาราง หรือ 1 แผนภูมิหรือ 1 รูปภาพ บันทึกโดยใช้ นามสกุล .jpg หรือ .tif โดยให้มีความละเอียดเพียงพอ
 - คำอธิบายรูป (Figure legend) ให้พิมพ์แยกไว้ต่างหาก คำอธิบายภายในรูปให้ใช้ภาษาอังกฤษ
 - ชื่อตารางและคำอธิบายในตารางให้ใช้ภาษาอังกฤษ
10. การส่งบทความต้นฉบับ ให้ส่งต้นฉบับจำนวน 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล (CD) ที่ระบุโปรแกรมที่ใช้พิมพ์มายัง
**บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ คณะเทคนิคการแพทย์
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 เลขที่ 110 ถนนอินทวิโรต ต่าบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
 โทรศัพท์ : (053) 945080 ต่อ 17
 โทรสาร : (053) 946042
 E-mail : preyanat@chiangmai.ac.th หรือ preeyanat.v@cmu.ac.th**

สำเนาพิมพ์ (Reprint)

บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารนี้ ผู้เขียนบทความจะได้รับสำเนาพิมพ์ (Reprint) จำนวน 2 ชุด

การเขียนเอกสารอ้างอิง

1. การเขียนเอกสารอ้างอิง ให้ใช้ระบบแวนคูเวอร์ (Vancouver) เท่านั้น
2. เอกสารอ้างอิง ที่เป็นภาษาไทยให้แปลเป็นภาษาอังกฤษ และต่อท้ายด้วย (in Thai)

ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง

- Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. N Engl J Med 2002 Jul 25; 347(4): 284-7
- Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. Brain Res 2002; 935(1-2): 40-6
- Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. Headache 2002; 42 Suppl 2: S93-9
- Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>
- Forooghian F, Yeh S, Faia LJ, Nussenblatt RB. Uveitic foveal atrophy: clinical features and associations. Arch Ophthalmol. 2009 Feb; 127(2): 179-86. PubMed PMID: 19204236; PubMed Central PMCID: PMC2653214
- Who's Certified [Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp>
- Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.
- Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002
- Jaran On-Takrai. Production of monoclonal antibody specific to recombinant gp41 of HIV-1 subtype E [Term paper]. Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2001 (in Thai).
- Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK. New York: Springer, 2002.
- Portney JG, Watkins MP. Foundation of clinical research applications to practice. 2nd United States of America. Julie Alexandar; 2000.

ข้อคิดเห็นใดๆ ในบทความหรือเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้
เป็นข้อคิดเห็นส่วนตัวของผู้เขียนมิได้เกิดจากบรรณาธิการ หรือผู้จัดทำ แต่อย่างใด



ใบสมัครสมาชิก วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

ที่.....

วันที่.....

ถึง **บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่**
ข้าพเจ้ายินดีขอรับเป็นสมาชิกวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

โปรดจัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้าดังนี้

นาม.....

สำนักงาน.....

บ้านเลขที่..... ถนน

ตำบล..... อำเภอ

จังหวัด.....

ข้าพเจ้าได้ส่งเงิน จำนวน..... บาท (.....)

สำหรับเป็นค่าบำรุงสมาชิก () รายปี () ตลอดชีพ ส่งจ่ายในนามเหรียญวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
ปณ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาพร้อมกับแบบฟอร์มนี้แล้ว

ลงชื่อ
(.....)

หมายเหตุ	ค่าบำรุงสมาชิกรายปี	800	บาท
	ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ	1,000	บาท

Gibthai Products

LABORATORY PRODUCTS DIVISION



GONDO
Benchtop pH Meter
combines with Stirrer



Metertech
AccuReader - Absorbance
Microplate Reader



KUDOS®
High Frequency
Ultrasonic Cleaner



DATHAN Scientific
Autoclave



MECASYS
OPTIZEN 3220UV bio
NanoBiometer



3N HOLDING
Diaphragm Vacuum pump



Amerex Instruments, Inc.
Benchtop & Upright
Incubator Shaker



Dometic
Created by Electrolux
Blood Bank Refrigerators



Winpact
Cell Cultivation, Fermentation
System and Software



Julabo
Shaking Water Bath



METTLER TOLEDO
Electronic Balance Classic
Light AL and PL line



TORREY PINES SCIENTIFIC
Hot Plate Stirrer,
9 Positions



ESCO
Biohazard Class II
Safety Cabinet



SL
Incubator & Oven



LabTech
Personal Microcentrifuge



Tuttnauer
Laboratory Bench Top
and Vertical Sterilizers



GPERGN
Bulk Tray Type
Freeze Dryer



VIVO
iTherm Refrigerated &
Heating Circulators



GRAM
BioCOMPACT II
Fridges & Freezers



SIGMA
Laboratory Table
top Centrifuge



sartorius stedim
AriumPro-Ultrapur
Water System



sartorius stedim
Combisart® Multi-Branch
Manifold, with funnels and lids



sartorius stedim
BIOSTAT® B plus
Laboratory Bioreactor



Haier
Inspired living
Blood Bank/Pharmacy Refrigerators,
Deep Freezer



Centurion
Multi Purpose &
Versatile Centrifuge

LIFE SCIENCE PRODUCTS DIVISION



ADVANCE
MUPID EXU
Gel Electrophoresis



UVP
GelDoc-IT TS Stand
Alone Bioimaging System



bioSan
Medical-Biological
Research & Technologies
Boxes of Biosafety -
UV cabinet



PEPROTECH
Not Just Cytokines!
Cytokines, ELISA Kits,
Recombinant Proteins
And Antibodies



SPL
SPL LIFE SCIENCES
Culture Flasks &
Plasticwares



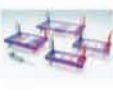
ESCO
Swift MaxPro
Thermal Cycler



Biotix
Neptune Filter Tip
& Tube



BIOHIT
Proline Plus Pipettors,
Fully Autoclavable



CS Cleaver
Scientific Ltd
Multi Sub
Electrophoresis System



ambion RNA
by Life technologies
Ambion® products represent
years of RNA expertise



invitrogen
Countess® Automated
Cell Counter



gibco cell culture
by Life technologies
GIBCO® - The Most Trusted
Brand for Cell Culture Products



molecular probes labeling & detection
by Life technologies
Qubit® Quantitation
System



NanoEnTek
JuLi® Smart Fluorescent
Cell Analyzer



AMRESCO
Ultra Pure Reagents
for Life Science Research



BRADY
BMP™21 Portable
Label Printer



INTEGRA
VacuSafe Comfort -
The aspiration system for
safe disposal of liquids



MALCOM
Micro UV-VIS Fluorescence
Spectrophotometer



major science
Elite Dry Bath Incubator



RBC Bioscience
MagCore HF16 Nucleic
Acid Purification System



NANOHELIX
DNA/RNA Amplification
Enzymes & Kits

HEALTH & HYGIENE PRODUCTS DIVISION



ORECK
Air purifier



Fusion Chef
Premium Sous Vide
Culinary Equipment



BIOZONE
PowerZone Air Purifier -
for odor, virus and bacterial control



GIBTHAI CO., LTD.

Head Office
3N HOLDING HOUSE, 44/6 Suthisarnvithai Road,
Samseemok, Huay Kwang, Bangkok 10320, Thailand
Tel : (66) 0 2274 8331
Fax : (66) 0 2274 8336,
(66) 0 2274 8580
Customer Hotline : (66) 0 2274 7480
E-mail : info@gibthai.com
Website : www.gibthai.com

Northern Branch
Hill Side 3, 1 soi 8
Nimmanhemin Rd., Suthep,
Mueang, Chiangmai 50200
Tel : (66) 0 5321 9818-9,
(66) 0 5321 9896
Fax : (66) 0 5321 9866
E-Mail : gthchiangmai@gibthai.com

Southern Branch
43/54 Punnakarn Road, KohHong,
Hatyai, Songkla 90110
Tel : (66) 0 7420 1934-6
Fax : (66) 0 7420 1364
E-Mail : gthhatyai@gibthai.com

บริษัท กิบทไทย จำกัด

สำนักงานใหญ่
อาคาร 3N Holding House เลขที่ 44/6 ถนนสุธีสารวิทย์
สามเสนมอค์ แขวงหัวขวาง เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10320
โทร : (66) 0 2274 8331
โทร : (66) 0 2274 8336,
(66) 0 2274 8580
Customer Hotline : (66) 0 2274 7480
E-mail : info@gibthai.com
Website : www.gibthai.com

สาขาภาคเหนือ
อาคาร 3N Holding House เลขที่ 44/6 ถนนสุธีสารวิทย์
สามเสนมอค์ แขวงหัวขวาง เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10320
โทร : (66) 0 5321 9818-9,
(66) 0 5321 9896
โทร : (66) 0 5321 9866
E-Mail : gthchiangmai@gibthai.com

สาขาภาคใต้
43/54 ถนนขุนรามคำแหง ตำบลคลอง
อ้อมท่าพนาพร จังหวัดสงขลา 90110
โทร : (66) 0 7420 1934-6
โทร : (66) 0 7420 1364
E-Mail : gthhatyai@gibthai.com

SIEMENS

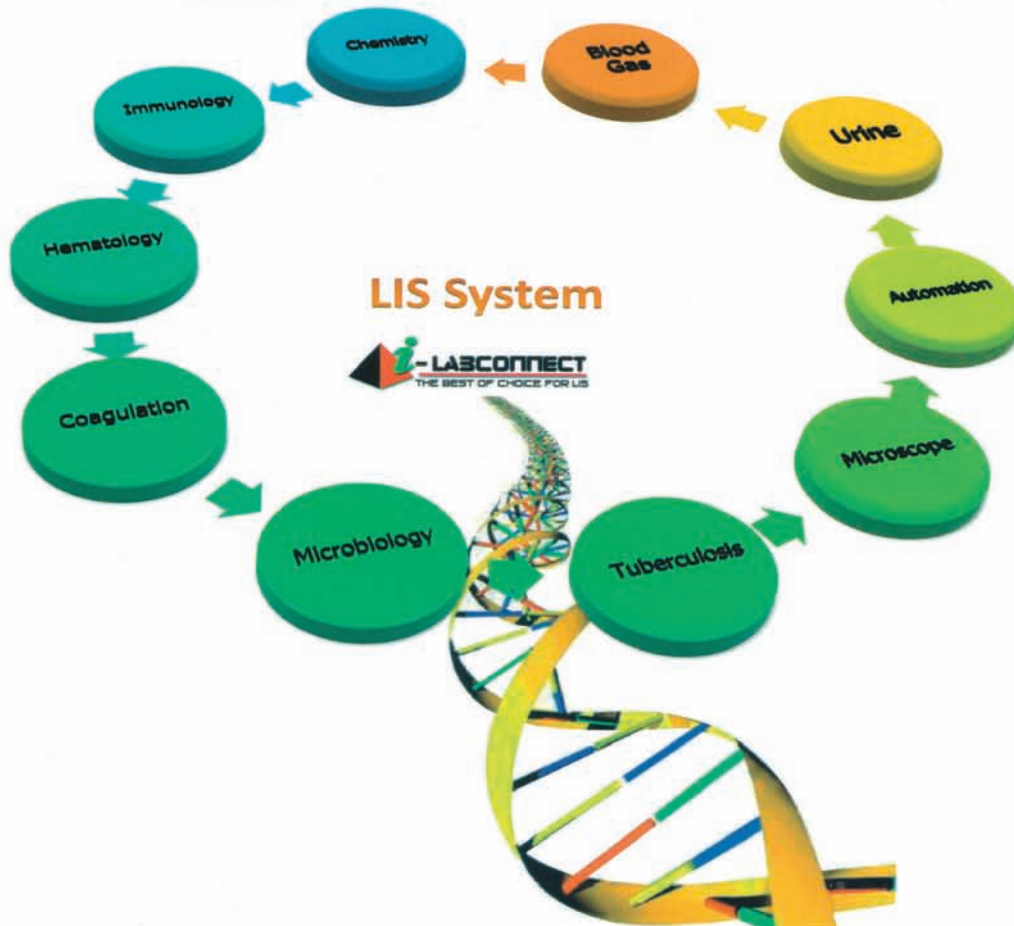
BioSystems

NIHON KOHDEN

DIRUI

OLYMPUS

cellestis



HAMILTON MEDICAL

NIHON KOHDEN



ASV : Toward Automatic Ventilation



ALARIS[®] MEDICAL SYSTEMS



Alaris[®] GW volumetric pump



PCAM[®] INFUSION SYSTEM

Site - Oriented
Emergency or ICU/CCU NICU Post ICU Ward



cardiolife



Central Monitor CNS 9701



ECG 1550



Life Scope TR



Telemetry System



PVM-2701

AND

Automatic Blood Pressure Monitor



TM-2655

DETECTO

Mechanical Physician Scales



6129