Chula Med J Vol. 54 No. 1 January - February 2010

การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์มีชีวิต การสร้างสารอนุพันธ์ของออกซิเจน และภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบสูงอายุที่ได้ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการดำเนินชีวิต

เอมอร แสงศิริ* รัตติพร วุ่นสุวรรณ***
สุพจน์ ศรีมหาโชตะ* สมนพร บุณยะรัตเวช*
วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม** ปิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์***

Saengsiri A, Wunsuwan R, Srimahachota S, Boonyaratavej S, Tanechpongtamb W, Tosukhowong P. Change in cell viability, reactive oxygen species production and oxidative stress in older patients with coronary heart disease under going lifestyle management program. Chula Med J 2010 Jan - Feb; 54(1): 81 - 97

Objective : *To study the effects of lifestyle management (LM) program on lipid profiles and oxidative stress markers in patients with coronary heart disease (CHD), and in vitro effect of sera patients on human coronary artery endothelial cells (HCAECs).*

Methods : *A total of 30 patients with CHD (mean age: 63.28 years) were randomized into two groups: LM-intervened and usual care (UC) groups. Lipid profiles, oxidized LDL and protein carbonyl were measured in collected blood specimens from the patients at baseline, 6 and 12 months. Using patients' sera and HCAECs, we measured for cell viability by MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay and intracellular reactive oxygen species (ROS) production by fluorescence detection of 2,7-dichlorofluorescein (DCF). Dietary intake, frequency of exercise and quality of life were assessed by a self-report questionnaire and a quality-of-life questionnaire.*

* ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
*** ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Results : *After 6 months of intervention, serum total cholesterol, triglyceride, oxidized LDL and protein carbonyl levels were significantly decreased in the LM group but they did not improve at 12 months. In vitro, MTT assay indicated that HCAEC cell viability increased in the sera from the patients in LM group after intervention. Fluorometric detection of ROS production significantly decreased after 6 months of intervention in LM group but showed no significant change at 12 months in both groups. Patients in LM group significantly increased vegetables consumption in specified portion size (3 - 5 serving/day) and quality of life in social and economic factors after 12 months of intervention.*

Conclusion : *These findings indicate that the LM program decreases lipid profiles and oxidative stress as well as increases endothelial cell viability in patients with CHD. It is strongly recommended as an efficient strategy to decrease the risk of cardiovascular disease development.*

Keywords : *Coronary heart disease, lifestyle management, oxidative stress, human coronary artery endothelial cell.*

Reprint request: Tosukhowong P. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. June 9, 2009.

เอมอร แสงศิริ, รัตติพร วุ่นสุวรรณ, สุพจน์ ศรีมหาโชตะ, สมนพร บุณยะรัตเวช, วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม, ปิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์. การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์มีชีวิต การสร้างสารอนุพันธ์ของออกซิเจน และภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบสูงอายุที่ได้ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการดำเนินชีวิต. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2553 ม.ค. – ก.พ.; 54(1): 81 –97

วัตถุประสงค์ : *เพื่อศึกษาประสิทธิผลของโปรแกรมการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตที่มีต่อปัจจัยเสี่ยงโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ และคะแนนคุณภาพชีวิต และศึกษาผลของซีรั่มต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงของหัวใจ (human coronary artery endothelial cell, HCAEC)*

วิธีการศึกษา : *ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ 30 คน อายุเฉลี่ย 63.28 ปี แบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับการรักษาแบบปกติ (กลุ่ม UC) และกลุ่มที่เข้าโปรแกรมฯ (กลุ่ม LM) วิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ เป็นค่าไขมันรวม oxLDL และ protein carbonyl ในซีรั่ม ที่ baseline 6 เดือน และ 12 เดือน และทดสอบผลของซีรั่มดังกล่าวในเซลล์ HCAEC ตรวจวัดเซลล์มีชีวิตด้วยวิธี MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay และวัดระดับของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์โดยวัดปริมาณแสงฟลูออเรสเซนต์ของสาร 2,7-dichlorofluorescein (DCF) ทำแบบสอบถามความสามารถในการดูแลตนเองและแบบสอบถามคุณภาพชีวิต เพื่อประเมินประสิทธิภาพของโปรแกรมฯ และสมรรถนะการทำงานรวมทั้งคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้ก่อนและหลังการศึกษา เมื่อติดตามครบ 1 ปี*

ผลการศึกษา : *จากผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยกลุ่ม LM มีระดับไขมันในเลือด ระดับของ oxLDL และ protein carbonyl ลดลงหลังจากเข้าโปรแกรมฯ 6 เดือน ในขณะที่เพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยกลุ่ม UC แต่ที่ 12 เดือนไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับ baseline ทั้งสองกลุ่มยกเว้นระดับ protein carbonyl ในผู้ป่วยกลุ่ม UC ที่เพิ่มสูงขึ้น และระดับ HDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการทดสอบผลของซีรั่มที่ได้จากผู้ป่วยต่อเซลล์ HCAEC พบว่าร้อยละของเซลล์มีชีวิตเพิ่มขึ้นเมื่อ incubated ด้วยซีรั่มจากผู้ป่วยกลุ่ม LM ที่ 6 เดือน แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติที่ 12 เดือน การวัดระดับของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ พบว่าเมื่อ incubated ซีรั่มที่ 6 เดือนของผู้ป่วยกลุ่ม LM ระดับของอนุมูลอิสระภายในเซลล์ลดลงจาก baseline แต่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยกลุ่ม UC เมื่อ incubated ซีรั่มที่ 12 เดือน*

ของทั้งสองกลุ่ม พบว่าระดับของอนุมูลอิสระภายในเซลล์ไม่แตกต่างทางสถิติจาก baseline หลังจากเข้าโปรแกรมฯ ผู้ป่วยกลุ่ม LM บริโภคผักตามปริมาณที่แนะนำ (3 - 5 serving/วัน) มากขึ้น และมีคะแนนเฉลี่ยคุณภาพชีวิตด้านสังคม และเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป : *จากผลแสดงให้เห็นว่าการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตสามารถลดระดับของ oxidative damage products ในเลือดของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบได้ ส่งผลดีต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงของหัวใจ ทั้งในแง่ของการมีชีวิตอยู่เพิ่มขึ้นและมีการสร้างอนุมูลอิสระภายในเซลล์ลดลง ดังนั้นจึงเป็นกลยุทธ์ที่มีประสิทธิภาพในการลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคระบบหัวใจและหลอดเลือด*

คำสำคัญ : *โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ, การปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต, ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน, เซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงของหัวใจ*

โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) ที่พบมากที่สุดโรคหนึ่งคือโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (coronary heart disease, CHD) ซึ่งเป็นโรคเรื้อรังที่พบบ่อยในผู้สูงอายุ และเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งในประเทศต่างๆ ทั่วโลก จากรายงานสถานการณ์ความรุนแรงของโรคหัวใจและหลอดเลือดทั่วโลก พบว่าประชากรเสียชีวิตด้วยโรคหัวใจและหลอดเลือด ในปี 2545 จำนวน 16.73 ล้านคน [1] สำหรับประเทศไทยมีจำนวนของผู้ป่วยและผู้เสียชีวิตเพิ่มสูงขึ้นทุกปี [2,3] สาเหตุของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบอาจเป็นได้ทั้งพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ครอบครัวมีประวัติเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจตีบก่อนวัยอันควร ระดับไขมันในเลือดสูงทั้งคอเลสเตอรอล (cholesterol) และไขมันแอลดีแอล (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคอ้วน ความเครียด การสูบบุหรี่ ขาดการออกกำลังกาย และภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) เป็นต้น ปัจจุบันมีการศึกษาพบว่ากลไกการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบเกี่ยวข้องกับการสูญเสียการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cell dysfunction) ซึ่งเกิดจาก oxidative stress โดย reactive oxygen species (ROS) ออกซิไดส์ LDL-C ได้เป็น oxidized LDL (oxLDL) แล้ว oxLDL จะทำให้ระดับของไนตริกออกไซด์ ซึ่งเป็นสารที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัวมีปริมาณลดลง [4,5] โดยการลดการแสดงออกของ endothelial nitric oxide synthase mRNA[6] ผลที่ได้รับคือการขยายตัวของหลอดเลือดลดลง มีเกล็ดเลือดมาเกาะเพิ่มขึ้น และเกิด atherosclerosis เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ oxidative stress ยังเป็นสาเหตุของการอักเสบและการเกิดโรคต่างๆ ในผู้สูงอายุหลายชนิด เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง เป็นต้น

จากการศึกษาพบว่าการรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบให้มีประสิทธิภาพต้องทำควบคู่กัน ทั้งการรักษาด้วยยาและการสร้างเสริมสุขภาพด้วยการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต (lifestyle management) เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ซึ่งจากการศึกษาของ Ornish [7] และอีกหลายงานวิจัย [8 - 10] พบว่าการเปลี่ยนแปลงการดำเนินชีวิตอย่างเคร่งครัด ช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้ โดยทำให้ระดับ serum lipoprotein profile ความดันโลหิต และระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าทำให้ระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ในเลือดเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นผลให้ oxidative stress ลดลง[11] เนื่องจากการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตจะเน้นให้ผู้ป่วยรับประทานผัก ผลไม้ในปริมาณที่มากพอ และรับประทานธัญพืชในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อจะได้รับแร่ธาตุ และสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่เพียงพอ เช่น citrus fruit จะมีวิตามินซีมาก เมล็ดฟักทองและผักใบเขียวมีวิตามินอีมาก เป็นต้น

คุณภาพชีวิต เป็นแนวคิดที่มีความสำคัญมากขึ้นในวงการการดูแลสุขภาพ Ferrans [12] ได้ศึกษาและพัฒนาเครื่องมือวัดคุณภาพชีวิตในกลุ่มผู้ป่วยโรคเรื้อรัง โดยพัฒนาแนวคิดจากพื้นฐานพัฒนาการความเป็นบุคคลที่มีความแตกต่างกันทางความคิด ความเชื่อของสภาพระบบการเมือง และสถานะทางสังคมและเศรษฐกิจ นอกจากนี้การยอมรับคุณภาพชีวิตยังขึ้นอยู่กับประสบการณ์ในชีวิตของบุคคลนั้นๆ จากการรวบรวมการศึกษา และนำผลการศึกษามาวิเคราะห์องค์ประกอบร่วม (factor analysis) พบว่า โมเดลนี้สามารถจำแนกองค์ประกอบของคุณภาพชีวิตได้ 4 องค์ประกอบ คือ ด้านสุขภาพ และการทำงานของร่างกาย (health and functioning) ด้านจิตใจ/จิตวิญาณ (psychological/spiritual) ด้านสังคมและเศรษฐกิจ และด้านครอบครัว ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเรื้อรัง เพื่อนำผลการวิเคราะห์ในรายองค์ประกอบมาหาปัญหาที่มีผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย เพื่อนำมาปรับให้การสนับสนุน และพัฒนาระบบให้ความช่วยเหลือแก่กลุ่มผู้ป่วยเหล่านั้น ทั้งนี้ Ferrans ได้ปรับปรุง และพัฒนาเครื่องมือวัดคุณภาพชีวิตอยู่ตลอดเวลา ปัจจุบันเครื่องมือวัดคุณภาพชีวิต สำหรับผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจได้พัฒนาเป็น Quality of life Index- Cardiac version IV ได้รับการแปล

เป็นภาษาไทยโดย เอมอร แสงศิริ [13] มีค่าความตรงของเครื่องมือ (content validity index) CVI = 1.0 ค่าความเที่ยง Cronbach's coefficients ∞ = .79

จากผลการศึกษาข้างต้นผู้วิจัยตั้งสมมุติฐานว่าระดับของไขมันในเลือด (lipid profiles) และ oxidative damage products ของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบที่เข้าร่วมโปรแกรมการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตจะมีระดับที่ดีขึ้น การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศึกษาประสิทธิผลของโปรแกรมดังกล่าวต่อปัจจัยเสี่ยงโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ และคะแนนคุณภาพชีวิต และศึกษาผลของซีรั่มต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงของหัวใจ (human coronary artery endothelial cell, HCAEC) โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยทั้งที่เข้าและไม่เข้าโปรแกรมฯ โดยการวัดระดับของไขมัน oxLDL และ protein carbonyl ในซีรั่ม และตรวจวัดเซลล์มีชีวิตด้วยวิธี MTT assay และวัดระดับของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ (intracellular ROS production) ผลการศึกษานี้จะทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตและเซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงของหัวใจ ซึ่งหากผลการศึกษานี้พบว่าการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตส่งผลดีต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงหัวใจจริง ก็จะเป็นหลักฐานการยืนยันในระดับเซลล์สำหรับการนำโปรแกรมนี้ไปประยุกต์ใช้ในการป้องกัน และปรับเปลี่ยนรูปแบบการรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบได้ในอนาคต

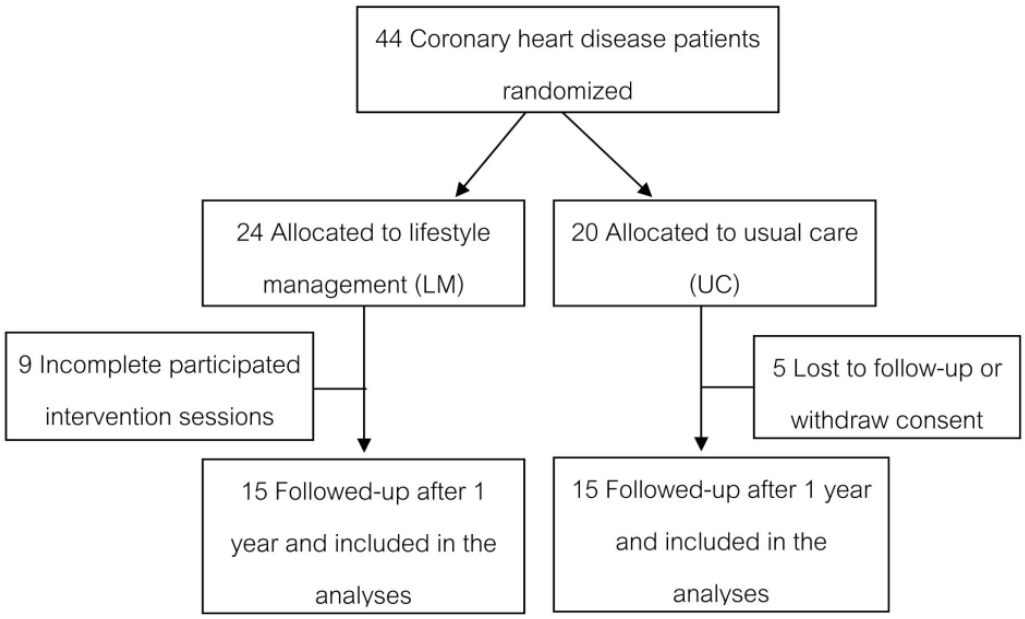
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยแบบทดลองทางคลินิก แบบสุ่มเข้ากลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุม (randomized clinical trial design) ดำเนินการวิจัยในกลุ่มประชากรที่เป็นผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจที่มารับการรักษา ณ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยมีคุณสมบัติของกลุ่มตัวอย่างที่เลือกศึกษา (inclusion criteria) คือ เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ เพศชาย หรือหญิง ที่มีอายุมากกว่า 20 ปี ผู้ป่วยมีอาการเจ็บหน้าอกแบบคงที่ (stable angina pectoris) ซึ่งแบ่งตาม Canadian Cardiovascular Society (CSS) อยู่ในระดับ 1 - 3 และกำหนดคุณสมบัติที่คัดออกจากการศึกษา (exclusion criteria) คือ เป็นผู้ป่วยที่มีอาการของ acute coronary syndrome ภายใน 6 สัปดาห์ มีหลอดเลือดหัวใจตีบที่ left main มีค่าความดัน systolic มากกว่า 180 mmHg และ diastolic มากกว่า 110 mmHg และผู้ป่วยมีค่า left ventricular ejection fraction น้อยกว่า 25% โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการทำวิจัยในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อแพทย์ได้อธิบายโครงการทั้งหมดให้ผู้เข้าร่วมโครงการ จากนั้นผู้ป่วยที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัย ได้ลงชื่อยินยอมแล้ว

กลุ่มตัวอย่างได้รับการเลือกแบบสุ่มด้วยวิธี random assignment with blocks เพื่อเข้ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตเป็นเวลา 4 เดือน และติดตามต่อเนื่องที่ 6 เดือน และ 12 เดือน (รูปที่ 1)

ผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต ได้รับการรักษาตามปกติ (usual care) จากแพทย์เจ้าของผู้ป่วย แต่ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโปรแกรมฯ นั้นต้องมาเข้าร่วมกิจกรรมที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์รวม 9 ครั้ง โดยผู้ป่วยจะได้รับการสอน และฝึกปฏิบัติร่วมกัน มีรายละเอียดดังนี้ คือ ให้ความรู้เกี่ยวกับอาหารโดยการรับประทานอาหารไขมันต่ำ เน้นผัก ผลไม้ ให้คำแนะนำในการออกกำลังกายที่มีประสิทธิภาพ เน้นการเดินนานครั้งละ 30 นาที 6 ครั้งต่ออาทิตย์ และฝึกปฏิบัติการจัดการกับความเครียด โดยใช้การฝึกการหายใจร่วมกับการฝึกผ่อนคลายกล้ามเนื้อ และการสร้างจินตภาพ (imagery) ปฏิบัตินานครั้งละ 30 นาที 6 ครั้งต่ออาทิตย์ และการร่วมกลุ่มให้คำปรึกษาเพื่อแลกเปลี่ยนความคิดเห็น

การศึกษาครั้งนี้ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มได้รับการชั่งน้ำหนักและวัดส่วนสูง เพื่อคำนวณค่าดัชนีมวลกาย (body mass index, BMI) ตรวจวัดระดับไขมันในเลือด และวัดระดับของ oxLDL และ protein carbonyl ในซีรั่ม



รูปที่ 1. Flow of patients through the study

และนำซีรั่มดังกล่าวมาทำการทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อวัดผลของซีรั่มที่มีต่อการมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) และวัดระดับของ ROS production ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ และทำแบบสอบถามความสามารถในการดูแลตนเอง และแบบสอบถามคุณภาพชีวิตเก็บตัวอย่างเลือดของกลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบและกลุ่มควบคุม ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างซีรั่มโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บไว้ที่ -80 องศาเซลเซียส ก่อนการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

ระดับไขมันในเลือด ได้แก่ total cholesterol ไตรกลีเซอไรด์ และ HDL Cholesterol วัดด้วยวิธี standard automated enzymatic methods และคำนวณระดับ LDL-Cholesterol จากสมการของ Friedewald [14] คือ LDL Cholesterol = total Cholesterol – triglycerides/5 – HDL cholesterol

ปริมาณ oxLDL ในซีรั่มตรวจวัดโดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป ใช้หลักการ ELISA (Mercodia, Uppsala, Sweden) ซึ่ง oxLDL ตรวจสอบด้วย peroxidase-conjugated anti-apolipoprotein B antibody ปริมาณ protein carbonyl ในซีรั่ม สามารถตรวจได้โดยวิธี spectrophotometric DNPH assay ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Levine RL. และคณะ[15]

เซลล์ Human Coronary Artery Endothelial Cell (HCAEC) ถูกเลี้ยงในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่มีอาหาร microvascular endothelial growth medium 5 มิลลิลิตร แล้ว incubated ที่ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 การทดสอบผลของซีรั่มที่มีต่อเซลล์ทำโดยนำ HCAECs ไม่เกินรุ่นที่สิบมาเลี้ยงใน 96-well plates ที่มีอาหาร complete medium เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ว treated ด้วย complete medium ที่มีซีรั่มที่ต้องการทดสอบ ทั้งจากผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบที่เข้าร่วมโปรแกรมฯ ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบที่ได้รับการรักษาแบบปกติเพียงอย่างเดียวไม่ได้เข้าโปรแกรมฯ และซีรั่มจากกลุ่มคนปกติ เป็นคนสุขภาพดี เพื่อใช้ในการคำนวณเปรียบเทียบ

การตรวจสอบการมีชีวิตเซลล์ ด้วยวิธี MTT assay โดยดูผลการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenase ใน cytochrome b และ c จาก

ไมโทคอนเดรีย ย่อยสลายสาร tetrazolium salt MTT ทำให้เกิดสาร formazan ซึ่งมีลักษณะเป็นผลึกสีม่วง สารนี้ละลายใน organic solvent ตรวจวัดสีด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 570 นาโนเมตร และวัดปริมาณของ ROS production ในเซลล์ โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 2,7-dichloro-dihydrofluorescin diacetate (DCFH-DA) โดย ROS ซึ่งจะทำให้เกิดสารฟลูออเรสเซนต์ คือ 2,7-dichlorofluorescein (DCF) การวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ที่เกิดขึ้นจากสาร DCF จึงใช้เป็นดรรชนีวัดปริมาณ ROS ภายในเซลล์ ระดับของ ROS production ในเซลล์ รายงานเป็นค่า DCF fluorescence เทียบจากกลุ่มคนปกติ โดยให้ค่าเฉลี่ยของค่า relative fluorescence unit ที่ได้จากการวัดแสงฟลูออเรสเซนต์ของสาร DCF ในเซลล์ที่ incubated ด้วยซีรั่มของคนปกติเป็น 100 %

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิจัยแสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยนำเสนอในรูปของกราฟหรือตาราง การเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลจะใช้ two-samples t-test สำหรับเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน paired t-test สำหรับหาความแตกต่างระหว่างก่อน และหลังเข้าร่วมโปรแกรมฯ ภายในกลุ่มเดียวกัน ส่วนข้อมูลที่มีการกระจายตัวไม่ตรงตามข้อตกลงเบื้องต้นของ parametric tests จะใช้ non-parametric tests ที่เหมาะสมแทน คือ Mann-Whitney test ใช้สำหรับเปรียบเทียบความแตกต่างของ 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน และ Wilcoxon signed ranks test ใช้สำหรับเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังเข้าร่วมโปรแกรมฯ ภายในกลุ่มเดียวกัน โปรแกรมทางสถิติที่ใช้ คือ SPSS เวอร์ชัน 15.0 กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

ผลการวิจัย

การศึกษานี้มีกลุ่มประชากรตัวอย่าง 2 กลุ่ม คือ กลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบที่ได้รับการรักษาปกติ ไม่ได้เข้าโปรแกรมการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต (กลุ่ม UC) 15 คน (ชาย 11 คน และหญิง 4 คน) และกลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบที่เข้าโปรแกรมฯ (กลุ่ม LM) 15 คน (ชาย 13 คน และหญิง 2 คน) ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และจากการสอบถามประวัติจากผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม พบว่ามีผู้ป่วยกลุ่ม LM ที่สูบบุหรี่ 1 ราย และเป็นโรคเบาหวาน 1 ราย แต่ไม่มีประวัติครอบครัวเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม UC ไม่มีคนที่สูบบุหรี่และเป็นโรคเบาหวาน แต่มีประวัติครอบครัวเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ 2 ราย

ผลการวิเคราะห์ที่ 6 เดือนของการติดตาม

ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 1 พบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีค่า BMI เปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยจาก baseline โดยไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ผลการวิเคราะห์ระดับไขมันในเลือด พบว่าผู้ป่วยกลุ่ม UC มีระดับของไขมันที่ 6 เดือน เพิ่มขึ้นจาก baseline ทั้งระดับคอเลสเตอรอล และ LDL-C แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น 4.67 % และ LDL-C เพิ่มขึ้นประมาณ 6 % ส่วนไตรกลีเซอไรด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.033$) และพบว่าระดับของ HDL-C ลดลงไปประมาณ 7 % ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM มีระดับของ คอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ ที่ 6 เดือน ลดลงจาก baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยคอเลสเตอรอลลดลงไปประมาณ 9.5 % ($p = 0.042$) และไตรกลีเซอไรด์ลดลงจากเดิม 19 % ($p = 0.010$) ส่วน LDL-C ลดลงจาก baseline เช่นกันแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยลดลงจากเดิมประมาณ 12 % ส่วนระดับของ HDL-C เพิ่มขึ้น 0.65 %

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ oxLDL ในซีรั่มโดยใช้หลักการ ELISA พบว่าผู้ป่วยกลุ่ม UC มีระดับของ oxLDL เพิ่มขึ้นจาก baseline ประมาณ 10 % ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM มีระดับของ oxLDL ลดน้อยลงจาก baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.011$) โดยที่ลดลงจากเดิมประมาณ

ตารางที่ 1. แสดงค่าดัชนีมวลกาย ความดันเลือด ระดับไขมัน ระดับ oxLDL และ protain carbonyl ในซีรั่ม ของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ กลุ่มควบคุม (UC) และกลุ่มทดลอง (LM) ที่ baseline 6 เดือน และ 12 เดือนของการติดตาม

Variables	UC group			LM group		
	Baseline	6 months follow-up	12 months follow-up	Baseline	6 months follow-up	12 months follow-up
Age (years)	60.73 ± 8.37			66.00 ± 7.06		
Body mass index (kg/m^2)	25.28 ± 2.56	25.22 ± 2.43	25.30 ± 2.63	25.45 ± 1.53	24.96 ± 1.43	25.11 ± 1.64
Systolic blood pressure (mmHg)	137.07 ± 19.80	134.60 ± 20.76	131.80 ± 21.70	134.93 ± 14.81	128.29 ± 8.41	132.13 ± 14.21
Diastolic blood pressure (mmHg)	79.67 ± 11.34	77.27 ± 9.56	75.07 ± 10.81	78.20 ± 8.62	72.21 ± 11.84*	73.27 ± 10.80
Total Cholesterol (mg/dl)	164.07 ± 22.77	171.73 ± 31.06	167.27 ± 29.87	176.13 ± 33.41	159.47 ± 22.10*	171.73 ± 42.11
Triglyceride (mg/dl)	113.20 ± 41.23	145.53 ± 59.09*	131.40 ± 48.60	133.73 ± 49.23	108.13 ± 39.32*	130.60 ± 71.61
HDL-C (mg/dl)	55.40 ± 12.57	51.53 ± 13.63	49.87 ± 9.16*	50.67 ± 7.97	51.00 ± 7.86	48.40 ± 10.68
LDL-C (mg/dl)	86.03 ± 18.89	91.09 ± 24.13	91.12 ± 23.45	98.72 ± 27.12	86.84 ± 21.39	97.21 ± 35.20
oxLDL (U/L)	41.56 ± 17.95	45.68 ± 20.18	52.41 ± 28.24	40.87 ± 16.90	32.47 ± 7.73*	40.67 ± 8.57
Protein carbonyl (nmol/mg)	0.64 ± 0.51	0.72 ± 0.38	1.02 ± 0.58*	0.64 ± 0.36	0.47 ± 0.28*	0.47 ± 0.42

*p<0.05, p-values were determined by Student's paired t-test or matched paired Wilcoxon signed-rank test for differences from baseline

20 % ผลการวิเคราะห์ปริมาณ protein carbonyl ในซีรั่ม โดยวิธี spectrophotometric DNPH assay พบว่าผู้ป่วยกลุ่ม UC ที่ 6 เดือน มีระดับของ protein carbonyl เพิ่มขึ้นจาก baseline ประมาณ 12 % ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM ที่ 6 เดือนมีระดับของ protein carbonyl ลดลงจาก baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.036)

ผลการวิเคราะห์ที่ 12 เดือนของการติดตาม

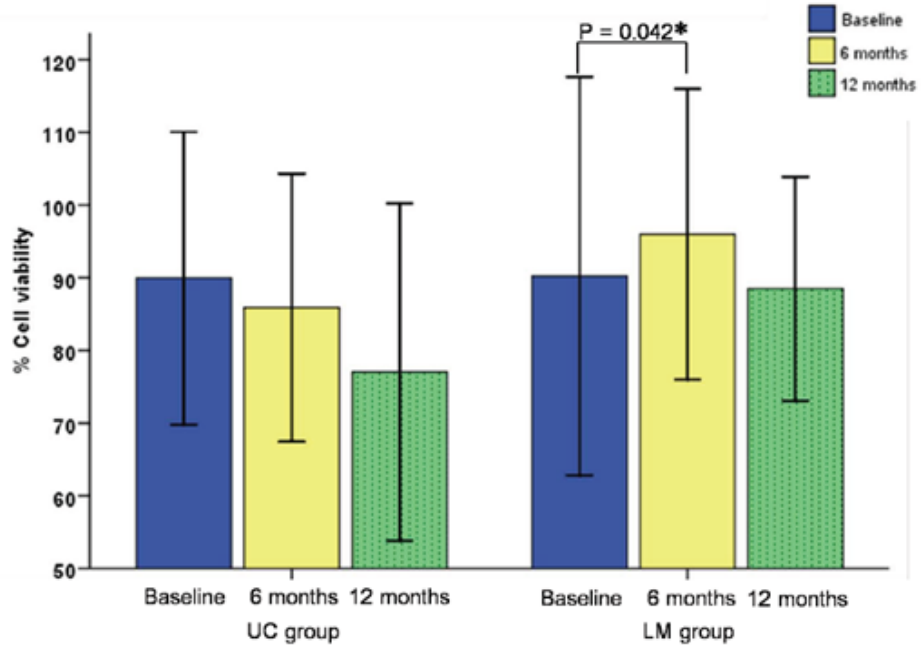
จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีค่า BMI เปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยจาก baseline ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ โดยผู้ป่วยกลุ่ม UC มีค่า BMI เพิ่มขึ้นจาก baseline เพียง 0.05 % เท่านั้น ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM ที่ 12 เดือน ค่า BMI ลดลงจาก baseline 1.34 % ผลการวิเคราะห์ระดับไขมันในเลือดที่ 12 เดือน คล้ายกับผลที่ 6 เดือน โดยพบว่าผู้ป่วยกลุ่ม UC มีระดับของคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ LDL-C เพิ่มขึ้นจาก baseline แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น 1.95 % และมีค่าไตรกลีเซอไรด์เพิ่มจากเดิม 16.08 % ส่วนค่า LDL-C เพิ่มขึ้นประมาณ 6 % แต่พบว่าระดับของ HDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.006) โดยลดลงไปประมาณ 10 % ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM มีระดับไขมันในเลือดที่ 12 เดือนลดลงจาก baseline ทั้งคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ HDL-C และ LDL-C แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยคอเลสเตอรอลลดลงไป 2.5 % และค่าไตรกลีเซอไรด์ลดลงจากเดิม 2.34 % ค่า LDL-C ลดลงจากเดิมประมาณ 1.53 % ส่วนระดับของ HDL-C ลดลงไป 4.47 %

ผู้ป่วยกลุ่ม UC มีระดับของ oxLDL ที่ 12 เดือนเพิ่มขึ้นจาก baseline ประมาณ 26% ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM มีระดับของ oxLDL ใกล้เคียงกับ baseline ผู้ป่วยกลุ่ม UC มีระดับของ protein carbonyl ในซีรั่มเพิ่มขึ้นจาก baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.031) ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM มีระดับของ protein carbonyl ลดลงจาก baseline ประมาณ 25%

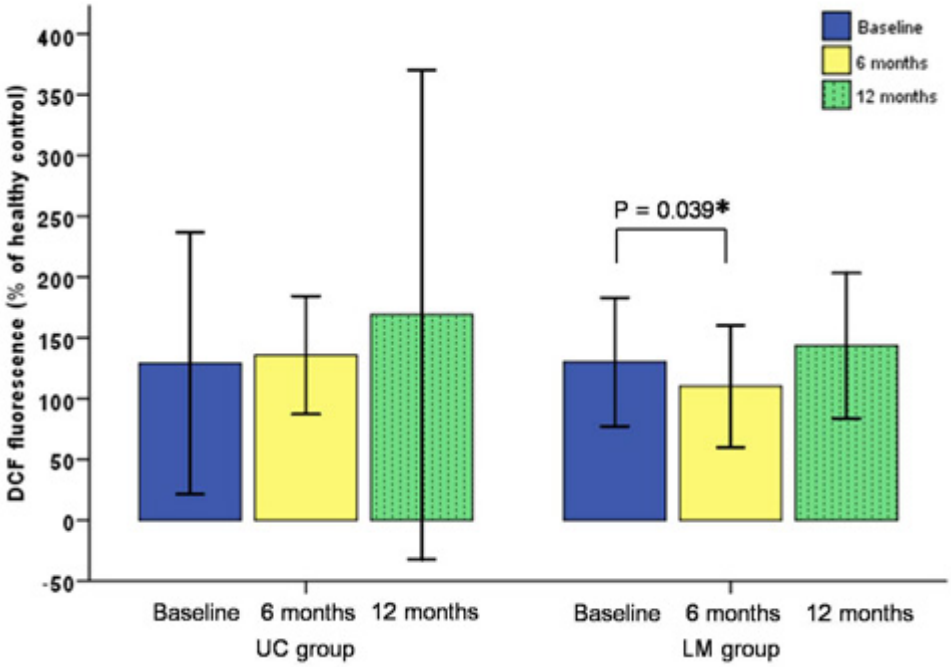
ผลการวิเคราะห์การทดสอบผลของซีรั่มที่มีต่อเซลล์เพาะเลี้ยง HCAECs

การทดสอบผลของซีรั่มที่มีต่อเซลล์ HCAECs โดยวัดจำนวนเซลล์มีชีวิต (cell viability) ด้วยวิธี MTT assay แสดงผลดังรูปที่ 2 เมื่อ incubated ด้วยซีรั่มที่ 6 เดือนของผู้ป่วยกลุ่ม UC พบว่า % cell viability ลดลงจาก baseline โดยลดจาก 89.96 ± 10.07 เป็น 85.86 ± 9.22 และลดลงไปอีกเมื่อ incubated ด้วยซีรั่มที่ 12 เดือน (77.03 ± 11.61) แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM เมื่อ incubated ด้วยซีรั่มที่ 6 เดือน % cell viability เพิ่มขึ้นจาก baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.042) โดยเพิ่มจาก 90.24 ± 13.70 เป็น 95.98 ± 9.98 และลดลงไปเล็กน้อยเมื่อ incubated ด้วยซีรั่มที่ 12 เดือน (88.48 ± 7.69) จากผลแสดงว่าซีรั่มของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบหลังเข้าโปรแกรมฯ มีความเป็นพิษ (cytotoxicity) ต่อเซลล์ HCAECs ลดลง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณของ ROS production ในเซลล์ HCAECs แสดงผลดังรูปที่ 3 พบว่าที่ 6 เดือน ผู้ป่วยกลุ่ม UC มี DCF fluorescence เพิ่มขึ้นจาก baseline แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยเพิ่มจาก 129.01 ± 53.82 เป็น 135.76 ± 24.27 และที่ 12 เดือน เพิ่มขึ้นเป็น 169.19 ± 100.64 จากผลแสดงว่ามีการสร้าง ROS เพิ่มมากขึ้นภายในเซลล์ HCAECs ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM มี DCF fluorescence ที่ 6 เดือนลดลงจาก baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.039) โดยลดจาก 130.06 ± 26.45 เป็น 110.07 ± 25.04 แต่ที่ 12 เดือน เพิ่มขึ้นเป็น 143.46 ± 29.90 จากผลแสดงว่ามีการสร้าง ROS ลดลงหลังจากเข้าโปรแกรมปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต 6 เดือน



รูปที่ 2. % cell viability ของเซลล์ HCAEC หลังจาก incubated ด้วยซีรั่มของกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่ม แล้วทดสอบโดยวิธี MTT assay (*p < 0.05, paired t-test ก่อนและหลังเข้าโปรแกรม)



รูปที่ 3. ระดับของ ROS production ในเซลล์ HCAEC แสดงโดยค่า DCF fluorescence (% of healthy control) (*p < 0.05, paired t-test ก่อนและหลังเข้าโปรแกรม)

แบบสอบถามเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงการดำเนินชีวิตและคุณภาพชีวิต

ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2 พบว่าหลังจาก 12 เดือนของการติดตาม ผู้ป่วยกลุ่ม UC ออกกำลังกายลดลงจาก baseline แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม LM ออกกำลังกายเพิ่มขึ้นจาก baseline แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มบริโภคอาหารที่มีคอเลสเตอรอลลดลง และบริโภคผักตามปริมาณที่แนะนำ (3 - 5 exchanges/วัน) มากขึ้น

ตารางที่ 2. แสดงการเปรียบเทียบแปลงการบริโภคอาหาร การออกกำลังกาย และคะแนนคุณภาพชีวิตของของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ กลุ่มควบคุม (UC) และกลุ่มทดลอง (LM) ที่ baseline และ 12 เดือนของการติดตาม

	UC group				LM group			
Variables	Baseline	Change at 12 months	% change	P-value	Baseline	Change at 12 months	% change	P-value
Dietary cholesterol (mg/day)	820.00 ± 383.96	760.00 ± 465.68	-7.32	0.647	570.00 ± 221.36	510.00 ± 246.98	-10.53	0.509
Dietary vegetable (days/week)	4.08 ± 2.22	4.31 ± 2.02	5.66	0.658	3.83 ± 2.04	5.08 ± 1.68	32.61	0.045*
Exercise (days/week)	4.00 ± 1.81	3.47 ± 2.20	-13.33	0.357	4.33 ± 2.22	4.80 ± 1.74	10.77	0.487
Quality of life	23.73 ± 2.73	25.11 ± 2.37	5.80	< 0.001*	25.01 ± 1.97	26.02 ± 2.47	4.05	0.096
Health and functioning	23.62 ± 3.72	25.55 ± 2.43	8.20	0.004*	25.40 ± 2.18	26.25 ± 2.73	3.34	0.248
psychological/spiritual	23.10 ± 2.57	24.26 ± 3.42	5.02	0.060	25.00 ± 2.69	25.53 ± 3.58	2.12	0.520
social and economic	22.87 ± 2.91	24.06 ± 2.66	5.18	0.152	23.21 ± 2.33	24.77 ± 3.29	6.73	0.044*
Family	26.32 ± 2.98	26.51 ± 2.98	0.72	0.725	26.37 ± 2.81	27.80 ± 2.71	5.44	0.137

*p<0.05, p-values were determined by Student's paired t-test for differences from baseline

จากแบบสอบถามคุณภาพชีวิต พบว่า เมื่อติดตามครบ 12 เดือน ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีคะแนนเฉลี่ยคุณภาพชีวิตสูงขึ้นจากก่อนการศึกษา แต่พบว่าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มแต่เมื่อพิจารณาคะแนนเฉลี่ยคุณภาพชีวิตในแต่ละกลุ่ม เมื่อติดตามครบ 12 เดือน พบว่า ผู้ป่วยกลุ่ม UC มีการเปลี่ยนแปลงของค่าคะแนนเฉลี่ยคุณภาพชีวิตโดยรวม ($p = < 0.001$) และในส่วนขององค์ประกอบร่วมด้านสุขภาพ และการทำงานของร่างกาย ($p = 0.004$) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่ม LM มีการเปลี่ยนแปลงของค่าคะแนนเฉลี่ยคุณภาพชีวิตเพิ่มขึ้น ทั้งคะแนนคุณภาพชีวิตโดยรวม และในส่วนขององค์ประกอบร่วมภายหลังติดตามครบ 12 เดือน โดยพบว่าคะแนนเฉลี่ยคุณภาพชีวิตด้านสังคม และเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.044$) แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในคะแนนคุณภาพชีวิตโดยรวม และในส่วนขององค์ประกอบร่วม 3 ด้าน คือ ด้านจิตใจ/จิตวิญญาณ ด้านสุขภาพและการทำงานของร่างกาย และด้านครอบครัว

การอภิปรายผล

จากการศึกษาผลของการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต ต่อระดับของไขมันในเลือด และระดับของ oxidative damage products ในซีรั่ม และศึกษาผลของซีรั่มนั้นต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงของหัวใจ โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบทั้งที่เข้าและไม่เข้าโปรแกรมการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต โดยดูผลที่ 6 เดือน และ 12 เดือน พบว่าหลังจากผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบเข้าโปรแกรมฯ เป็นระยะเวลา 6 เดือน ระดับของไขมัน และระดับของ oxidative damage products ในซีรั่ม ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบกับก่อนเข้าโปรแกรม แต่หลังจากเข้าโปรแกรมครบ 12 เดือน ระดับของไขมัน และระดับของ oxidative damage products ในซีรั่ม กลับเพิ่มสูงขึ้นมาจากระดับที่วัดได้ที่ 6 เดือน และถึงแม้ว่าจะมีระดับต่ำกว่าก่อนเข้าโปรแกรมก็ตาม แต่ก็ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก 6 เดือนแรกมีการนัดพบผู้ป่วยถี่กว่า 6 เดือนหลัง ซึ่งเป็นจุดประสงค์หนึ่งของการศึกษาเพื่อดูว่าถ้าไม่ได้รับการกระตุ้นจากแพทย์และพยาบาล ผู้ป่วยจะสามารถปฏิบัติตนตามโปรแกรมได้ดีพอหรือไม่ จากผลชี้ให้เห็นว่า 6 เดือนแรกผู้ป่วยปฏิบัติตนตามโปรแกรมได้ดีกว่า 6 เดือนหลัง สาเหตุหนึ่งอาจมาจากผู้ป่วยจำนวนหนึ่งไม่ได้รับความรู้จากทีมผู้วิจัยอย่างเต็มที่ เนื่องจากมีผู้ป่วยสูงอายุและมีอาการหูตึง จึงอาจจะไม่สามารถนำความรู้ไปปรับใช้ได้ด้วยตนเองอย่างมีประสิทธิภาพนัก ดังนั้นในการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตของผู้ป่วยที่สูงอายุให้ได้ผลดีนั้น อาจต้องมีการให้ความรู้กับญาติของผู้ป่วยด้วย เพื่อจะได้ดูแลผู้ป่วยได้อย่างต่อเนื่องและถูกต้องทั้งด้านการบริโภคอาหาร การออกกำลังกาย และการผ่อนคลายความเครียด

ผลการศึกษาระดับไขมันในเลือด พบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีระดับไขมันในเลือดเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ปกติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มยังคงได้รับการรักษาตามปกติตลอดการศึกษา คือ ได้รับยารักษาตามอาการ เช่น ยาลดไขมัน ยาลดความดันโลหิต เป็นต้น จากการศึกษาผลของโปรแกรมฯ พบว่าผู้ป่วยกลุ่ม LM มีระดับของ คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ LDL-C ลดลง หลังจากเข้าโปรแกรมฯ 12 เดือน ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม UC มีระดับของ คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ LDL-C เพิ่มขึ้นจาก baseline สอดคล้องกับการศึกษาของ Bo และคณะ [16] ที่ได้ศึกษาผลของโปรแกรมการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตระยะเวลา 1 ปี ต่อความผิดปกติทางเมแทบอลิซึม (metabolic abnormalities) ในกลุ่มคนที่มีภาวะ metabolic syndrome จำนวน 375 คน พบว่าน้ำหนักตัว waist circumference ความดันโลหิต ระดับ high-sensitivity C-reactive protein ระดับของ triglyceride และความผิดปกติที่ก่อให้เกิด metabolic syndrome นั้นลดลงในกลุ่มคนที่เข้าโปรแกรม และเพิ่มขึ้นในกลุ่มควบคุม โดยพบว่าการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตสามารถลด metabolic syndrome ลดสัดส่วนของการเกิด central obesity และ hypertriglyceridemia และลดอัตราการเกิดโรคเบาหวานได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลศึกษา oxidative damage products ในซีรั่ม ซึ่งเป็นผลมาจากการออกซิไดซ์โดย ROS พบว่าผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบกลุ่มที่เข้าโปรแกรมฯ มีระดับของ oxLDL และ protein carbonyl ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังจากเข้าโปรแกรม ซึ่งผลที่ได้เป็นไปในทางเดียวกับการศึกษาของ Tonstad และคณะ ซึ่งพบว่าในคนอายุ 18 - 35 ปี ที่ครอบครัวมีประวัติของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบที่ ได้เปลี่ยนแปลงการดำเนินชีวิต 8 เดือน มีระดับของ LDL และ oxLDL ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม[17] จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงการดำเนินชีวิตสามารถ ลด oxidative damage products ในซีรั่มได้ นอกจากนี้ได้มีรายงานการศึกษาของ Jatuporn และคณะ[12] พบว่าผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบคงที่ที่ได้เข้าโปรแกรมเปลี่ยนแปลงการดำเนินชีวิตเป็นระยะเวลา 4 เดือน มีระดับของสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งกลูตาไธโอนและวิตามินซี เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตสามารถลด oxidative stress ได้ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ

การศึกษาของ Holvoet และคณะ [18] เกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ oxLDL กับระดับของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ พบว่าระดับของ oxLDL ในเลือดมีความสัมพันธ์กับขนาดของการตีบของหลอดเลือดแดงโคโรนารีในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดหัวใจ และอาจจะใช้การตรวจวัดระดับของ oxLDL เป็นตัวชี้วัดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบได้อีกด้วย และจากการศึกษาของ Ehara และคณะ[19] เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ oxLDL และระดับความรุนแรงของอาการของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ พบว่าระดับของ oxLDL ความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของอาการของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ โดย acute myocardial infarction มีระดับของ oxLDL สูงกว่า unstable angina pectoris และ stable angina pectoris แสดงว่าระดับของ oxLDL จะสัมพันธ์กับ plaque instability จากการศึกษาทั้งสองสามารถสรุปผลของการศึกษาครั้งนี้ได้ว่าระดับ oxLDL ที่ลดลงหลังจากเข้าโปรแกรมฯ อาจจะทำให้ระดับความรุนแรงของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบนั้นลดลงไปด้วย หรืออาจจะไม่เพิ่มขึ้นไปจากเดิม

การศึกษาในครั้งนี้พบว่า cell viability ของเซลล์ HCAECs เพิ่มขึ้นหลังจาก incubated ด้วยซีรั่มของผู้ป่วยหลังเข้าโปรแกรมการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต เมื่อเปรียบเทียบกับผลก่อนเข้าโปรแกรม ในขณะที่มี cell viability ลดลงในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาปกติ แสดงว่าซีรั่มของผู้ป่วยหลังเข้าโปรแกรมเป็นพิษ (cytotoxicity) ต่อเซลล์ HCAECs ลดลง Ornish และคณะ[20] ได้ศึกษาผลของซีรั่มของผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมลูกหมากที่ได้เข้าโปรแกรมปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตอย่างเคร่งครัด พบว่าระดับของ prostate specific antigen (PSA) ลดลงในกลุ่มผู้ป่วยที่เข้าโปรแกรม แต่เพิ่มขึ้นในกลุ่มควบคุม ($p = 0.016$) และเมื่อ incubated เซลล์ด้วยซีรั่มจากกลุ่มผู้ป่วยที่เข้าโปรแกรม การเจริญของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก LNCaP ถูกยับยั้งมากกว่ากลุ่มควบคุมเกือบ 8 เท่า นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของระดับ PSA และการเจริญของเซลล์ LNCaP ยังสัมพันธ์กับดีกรีของการเปลี่ยนแปลงการดำเนินชีวิตด้วย

จากการศึกษาของ Roberts และคณะ[21, 22] ถึงผลของปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตอย่างเคร่งครัดโดยรับประทานอาหารที่มีเส้นใยสูง และอาหารที่มีไขมันต่ำร่วมกับการออกกำลังกายที่มีต่อ oxidative stress การอักเสบ และ monocyte chemotactic activity ในผู้ชายอ้วนที่มีปัจจัยของภาวะ metabolic syndrome และในผู้ป่วยชายที่เป็นโรคเบาหวาน พบว่า BMI ระดับไขมันในเลือด (คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ HDL-C และ LDL-C) การอักเสบ และ monocyte chemotactic activity ลดลงหลังจากเข้าโปรแกรม 3 สัปดาห์ และมีการศึกษาในหลอดทดลองในเซลล์ human aortic endothelial cell พบว่าซีรั่มที่ได้จากกลุ่มตัวอย่างหลังจากการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตทำให้มีการแสดงออกของ superoxide และ hydrogen peroxide production ลดลงโดยการตรวจวัดดูการฟลูออเรสเซนต์ของสาร DCF ซึ่งการ

ศึกษาของ Roberts และคณะ ทั้งในผู้ป่วยโรคเบาหวาน และ metabolic syndrome สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ ว่าปริมาณของ ROS production ในเซลล์ HCAEC ลดลงหลังจากการ incubated ด้วยซีรั่มของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบที่เข้าโปรแกรมการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต ส่วนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาแบบปกตินั้นมี ROS production เพิ่มขึ้น

ผลการศึกษาระดับของ oxLDL และ ROS production ค่อนข้างไปในแนวทางเดียวกัน คือ มีระดับลดลงหลังจากเข้าโปรแกรมปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิต ถึงแม้ว่าจะไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติก็ตาม จากการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่า oxLDL สามารถเหนี่ยวนำ ROS ซึ่งเป็น second messenger ที่เกี่ยวข้องกับการเกิด apoptosis ให้เกิดขึ้นได้ในเซลล์ต่างๆ หลายชนิดรวมทั้งเซลล์บุผนังหลอดเลือดด้วย [23, 24] การศึกษาของ Chen และคณะ[25] พบว่า oxLDL เหนี่ยวนำให้เซลล์บุผนังหลอดเลือดเกิด apoptosis ผ่าน specific receptor ที่ชื่อว่า LOX-1 ได้ และอาจเกี่ยวข้องกับ ROS production และ NADPH oxidase และมีการศึกษาว่า oxLDL เป็นพิษต่อเซลล์ สามารถทำให้เกิด endothelial dysfunction โดย oxLDL จับกับ LOX-1 แล้ว LOX-1 ไปกระตุ้นการทำงานของ NADPH oxidase ทำให้มีการสร้าง ROS ในเซลล์เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis หรือแบบ necrosis [4]

มีการศึกษาพบว่าคนที่บริโภคกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดโอเมกา-3 ในปริมาณต่ำมีความเสี่ยงในการเกิด endothelial dysfunction มากกว่าคนที่บริโภคในปริมาณสูง[26] การบริโภคผัก ผลไม้ และอาหารเส้นใยสูงในปริมาณน้อย จะก่อให้เกิด oxLDL ได้ง่าย เนื่องจากมีระดับของสารต้านอนุมูลอิสระต่ำ ดังนั้นแนวทางการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพหัวใจที่ดี ควรบริโภคอาหารให้ครบทั้ง 6 หมู่ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน ไขมัน เกลือแร่ และน้ำ เพราะสารอาหารในแต่ละหมวดให้คุณค่าของสารอาหารที่แตกต่างกัน และมีประโยชน์ร่วมกัน การบริโภคอาหารตามแนวปฏิบัติของ Onish[7] นั้น เน้นการรับประทานผักผลไม้สด และจำกัดการรับประทานอาหารไขมันเพียง 10% สำหรับผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ

ข้อสรุป

จากผลแสดงให้เห็นว่าการปรับเปลี่ยนการดำเนินชีวิตสามารถลดระดับของ oxidative damage products ในเลือดของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบได้ ส่งผลดีต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดแดงของหัวใจทั้งในแง่ของการมีชีวิตอยู่เพิ่มขึ้นและมีการสร้างอนุมูลอิสระภายในเซลล์ลดลงดังนั้นการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการดำเนินชีวิตจึงเป็นกลยุทธ์ที่มีประสิทธิภาพในการลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคระบบหัวใจและหลอดเลือด

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีขนาดของตัวอย่างน้อยเกินไป การเพิ่มจำนวนประชากรศึกษาจะทำให้ตอบคำถามงานวิจัยได้ชัดเจนมากขึ้น

อ้างอิง

1. World Health Organization. Revised Global Burden of Disease (GBD) 2002 estimates [online]. 2004 [cited 2008 Sep 30]. Available from: http://www.who.int/healthinfo/statistics/gbdwhoregionmortality2002.xls
2. กระทรวงสาธารณสุข กรมควบคุมโรค สำนักโรคไม่ติดต่อ. จำนวนและอัตราผู้ป่วยในโรคหลอดเลือดหัวใจขาดเลือด พ.ศ. 2544-2549 [ออนไลน์]. 2551 [วันที่เข้าถึง 2551 ก.ย. 30]. เข้าถึงได้จาก: http://ncd.ddc.moph.go.th/ncd%20web1/Cncd/data/bureau/database-bureau/table11.xls
3. กระทรวงสาธารณสุข กรมควบคุมโรค สำนักโรคไม่ติดต่อ. จำนวนและอัตราการตายในโรคหลอดเลือดหัวใจขาดเลือด พ.ศ. 2544-2549 [ออนไลน์]. 2551 [วันที่เข้าถึง 2551 ก.ย. 30]. เข้าถึงได้จาก:

http://ncd.ddc.moph.go.th/ncd%20web1/Cncd/data/bureau/database-bureau/table06.xls

4. Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunctin: a multifaceted disorder. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2006 Sep;291(3):H985-1002
5. Ma FX, Zhou B, Chen Z, Ren Q, Lu SH, Sawamura T, Han ZC. Oxidized low density lipoprotein impairs endothelial progenitor cells by regulation of endothelial nitric oxide synthase. J Lipid Res 2006 Jun;47(6):1227-37
6. Li D, Mehta JL. Upregulation of endothelial receptor for oxidized LDL (LOX-1) by oxidized LDL and implications in apoptosis of human coronary artery endothelial cells evidence from use of antisense LOX-1 mRNA and chemical inhibitors. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000 Apr;20(4):1116-22
7. Ornish D, Scherwitz LW, Billings JH, Brown SE, Gould KL, Merritt TA, Sparler S, Armstrong WT, Ports TA, Kirkeeide RL, et al. Intensive lifestyle changes for reversal of coronary heart disease. JAMA 1998 Dec 16;280(23): 2001-7
8. Bharshankar JR, Bharshankar RN, Deshpande VN, Kaore SB, Gosavi GB. Effect of yoga on cardiovascular system in subjects above 40 years. Indian J Physiol Pharmacol 2003 Apr;47(2):202-6
9. Bijlani RL, Vempati RP, Yadav RK, Ray RB, Gupta V, Sharma R, Mehta N, Mahapatra SC. A brief but comprehensive lifestyle education program based on yoga reduces risk factors for cardiovascular disease and diabetes mellitus. J Altern Complement Med 2005 Apr;11(2):267-74
10. Singh S, Malhotra V, Singh KP, Madhu SV, Tandon OP. Role of yoga in modifying certain cardiovascular functions in type 2 diabetic patients. J Assoc Physicians India 2004 Mar; 52:203-6
11. Jatuporn S, Sangwatanaroj S, Saengsiri AO, Rattanapruks S, Srimahachota S, Uthayachalerm W, Kuanoon W, Panpakdee O, Tangkijvanich P, Tosukhowong P. Short-term effects of an intensive lifestyle modification program on lipid peroxidation and antioxidant systems in patients with coronary artery disease. Clin Hemorheol Microcirc. 2003;29(3-4):429-36
12. Ferrans CE. Development of a conceptual model of quality of life. Sch Inq Nurs Pract 1996 Fall; 10(3):293-304
13. Aem-orn Saengsiri. The effects of a self-care promotion program on quality of life and reduction of risk factors of coronary heart disease patients [Master's thesis Nursing science (Adult Nursing) Graduate studies]. Bangkok: Mahidol University, 2003
14. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972 Jun;18(6):499-502
15. Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. Methods Enzymol 1994;233:346–357
16. Bo S, Ciccone G, Baldi C, Benini L, Dusio F, Forastiere G, Lucia C, Nuti C, Durazzo M,

Cassader M, et al. Effectiveness of a lifestyle intervention on metabolic syndrome. A randomized controlled trial. J Gen Intern Med 2007 Dec;22(12):1695-703

17. Tonstad S, Sundfor T, Seljeflot I. Effect of lifestyle changes on atherogenic lipids and endothelial cell adhesion molecules in young adults with familial premature coronary heart disease. Am J Cardiol 2005 May 15;95(10): 1187-91
18. Holvoet P, Stassen JM, Van Cleemput J, Collen D, Vanhaecke J. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant-associated coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998 Jan; 18(1):100-7
19. Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, Komatsu R, Matsuo T, Itabe H, Takano T, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* 2001 Apr 17;103(15):1955-60
20. Ornish D, Weidner G, Fair WR, Marlin R, Pettengill EB, Raisin CJ, Dunn-Emke S, Crutchfield L, Jacobs FN, Barnard RJ, et al. Intensive lifestyle changes may affect the progression of prostate cancer. J Urol 2005 Sep;174(3):1065-9
21. Roberts CK, Won D, Pruthi S, Kurtovic S, Sindhu RK, Vaziri ND, Barnard RJ. Effect of a short-term diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation, MMP-9, and monocyte chemotactic activity in men with metabolic syndrome factors. J Appl Physiol 2006 May;100(5):1657-65
22. Roberts CK, Won D, Pruthi S, Lin SS, Barnard RJ. Effect of a diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation and monocyte adhesion in diabetic men. Diabetes Res Clin Pract 2006 Sep;73(3):249-59
23. Salvayre R, Auge N, Benoist H, Negre-Salvayre A. Oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis. Biochim Biophys Acta 2002 Dec 30;1585(2-3):213-21
24. Norata GD, Tonti L, Roma P, Catapano AL. Apoptosis and proliferation of endothelial cells in early atherosclerotic lesions: possible role of oxidised LDL. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2002 Oct;12(5):297-305
25. Chen XP, Xun KL, Wu Q, Zhang TT, Shi JS, Du GH. Oxidized low density lipoprotein receptor-1 mediates oxidized low density lipoprotein-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells: Role of reactive oxygen species. Vascul Pharmacol 2007 Jul;47(1):1-9
26. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The effects of diet on inflammation: emphasis on the metabolic syndrome. J Am Coll Cardiol 2006 Aug 15;48(4):677-85