วารสารโรคมะเร็ง ปีที่ 29 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2552 • Thai Cancer Journal Vol. 29 No. 1 January-March 2009

วารสารโรคมะเร็ง

THAI CANCER JOURNAL

NCI Thailand

ปีที่ 29 ฉบับที่ 1
มกราคม-มีนาคม 2552

- ประสบการณ์อาการ วิธีการจัดการกับอาการ และคุณภาพชีวิต ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษา ณ ศูนย์มะเร็งลพบุรี
- การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือ ต่อการแสดงออกของ p53, Bcl-2 และ Bax mRNA ในเซลล์มะเร็ง
- ความสัมพันธ์ระหว่าง *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ
- การจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด

Vol. 29 No. 1
January-March 2009

ISSN 01425-2038

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

ISSN 0125-2038

มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

บรรณาธิการ

ธีรวุฒิ คูหะเปรมะ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

นงพงา สุวัฒนานันท์	เพ็ญศรี แซ่หลี	วิโรจน์ เหล่าสุนทรศิริ
ศุลีพร แสงกระจ่าง	สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์	

คณะบรรณาธิการ

กนกพร ใจสถาพร	กิติ จินดาวิจักษณ์	กวิญ ลีละวัฒน์
ฉันทนา หมอกเจริญพงศ์	ชนินทร์ อภิวาณิชย์	ดนัย ทิวาเวช
ธิดา ปัญจพันธ์พงศ์	ผ่องพรรณ ศิริพงษ์	เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล
วีรวุฒิ อิ่มสำราญ	วิชิต อาภรณ์วิรัตน์	วุฒิ สุเมธโชติเมธา
วสันต์ ลีนะสมิต	วรรณเพ็ญ เบ็ญจชัย	สมจินต์ จินดาวิจักษณ์
สายพิน ตั้งครรัชต์	สุพล มโนรมณ์	สุเมธ รินสุรงควงศ์
สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์	อนงค์ เทพสุวรรณ์	อมรรัตน์ วิจิตรลีลา
อรุณลักษณ์ โคมินทร์	อัคริยา สมรรคบุตร	อนันต์ กรลักษณ์
อารยะ อดุลยพันธ์	อารีย์ ประสิทธิพยงค์	อรสา อัครวัชรางกูร
อรชร เอี่ยมอารีรัตน์		

ผู้จัดการ

อาคม ชัยวีระวัฒนะ

ผู้ช่วยผู้จัดการ

ปรียาดา จินตศิริกูล	พรนภา จันทรวีระกุล	มลินี สนธิไชย
วารีพร ศักดิ์สมบูรณ์	เสาวคนธ์ ศุกรโยธิน	

พิมพ์ที่ ห้างหุ้นส่วนจำกัด เกรทอินเตอร์พริ้นท์

20 หมู่4 ต.ท่าทราย อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000 โทร. 02-967-1970

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

ISSN 0125-2038

The National Cancer Institute Foundation

Editor-in-Chief

Thiravud Khuhaprema

Assistant Editors

Nongpanga Suwattananand	Pensri Saelee	Wirote Lausoontornsiri
Suleeporn Sangrajrang	Sunanta Chariyalertsak	

Editorial Board

Kanokporn Jaisathaporn	Kiti Chindavijak	Kawin Leelawat
Chantana Morkchareonpong	Chanin Apiwanich	Danai Tiwawech
Thida Panchaphanpong	Pongpun Siripong	Petcharin Srivatanakul
Weerawut Imsamran	Vichit Arpornwirat	Wutthi Sumetchotimaytha
Vasant Linasmita	Wanpen Benjachai	Somjin Chindavijak
Saipin Tangkarat	Suphon Manoromana	Sumate Rinsurongkawong
Suwat Chariyalertsak	Anong Tepsuwan	Amornrat Vijitleela
Arunluck Komindr	Akariya Samakhaputra	Anant Karalak
Araya Adulbhan	Aree Prasitthipayong	Orasa Akkarawacharangkul
Orachorn Aimarreerat		

Managing Editor

Arkom Chaiwerawattana

Assistant Managers

Preyada Jintasirikul	Pornnapa Jantaraweragul	Malinee Sontichai
Wareeporn Saksomboon	Saowakon Sukarayodhin	

Greatinterprint Limited Partnership

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

วัตถุประสงค์ เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ และผลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคมะเร็ง

สำนักงาน สำนักงานวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097

เว็บไซต์เผยแพร่ www.kmnci.com

กำหนดการตีพิมพ์ กำหนดออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 ฉบับ

การส่งต้นฉบับ บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097
E – mail : nci_journal@hotmail.com

การบอกรับเป็นสมาชิก
- ห้องสมุดและหน่วยงานราชการแจ้งความจำนงได้ที่สำนักงานวารสาร โรคมะเร็งโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
- หน่วยงานเอกชน อัตราค่าสมาชิก 200 บาท ต่อปี (4 ฉบับ) รวมค่าจัดส่ง โดยสมัครสมาชิกผ่านเว็บไซต์ www.kmnci.com
  และโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน)
  สาขารามาธิบดี เลขที่บัญชี 026-2-27518-2
  ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

สารบาญ
Content

ปีที่ 29 ฉบับที่ 1 **มกราคม-มีนาคม 2552**

		หน้า
บทบรรณาธิการ		**1**
ประสบการณ์อาการ วิธีการจัดการกับอาการ และคุณภาพชีวิตผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษา ณ ศูนย์มะเร็งลพบุรี	*นิรมล พจน์ด้วง* *ฉวีวรรณ เจิมสม* *จุไรรัตน์ ธรรมเพียร*	**3**
การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงออกของ p53, Bcl-2 และ Bax mRNA ในเซลล์มะเร็ง	*จรัญญา งามขำ* *มติ เหรียญกิจการ* *พรทิพา พิชา*	**13**
ความสัมพันธ์ระหว่าง *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ	*คนัย ทิวาเวช* *วุฒิ สุเมธ โชติเมธา* *อารีย์ ประสิทธิพยงค์* *ญานิณี จรัสวิศรุตพร* *Takafumi Ishida*	**25**
การจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด	*สุจิรา ฟุ้งเฟื่อง*	***35***

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 29 ฉบับที่ 1
มกราคม - มีนาคม 2552

บทบรรณาธิการ

Aflatoxin - ต้นเหตุของการทำให้เกิดมะเร็งตับ

ตามรายงานของ International Agency for Research on Cancer (IARC) พบว่า aflatoxin B_1 (AFB_1) เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ ซึ่งจัดอยู่ใน Group 1: Carcinogenic to human[1] สารพิษชนิดนี้สร้างจากเชื้อราในตระกูล Aspergillus สาร aflatoxin ทนความร้อนได้สูงถึง 260°ซ คงตัวในสภาพที่เป็นกรดแต่จะสลายตัวในสภาพที่เป็นด่างและสลายตัวได้ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต สารชนิดนี้ละลายน้ำได้เล็กน้อยเมื่อเข้าสู่ร่างกาย โดยบางส่วนจะถูกขับออกในรูปเดิม และบางส่วนจะถูกขบวนการของร่างกายเปลี่ยนแปลงเป็นสาร metabolites ซึ่งมีพิษมากขึ้นหรือน้อยลงก็ได้ สารดังกล่าวจะถูกสะสมในร่างกาย บางส่วนถูกขับออกทางปัสสาวะ อุจจาระ และทางน้ำนม สาร metabolite ที่มีพิษมากที่สุด คือ aflatoxin B_1-2, 3-epoxide เมื่อไปจับกับ DNA หรือ RNA ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ผิดปกติ และทำให้เกิดมะเร็งที่ตับ นอกจากนี้สาร metabolite บางชนิดจะถูกขับออกทางน้ำนม เช่น ชนิดที่พบในน้ำนมโค คือ aflatoxin M1 (AFM_1)[2] ซึ่งสามารถทำให้เกิดมะเร็งตับเช่นเดียวกับ aflatoxin B_1[3]

AFM_1 ถูกจัดอยู่ใน Group 2B: Possibly carcinogenic to human พบมากในน้ำนมดิบ เป็น secondary metabolite ของ AFB_1 เกิดจากการที่สัตว์กินอาหารสัตว์ปนเปื้อนสารพิษ AFB_1 เข้าไป[1] การกำหนดค่ามาตรฐานของการปนเปื้อน AFM_1 ในน้ำนมมีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกากำหนดให้มีการปนเปื้อนได้ไม่เกิน 0.5 μg/L[4] ส่วนประเทศในกลุ่มยุโรป กำหนดไว้ที่ 0.01-0.05 μg/L[4] สำหรับปริมาณ AFM_1 ที่พบในน้ำนมของประเทศไทยพบว่า อยู่ในช่วง 0.5-6.6 μg/L[1] ซึ่งเป็นปริมาณที่ค่อนข้างสูง นอกจากจะพบ aflatoxin ในผลิตภัณฑ์นมแล้ว ยังพบ AFB_1 ในผลิตภัณฑ์เกษตรอื่นๆ ได้แก่ ข้าวโพด งา น้ำมันถั่ว[5, 6] และยังพบในผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรชนิดต่างๆ เช่น หญ้าหนวดแมว รางจืด และขิง เป็นต้น ทั้งในรูปของสมุนไพรผง ถุงชง และแคปซูล[7]

มะเร็งตับเป็นโรคมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับหนึ่งในผู้ชายไทย โดยส่วนใหญ่ที่พบมีสองชนิด คือ มะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) และมะเร็งของเซลล์ตับ (hepatocellular carcinoma)[8] สำหรับการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีมีสาเหตุมาจากพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งพบมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ส่วนมะเร็งเซลล์ตับนั้นเกิดจากไวรัสตับอักเสบและ aflatoxin มะเร็งเซลล์ตับที่พบในคนไทยมากกว่าร้อยละ 70 เกิดจากไวรัสตับอักเสบบี[9] ส่วน aflatoxin exposure ที่ตรวจพบในซีรั่มของประชากรไทยยังอยู่ในระดับต่ำ[10]

ในประเทศไทย เราได้มีแผนการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งตับด้วยการรณรงค์ให้ฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีในประชากรตั้งแต่แรกเกิดเป็นระยะเวลาสิบกว่าปีมาแล้ว และคาดว่าอีกราว 20-30 ปีข้างหน้า อุบัติการณ์การเกิดมะเร็งเซลล์ตับจะลดลง แต่ถ้าเรายังมีผลิตภัณฑ์อาหารที่ปนเปื้อนด้วยสาร aflatoxin ในปริมาณสูงไปสู่ประชาชน ผู้บริโภคดังที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้น แนวโน้มของการเกิดมะเร็งเซลล์ตับจาก aflatoxin ก็น่าจะสูงขึ้น ดังนั้นการป้องกันและควบคุมมะเร็งเซลล์ตับให้ได้ผลจึงควรมีการควบคุม ปริมาณ aflatoxin ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ควบคู่กันไปด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Agency for Research on Cancer. AFLATOXINS. Available from: http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82-7A.pdf. Accessed February 25, 2009.
2. ดวงจันทร์ สุขประเสริฐ และ วนิดา ยุรญาติ. สารพิษอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในเครื่องเทศ. วารสารสุขาภิบาลอาหาร. 2545; 4: 33-7.
3. Yu MW, Lien JP, Chiu YH, Santella RM, Liaw YF, Chen CJ. Effect of aflatoxin metabolism and DNA adduct formation on hepatocellular carcinoma among chronic hepatitis B carriers in Taiwan. J Hepatol 1997; 27: 320-30.
4. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก. การวิเคราะห์ปริมาณ Aflatoxin ในน้ำนมดิบ. Available from: http://www.dld.go.th/vrd_ep/method/sub_chemical/aflatest_m1.htm. Accessed February 11, 2009.
5. Lipigorngoson S, Limtrakul PN, Khangtragool W, Suttajit M. Quantitation of aflatoxin B1 in corn seeds and ground peanut by ELISA method using in-house monoclonal antibody preparation. Mycotoxins 1999; 99(Suppl.):197-200.
6. อมรา ชินภูติ. The Situation of Fungi and Aflatoxin Contamination in Sesame. Available from: www.geocities.com/ubfcrc/12.doc. Accessed February 11, 2009.
7. อมรา ชินภูติ. จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพร. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา ปีที่ 11 เล่มที่ 3 กันยายน-ธันวาคม พ.ศ. 2544 หน้า 27-38.
8. Khuhaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P. editors. Cancer in Thailand. Vol IV, 1998-2000. Bangkok; 2007.
9. Sithinamsuwan P, Piratvisuth T, Tanomkiat W, Apakupakul N, Tongyoo S. Review of 336 patients with hepatocellular carcinoma at Songklanagarind Hospital. World J Gastroentero 2000; 6: 339-43.
10. Montesano R, Hainaut P, Wild CP. Hepatocellular carcinoma: From gene to public health. J natl Cancer Inst 1997; 89: 1844-51.

บรรณาธิการ

❖ ❖ ❖

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 29 ฉบับที่ 1
มกราคม - มีนาคม 2552

ประสบการณ์อาการ วิธีการจัดการกับอาการ และคุณภาพชีวิตผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษา ณ ศูนย์มะเร็งลพบุรี

นิรมล พจน์ด้วง
ฉวีวรรณ เจิมสม
จุไรรัตน์ ธรรมเพียร

บทคัดย่อ การวิจัยเชิงพรรณนาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสบการณ์อาการ วิธีการจัดการกับอาการและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษา ตามแบบจำลองการจัดการกับอาการของดอดด์และคณะ กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอภายหลังครบรังสีรักษาของศูนย์มะเร็งลพบุรีรวม 80 ราย เก็บรวบรวมข้อมูลตั้งแต่เดือน มกราคมถึงมีนาคม 2551 โดยใช้แบบสัมภาษณ์ประสบการณ์อาการ วิธีการจัดการกับอาการและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งหลังครบการรักษาด้วยรังสี ประกอบด้วยแบบประเมินภาวะน้ำลายแห้งที่พัฒนาโดยอิชบุชและคณะ แบบประเมินคุณภาพชีวิตในภาวะน้ำลายแห้งพัฒนาโดยเฮนสันและคณะ แบบสอบถามทั้งสองส่วน พรรณวดี พุธวัฒนะและคณะ นำมาแปลเป็นภาษาไทย และแบบสัมภาษณ์วิธีการจัดการได้รับการพัฒนาโดยบุษกร แสงแก้ว และสุจิรา ฟุ้งเฟื่อง ผ่านการตรวจสอบคุณภาพด้านความตรงเชิงเนื้อหา โดยผู้ทรงคุณวุฒิ 3 ท่าน มีค่า CVI เท่ากับ 0.95 ทดสอบความเที่ยงได้ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของแบบประเมินความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งและแบบประเมินคุณภาพชีวิตเท่ากับ 0.81 และ 0.74 ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ร้อยละ 90 มีการรับรู้ภาวะน้ำลายแห้ง ซึ่งความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งโดยรวมอยู่ในระดับความรุนแรงปานกลาง อาการที่รับรู้ว่ามีความรุนแรงมาก คือ น้ำลายแห้งจนรู้สึกกลืนอาหารที่แห้งหรือแข็งได้ยากลำบาก วิธีการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้งในด้านบรรเทาอาการ ส่วนใหญ่เลือกการรับประทานอาหารที่มีลักษณะนุ่ม ชุ่มชื้น ชิ้นเล็ก งดสูบบุหรี่ หลีกเลี่ยงผลิตภัณฑ์หรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ จิบน้ำบ่อย ๆ หลีกเลี่ยงเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีนและดื่มน้ำมากกว่า 2000 ซีซีต่อวัน ในด้านการป้องกันฟันผุส่วนใหญ่เลือกใช้การแปรงฟันอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง ผลของการจัดการกับอาการด้านคุณภาพชีวิตพบว่า ภาวะน้ำลายแห้งรบกวน คุณภาพชีวิตโดยรวมในระดับค่อนข้างมาก และพบว่าความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งมีความสัมพันธ์กับคุณภาพชีวิต (P = 0.01)

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ภาวะน้ำลายแห้งเป็นภาวะแทรกซ้อนระยะยาวที่สำคัญและส่งผลต่อคุณภาพชีวิตภายหลังครบรักษาด้วยรังสีของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ ดังนั้นทีมสุขภาพควรให้ความสนใจกับปัญหาที่เกิดขึ้นโดยวางแนวทางการจัดการกับอาการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เพื่อส่งเสริมคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย *(วารสารโรคมะเร็ง 2552;29:3-12.)*

คำสำคัญ : ประสบการณ์อาการ , วิธีการจัดการกับอาการ/ภาวะน้ำลายแห้ง, คุณภาพชีวิต, ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ , รังสีรักษา

กลุ่มงานการพยาบาล ศูนย์มะเร็งลพบุรี จังหวัดลพบุรี

Abstract Symptom Experiences, Symptom Management, and Quality of Life in Head and Neck Cancer Patients with Radiation Induced Xerostomia

By Niramon Pojdoung, Chaveevan Jermsom and Churairat Thammapian

Out Patient Department , Nursing Division, Loburi Cancer Center, Loburi 15000

The purpose of this descriptive study was to analyze the experience of certain symptoms, symptom management, and quality of life (QOL) in head and neck cancer patients with radiation induced xerostomia based on the Symptom Management Model of Dodd et al. The study focused on 80 patients with head and neck cancer who were treated by radiotherapy in Loburi Cancer Center.

Data collection was performed from January to March 2008 by using Likert xerostomia questionnaires developed by Esbruch et al. Xerostomia - related QOL scale developed by Henson et al, and Symptom management questionnaires by Busakorn Sangkaew et al, and Sujira Foongfaung et al. The questionnaires were tested for content validity by 3 experts. The CVI was 0.95 and the reliability of The Cronbach' Alpha correlation coefficient in relation to two categories (Likert xerostomia questionnaries and Xerostomia - related QOL scale) were 0.81 and 0.74 respectively. The findings showed that 90% of the subjects had xerostomia with moderate distress. The most severe symptom was difficulty in swallowing dry or solid food. To improve their symptoms, the subjects should have soft diet or small pieces of food and avoid tobacco, caffeine and alcohol consumption. They should sip water frequently, drink water at least 2000 cc/day and care oral hygiene by brushing teeth twice daily. Xerostomia affected QOL of the patients with significant association (P = 0.01).

In conclusion, xerostomia following radiotherapy in head and neck cancer patients was common and affected the QOL. Therefore, the health care team should pay more attention to this health problem and set on an appropriate management to improve symptoms and QOL of these patients.*(Thai Cancer J 2009:29:3-12.)*

Key words : Symptom experiences, quality of life, head and neck cancer, xerostomia, radiotherapy

บทนำ

มะเร็งศีรษะและคอพบมากเป็นอันดับ 1 ของมะเร็งในเพศชายติดต่อกันหลายปี[1] ผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงเป็นกลุ่มใหญ่ที่เข้ามารับบริการในศูนย์มะเร็งลพบุรี โดยร้อยละ 60-80 ได้รับการรักษาด้วยรังสี[2-3] แม้ว่ารังสีจะไปทำลายเซลล์มะเร็งได้ แต่ก็มีผลต่อเซลล์ปกติด้วย ทำให้เกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ ภายหลังครบการรักษาด้วยรังสีมักจะเกิดผลข้างเคียงในระยะยาว ได้แก่ การดึงรั้งของเนื้อเยื่อรอบปากทำให้ช่องปากแคบ น้ำลายลดลงทำให้เกิดภาวะน้ำลายแห้งและการรับรสเสีย[4] การเกิดภาวะแทรกซ้อนในช่องปากภายหลังการรักษามีความสัมพันธ์กับคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย อาการที่พบมากที่สุดถึงร้อยละ 91.8 คือภาวะน้ำลายแห้ง[5]

ภาวะน้ำลายแห้ง คือ การที่น้ำลายผลิตได้น้อยลงจากสาเหตุต่างๆ ทำให้เกิดอาการน้ำลายเหนียว ปวดแสบปวดร้อนในปากโดยเฉพาะลิ้น กลืนลำบาก การรับรสผิดปกติ เยื่อบุปากอักเสบและติดเชื้อในช่องปาก ภาวะนี้ยังทำให้รบกวนการรับประทานอาหาร การนอนหลับรวมไปถึงการพูดด้วย การรักษาด้วยรังสีจะทำให้เกิดภาวะน้ำลายแห้งได้มากที่สุด เกิดได้ทั้งระยะเฉียบพลันและระยะยาว ภาวะน้ำลายแห้งส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอได้มากที่สุดภายหลังรับการรักษาด้วยรังสีเป็นเวลา 6 เดือน[5] การที่ไม่มีน้ำลายจะทำให้มีอาหารติดฟัน ชะล้างได้ยาก ทำให้เกิดอาการฟันผุและโรคปริทันต์ได้มากกว่าบุคคลทั่วไป[6] การศึกษาวิจัยในปัจจุบันได้มุ่งในด้านการป้องกันมากขึ้น โดยพัฒนาวิธีการฉายรังสีให้เกิดผลในการทำลายเนื้อเยื่อในช่องปากโดยเฉพาะต่อมน้ำลายให้น้อยที่สุด แต่วิธีการเหล่านี้ยังไม่ค่อยได้รับความสนใจมากนัก ผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่รักษาด้วยรังสียังคงต้องเผชิญกับภาวะน้ำลายแห้ง สำหรับประเทศไทยมีการศึกษาพบว่าสิ่งที่ก่อให้เกิดความเครียดที่พบมากในผู้ป่วย

มะเร็งศีรษะและคอภายหลังการรักษาด้วยรังสีคือ การกลืนลำบากจากคอแห้งและน้ำลายเหนียว (ร้อยละ 65) และจากปากแห้งคอแห้ง น้ำลายเหนียว (ร้อยละ 66.3)[7] ความรู้เกี่ยวกับประสบการณ์อาการการจัดการและผลลัพธ์ของการจัดการจากโรคและการรักษาของผู้ป่วยมะเร็งมีประโยชน์ต่อบุคลากรทางสุขภาพ ทำให้เข้าใจอาการของโรคมะเร็งและผลข้างเคียงของการรักษา รวมทั้งวิธีการจัดการกับอาการของผู้ป่วยและประสิทธิภาพจากการจัดการนั้นๆ เพื่อหาแนวทางในการช่วยเหลือผู้ป่วยอย่างถูกต้องและตรงกับปัญหาอย่างแท้จริง การศึกษาเกี่ยวกับประสบการณ์การมีอาการที่ผ่านมาของกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งมักศึกษาขณะผู้ป่วยรับการรักษาเป็นส่วนใหญ่ ทั้งที่หลังครบการรักษาผู้ป่วยอาจมีอาการรบกวนจากผลข้างเคียงของการรักษาที่ได้รับ สำหรับประเทศไทยการศึกษาที่อยู่ในวงจำกัดคือการศึกษาที่เฉพาะเจาะจงต่อผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอในด้านประสบการณ์ของภาวะน้ำลายแห้งและคุณภาพชีวิตภายหลังการรักษาด้วยรังสี คุณภาพชีวิตเป็นตัวชี้วัดทางสุขภาพที่สำคัญของผู้ป่วยมะเร็ง

คณะผู้วิจัยมีบทบาทโดยตรงในการดูแลกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่ได้รับรังสีรักษาจึงเห็นความสำคัญกับปัญหาระยะยาวที่เกิดขึ้นข้างต้นจึงได้ทำการศึกษาประสบการณ์อาการวิธีการจัดการกับอาการและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษาของศูนย์มะเร็งลพบุรี โดยใช้กรอบแนวคิดการจัดการกับอาการของดอดด์แลคณะ[8]มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสบการณ์การมีภาวน้ำลายแห้งในเรื่องการรับรู้ความรุนแรงของอาการ วิธีกาจัดการกับอาการและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอภายหลังครบรังสีรักษาเพื่อเป็นแนวทางในการดูแลผู้ป่วยต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การศึกษาครั้งนี้เป็นวิจัยเชิงบรรยาย กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอภายหลังครบรังสีรักษาของศูนย์มะเร็งลพบุรี ในช่วงเดือน มกราคม - มีนาคม 2551 จำนวน 80 ราย มีคุณสมบัติคือ อายุ 18 ปีขึ้นไป ได้รับการวินิจฉัยเป็นมะเร็งศีรษะและคอ และได้ รับรังสีรักษาครบตั้งแต่ 6 สัปดาห์ถึง 2 ปี

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

เครื่องมือที่ใช้ ประกอบด้วย 4 ส่วน ได้แก่ แบบบันทึกข้อมูลทั่วไปและข้อมูลความเจ็บป่วย, แบบประเมินความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งภายหลังได้รับ รังสีรักษา เป็นแบบสอบถามชนิดลิเคิร์ตที่พัฒนาโดยอิชบุชและคณะ[9], แบบประเมินคุณภาพชีวิตผู้ป่วยเป็นแบบสอบถามที่สร้างโดยเฮนสันและคณะ[10] และแบบสัมภาษณ์เกี่ยวกับประสบการณ์ในการจัดการกับอาการของ ผู้ที่เป็นมะเร็งที่คณะผู้วิจัยดัดแปลงจากแบบสอบถาม เดิมของบุษกร แสงแก้ว[11] และสุจิรา ฟุ้งเฟื่อง[12] ประกอบด้วยวิธีการจัดการกับอาการในส่วนนี้ผู้วิจัยได้ดัดแปลงข้อคำถามโดยการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับแนวทางปฏิบัติทางการพยาบาลในการดูแลช่องปากผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษาของนิรมล พจน์ด้วง[13] เป็นคำถามแบบให้เลือกตอบ 1 คำตอบ คือ ใช้ หรือ ไม่ใช้ และถามเกี่ยวกับเหตุผล / แหล่งที่มาของข้อมูล / ผู้ช่วยเหลือในการจัดการกับอาการ / เวลาและสถานที่ที่ปฏิบัติกิจกรรมการจัดการกับอาการ

คุณภาพของเครื่องมือ

คณะผู้วิจัยตรวจสอบคุณภาพของเครื่องมือในด้านความตรงเชิงเนื้อหา โดยผู้ทรงคุณวุฒิที่มีความเชี่ยวชาญด้านโรคมะเร็งศีรษะและคอในด้านการรักษาด้วยรังสีรักษาด้านการพยาบาลผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยรังสีและด้านทันตกรรม จำนวน 3 ท่าน ส่วนความเที่ยงของเครื่องมือ ผู้วิจัยหาความสอดคล้องภายในจากกลุ่มตัวอย่างจำนวน 27 คนได้ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค ในแบบประเมินความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งและแบบประเมินคุณภาพชีวิตผู้ป่วย เท่ากับ 0.81 และ 0.74 ตามลำดับ

การเก็บรวบรวมข้อมูล

คณะผู้วิจัยเป็นผู้เก็บรวบรวมข้อมูลด้วยตนเอง การพิทักษ์สิทธิ์ของผู้ป่วยได้ผ่านการเห็นชอบจากคณะกรรมการวิจัยศูนย์มะเร็งลพบุรี

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ นำเสนอข้อมูลเป็นจำนวน ร้อยละ พิสัย ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และค่า (*P*)

ผลการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศชาย ร้อยละ 71.3 อายุระหว่าง 19-80 ปี อายุเฉลี่ย 56.65 ปี มีสถานภาพสมรสคู่ร้อยละ 81.3 ทั้งหมดนับถือศาสนาพุทธ การศึกษาอยู่ระดับประถมศึกษา ร้อยละ 83.3 ไม่ได้ประกอบอาชีพร้อยละ 40 มีประวัติเคยสูบบุหรี่แต่ปัจจุบันเลิกสูบแล้วร้อยละ 63.8 และมีประวัติเคยดื่มสุราแต่ปัจจุบันเลิกดื่มแล้วร้อยละ 65 กลุ่มตัวอย่างเป็นมะเร็งของลิ้นและพื้นปากร้อยละ 31.3 รองลงมาคือมะเร็งโพรงหลังจมูกและกล่องเสียงร้อยละ 20 และ 12.5 ตามลำดับ ผลทางพยาธิวิทยาส่วนใหญ่เป็นเซลล์ชนิดแผ่นเรียบมีเกร็ด (squamous cell carcinoma) ร้อยละ 83.8 ปริมาณรังสีที่ได้รับทั้งหมด 6001 - 7000 เซนติเกรย์ ร้อยละ 82.5 จำนวนสัปดาห์ที่ได้รับรังสี 7 - 8 สัปดาห์ ร้อยละ 90 ได้รับรังสีครบเป็นเวลา 2 - 6 เดือน ร้อยละ 71.3 ได้รับยาเคมีบำบัดร่วมกับการฉายแสงด้วยสูตรยาคาร์โบพลาติน/ซิสพลาตินและ 5 เอฟยู ร้อยละ 41.3 ไม่มีประวัติการผ่าตัดในบริเวณศีรษะและคอร้อยละ 83.8 ได้พบทันตแพทย์ก่อนการฉายแสงและมีฟันผุร้อยละ 68.8 ไม่ได้พบทันตแพทย์ภายหลังครบรังสีรักษาร้อยละ 53.8 ปัจจุบันยังมีฟันในช่องปากร้อยละ 70 ไม่มีโรคประจำตัวร้อยละ 77.5 และมีการรับรู้ภาวะน้ำลายแห้งร้อยละ 90

ความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้ง

จากตารางที่ 1 พบว่า ความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งโดยรวมอยู่ในระดับความรุนแรงปานกลาง (ค่าเฉลี่ย 6.07, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 1.91) อาการที่กลุ่มตัวอย่างรับรู้ว่ามีระดับความรุนแรงมาก คือ น้ำลายแห้งจนรู้สึกกลืนอาหารที่แห้งหรือแข็งได้ยากลำบาก (ค่าเฉลี่ย 8.06, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 2.56)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยคะแนนความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งภายหลังครบรังสีรักษาของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 72 ราย

การรับรู้อาการ	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1. น้ำลายแห้งจนรู้สึกยากลำบากในการพูด	4.96	2.719
2. น้ำลายแห้งจนรู้สึกยากลำบากในการเคี้ยว	5.78	2.908
3. น้ำลายแห้งจนรู้สึกกลืนอาหารที่แห้งหรือแข็งได้ยากลำบาก	8.06	2.561
4. น้ำลายแห้งจนต้องตื่นนอนขณะนอนหลับในช่วงกลางคืน	4.85	3.138
5. ปากและคอแห้งในขณะรับประทานอาหาร	6.19	3.079
6. ปากและคอแห้งในเวลาอื่น ๆ ที่ไม่ได้รับประทานอาหาร	5.57	2.700
7. การจิบน้ำเพื่อช่วยในการกลืนอาหาร	7.50	2.917
8. การจิบน้ำเพื่อบรรเทาอาการปากและคอแห้งนอกเหนือจากเวลารับประทานอาหาร	5.71	3.056
9. ความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งโดยรวม	6.07	1.91

วีธีการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้ง

ในด้านบรรเทาอาการ วิธีการที่กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เลือกใช้ คือ รับประทานอาหารที่มีลักษณะนุ่ม ชุ่มชื้น ชิ้นเล็ก งดสูบบุหรี่ หลีกเลี่ยงผลิตภัณฑ์หรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ จิบน้ำบ่อย ๆ หลีกเลี่ยงเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีน และดื่มน้ำมากกว่า 2000 ซีซีต่อวัน เลือกใช้ร้อยละ 90.3, 90.3, 88.9, 84.7, 77.8 และ 70.8 ตามลำดับ ในด้านการป้องกันฟันผุ วิธีการที่กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เลือกใช้คือ แปรงฟันอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง ร้อยละ 68.1 (ตารางที่ 2)

เหตุผล/แหล่งที่มาของข้อมูล/บุคคลที่ช่วยเหลือ/เวลาที่ปฏิบัติกิจกรรม/สถานที่ที่ปฏิบัติกิจกรรมในการเลือก วิธีการจัดการ

เหตุผลในการเลือกวิธีการจัดการกับอาการ คือ คิดว่าปฏิบัติแล้วอาการดีขึ้น/หาย ร้อยละ 73.6 แหล่งที่มาในการเลือกปฏิบัติกิจกรรม คือ ได้รับข้อมูลจากแพทย์/พยาบาลมากที่สุดร้อยละ 64

ตารางที่ 2 จำนวนและร้อยละของการใช้วิธีการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้งของกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 72 ราย

วิธีการจัดการกับอาการ	**ใช้**		**ไม่ได้ใช้**	
	จำนวน	**ร้อยละ**	**จำนวน**	**ร้อยละ**
ก. การบรรเทาอาการ				
1. ดื่มน้ำมากกว่า 2000 ซีซี/วัน	51	70.8	21	29.2
2. จิบน้ำบ่อย ๆ	61	84.7	11	15.3
3. บ้วนปากบ่อย ๆ				
3.1 บ้วนปากด้วยน้ำเปล่า	20	27.8	52	72.2
3.2 บ้วนปากด้วยน้ำเกลือนอร์มัล	30	41.7	42	58.3
3.3 บ้วนปากด้วยน้ำเกลือผสมโซเดียมไบคาร์บอเนต	6	8.3	6	91.7
3.4 บ้วนปากด้วยน้ำยาชนิดอื่น ๆ (ไม่ทราบชื่อ)	15	20.8	57	79.2
4. อมลูกกวาดชนิดมีน้ำตาล	12	16.7	60	83.3
5. อมลูกกวาดชนิดไม่มีน้ำตาล	3	4.2	69	95.8
6. เคี้ยวหมากฝรั่งชนิดมีน้ำตาล	3	4.2	69	95.8
7. เคี้ยวหมากฝรั่งชนิดไม่มีน้ำตาล	1	7.4	71	98.6
8. หลีกเลี่ยงการรับประทานอาหารรสจัด	49	68.1	23	31.9
9. หลีกเลี่ยงเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีน	56	77.8	16	22.2
10. หลีกเลี่ยงผลิตภัณฑ์หรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์	64	88.9	8	8
11. งดสูบบุหรี่	65	90.3	7	7
12. รับประทานอาหารที่มีลักษณะนุ่ม ชุ่มชื้น ชิ้นเล็ก	65	90.3	7	7
13. ใช้น้ำลายเทียม	7	9.7	65	65
ข. การป้องกันฟันผุ				
1. พบทันตแพทย์อย่างสม่ำเสมอ	18	25	54	75
2. แปรงฟันอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง	49	68.1	23	31.9
3. หลีกเลี่ยงรับประทานอาหารหวาน	28	38.9	44	61.1
4. หลีกเลี่ยงรับประทานอาหารรสเปรี้ยว	44	61.1	27	37.5

บุคคลที่ช่วยเหลือในการจัดการกับอาการ คือตนเอง (ผู้ป่วย) ร้อยละ 69.4 เวลาที่กลุ่มตัวอย่างปฏิบัติกิจกรรมการจัดการกับอาการมากที่สุดคือ ปฏิบัติเมื่อมีอาการหรือรู้สึกผิดปกติร้อยละ 69.4 สถานที่ที่กลุ่มตัวอย่างปฏิบัติกิจกรรมการจัดการกับอาการมากที่สุดคือบ้านพบร้อยละ 98.6

คุณภาพชีวิตในภาวะน้ำลายแห้ง

ภาวะน้ำลายแห้งรบกวนคุณภาพชีวิตรายด้านและโดยรวมในระดับค่อนข้างมาก เมื่อพิจารณารายด้าน จะพบว่าภาวะน้ำลายแห้งรบกวนคุณภาพชีวิตด้านจิตใจมากกว่าด้านอื่นๆ (ตารางที่3)

ความสัมพันธ์ของภาวะน้ำลายแห้งและคุณภาพชีวิต

ความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้ง มีความสัมพันธ์ทางบวกกับคุณภาพชีวิตรายด้าน คือ ด้านร่างกาย (r = 0.61, $P = 0.01$) ด้านจิตใจ (r = 0.65, $P = 0.01$) ด้านสังคม (r = 0.50, $P = 0.01$) ด้านอาการปวด/ไม่สุขสบาย (r = 0.64, $P = 0.01$) และมีความสัมพันธ์ทางบวกกับคุณภาพชีวิตโดยรวม (r = 0.61, $P = 0.01$) โดยพบว่าถ้าความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งยิ่งมากจะมีผลรบกวนคุณภาพชีวิตมากขึ้น (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพชีวิตในภาวะน้ำลายแห้งของกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 72 ราย

ตัวแปร	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
คุณภาพชีวิตด้านร่างกาย	2.87	0.88
คุณภาพชีวิตด้านจิตใจ	2.93	0.93
คุณภาพชีวิตด้านสังคม	2.54	1.06
คุณภาพชีวิตด้านอาการปวด/ไม่สุขสบาย	2.78	0.88
คุณภาพชีวิตโดยรวม	2.80	0.87

ตารางที่ 4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพชีวิตในภาวะน้ำลายแห้งรายด้านและโดยรวมกับความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งของกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 72 ราย

ตัวแปร	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)
คุณภาพชีวิตด้านร่างกาย	2.87	0.88	0.61*
คุณภาพชีวิตด้านจิตใจ	2.93	0.93	0.65*
คุณภาพชีวิตด้านสังคม	2.54	1.06	0.50*
คุณภาพชีวิตด้านอาการปวด/ไม่สุขสบาย	2.78	0.88	0.64*
คุณภาพชีวิตโดยรวม	2.80	0.87	0.61*
ความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้ง	6.07	1.91	

* มีนัยสำคัญที่ $P = 0.01$

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีการรับรู้ภาวะน้ำลายแห้งร้อยละ 90 สอดคล้องกับการศึกษาของเจแฮมและคณะ[14] ที่ศึกษาสุขภาพช่องปากของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอก่อนระหว่างและหลังการรักษาด้วยรังสีพบว่าผู้ป่วยเกิดภาวะน้ำลายแห้ง (ร้อยละ53.2) มีการศึกษาที่พบว่าสิ่งที่ก่อให้เกิดความเครียดทีพบมากในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอภายหลังการรักษด้วยรังสีคือ การกลืนลำบากเนื่องจากคอแห้งและน้ำลายเหนียว (ร้อยละ 65) และจากปากแห้งคอแห้ง น้ำลายเหนียว (ร้อยละ 66.3) [7] และเนื่องจากกลุ่มตัวอย่างของการศึกษาครั้งนี้ส่วนใหญ่ครบการรักษาในช่วง 2 ถึง 6 เดือน จึงสอดคล้องกับการศึกษาของลอกแมนและคณะ[15] ที่พบว่าผู้ป่วยหลังครบรังสีรักษาจะมีอาการริมฝีปากแห้ง/คอแห้ง/น้ำลายแห้งส่งผลต่อการกลืนของผู้ป่วยจนถึง 1 ปี หลังการรักษาสำหรับการรับรู้ความรุนแรงของอาการ กลุ่มตัวอย่างมีการรับรู้ความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งโดยรวมที่ระดับความรุนแรงปานกลาง (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.07) สอดคล้องกับการศึกษาของไดริกและคณะ[16] ที่ศึกษาผู้ป่วยหลังครบการรักษาด้วยรังสี 6 เดือน พบว่าร้อยละ 65 มีระดับความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งปานกลางถึงมาก และสอดคล้องกับการศึกษาของไวเจอร์และคณะ[17] ที่พบว่าร้อยละ 64 กลุ่มตัวอย่างมีระดับความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งในระดับปานกลางถึงรุนแรง สำหรับการรับรู้ความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งจากแบบสอบถามรายข้อพบว่าปัญหาที่มีระดับความรุนแรงมากคือ น้ำลายแห้งจนรู้สึกกลืนอาหารที่แห้งหรือแข็งได้ยากลำบาก (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.06) สอดคล้องกับการศึกษาของไดริกและคณะ[16] ที่พบว่าผู้ป่วยที่มีการรับรู้ภาวะน้ำลายแห้งร้อยละ 54 มีปัญหาการกิน และร้อยละ 65 ถูกจำกัดการรับประทานอาหาร

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาพบว่าภาวะน้ำลายแห้งในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอเป็นประสบการณ์อาการที่สำคัญของผู้ป่วยภายหลังการรักษาที่ทีมสุขภาพควรให้ความสำคัญ เป็นปัญหาระยะยาวและเป็นปัญหาสุขภาพใหม่ทั้งที่ผู้ป่วยอาจจะหายขาดจากโรคมะเร็งแล้วก็ตาม

ในด้านการบรรเทาอาการจากภาวะน้ำลายแห้ง วิธีการที่กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เลือกใช้ คือ รับประทานอาหารที่มีลักษณะนุ่ม ชุ่มชื้น ชิ้นเล็ก งดสูบบุหรี่ หลีกเลี่ยงผลิตภัณฑ์หรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ จิบน้ำบ่อยๆ หลีกเลี่ยงเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีน และดื่มน้ำมากกว่า 2000 ซีซีต่อวัน โดยเลือกใช้มากกว่าร้อยละ 65 สอดคล้องกับการศึกษาของเชคกี[18] ที่พบว่าผู้ป่วยที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งจากหลายสาเหตุรวมทั้งจากรังสีรักษา จะเลือกรับประทานอาหารพวกซุบ โยเกิร์ต ผักสุก ซอสมะเขือเทศ ไข่ คัสตาด กล้วย ปลา และอาหารที่นุ่ม ชุ่มชื้นชนิดอื่นๆ เพื่อช่วยบรรเทาอาการ และจิบน้ำระหว่างรับประทานอาหารเพื่อช่วยในการกลืน ควรดื่มน้ำมากกว่า 2000 ซีซี ต่อวัน การงดสูบบุหรี่ การหลีกเลี่ยงผลิตภัณฑ์หรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ และหลีกเลี่ยงเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีน เป็นวิธีการที่ใช้เพื่อไม่ให้ภาวะน้ำลายแห้งแย่ลง[19]

วิธีการบางอย่างที่กลุ่มตัวอย่างเลือกใช้น้อยนับเป็นผลดีสำหรับผู้ป่วยเนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสม เช่น การเคี้ยวหมากฝรั่งหรืออมลูกกวาดชนิด มีน้ำตาลเป็นสิ่งไม่พึงปฏิบัติในผู้ป่วยที่เกิดภาวะน้ำลายแห้ง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม ในช่องปากเป็นกรดมากขึ้นจากภาวะน้ำลายแห้ง เชื้อประจำถิ่นจะเปลี่ยนเป็นเชื้อก่อโรค ซึ่งน้ำตาลจะเป็นอาหารอย่างดีของแบคทีเรีย และแบคทีเรียจะผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดไขมันทำลายฟัน ทำให้ฟันผุ[20] ยังมี วิธีการบรรเทาอาการอีกหลายอย่างที่สามารถช่วยบรรเทาอาการน้ำลายแห้งได้แต่พบว่ากลุ่มตัวอย่างเลือกใช้น้อย ซึ่งอาจเกิดจากการไม่ได้รับข้อมูลที่ถูกต้องเพียงพอในการดูแลตนเอง เช่น การอมลูกกวาดชนิดไม่มีน้ำตาล และการเคี้ยวหมากฝรั่งเป็นวิธีพบว่าช่วยกระตุ้นให้มีการหลั่งน้ำลายช่วยลดความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งได้[21-22] การใช้น้ำลายเทียมสามารถใช้บรรเทาภาวะน้ำลายแห้งได้เช่นกัน[23] การบ้วนปากด้วยน้ำเกลือผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตจะช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น และปรับสภาพในช่องปากลดความเป็นกรด ซึ่งเหมาะกับภาวะน้ำลายแห้ง[24]

การป้องกันฟันผุของกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เลือกใช้คือ การแปรงฟันอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง นับเป็นวิธีการที่ดีสำหรับผู้ป่วย เนื่องจากการป้องกันฟันผุต้องใช้วิธีที่มีประสิทธิภาพที่สามารถขจัดคราบจุลินทรีย์ที่ติดฟัน ลดปริมาณเชื้อโรคในช่องปาก ตลอดจนเสริมความแข็งแรงของฟัน การศึกษาพบว่า การแปรงฟันเป็นวิธีการขจัดคราบจุลินทรีย์ได้ดี[25] แต่กลุ่มตัวอย่างยังเลือกใช้วิธีการป้องกันฟันผุที่เหลือค่อนข้างน้อย เช่น การหลีกเลี่ยงอาหารรสเปรี้ยวเพราะอาหารรสเปรี้ยวเป็นอาหารที่มีกรดเป็นส่วนประกอบ เช่น กรดซิตริก จะทำให้ฟันผุได้ง่ายในภาวะน้ำลายแห้ง[19] วิธีการป้องกันฟันผุที่สำคัญเช่นกัน คือ การพบทันตแพทย์อย่างสม่ำเสมอและการหลีกเลี่ยงอาหารหวาน แต่กลับพบว่ากลุ่มตัวอย่างเลือกปฏิบัติค่อนข้างน้อย การเกิดฟันผุสัมพันธ์กับการรับประทานของหวาน[18] ส่วนการพบทันตแพทย์ จะทำให้ฟันผู้ป่วยได้รับการประเมินสุขภาพช่องปากอย่างสม่ำเสมอตลอดจนดูแลเสริมความแข็งแรงของฟัน[24] ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าผู้ป่วยที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งมีความสามารถในการดูแลตนเองที่ถูกต้องในระดับหนึ่ง แต่การเลือกปฏิบัติเพียงบางวิธีการในการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้งหรือการปฏิบัติที่ไม่ถูกต้อง อาจทำให้ภาวะน้ำลายแห้งยังคงเป็นปัญหารบกวนผู้ป่วยต่อไปหรืออาจทำให้ความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น และส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย การศึกษาเกี่ยวกับความรู้ในด้านการดูแลตนเองในภาวะน้ำลายแห้งของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอเป็นสิ่งสำคัญในการพัฒนาการให้คำแนะนำผู้ป่วยให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เนื่องจากการให้คำแนะนำความรู้เกี่ยวกับอาการข้างเคียงจากการรักษาโดยทีมสุขภาพเป็นปัจจัยสนับสนุนการดูแลตนเองของผู้ป่วย[26]

สำหรับเหตุผลในการเลือกปฏิบัติกิจกรรมการจัดการกับอาการคือ คิดว่าปฏิบัติแล้วอาการดีขึ้น/หาย (ร้อยละ 73.6) แหล่งที่มาของข้อมูลที่ใช้ในการปฏิบัติกิจกรรมของกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ได้รับคำแนะนำจากแพทย์/พยาบาล (ร้อยละ 64) โดยบุคคลที่ช่วยเหลือในการปฏิบัติกิจกรรมเป็นส่วนใหญ่คือตัวผู้ป่วยเองร้อยละ 69 เวลาที่ใช้ปฏิบัติกิจกรรมการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้งคือเมื่อมีอาการ/รู้สึกผิดปกติ (ร้อยละ 69.4) และสถานที่ที่ปฏิบัติกิจกรรมในการจัดการกับอาการคือบ้าน (ร้อยละ 98.6) ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะเห็นได้ว่าภาวะน้ำลายแห้งเป็นภาวะแทรกซ้อนในระยะยาว ซึ่งเป็นช่วงที่ผู้ป่วยใช้ชีวิตอยู่กับบ้านเป็นส่วนใหญ่ และมีความสามารถในการดูแลตนเองได้เนื่องจากร่างกายฟื้นคืนสภาพจากการเจ็บป่วยและการรักษามาระยะเวลาหนึ่ง การศึกษาวิธีการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้งโดยทีมสุขภาพ สหสาขาวิชาชีพ มีทั้งแบบใช้ยาและไม่ใช้ยารวมไปถึงการดูแลด้านอื่น ๆ เช่น การดูแลสุขภาพของช่องปากและอาหารสำหรับผู้ป่วย วิธีการที่ค้นพบเหล่านี้ สามารถช่วยบรรเทาอาการของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งได้[27] ดังนั้นการให้ข้อมูลและคำปรึกษาเกี่ยวกับภาวะน้ำลายแห้งโดยทีมสุขภาพเป็นสิ่งสำคัญเพื่อให้ผู้ป่วยรับรู้ต่ออาการและปฏิบัติตัวได้ถูกต้อง[28]

การศึกษาคุณภาพชีวิตผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอในภาวะน้ำลายแห้งพบว่า ภาวะน้ำลายแห้งรบกวนคุณภาพชีวิตของกลุ่มตัวอย่างในระดับค่อนข้างมาก สอดคล้องกับการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอภายหลังครบการรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ที่คุณภาพชีวิตโดยรวมและสภาวะด้านร่างกายจะยังไม่กลับสู่ระดับเดิมก่อนการรักษา โดยพบว่าภาวะน้ำลายแห้งทำให้มีอาการปวดร้อยละ 58.4 รบกวนชีวิตประจำวันร้อยละ 30.8 อารมณ์เปลี่ยนแปลงร้อยละ 58.3 และรบกวนการปฏิบัติกิจกรรมทางสังคมร้อยละ 60[5] และมีการศึกษาพบว่าผู้ป่วยจะมีการเปลี่ยนแปลงทางอารมณ์ (ตึงเครียด/วิตกกังวล/ซึมเศร้า) ร้อยละ 60 มีปัญหาการพูดและร้อยละ 54 มีปัญหาด้านการรับประทานอาหาร[16] จะเห็นว่าภาวะน้ำลายแห้งส่งผลคุณภาพชีวิตในหลายๆ ด้าน ได้แก่ การรับประทานอาหาร การนอนหลับ การพูดคุยและการเข้าสังคม มีผลต่ออารมณ์และสังคม[16,27]

จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างภาวะน้ำลายแห้งและคุณภาพชีวิตพบว่าความรุนแรงของภาวะน้ำลายแห้งมีความสัมพันธ์กับคุณภาพชีวิตรายด้านและโดยรวม (P = 0.01) สอดคล้องกับผลการศึกษาหลายการศึกษาได้แก่ จิลลิมมาและคณะ[29] พบว่าภาวะน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษาของผู้ป่วยมะเร็ง

ศีรษะและคอมีความสัมพันธ์กับคุณภาพชีวิตของ ผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) ทั้งในด้านการ ทำหน้าที่ ภาวะอ่อนล้าและด้านจิตใจ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่าการเกิดภาวะแทรกซ้อนในช่องปากภายหลังการรักษามีความสัมพันธ์กับคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย อาการที่พบมากที่สุดถึงร้อยละ 91.8 คือ ภาวะน้ำลายแห้ง[5]

จะเห็นได้ว่าภาวะน้ำลายแห้งภายหลังการรักษาด้วยรังสีของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยในระยะยาวและเป็นปัญหาสุขภาพใหม่ ทั้งที่ผู้ป่วยอาจหายขาดจากโรคมะเร็งแล้วก็ตาม และเป็นไปได้ว่าภาวะน้ำลายแห้งอาจจะอยู่กับผู้ป่วยตลอดไปหากต่อมน้ำลายไม่สามารถฟื้นคืนสภาพได้ ดังนั้นทีมสุขภาพควรตระหนักเกี่ยวกับภาวะน้ำลายแห้งภายหลังการรักษาด้วยรังสีของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ เนื่องจากเป็นปัญหาที่ส่งผลต่อคุณภาพชีวิตโดยตรง การศึกษาวิจัยควรมุ่งไปในด้านการป้องกันการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้งที่มีประสิทธิภาพตลอดจนวางแนวทางการดูแลผู้ป่วยที่เกิดภาวะน้ำลายแห้งอย่างเป็นระบบในสถานพยาบาลที่ดูแลผู้ป่วยโรคมะเร็งศีรษะและคอที่ได้รับการรักษาด้วยรังสี

ข้อเสนอแนะ

1. ทีมสุขภาพควรมีความรู้เกี่ยวกับภาวะน้ำลายแห้งหลังครบรังสีรักษาของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่เกิดขึ้นและส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิต เพื่อวางแนวทางการดูแลที่เหมาะสมกับผู้ป่วย

2. ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการจัดการกับภาวะน้ำลายแห้งที่มีประสิทธิภาพ เพื่อนำไปใช้กับผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์มะเร็งลพบุรี ที่ให้โอกาสในการทำวิจัยเรื่องนี้

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์มะเร็งลพบุรี. สถิติโรคมะเร็ง. งานทะเบียนมะเร็ง กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ ศูนย์มะเร็งลพบุรี 2549;8-9
2. Otto SE. Chemotherapy. In : Otto SE, editor. Oncology nursing . 4th ed. Philadelphia : Mosby; 2001.p.638-83.
3. Haggood AS. Head and neck cancer. In: Otto SE, editor. Oncology nursing . 4th ed. Philadelphia: Mosby; 2001. p. 285-325.
4. ภัทรจิต บวรสมบัติ. มะเร็งศีรษะและคอ: การจัดการภาวะแทรกซ้อนในช่องปาก. วารสารพยาบาลศาสตร์ 2547; 22: 8-14.
5. Epstein JB, Emerton S, Kolbinson A, Le N, Phillips N, Stevenson M, et al. Quality of life and oral function following radiotherapy for head and neck cancer. Head and neck 1999; 2 :1-11.
6. ประยุทธ์ โรจน์พรประดิษฐ์. Head and neck cancer. ใน; วิชาญ หล่อวิทยา, ไพรัช เทพมงคล, ประมุข พรหมรัตนพงศ์ และชนวัธน์ เทศะวิบุล, บรรณาธิการ.Manual of radiation oncology.กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2544;หน้า 64-84.
7. ไพพร แซ่เตีย. สิ่งที่ก่อให้เกิดความเครียดและวิธีการเผชิญความเครียดในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะ และคอภายหลังได้รับการฉายรังสี. วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการพยาบาลผู้ใหญ่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2544.
8. Dodd MJ, Miaskowski C, Paul SM. Symptom clusters and their effect on the functional status of patients with cancer. Oncol Nurs Forum 2001; 28: 465-70.
9. Eisbruch M, Kim H, Terrell G, Marsh L, Dawson L, Ship J. Xerostomia and its predictors following parotid-sparing irradiation of head-and-neck cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phy 2001; 50: 695-704.
10. Henson BS, Inglehart MR, Eisbruch A, Ship JA. Preserved salivary output and xerostomia-related quality of life in head and neck cancer patients receiving parotid-sparing radiotherapy. Oral oncol 2001; 37: 84-93.
11. บุษกร แสงแก้ว. การสำรวจประสบการณ์อาการที่พบบ่อย การจัดการกับอาการ และผลลัพธ์ ของการจัดการในผู้ที่เป็นมะเร็งเต้านมที่มีถิ่นพำนักในภาคกลางของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขา

การพยาบาลผู้ใหญ่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล; 2549.

12. สุจิรา ฟุ้งเฟื่อง. ประสบการณ์อาการ วิธีการจัดการ และผลของการจัดการกับอาการของผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่ได้รับรังสีรักษาร่วมกับเคมีบำบัดในศูนย์มะเร็งภาคกลางของประเทศไทย.วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการพยาบาลผู้ใหญ่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล; 2550.
13. นิรมล พจน์ด้วง. แนวปฏิบัติทางการพยาบาลในการดูแลช่องปาก เพื่อบรรเทาภาวะน้ำลายแห้งจากรังสีรักษาสำหรับผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอ. สารนิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการพยาบาลผู้ใหญ่และผู้สูงอายุ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล; 2550.
14. Jham BC, Reis PM, Miranda EL, Lopes RC, Carvalho AL, scheper MA. Oral health status of 207 head and neck cancer patients before, during and after radio-therapy. Clin Oral Invest 2007; 12: 19-24.
15. Logemann JA, Pauloski BR, Rademaker AW, Lazarus CL, Mittal B, Gazino J, et al. Xerostomia: 12- month changes in siliva Production and its relationship to perception and performance of swallow function oral intake and diet after chemoradiation. Head and Neck 2003; 25: 432-7.
16. Dirix P, Nuyts S, Bogaert W. Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer. Cancer 2006; 107: 2525-34.
17. Wijers O, Levendag D, Braaksma M. Patients with head and neck cancer cured by radiation therapy: a survey of the dry mouth syndrome in long-term survivors. Head and Neck 2002; 24: 737-47.
18. Shakes J.The management and treatment of xerosto-mia from the patients perspective. Available at: http://www.nutrition.otago.ac.nz/_data/assets/file/0004/1966/dtp_JShakes.pdf. Accessed May 27, 2007.
19. The British Columbia Cancer Agency. (2005). Cancer management guideline. Available at: http://www.bccancer.bc.ca treatment/Nutrition/NutritionalChallengesduringCancerTreatment/Dry+Mouth.htm. Accessed March 27, 2007.
20. Seifert G, Michike A, Hanbrich J, Chilla R. Disorder of secretion. In: Stell PM, editor. Disease of the salivary gland. Stutgart: Gutmann & Co; 1986. p. 70-75.
21. Davies AN. A comparison of artificial saliva and chewing gum in the management of xerostomia in patient with advance cancer. Palliat Med Palliat Med 2000; 14: 197-203.
22. Olsson H, Axell T. Objective and subjective efficacy of saliva substitutes containing mucin and carboxy methylcellulose. Scand J Dent 1991; 49: 316-9.
23. Epstein JB, Meij HE. Effects of compliance with fluoride gel application on caries and caries risk in patients after radiation therapy for head and neck cancer. Oral Sur Oral Med Oral Patho Oral Radio & Endont 1996; 82: 268-75.
24. National Cancer Institute. Management of oral complication of chemotherapy and Head & Neck radiation. Available at: http://www.cancer.gov/cancerto pics/pdq/supportivecare/Oralcomplications. Accessed August 27, 2007.
25. Pearson LS, Hutton JL. A control trial to compare the ability of foam swabs and toothbrushes to remove dental plaque. J Adv Nurs 2002; 39: 480-9.
26. โขมพักตร์ มณีวัต. การพัฒนารูปแบบการสนับสนุนและการให้ความรู้เพื่อส่งเสริมการดูแลตนเองในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและคอที่ได้รับรังสีรักษา.วิทยานิพนธ์ปริญญาพยาบาลศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการพยาบาลผู้ใหญ่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์; 2541.
27. Chambers MS, Rosenthal DI, Weber RS. Radiation-induced xerostomia. Head & Neck 2006; 29: 58-63.
28. Iwamoto RR. Radiation therapy. In : Otto SE, editor. Oncology nursing . 4th ed. Philadelphia: Mosby; 2001. p.638-83.
29. Jellema AP, Slotman BJ, Doornaert P, Leemans CR, Langendijk JA. Impact of radiation-induced xerostomia on quality of life after primary radiotherapy among patients with head and neck cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phy 2007; 69: 751-60.

❖ ❖ ❖

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 29 ฉบับที่ 1
มกราคม - มีนาคม 2552

การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงออกของ p53, Bcl-2 และ Bax mRNA ในเซลล์มะเร็ง

จรัญญา งามขำ
มติ เหรียญกิจการ
พรทิพา พิชา

บทคัดย่อ เห็ดหลินจือเป็นสมุนไพรจีนที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและนิยมใช้ในตำรับยาแผนโบราณ ในการบำรุงสุขภาพใช้เป็นยาอายุวัฒนะ หรือใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ ซึ่งรวมทั้งโรคมะเร็ง ในการศึกษานี้คณะผู้วิจัยมีความสนใจในการศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและน้ำต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ด้วยวิธีการวัดปริมาณโปรตีนของเซลล์ที่มิได้ถูกยับยั้งการเจริญด้วยสารสกัดดังกล่าว เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ครึ่งหนึ่ง (ร้อยละ50) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และประเมินศักยภาพของสารสกัดต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์มะเร็งแบบ apoptosis ได้แก่ *p53, Bcl-2* และ *Bax* โดยการทดลองในเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ด้วยวิธี semi-quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)

จากผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด ซึ่งสารสกัดจากเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดยมีค่า ED_{50} ที่ 208.83$\pm$7.28 μg/ml และ 303.61$\pm$5.11 μg/ml ใน MCF-7 และ HeLa ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากน้ำมีค่า ED_{50} ที่ 438.69$\pm$14.31 μg/ml และ 671.43$\pm$3.37 μg/ml ใน MCF-7 และ HeLa ตามลำดับ จากการทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงออกของ p53, Bcl-2 และ Bax mRNA พบว่า สารสกัดจากเมทานอลและน้ำสามารถกระตุ้นให้ปริมาณของ p53 และ Bax mRNA เพิ่มมากขึ้นใน MCF-7 และ HeLa แต่ลดปริมาณของ Bcl-2 mRNA เพียงเล็กน้อย ในเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด

ผลการทดลองสรุปได้ว่าสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้ง MCF-7 และ HeLa โดยสามารถกระตุ้นให้ p53 และ Bax mRNA เพิ่มขึ้น และลดปริมาณ Bcl-2 mRNA จึงน่าจะมีการนำสารสกัดจากเห็ดหลินจือดังกล่าวไปศึกษาต่อในระดับเซลล์และระดับชีววิทยาโมเลกุลทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง นอกจากนั้นการศึกษาทางด้านพรีคลินิกและคลินิกก็เป็นสิ่งจำเป็นที่จะพัฒนาสารสกัดดังกล่าวเพื่อการป้องกันและรักษาโรคมะเร็งต่อไป *(วารสารโรคมะเร็ง 2552;29:13-24.)*

งานวิจัยสารบำบัดมะเร็ง กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพ 10400

Abstract Evaluation on the Effect of *Ganoderma lucidum* (Leyss.ex Fr) Karst. Extracts on p53, Bcl-2 and Bax mRNA Expression on Cultured Mammalian Cells

by Jarunya Ngamkham, Mati Rienkitjakarn and Porntipa Picha

Section of Experimental Oncotherapy, Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400 Thailand

Ganoderma lucidum is a well-known traditional Chinese medicine herb and widely used as an herbal medicine for promoting vitality and longevity in China and other Asian countries. It has also been used for the prevention or treatment of a variety of diseases including cancer. In this study, we investigated the effect of ethanol and water extracts from *G. lucidum* underlying anticancer activities and apoptosis-related gene expression on cultured mammalian cancer cell lines. The anticancer activities were undertaken with total cell protein determination method on two cancer cell lines, human mammary carcinoma; MCF-7 and human cervical carcinoma; HeLa. The results were expressed by median effective dose (ED_{50}). The apoptosis-related gene expression was analyzed by using semi-quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) technique on MCF-7 and HeLa cells. The relative intensity of PCR product from *p53, Bcl-2* and *Bax* gene were quantified and normalized with house-keeping gene; *â-actin.*

From our investigation, the ethanol and water extracts showed the proliferation inhibitory effect on cultured mammalian cancer cells. The ethanol extract exhibited ED_{50} values at 208.83±7.28 µg/ml and 303.61±5.11 µg/ml on MCF-7 and HeLa cell, respectively, while the extracts from water exerted ED_{50} values at 438.69±14.31 µg/ml and 671.43±3.37 µg/ml on MCF-7 and HeLa, respectively. Both extracts from *G. lucidum* reduced cell viabilities in a dose-dependent manner on three cancer cell lines. The results from semi-quantitative RT-PCR assay indicated that the expression of p53 and Bax mRNA in MCF-7 and HeLa were increased, whereas the expression of Bcl-2 mRNA was slightly decreased.

Our findings demonstrated that the ethanol and water extracts from *G. lucidum* slightly exhibited anticancer activities and induced the apoptosis-related gene expression. Therefore, further investigation on cellular and molecular levels and also in the animal tumor model is promising. In addition, further studies on preclinical and clinical with *G. lucidum* are recommended to validate this herbal medicine for prevention and treatment of cancer. *(Thai Cancer J 2009;29:13-24.)*

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศ และเป็นสาเหตุของการตายลำดับต้นๆ ของคนไทย[1] โดยเฉพาะในเขตชุมชนเมืองหรือแหล่งอุตสาหกรรมที่มีมลพิษเพิ่มขึ้นหรือการดำรงชีวิตที่แตกต่างจากอดีต รวมทั้งลักษณะนิสัยการบริโภคที่เปลี่ยนแปลงไป[2] โรคมะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากการเพิ่มจำนวนหรือมีการแบ่งตัวของเซลล์แบบผิดปรกติ ทำให้ลักษณะทางกายภาพของเซลล์และสารพันธุกรรมต่างๆ ภายในเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการแบ่งตัวแบบผิดปรกติหรือการกลายพันธุ์นี้ก่อให้เกิดผลกระทบต่อการควบคุมการเจริญเติบโตการพัฒนาการของเซลล์ ตลอดจนการมีชีวิตหรืออัตราการอยู่รอดของเซลล์ต่างๆ[3] ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยต้องนำเข้าผลิตภัณฑ์ยารักษาโรคมะเร็งจากต่างประเทศค่อนข้างสูง และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งที่เพิ่มมากขึ้น[1,4] ดังนั้นนักวิชาการและนักวิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญในการพัฒนายาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหรือสมุนไพรต่างๆ ที่สามารถพบหรือเพาะปลูกได้ในประเทศไทยมาดำเนินการศึกษาวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสมุนไพรที่มีประวัติหรือสรรพคุณตามตำราแพทย์แผนโบราณในการป้องกันและยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งหรือคุณสมบัติอื่นๆ ที่อาจส่งผลให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งดีขึ้น

เห็ดหลินจือก็เป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจอย่างสูงในการนำมาศึกษาวิจัยเพื่อประเมินศักยภาพต้านมะเร็งเนื่องจากมีสรรพคุณในการป้องกัน

บำบัดรักษาโรคได้หลายชนิด นิยมใช้เป็นยาบำรุงร่างกาย[5-10] หรือเป็นยาอายุวัฒนะและถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคนับพันปีในประเทศแถบเอเชีย เช่น ประเทศจีน ญี่ปุ่น มักจะรับประทานในรูปของชาหรือผง[8] เห็ดหลินจือมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ganoderma lucidum* (Leyss ex Fr) Karst อยู่ในวงศ์ Polyporaceae สามารถเพาะปลูกหรือพบได้ในธรรมชาติ โดยเฉพาะบริเวณตอไม้ ราก และต้นไม้บางชนิด เช่น ต้นหางนกยูง ต้นก้ามปู ฯลฯ และมีชื่อหลากหลายตามแหล่งที่พบ เช่น เห็ดหมื่นปี เห็ดขอนไม้ เห็ดกระด้าง เป็นต้น[11-13] ปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากเห็ดหลินจืออย่างกว้างขวางในหลายประเทศ โดยเฉพาะประเทศในแถบเอเชียซึ่งจากผลการวิจัย พบว่า สารสกัดจากเห็ดหลินจือสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งบางชนิด[8] ออกฤทธิ์ต้านหรือยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ[9,14] มีฤทธิ์เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย[15-19] รักษาอาการภูมิแพ้ บำรุงตับ กำจัดพิษ[8] จากการศึกษาสารเคมีที่ประกอบอยู่ในสารสกัดจากเห็ดหลินจือ พบว่าเห็ดหลินจือจะมีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายตัว เช่น sterol, coumarin, mannitol, polysaccharide และสารในกลุ่ม triterpenoid ที่เรียกว่า ganoderic acid โดย ganoderic acid สามารถลดความดันโลหิตและลดปริมาณ LDL และ triglyceride ในเลือดได้[7-8, 19-20] และจากการศึกษาในระดับโมเลกุลยังพบว่าสารสกัดจากเห็ดหลินจือสามารถยับยั้งการสร้างเส้นเลือดใหม่ของเซลล์มะเร็ง[21] ลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง[8] ชะลอให้วัฏจักรการเจริญของเซลล์มะเร็งช้าลง[22] และส่งเสริมให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบ apoptosis หรือ programmed cell death ในระดับหลอดทดลอง[8,15,22]

Apoptosis เป็นกระบวนการตายของเซลล์มะเร็งชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านกายภาพและชีวภาพของเซลล์มะเร็ง เช่น เซลล์มะเร็งเหี่ยว มีการแตกหักของ DNA และนิวเคลียส เกิด chromatin condense ฯลฯ ซึ่งการตายของเซลล์มะเร็งประเภทนี้ยังก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีวเคมีและสารพันธุกรรมหรือยีนภายในเซลล์ก่อนจะถูกย่อยสลายด้วยวิธีการ phagocytosis[23-24] กระบวนการตายแบบ apoptosis เกิดจากการกระตุ้นด้วยปัจจัยทั้งทางภายนอกและภายในเซลล์ ซึ่งกระบวนการเกิดจะแบ่งเป็น 2 กลไกที่สำคัญได้แก่ กลไกที่บริเวณผิวของเซลล์โดยผ่าน death receptor และกลไกที่ผ่านไมโตคอนเดรียที่อยู่ภายในเซลล์และเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเซลล์[23] สำหรับกลไกที่ผ่านไมโตคอนเดรียจะมีสารพันธุกรรมหรือยีนที่เกี่ยวข้องจำนวนมาก เช่น *p53* ซึ่งเป็น tumor suppressor gene ที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมกระบวนการเจริญของเซลล์และควบคุมการทำงานของ signal transduction pathway[15] บริเวณ checking point ของ G1 phase ในวัฏจักรของเซลล์ เมื่อมี DNA ถูกทำลายหรือมีความผิดปรกติเกิดขึ้นและถ้าไม่ได้รับการซ่อมแซมก็จะเหนี่ยวนำให้มีการตายแบบ apoptosis เกิดขึ้น ซึ่งการกลายพันธุ์ของ *p53* ก็เป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่งที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังมียีนที่สำคัญในกระบวนการนี้คือ ยีนที่ยับยั้งการตายของเซลล์มะเร็งที่ผิดปรกติหรือที่เรียกว่า anti-apoptotic genes เช่น *Bcl-2*, *Bcl-x$_L$* เป็นต้น ซึ่งยีนในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งหรือชะลอการตายของเซลล์ที่ผิดปรกติ ในขณะที่ยีนที่ส่งเสริมการตายของเซลล์มะเร็ง หรือที่เรียกว่า pro-apoptotic genes เช่น *Bax*, *Bak* ฯลฯ จะเป็นกลุ่มยีนที่ช่วยสนับสนุนหรือส่งเสริมให้ยีนหรือเซลล์ ที่มีความผิดปรกติและไม่สามารถซ่อมแซมได้เข้าสู่ กระบวนการตายแบบ apoptosis เช่นเดียวกับ *p53*[23-24]

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งและการกระตุ้นหรือยับยั้งการสังเคราะห์ของ mRNA (mRNA expression) ของยีนที่มีความสำคัญในกระบวนการตายแบบ apoptosis ของเซลล์มะเร็ง ได้แก่ tumor suppressor gene; *p53*, pro-apoptotic gene; *Bax* และ anti-apoptotic gene; *Bcl-2* ซึ่งจากผลการทดสอบนี้ทำให้ทราบกลไกการทำงานของสารสกัดในระดับโมเลกุล และสามารถนำไปเป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการศึกษาทางเภสัชวินิจฉัยรวมทั้งการศึกษาในระดับสัตว์ทดลองหรือทางคลินิกเพื่อพัฒนาเป็นยาที่ใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การเตรียมสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายเมทานอลและน้ำ

นำตัวอย่างเห็ดหลินจือแห้ง [*Ganoderma lucidum* (Leyss ex Fr) Karst] จำนวน 420 กรัม บดให้ละเอียด แบ่งตัวอย่างที่บดละเอียดเป็นสองส่วนเท่าๆ กัน ส่วนแรกนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายที่เป็นเมทานอล (AR grade, Merck, Germany) โดยแช่เห็ดหลินจือบดละเอียดในเมทานอลประมาณ 1 สัปดาห์ ในขณะส่วนที่สองนำไปสกัดด้วยน้ำโดยการต้มในน้ำเดือดประมาณ 1/2-1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากการเตรียมทั้งสองวิธีข้างต้นมาแยกกากและตะกอนของเห็ดหลินจือด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง (Millipore, USA) ตามลำดับ นำสารละลายที่ได้จากการสกัดระเหยแห้งด้วย rotary evaporator (Buchii, Switzerland) และ freeze dryer (Labconco, USA) จนแห้งสนิท เก็บสารสกัดที่ได้ในอุณหภูมิต่ำ ไม่ถูกแสง เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวภาพต่อไป

ในการประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ สามารถเตรียมสารสกัดเพื่อนำมาทดสอบโดยการละลายสารสกัดที่เตรียมได้จากวิธีการข้างต้นใน 0.5% DMSO (vlv) (Merck, Germany) และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น ต่างๆ ตามที่ต้องการในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด EMEM (Biowhittaker, USA) ที่เติม inactivated newborn calf serum (NCS; Biowhittaker, USA) 10% ในสภาวะปราศจากเชื้อและผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกัน

การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งที่ใช้ในการประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในการศึกษานี้คือ เซลล์มะเร็งเต้านม (human mammary carcinoma, MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (human cervical carcinoma, HeLa) สำหรับอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดคือ EMEM ที่เติม 10% NCS โดยเพาะเลี้ยงในขวดเลี้ยงเซลล์พลาสติกขนาด 25 ตารางเซนติเมตร (Corning, USA) และนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยง (Shellab, USA) ที่ควบคุมความชื้น ณ อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้สภาวะ 5% CO_2

การทดสอบคุณสมบัติต้านเซลล์มะเร็ง

ในการประเมินศักยภาพต้านเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด คือเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในระดับหลอดทดลองสามารถทดสอบด้วยวิธีการวัดปริมาณโปรตีนของเซลล์ที่มีชีวิต; Total Protein Determination Method[25, 26] ซึ่งจะมี folin reagent (BDH, England) เป็นตัวบ่งชี้ปริมาณโปรตีนของเซลล์มะเร็งที่ใช้ในการทดสอบ โดยเริ่มจากเตรียมเซลล์มะเร็งที่ต้องการทดสอบ ให้มีความเข้มข้นประมาณ 4×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นดูดเซลล์มะเร็งที่เตรียมไว้จำนวน 3 มิลลิลิตรผสมในอาหารเลี้ยงเซลล์ EMEM ที่มีสารสกัดจากเห็ดหลินจือ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันจำนวน 1 มิลลิลิตร ในขวดเลี้ยงเซลล์พลาสติกขนาด 25 ตารางเซนติเมตร นำขวดเลี้ยงเซลล์ไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO_2 เป็นระยะเวลา 4 วัน เพื่อดูผลการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มิได้ทดสอบกับสารสกัดจากเห็ดหลินจือในการวัดปริมาณโปรตีนสามารถดำเนินการโดยดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าที่ทดสอบออกและล้างเซลล์ด้วย phosphate buffer solution (PBS) 2 ครั้ง จากนั้นดูด PBS ทิ้งให้หมด เติม solution C [solution A (Na_2CO_3 10 กรัม, NaOH 2 กรัม, Na-K tartate 0.1 กรัม และน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร): solution B ($CuSO_4.5H_20$ 0.1 กรัม และน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร) ในอัตราส่วน 50:1] ขวดละ 5 มิลลิลิตร เพื่อย่อยเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด (MCF-7 และ HeLa) จากนั้นนำเซลล์มะเร็งที่ย่อยจำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดที่มี solution C จำนวน 4 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรในหลอดเดียวกัน ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันก่อนเติมสารละลาย folin reagent (folin reagent : น้ำกลั่น = 5:7) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว โดยใช้น้ำกลั่นจำนวน 1 มิลลิลิตรเป็น blank แทนปริมาตรเซลล์ที่เติมในหลอดทดลอง วางสารผสมทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องวัดการดูด

กลืนแสง (Spectronic, USA) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ผลการทดสอบสามารถวิเคราะห์จากค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้เป็นครึ่งหนึ่ง (ร้อยละ 50) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มิได้ทดสอบกับสารสกัด ซึ่งค่าดังกล่าวคือค่า median effective dose (ED_{50}) โดยค่า ED_{50} สามารถคำนวณได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ต้องการทดสอบและร้อยละการเจริญของเซลล์มะเร็งในวันที่ 4

การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงออกของ p53, Bax และ Bcl2 mRNA

คณะผู้วิจัยประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด คือเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ต่อการเพิ่มหรือลดปริมาณของระดับ mRNA ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์มะเร็งแบบ apoptosis คือ *p53*, *Bax* และ *Bcl-2* ด้วยวิธี semi-quantitative RT-PCR[27] แบบ two-step method โดยการเตรียมเซลล์มะเร็งที่ต้องการทดสอบ ให้มีความเข้มข้นประมาณ $1x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำเซลล์ที่เตรียมมาเพาะเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ (Corning, USA) ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด EMEM และนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO_2 เป็นระยะเวลา 16-24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก ล้างเซลล์ด้วย PBS 2 ครั้ง เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผสมสารสกัดจากเห็ดหลินจือที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน (100-800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นำไปบ่มที่ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์ที่ได้จากการทดสอบสารสกัดมาสกัด total RNA ตามวิธีการสกัดของ GE (GE protocol, England) และวัดปริมาณความเข้มข้นของ total RNA ที่สกัดได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร นำ total RNA จำนวน 11 กรัม ที่สกัดได้จากเซลล์มะเร็งที่นำมาทดสอบกับสารสกัดจากเห็ดหลินจือที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทำการสังเคราะห์สาย complementary DNA (cDNA) ด้วยวิธีการสังเคราะห์ของ Superscript™ II Ranase H⁻ Reverse Transcriptase (Invitrogen, USA) โดยสายของ cDNA ที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นสายตั้งต้นในการทดสอบด้วยวิธี PCR ต่อไป

สำหรับ primers ที่ใช้ในการทดสอบด้วยวิธี PCR ของยีนเป้าหมายที่ต้องการทดสอบคือ *p53*, *Bax* และ *Bcl-2* รวมทั้งยีนมาตรฐานที่เป็น house-keeping gene; *â-actin* มีลำดับเบสดังนี้ p53F; TCAGTCTA CCTCCCGCCATAA, p53R; TTTCTTACATCTCCC AAACATCC (326bp), BaxF; AGGATCGAGCAGGG CGAATG, BaxR; AGGGCCTTGAGCACCAGTTT (280bp), Bcl-2F; TTGCCACGGTGGTGGAGGAGC, Bcl-2R; GAGACAGCCAGGAGAAATCAAACAG (261bp), *â*-actinF; GACCTTCAACACCCCAGCCA และ *â*-actinR; AGGCTGGAAGAGTGCCTCAG (411bp) ในการทดสอบเริ่มจากการนำสารผสมจำนวน 20 ไมโครลิตรที่ได้จากการผสมของ 1.5 mM $MgCl_2$, 200 μM dNTPs. 10xPCR buffer, 10 pmole ของ primer แต่ละเส้น และ 0.5 U ของ *Taq* polymerase (Intronbio, Korea) และน้ำกลั่น มาทดสอบเพิ่มจำนวน ของ DNA ในเครื่อง PCR (Eppendrof,Germany) โดยเริ่มการทำงานจาก hot start เพื่อแยกสายคู่ของ cDNA ที่ 95°C, 5 นาที จากนั้นเข้าสู่กระบวนการ เพิ่มสาย DNA ตามโปรแกรมดังนี้ denaturation ที่ 95°C, 30 วินาที, primer annealing ที่ 58°C, 30 วินาที และ polymerization ที่ 72°C, 30 วินาที และดำเนินตามโปรแกรมจำนวน 26 รอบ ในขั้นตอนสุดท้ายเป็น re-polymerization ที่ 95°C อีก 10 นาที จากนั้นนำ PCR products ที่ได้ไปแยกชนิดของ สารพันธุกรรมโดยการ run บน 1.5% agarose gel (Research organics, USA) ด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรม (Biorad, USA) และย้อมด้วย ethidium bromide ประเมิน และ วิเคราะห์ผล ภายใต้แสง UV โดยใช้ densitometer (SYNGENE, England)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองแสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ย ±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± S.D.) เปรียบเทียบผลที่ได้จากกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมโดยใช้

Student's t-test ในการหาค่า *P* และกำหนดค่า *P* ที่ 0.05 เป็นค่านัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

การเตรียมสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายเมทานอล และน้ำ

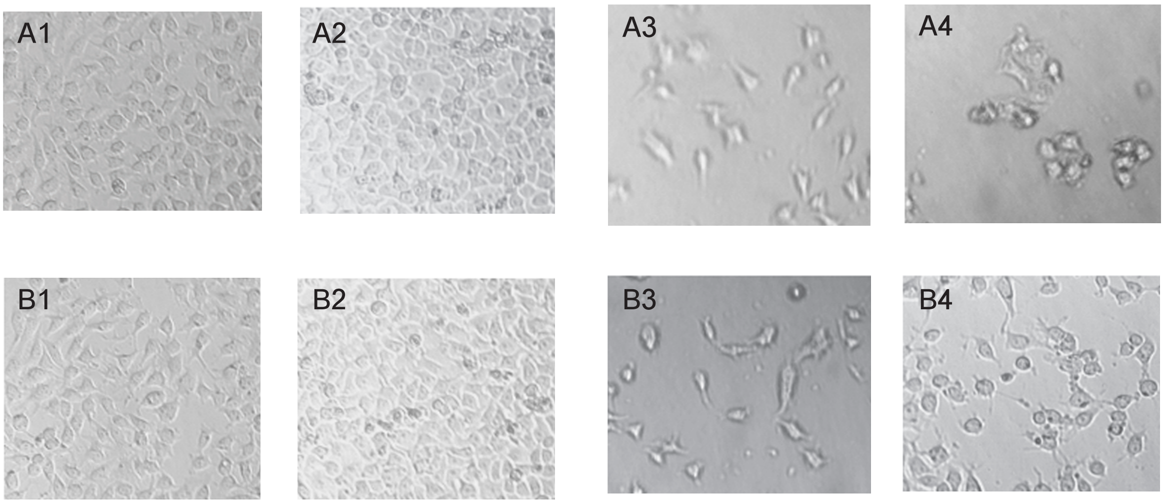
จากการนำตัวอย่างแห้งของเห็ดหลินจือมาสกัดสารแบบหยาบด้วยตัวทำละลายชนิดเมทานอลและน้ำนั้น พบว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอลมีลักษณะค่อนข้างเหนียว เนื้อแน่น สีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นค่อนข้างฉุน ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการต้มในน้ำเดือดมีลักษณะค่อนข้างร่วน สีน้ำตาล มีกลิ่นเฉพาะคล้ายสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอล

การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง

ในการทดสอบคุณสมบัติต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ด้วยสารสกัดของเห็ดหลินจือจากตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและน้ำ พบว่า สารสกัดทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด (รูปที่ 1) โดยสารสกัดจากเมทานอลมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้เป็นครึ่งหนึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่ามีค่า ED_{50} ประมาณ 208.83±7.28 μg/ml และ 303.61±5.11 μg/ml ในเซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์มะเร็งปากมดลูกตามลำดับ และค่า ED_{50} ของสารสกัดจากน้ำของเห็ดหลินจือมีค่าประมาณ 438.69±14.31 μg/ml และ 671.43±3.37 μg/ml ในเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งปากมดลูกตามลำดับ

การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงออกของ p53, Bax และBcl-2 mRNA ในเซลล์มะเร็งที่ 24 และ 48 ชั่วโมง

จากการประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือที่สกัดได้จากตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลต่อการแสดงออกของระดับ mRNA ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบ apoptosis ได้แก่ tumor suppressor

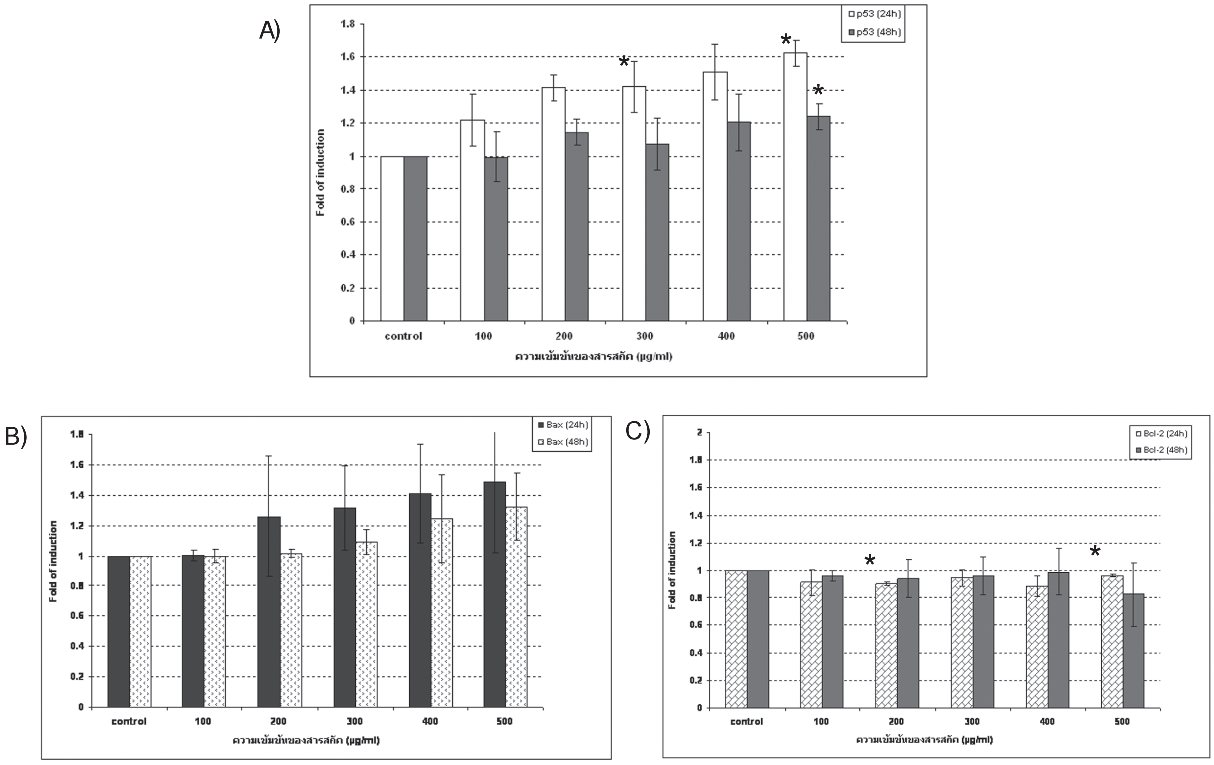


รูปที่ 1 แสดงลักษณะของเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ที่ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์ด้วยสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายเมทานอล (A3 และ A4 ตามลำดับ) และน้ำ (B3 และ B4 ตามลำดับ) ที่ความเข้มข้น 200 μg/ml เป็นระยะเวลา 4 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (A1, A2, B1 และ B2 ตามลำดับ)

gene; *p53*, Pro-apoptotic gene; *Bax* และ Anti-apoptotic gene; *Bcl-2* ในเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ด้วยวิธี semi-quantitative RT-PCR ในระยะเวลาที่ต่างกันคือ 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบหาผลการแสดงออกของระดับ mRNA ของ *p53*, *Bax* และ *Bcl-2* ในระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือ สำหรับใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาขั้นต่อไป พบว่าจากการทดสอบที่ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500 µg/ml นั้น มีการแสดงของระดับ mRNA ของยีนสองชนิด คือ *p53* และ *Bax* แตกต่างกันอย่างชัดเจนซึ่งระยะเวลาการทดสอบที่ 24 ชั่วโมงจะพบระดับของ mRNA หรือค่า fold of induction สูงกว่าการทดสอบที่ 48 ชั่วโมง (รูปที่ 2A และ 2B ตามลำดับ)ในขณะที่การกระตุ้นระดับ mRNA ของ *Bcl-2* ในระยะเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง มีความแตกต่างเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 2C) ดังนั้นในการประเมินศักยภาพของสารสกัดต่อการแสดงของระดับ mRNA ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงจึงน่าจะเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการศึกษาต่อไป

การทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงของ p53, Bax และ Bcl-2 mRNA ในเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งปากมดลูก

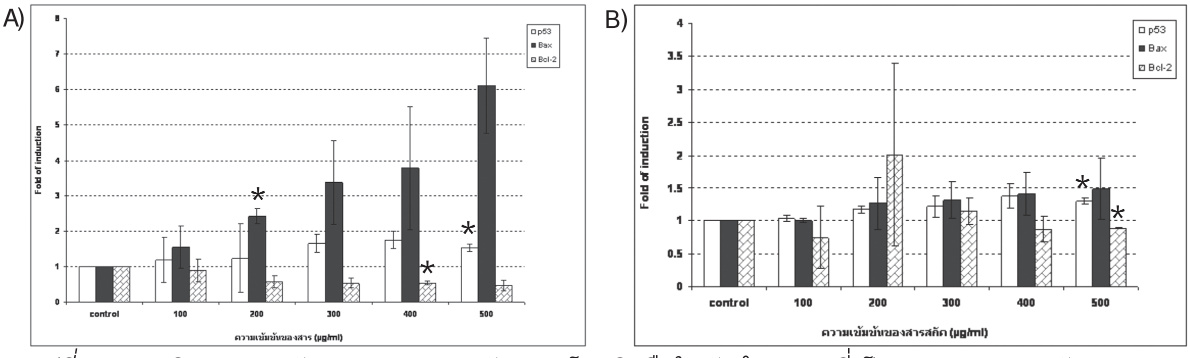
ในการศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและตัวทำละลายที่เป็นน้ำต่อการแสดงออกของระดับ p53, Bax และ Bcl-2 mRNA ในเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) นั้น พบว่า สารสกัดในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลสามารถกระตุ้นระดับของ p53 และ Bax mRNA เพิ่มขึ้นประมาณ 1.53 และ 6.11 เท่า ตามลำดับที่ความเข้มข้น 500 µg/ml ในเซลล์มะเร็งเต้านม เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มิได้ทดสอบกับสารสกัด



รูปที่ 2 แผนภูมิแท่งแสดงศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลต่อการแสดงออก (gene expression) ของ ยีน *p53* (A), *Bax* (B) และ *Bcl-2* (C) ในเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ที่เวลา 24 และ48 ชั่วโมง โดยวิธี semi-quantitative RT-PCR (**P* < 0.05 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม)

โดย การเพิ่มขึ้นของ p53 mRNA ที่ความเข้มข้น 500 μg/ml เป็นการเพิ่มกระตุ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับระดับของ Bax mRNA ก็มีการเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด (dose dependent) ในขณะที่ระดับ Bcl-2 mRNAซึ่งเป็นยีนที่ยับยั้งการตายของเซลล์มะเร็งหรือเซลล์ที่ผิดปรกติมีค่าของ fold of induction ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร สกัดสูงขึ้น (รูปที่ 3A) สำหรับผลการทดสอบสารสกัด จากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายเมทานอลต่อการแสดงออกของยีนในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500 μg/ml เช่นเดียวกับการ ทดสอบในเซลล์มะเร็งเต้านม พบว่า ค่า fold of induction หรือระดับการแสดงออกของ p53 และ Bax mRNA เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และเป็นการเพิ่มขึ้นตามปริมาณของความเข้มข้นที่สูงขึ้น (dose dependent) แต่ระดับของ Bcl-2 mRNA ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 3B)

จากการทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นน้ำในเซลล์มะเร็งเต้านมที่ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 และ 800 μg/ml เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ผลการทดสอบมีลักษณะคล้ายกับการทดสอบของสารสกัดจากตัวทำละลายที่เป็นเมทานอล นั่นคือ ค่า fold of induction หรือ ระดับของ p53 และ Bax mRNA เพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด แต่การแสดงของระดับ Bax mRNA ของสารสกัดจากตัวทำละลายที่เป็นน้ำจะมีค่าต่ำกว่าการกระตุ้นของสารสกัดที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นเมทานอลที่ความเข้มข้นเดียวกัน ในขณะที่ระดับของ Bcl-2 mRNA มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มิได้ทดสอบกับสารสกัด แต่ค่า fold of induction ที่ลดลงไม่มีความแตกต่างที่ความเข้มข้นต่างๆ (รูปที่ 4A) สำหรับการทดสอบของสารสกัดจากตัวทำละลายที่เป็นน้ำในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ความเข้มข้นและระยะเวลาเดียวกับการทดสอบในเซลล์มะเร็งเต้านม พบว่า ค่า fold of induction หรือระดับของ p53 และ Bax mRNA เพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดหลินจือ โดยการกระตุ้นการแสดงออกของระดับ p53 mRNA สามารถกระตุ้นการแสดงออกได้ดีกว่าการกระตุ้นของระดับ Bax mRNA ซึ่งผลที่ได้จะแตกต่างจากการกระตุ้นการแสดงออกในเซลล์มะเร็งเต้านม ซึ่งสามารถกระตุ้นการแสดงออกของระดับ Bax mRNA ได้ดีกว่า p53 mRNA อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของระดับ mRNA ก็เป็นการเพิ่มขึ้นในลักษณะเดียวกัน นั่นคือ ค่า fold of induction หรือ mRNA เพิ่มขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารสกัดที่เพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้น (dose-dependent) ในขณะที่ค่า fold of induction ของ Bcl-2 หรือระดับ Bcl-2 mRNA ลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (รูปที่ 4B)



รูปที่ 3 แผนภูมิแท่งแสดงศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลต่อระดับการแสดงออกของระดับ *p53, Bax* และ *Bcl-2* ในเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) (A) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) (B) ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยวิธี semi-quantitative RT-PCR (*P < 0.05 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม)

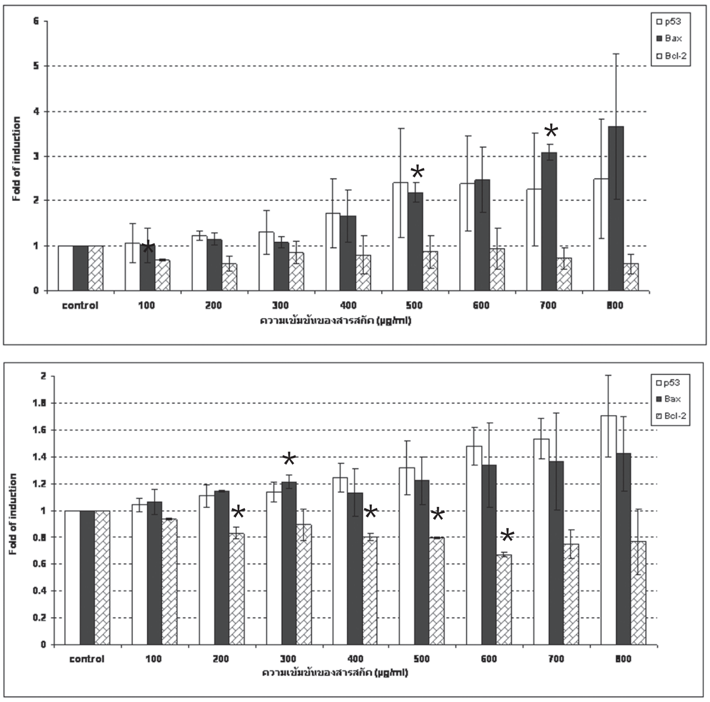
วิจารณ์และสรุป

เห็ดหลินจือ *(Ganoderma lucidum)* หรือเห็ดเทพเจ้ามีต้นกำเนิดจากภูเขาในประเทศจีน มีการนำมาใช้ในตำรับยาจีนมานานนับพันปี โดยใช้ในการบำรุง ร่างกาย เป็นยาอายุวัฒนะ ทำให้ผิวพรรณเปล่งปลั่ง และยังสามารถใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่างๆ ได้อย่าง กว้างขวาง เช่น โรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร โรค ที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ ได้แก่ หอบ หืด ภูมิแพ้ เป็นต้น[5-6, 9] ในประเทศไทยสามารถพบเห็นเห็ด หลินจือในธรรมชาติได้เกือบทุกภาคของประเทศและยัง นิยมเพาะปลูกเพื่อการจำหน่าย จากผลการศึกษาวิจัย เกี่ยวกับสรรพคุณทางยาของเห็ดหลินจือจำนวนมาก พบว่าสารเคมีที่สามารถสกัดหรือสังเคราะห์ได้จาก ส่วนต่างๆ ของเห็ดสามารถลดการอักเสบ ลดการจับตัว ของเกร็ดเลือด ช่วยเสริมสร้างโปรตีน เสริมสร้างระบบ ภูมิคุ้มกันโรค ลดปริมาณของไขมันและน้ำตาลในเลือด และที่สำคัญคือสารในกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) และไตรเทอร์พีน (triterpene) สามารถ ควบคุมการเจริญของเซลล์มะเร็งได้[6,10-11] ดังนั้นเห็ด หลินจือจึงน่าจะเป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่เป็นทาง เลือกในการนำมาศึกษาวิจัยทางด้านโรคมะเร็งสำหรับ ประเมินศักยภาพต่อการบำบัด รักษาโรคมะเร็งเพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพในการรักษาหรือสามารถใช้ในการลด อาการข้างเคียงที่อาจเกิดจากการรักษาด้วยวิธีการ อื่นๆ เช่น รังสี ตลอดจนนำมาพัฒนาใช้เป็นยาบำรุง ร่างกายของผู้ป่วยในการเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย โรคมะเร็งต่อไป

จากการศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง 2 ชนิด คือ เซลล์มะเร็งเต้านม; MCF-7 และเซลล์มะเร็งปากมดลูก; HeLa พบว่าสารสกัดจากเห็ดหลินจือที่ได้จากตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและตัวทำละลายที่เป็นน้ำ สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด โดยสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลจะยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายที่เป็นน้ำ ซึ่งผลการทดสอบของค่าการยับยั้ง

A)

B)



รูปที่ 4 แผนภูมิแท่งแสดงศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ ต่อระดับการแสดงออกของระดับ p53, Bax และ *Bcl-2*ในเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) (A) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) (B) ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยวิธี semi-quantitative RT-PCR (*$p < 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม)

(ED_{50}) ที่แตกต่างกันของเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดในสารสกัดจากเห็ดหลินจืออาจมีสาเหตุมาจากชนิดของเซลล์มะเร็งที่แตกต่างกันและปริมาณหรือชนิดของสารเคมีที่มีอยู่ในสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน โดยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีนั้นอาจจะสกัดได้ในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอล ดังนั้นผลการยับยั้งในเซลล์มะเร็งของสารสกัดจากเมทานอลจึงดีกว่าในสารสกัดจากน้ำสำหรับวิธีการสกัดสารก็มีความสำคัญเนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เป็นน้ำอาจเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่ทำลายสารสำคัญบางชนิดในสารสกัด ในขณะที่การสกัดด้วยเมทานอล จะใช้วิธีการแช่ในตัวทำละลายเมทานอลเท่านั้น นอกจากนี้ความแตกต่างของลักษณะของเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดทั้งทางด้านกายภาพ (morphology) หรือลักษณะทางพันธุกรรม (genetics) อาทิเช่น ชนิดของยีนที่แตกต่างกันที่อยู่ภายในเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดหรือยีนที่มีการกลายพันธุ์ส่งผลให้เซลล์มะเร็งดื้อยาหรือสารสกัดที่นำมาทดสอบก็มีผลต่อการทดสอบเช่นเดียวกัน จากผลการทดลองนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น หรือเป็นแนวทางในการศึกษาค้นคว้าวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวกับการทดสอบหรือประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อไป

ในการประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงออกของสารพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตายแบบ apoptosis (apoptosis-related gene expression) โดยการศึกษาผลการกระตุ้นการแสดงออกของระดับ p53, Bax และ Bcl-2 mRNA ในเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิดด้วยวิธี semi-quantitative RT-PCR พบว่า สารสกัดจากเห็ดหลินจือในตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและน้ำสามารถกระตุ้นการแสดงของระดับ mRNA ของยีนทั้งสามได้ดีในช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่การทดสอบที่ 48 ชั่วโมงก็สามารถกระตุ้นระดับของ mRNA ได้เช่นเดียวกันแต่มีปริมาณที่น้อยกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากช่วงการกระตุ้นให้เกิดการสร้างหรือสังเคราะห์ mRNA ด้วยกระบวนการ transcription นั้นจะเกิดในช่วงระยะเวลา 24-48 ชั่วโมงหลังจากที่เซลล์ถูกกระตุ้นจากปัจจัยต่างๆ หลังจากนั้น mRNA จะถูกเปลี่ยนหรือสังเคราะห์เป็นโปรตีนด้วยกระบวนการ translation ภายในระยะเวลา 48-96 ชั่วโมง[28] เพื่อเตรียมพร้อมในการทำงานต่อไป ดังนั้นในช่วงระยะเวลาที่ 48 ชั่วโมงจึงเป็นช่วงที่ mRNA บางส่วนเริ่มเข้าสู่การเปลี่ยนเป็นโปรตีน จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปริมาณ fold of induction หรือปริมาณของ mRNA ที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณ น้อยกว่าการทดสอบในระยะเวลาที่ 24 ชั่วโมง ดังนั้นการทดสอบสารสกัดเพื่อประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือต่อการแสดงออกของระดับ mRNA ของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตายแบบ apoptosis ในช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมงจึงเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองต่อไป

สำหรับกระบวนการตายแบบ apoptosis ที่ผ่านไมโตคอนเดรียจะมีการกระตุ้นยีนที่สำคัญหลายชนิดรวมทั้ง *p53*, *Bax* และ *Bcl-2* จากผลการวิจัยจำนวนมากพบว่าเซลล์มะเร็งที่ดื้อยามักจะมี *Bcl-2* อยู่ในปริมาณสูง[23, 29] ซึ่งการแสดงออกของปริมาณของ Bax protein หรือ Bax mRNA และ Bcl-2 protein หรือ Bcl-2 mRNA ในเซลล์มะเร็งจะเป็นดัชนีบ่งชี้ที่สำคัญในการบ่งบอกว่า เซลล์มะเร็งชนิดนั้นดื้อต่อยาหรือสารสกัดที่นำมาทดสอบหรือไม่ ถ้าปริมาณของ Bax protein หรือ Bax mRNA สูงกว่า Bcl-2 protein หรือ Bcl-2 mRNA จะส่งผลให้เซลล์มะเร็งหรือเซลล์ที่ผิดปรกตินั้นสามารถเข้าสู่กระบวนการตายแบบ apoptosis แต่ถ้าปริมาณของ Bax protein หรือ Bax mRNA น้อยกว่า Bcl-2 protein หรือ Bcl-2 mRNA บ่งบอกว่ายาหรือสารสกัดไม่สามารถทำลายเซลล์มะเร็งนั้นได้[29] ในขณะที่ p53 เป็น tumor suppressor gene ที่มีความสำคัญในวงจร ชีวิตของเซลล์และกระบวนการตายแบบ apoptosis ในการบ่งชี้ความผิดปรกติของ DNA นั่นคือ p53 จะเป็นตัวส่งสัญญาณให้มีการซ่อมแซม DNA (DNA repair) ที่ผิดปรกติในวงจรชีวิตของเซลล์ และถ้าการซ่อมแซมสาย DNA ที่ผิดปรกติไม่ประสบความสำเร็จ *p53* ก็จะส่งสัญญาณให้มีการกระตุ้นเข้าสู่กระบวนการตาย แบบ apoptosis เพื่อทำลาย DNA ที่ผิดปรกตินั้น[23-24, 29]

จากการประเมินศักยภาพของสารสกัดจากเห็ดหลินจือด้วยตัวทำละลายที่เป็นเมทานอลและน้ำต่อการ

แสดงออกของระดับของ p53, Bax และ Bcl-2 mRNA ในเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) นั้นพบว่า สารสกัดจากตัวทำละลาย

ทั้งสองชนิดสามารถกระตุ้นการแสดงของระดับของ p53 mRNA และ Bcl-2 mRNA ในเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดและสามารถลดปริมาณของ Bcl-2 mRNA หรือไม่มีการเหนี่ยวนำให้ปริมาณของ Bcl-2 mRNA เพิ่มขึ้น โดยผลจากการกระตุ้นของสารสกัดที่ได้จากเมทานอลจะสามารถเพิ่มปริมาณของ Bax mRNA ได้ดีกว่า p53 mRNA ในเซลล์มะเร็งทั้ง 2 ชนิด ในขณะที่สารสกัดจากน้ำสามารถกระตุ้นการแสดงออกของ p53 mRNA ได้ดี กว่า Bax mRNA ในเซลล์มะเร็งปากมดลูกและกระตุ้น Bax mRNA ได้ดีกว่า p53 mRNA ในเซลล์มะเร็งเต้านมทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของสารเคมีที่สกัดได้จากตัวทำละลายที่แตกต่างกันและความแตกต่างของสารพันธุกรรมที่อยู่ภายในเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งผลจากการทดสอบนี้สามารถบ่งชี้หรือเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่บ่งบอกว่าสารสกัดจากเห็ดหลินจือสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งและสามารถกระตุ้นให้เซลล์มะเร็ง หรือเซลล์ที่ผิดปรกติถูกทำลายด้วยกระบวนการ apoptosis ได้

จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่า สารสกัดจากเห็ดหลินจือมีศักยภาพในการต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษา ค้นคว้า วิจัยสารสกัดจากเห็ดหลินจือในด้านต่างๆ ต่อไป เพื่อพัฒนาเป็นยาหรือสารบำบัดมะเร็ง สำหรับใช้ในการบำบัดรักษาผู้ป่วยมะเร็งหรือใช้เป็นยาบำรุงร่างกาย หรือลดอาการข้างเคียงที่เกิดจากการรักษาเพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งให้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรจากธรรมชาติในการการพัฒนาที่ยั่งยืนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสมาคมโรคมะเร็งแห่งประเทศไทยในพระบรมราชินูปถัมภ์ที่ให้การสนับสนุนงบดำเนินการในโครงการวิจัยนี้จากกองทุนเทอรี่ฟ็อก ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สุนันท์ ชัยนะกุล, เจ้าหน้าที่และนักศึกษาจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตรที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้ความ ช่วยเหลือในการเตรียมสารสกัดจากเห็ดหลินจือ และ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของกลุ่มงานวิจัยและผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านในสถาบันมะเร็งแห่งชาติที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือและเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. การสาธารณสุขไทย ปี พ.ศ. 2544-2547 สำนักนโยบายและแผนกระทรวงสาธารณสุข.
2. Surh Y-J. Cancer chemopreventive with dietary phytochemical. Nature Review Cancer 2003; 3: 768-80.
3. Cooper GM. Cancer. In: Cooper GM, editor. The cell: A molecular approach. 2nd ed, Washington DC, ASM Press. 2000. p 609-40.
4. ข้อมูลสถิติสาธารณสุข. Available at: http://203.157.10.15/ moph/ข้อมูลสถิติ/Default.aspx. Accessed October 28, 2008.
5. สุรพล รักปทุม, ชวลิต สันติกิจรุ่งเรือง. เห็ดหลินจือ Ling Zhi *(Ganoderma lucidum)* พิมพ์ครั้งที่ 1กรุงเทพมหานคร: ทีพี พริ้น; 2538.
6. สาธิต ไทยทัตกุล. การเพาะเห็ดหลินจือ. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: ฟ้าอภัย; 2538.
7. Sliva D. Cellular and physiological effects of *Ganoderma lucidum* (Reishi). Mini-Rev Med Chem 2004; 4: 873-9.
8. Sliva *D. Ganoderma lucidum* in cancer research. Leukemia Research 2006; 30: 767-8.
9. Mizumo T. Studies on bioactive substances and medical effects of Reishi *(Ganoderma lucidum)*. The 1st International Symposium on Ganoderma lucidum; Japan: Shizupka Univ. 1997.
10. Lin CN, Tome WP, Won SJ. Novel cytotoxicity principle of formasan *Ganoderma lucidum*. J Nat Prod 1991; 54: 998-1002.
11. รู้จักกับเห็ดหลินจือสมุนไพรใกล้บ้าน. Available at: www.it-gateway.com. Accessed March 3, 2008.
12. เห็ดหลินจือ. Available at: http://th.wikipedia.org. Accessed March 3, 2008.
13. ประวัติเห็ดหลินจือ. Available at: http://lingzhi. tarad. com. Accessed March 3, 2008.
14. Suchanuch Ondee. A study of Antimutagenecity, Antimicronucleus Formation and Antineoplastic Effect of *Ganoderma lucidum* (Leyss. Ex Fr) Karst. Thesis: Mahidol University; 2002.
15. Hsu HY, Hua KF, Lin CC, Hsu J, Wong CH. Extract of

Reishi polysaccharide induces cytochrome expression via TLR-4 modulated protein kinase signaling pathways. J Immunol 2004; 173: 5989-99.
16. Wang YY, Khoo KH, Chen ST, Lin CC, Wong CH, Lin CH. Studies on the immunomodulating and antitumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharide: function and proteomic analysis of fucose-containing glycoprotein fraction responsible for the activities. Bioorg Med Chem 2002; 10: 1057-62.
17. Tanaka S, Ko K, Kino K, Tsuchiya K, Yamashita A, etal. Complete amino acid sequence of an immunomodulatory protein, Ling Zhi-8 (LZ-8): An immunomodulator from a fungus, *Ganoderma lucidum*, having similarity to immunoglobulin variable regions. J Biol Chem 1989; 264: 16372-7.
18. Marasugi A, Tanaka S, Komiyama N, Iwata N, Kino K, Taunoo H, et al . Molecular cloning of a cDNA and a gene encoding on immunomodulatory protein, Ling Zhi-8, from a fungus, *Ganoderma lucidum*. J Biol Chem 1991; 266: 2486-93.
19. Miyazaki T, Nishuima M. Studies of fungus polysaccharide; Structure examination of a water solution, antitumor polysaccharide of *Ganoderma lucidum*. Chem Pharm Bull. 1981; 29: 3611-6.
20. Lieu CW, Lee SS, Wong SY. The effect of *Ganoderma lucidum* (Reishi). Mini-Rev Med Chem 2004; 4: 873-9.
21. Cao QZ, Lin ZB. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide inhibits the growth of vascular endothelial cell and the induction of VEGF in human lung cancer cell. Life Science 2006; 78: 1457-63.
22. Hu H, Ahn NS, Yang X, Lee YS, Kang KS. *Ganoderma lucidum* extract induce cell cycle arrest and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cell. Int J Cancer 2002; 102: 250-3.
23. Malaguarnera L. Implication of apoptosis regulators in tumorigenesis. Cancer and Metastasis Review 2004; 23: 367-87.
24. Cheng YL, Chang WL, Lee SC, Liu YG, Chen CJ, Lin SZ, et al. Acetone extract of *Angelica sinesis* inhibits proliferation of human cancer cell via inducing cell cycle arrest and apoptosis. Life Science 2004; 75: 1579-94.
25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. J Biol Chem 1951; 195: 265-75.
26. Geran RI, Grenberg NG, Macdonale MM, Schumacher AM, Abbott BJ. Protocols for screening chemical agents and nature products against animal tumors and other biological system. Cancer Chemther Rep Part 3, 3(2): 1972: p1-66.
27. Innis MA, Gelfand DH. Optimization of PCRs. In:Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ,editors. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, New York: Academic press 1990: p3-12.
28. siRNA transfection protocol. Available at www.dharmacon.com.
29. Ko SG, Koh SH, Jun CY, Nam CG, Bae HS, Shin MK. Induction of apoptosis by *Sauaaurea* lappa and *Pharbitis* nil on AGS Gastric Cancer Cells. Biol Pharm Bull 2004; 27: 1604-10.

❖ ❖ ❖

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 29 ฉบับที่ 1
มกราคม - มีนาคม 2552

ความสัมพันธ์ระหว่าง *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ

ดนัย ทิวาเวช*
วุฒิ สุเมธโชติเมธา**
อารีย์ ประสิทธิพยงค์***
ญาณิณี จรัสวิศรุตพร***
พัชรินทร์ หอมชะเอม***
Takafumi Ishida****

บทคัดย่อ โรคมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma; HCC) เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขที่ก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างมากในประเทศไทยทุกปี มีรายงานว่า *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms กับความเสี่ยงต่อการเกิด HCC ในคนไทยด้วยการตรวจหาความถี่ของ *P53* codon 72 genotypes (Arg/Arg, Arg/Pro, Arg/Pro และ Pro/Pro genotypes) และความถี่ของ *GSTM1* genotypes (*GSTM1+*) และ (*GSTM1-*) ในผู้ป่วย HCC 200 ราย และคนปกติที่มีอายุใกล้เคียงกับกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งดังกล่าว 400 ราย โดยใช้วิธี polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) และ PCR ตามลำดับ พบว่าโดยรวมความถี่ของ *P53* codon 72 polymorphism ในกลุ่มผู้ป่วย HCC มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มคนปกติ และพบว่าผู้ที่มี *P53* codon 72 genotypes ชนิด Pro/Pro มีความเสี่ยงในการเกิด HCC 1.9 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีชนิด Arg/Arg (OR=1.9; 95%CI=1.2-3.3) ในทำนองเดียวกันพบว่าความถี่ของ *GSTM1* polymorphism ในกลุ่มผู้ป่วย HCC มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มคนปกติ โดยพบว่าผู้ที่มี *GSTM1-* มีความเสี่ยงในการเกิด HCC 1.8 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มี *GSTM1+* (OR=1.8; 95%CI=1.3-2.5) ผลของการศึกษานี้แสดงว่า *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด HCC และน่าจะมีประโยชน์ใช้เป็นตัวชี้วัดในการทำนายและค้นหาผู้มีโอกาสเสี่ยงสูงของ HCC ในคนไทยได้ *(วารสารโรคมะเร็ง 2552;29:25-34.)*

* กลุ่มงานวิจัย, **กลุ่มงานศัลยกรรม, *** กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ 10400
**** Unit of Human Biology and Genetics, Department of Biological Sciences, School of Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

Abstract

Association between *p53* codon 72 and *GSTM1* polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma

by Danai Tiwawech*,Wutthi Sumetchotimaytha**,Aree Prastthipayong***, Yaninee Jarratwisarutporn*** Patcharin Homchaem*** and Takafumi Ishida****

Research, ** Out-patient, ***Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand.** Unit of Human Biology and Genetics, Department of Biological Sciences, School of Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.*

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a serious public health problem that caused vastly losses in Thailand annually. Recently, *P53* codon 72 and *GSTM1* polymorphisms have been found to associate with several cancers. The aim of this study is to investigate the association between *P53* codon 72 and *GSTM1* polymorphisms and risk of HCC development in Thais. The frequencies of *P53* codon 72 genotypes (Arg/Arg, Arg/Pro and Pro/Pro genotypes) and *GSTM1* genotypes (*GSTM1+*) and (*GSTM1-*) from 200 cases of HCC as well as 400 age-matched healthy control were analyzed by using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and PCR, respectively. In overall, the frequencies of *P53* codon 72 polymorphism in HCC group were significantly different from those of healthy control. The Pro/Pro carriers had increased risk for HCC at 1.9-fold as compared to Arg/Arg carriers (OR=1.9; 95%CI=1.2-3.3). Similarly, the overall of frequencies of *GSTM1* genotypes of *GSTM1* polymorphism in HCC group were significantly different from those of healthy control. In addition, *GSTM1-* carriers had increased risk for HCC at 1.8-fold as compared to *GSTM1+* carriers (OR=1.8; 95%CI=1.3-2.5). The results of this study suggest that *P53* codon 72 and *GSTM1* polymorphisms are associated with the increased risk of HCC and may be a useful tool for predicting and searching the high risk group of HCC in Thai population. *(Thai Cancer J 2009;29:25-34.)*

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขที่ก่อให้เกิดความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจ และทำลายชีวิตประชากรโลกไปปีละมากมายรวมทั้งในคนไทย จากสถิติสาธารณสุขของประเทศไทยปี พ.ศ.2549 พบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับที่ 1 ของสาเหตุการตายทั่วประเทศ โดยพบว่าในปี พ.ศ. 2549 มีคนไทยเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็ง 52,062 ราย และอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งนี้ยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปีอีกด้วย[1] มีรายงานว่าอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งตับสูงเป็นอันดับที่ 1 ในประชากรไทยโดยมีอัตราอยู่ที่ 45.7 รายต่อแสนประชากร[2] จากสถิติของสถาบันมะเร็งแห่งชาติปี พ.ศ. 2549 พบว่าโรคมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma (HCC) เป็นโรคที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุของการตายที่ค่อนข้างสูงโรคหนึ่ง[3] เป็นที่น่าสังเกตว่าผู้ป่วย HCC ที่ตรวจพบในสถาบันมะเร็งแห่งชาตินั้นส่วนใหญ่เป็นโรคในระยะสุดท้าย ซึ่งมีการพยากรณ์โรคและการตอบสนองต่อการรักษาไม่ดี ผู้ป่วยเหล่านี้มักเสียชีวิตภายในหนึ่งปีหลังการรักษา แต่อย่างไรก็ตามผู้ป่วย HCC ในระยะเริ่มแรกมีโอกาส รักษาให้หายขาดได้ ดังนั้นการตรวจหาผู้ป่วย HCC ให้พบโดยเร็วตั้งแต่เป็นโรคในระยะเริ่มแรกในกลุ่มคนไทยที่มีความเสี่ยงสูงโดยอาศัยตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม (genetic marker) แล้วติดตามตรวจหาโรค HCC ในระยะเริ่มแรกในกลุ่มคนที่มีความเสี่ยงสูงเหล่านี้อย่างละเอียดอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้ specific tumor marker การตรวจทางด้านรังสีวินิจฉัย และการตรวจร่างกายทั่วไปทุกๆ 4-6 เดือน จึงเป็นเรื่องจำเป็นเร่งด่วนในการป้องกันและควบคุมโรคร้ายนี้ในอนาคต

จากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีด้านอณูชีววิทยา (molecular biology) ทำให้ทราบว่ามนุษย์มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphism) ซึ่งมีผล

ทำให้แต่ละบุคคลมีความไวในการเกิดโรคมะเร็ง (cancer susceptibility) แตกต่างกัน[4] และความหลากหลายทางพันธุกรรมนี้นักวิทยาศาสตร์พบว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นประโยชน์ในการทำนาย และค้นหากลุ่มคนที่มีความเสี่ยงสูงของโรคมะเร็งที่กำลังจะกลายเป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งระยะเริ่มแรกในอนาคตได้หลายชนิด เช่น มะเร็งปอด[5] มะเร็งกระเพาะอาหาร[6] มะเร็งลำไส้ใหญ่[7] มะเร็งโพรงหลังจมูก[8] มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ[9] มะเร็งเต้านม[10] และมะเร็งตับ[11] เป็นต้น เนื่องจากมีหลักฐานทางระบาดวิทยาโมเลกุลชี้ให้เห็นว่าการได้รับสารก่อมะเร็งอาฟล่าทอกซิน ไนโตรซามีน และสาร polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) จากอาหารที่มีเชื้อรา *Aspergillus flavus* จากควันบุหรี่ และจากอาหารหมักดองหรือที่ใส่ดินประสิว เป็นปัจจัยสำคัญทำให้เกิด HCC ในคน[12-14] และพบว่า *P53* codon 72 และ *GSTM1* gene polymorphisms มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิดซึ่งมีสาเหตุมาจากสารก่อมะเร็งดังกล่าว[15-23] จึงคาดว่า *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms นี้น่าจะมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเกิด HCC ในคนไทย ดังนั้นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms กับความเสี่ยงต่อการเกิด HCC โดยใช้วิธี polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) และ PCR จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจเพื่อที่จะพิจารณาว่าควรจะนำการตรวจหา *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms นี้ไปใช้ประโยชน์ในการทำนาย และติดตามค้นหากลุ่มคนไทยที่มีความเสี่ยงสูงของ HCC ซึ่งกำลังจะกลายเป็นผู้ป่วย HCC ระยะเริ่มแรกในอนาคตได้หรือไม่

P53 tumor suppressor gene อยู่บน chromosome 17p13 เป็น gene ต้านมะเร็ง โดยทำหน้าที่ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งไม่ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้น และเร่งการทำลายตัวเอง (apoptosis) ของเซลล์มะเร็ง มีรายงานว่า *P53* ในคนปกติทั่วไปจะมีความหลากหลาย (polymorphism) และในแต่ละบุคคลจะมีลักษณะของ *P53* แตกต่างกัน ในปัจจุบันพบว่า codon 72 polymorphism บน exon ที่ 4 ของ *P53* ทำให้เกิด *P53* variants เป็น 2 genotypes ซึ่งทำหน้าที่สร้างโปรตีนที่มี arginine (CGC) และ proline (CCC)[24-28] จากการศึกษาพบว่า ผู้ที่มี genotype เป็นชนิด Arg/Arg มีโอกาสพบในผู้ป่วยโรคมะเร็งปากมดลูก[29] และเต้านม[30] มากกว่าในคนปกติ ในขณะที่ผู้ที่มี genotype เป็นชนิด Pro/Pro จะมีโอกาสพบในผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ[31] และปอด[32,33] มากกว่าในคนปกติ ดังนั้น *P53* codon 72 polymorphism นี้น่าจะนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจหาความเสี่ยงที่จะเป็นโรคมะเร็งในคนปกติที่อยู่ในสภาพแวดล้อมเหมือนกันกับผู้ป่วยโรคมะเร็งได้

โดยทั่วไปสารก่อมะเร็งส่วนใหญ่จะเป็น pro-carcinogens และจำเป็นต้องถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลงโดย Phase I enzymes [cytochrome 450 (CYP 450) super gene family] เพื่อกลายไปเป็น ultimate carcinogen ที่มีประจุบวกซึ่งสามารถจับกับ DNA (DNA adducts)ที่มีบางส่วนเป็นประจุลบในนิวเคลียสของเซลล์เป็นผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutations) บนยีนใน DNA และกระตุ้นให้เกิดโรคมะเร็ง (initiating carcinogenesis) ในที่สุด ส่วน Phase II enzymes สามารถทำลายพิษ (detoxify) ของ ultimate carcinogen จากสารก่อมะเร็งได้ ซึ่งเป็นการช่วยป้องกันการเกิด DNA adducts หรือ การทำลาย DNA ในนิวเคลียสของเซลล์ มีรายงานว่า glutathione S-transferase (GST) ของ มนุษย์เป็น super gene family แบ่งออกเป็น 4 classes คือ Alpha, Mu, Pi และTheta[34] ตามปกติ GSTs ทำหน้าที่เป็น Phase II enzymes โดยการใช้ glutathione เข้าจับกับ (conjugation) electrophilic substances ซึ่งเป็น ultimate carcinogen และทำการขจัดสารดังกล่าวออกจากร่างกายผ่านทางปัสสวะ

GSTM1 เป็น GST ที่อยู่ใน Mu class isoenzyme ทำหน้าที่สำคัญในการทำลายพิษของสารก่อมะเร็ง เช่น PAHs และ nitrosamines ที่มีอยู่ในอาหาร และควันบุหรี่ มีรายงานว่า *GSTM1* gene ที่ทำหน้าที่สร้าง GSTM1 enzyme มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด พบว่าประมาณร้อยละ 45-56, 40-58 และ 20-30 ของชาว Caucasian[35] Asian[36,37] และ African-Americans[38] ตามลำดับ ไม่มี *GSTM1* (*GSTM1* null genotype : *GSTM1*-) และคนกลุ่มนี้จะมีความไวต่อการเกิดโรคมะเร็งหรือมีความเสี่ยง

ต่อการเป็นโรคมะเร็งสูงกว่าคนกลุ่มที่มี *GSTM1* (*GSTM1* present genotype : *GSTM1+*) เนื่องจากกลุ่มคนดังกล่าวไม่สามารถสร้าง GSTM1 ไปทำลายพิษของสารก่อมะเร็งได้ จากผลของการศึกษาด้านระบาดวิทยาโมเลกุลเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *GSTM1* polymorphisms กับโรคมะเร็งปอดพบว่ายังมีข้อขัดแย้งกันอยู่บ้าง แต่ในการศึกษาทั้งทางด้าน phenotype และ genotype พบว่า *GSTM1-* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งปอด และความเสี่ยงของโรคมะเร็งปอด เกี่ยวข้องกับประวัติการสูบบุหรี่[38-43]

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms กับอัตราเสี่ยงในการเกิดโรค HCC โดยเปรียบเทียบความถี่ของ *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms ที่พบในผู้ป่วย HCC กับคนปกติว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ และเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ที่จะใช้ *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms เป็นตัวชี้วัดเพื่อช่วยในการทำนาย และตรวจหาผู้มีโอกาสเสี่ยงสูงในการเป็นโรค HCC ระยะเริ่มแรกในคนไทย โดยทำการตรวจหาความถี่ของ genotypes ของ *P53* codon 72 polymorphism (Arg/Arg, Arg/Pro และ Pro/Pro genotypes) และ *GSTM1* polymorphism (*GSTM1+* และ *GSTM1-*) จาก DNA ในเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยโรค HCC และคนปกติโดยใช้วิธี PCR-RFLP และ PCR

วัสดุและวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บเม็ดเลือดขาวจากกลุ่มผู้ป่วยโรค HCC ซึ่งมารับการตรวจรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติที่ผ่านการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา 200 ราย มีอายุตั้งแต่ 20-80 ปี และผู้ป่วยทุกรายมีประวัติไม่เคยได้รับการรักษามาก่อน ในขณะเดียวกันทำการเก็บเม็ดเลือดขาวจากกลุ่มคนปกติที่มีอายุใกล้เคียงกับผู้ป่วยโรค HCC ซึ่งมารับการตรวจร่างกายประจำปีที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 400 ราย เพื่อใช้เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ

การสกัด DNA จากเม็ดเลือดขาว

ใช้น้ำยาสำเร็จรูป QIA amp® DNA Mini kit ของบริษัท QIAGEN โดยมีขั้นตอนดังนี้ ดูด buffy coat 200 μl ใส่ลงใน 20 μl ของ QIAGEN Protease ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม buffer AL 200 μl และผสมให้เข้ากัน 15 วินาที แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่ 56°ซ นาน 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นที่ 8000 rpm นาน 1 นาที และเติม 100% ethanol ผสมให้เข้ากัน 15 วินาที ปั่นที่ 8000 rpm นาน 2 นาที แล้วดูดสารละลายใส่ใน QIAamp Spin Column จากนั้นปั่นที่ 8,000 rpm นาน 1 นาที แล้วเติม buffer AW 1 500 μl ลงใน column และปั่นที่ 8000 rpm นาน 1 นาที จากนั้นวาง column ลงใน collection tube อันใหม่ และเติม buffer AW 2 ลงใน column แล้วปั่นที่ 14000 rpm นาน 3 นาที นำ column วางใน collection tube อันใหม่ ปั่นที่ 14000 rpm นาน 1 นาทีแล้ววาง column ลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml และเติม buffer AE 200 μl วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นที่ 8000 rpm นาน 1 นาที และนำตัวอย่าง DNA ใน microcentrifuge tube เก็บไว้ที่ 4°ซ 1 คืน แล้วนำไปเก็บที่ -40°ซ จนกว่าจะนำไปใช้

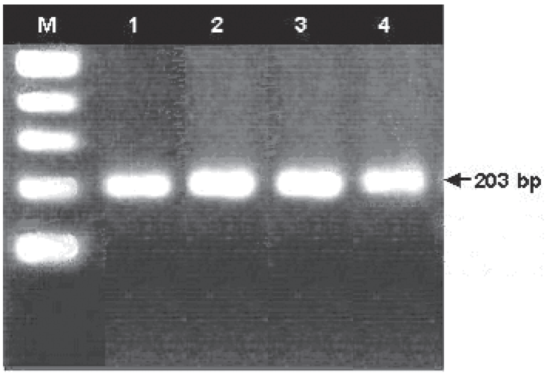
การตรวจหา *P53* codon 72 polymorphism ด้วยวิธี PCR-RFLP

ในการตรวจใช้ primers 5'-CCC GGA CGA TAT TGA ACA-3' และ 5'-AGA AGC CCA GAC GGA AAC-3' (เพื่อเพิ่มจำนวนของ *P53* exon 4) ส่วนการตรวจเริ่มด้วยการนำ PCR reaction mixture 50 μl [32.8 μl ของ double distilled water + 5 μl ของ PCR buffer + 4 μl ของ $MgCl_2$ + 5 μl ของ dNTP + 1 μl ของ 20 pmole ของแต่ละ primer + 0.2 μl ของ Taq DNA polymerase + 1 μl ของ DNA template]ไป incubate ที่ 95°ซ นาน 9 นาทีก่อนการทำ PCR จากนั้นทำการ เพิ่มจำนวน DNA โดยการทำ PCR ตามโปรแกรมดังนี้ 94°ซ นาน 1 นาที, 63°ซ นาน 1 นาที และ 72°ซ นาน 1 นาที เป็นจำนวน 40 รอบแล้วตามด้วย 72°ซ นาน 4 นาที PCR product

ที่ได้จะมีขนาด 203 base pair (bp) เมื่อ run ใน agarosegel (2.5%)electrophoresis และย้อมด้วย ethidium bromide (รูปที่ 1) ในการทำ PCR ทุกครั้งใช้ double distilled water เป็น negative control จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปทำ RFLP โดยย่อยด้วย BstU1 enzyme ซึ่งจะเลือกตัด DNA sequence เฉพาะบริเวณที่มี CGCG ที่อุณหภูมิ 37°ซ นาน 10 ชั่วโมง และในที่สุดจะได้ product ที่เป็น Arg/Arg genotype ที่มีขนาด 125 และ 78 (bp) ส่วน Pro/Pro genotype จะไม่ถูกตัด ดังนั้น product ที่ได้จะมีขนาด 203 bp เหมือนเดิม สำหรับ product ของ Arg/Pro genotype ที่ได้จะมีขนาด 203, 125 และ 78 bp (รูปที่ 2)

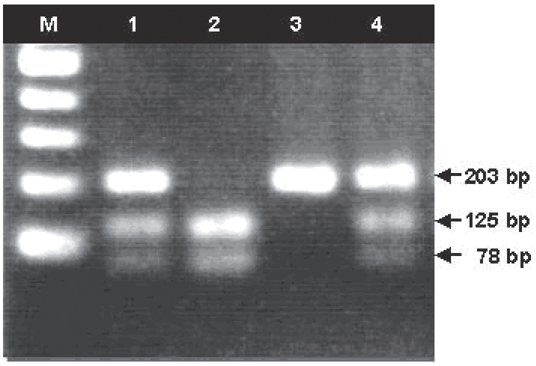
การตรวจหา *GSTM1* polymorphism ด้วยวิธี PCR

ในการเพิ่มจำนวนของ *GSTM1* ใช้ primers 5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3' และ 5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3' ส่วนการเพิ่มจำนวนของ human beta-globin ใช้ primers 5'-AAC TTC ATC CAC GTT CAC C-3' และ 5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3' (เพื่อยืนยันว่า *GSTM1* null



รูปที่ 1 PCR product ของ P53 codon 72 gene polymorphism บน 2.5% agarose gel electrophoresis หลังจากการย้อมด้วย ethidium bromide ผลที่ได้ คือเกิดแถบของ DNA 1 แถบ มีขนาด 203 basepair (bp) ในlane ที่ 1, 2, 3, และ 4 ตามลำดับ สำหรับM คือ 100 bp DNA size marker

genotype นั้นไม่ได้เกิดจากการที่ไม่มี DNA อยู่ในตัวอย่างก่อนมีการทำ PCR) การตรวจเริ่มต้นด้วย การนำ PCR reaction mixture 50 μl [36.7 μl ของ double distilled water + 5 μl ของ PCR buffer ที่มี $MgCl_2$ + 5 μl ของ dNTP+ 1 μl ของ 20 pmole ของ primer + 0.3 μl ของ Taq DNA polymerase + 1 μl ของ DNA template] ไป incubate ที่ 94°ซ นาน 5 นาที



รูปที่ 2 การวิเคราะห์ผลของ *P53* codon 72 gene poly morphismที่ได้จากการทำPCR-RFLP หลังจาก PCR product ถูกย่อยด้วย *BstU1* และผ่านการทำ electrophoresis บน 2.5% agarose gel ตามด้วยการย้อมด้วย ethidium bromideผลที่ได้มี3แบบคือ Arg/Pro genotype (laneที่ 1 และ 4: เกิดแถบของ DNA 3 แถบคือ 203 bp, 125 bp และ 78 bp), Arg/Arg geno type (laneที่ 2: เกิดแถบของ DNA 2 แถบคือ 125 bp และ 78bp)และ Pro/Pro genotype (laneที่ 3: เกิดแถบของ DNA 1 แถบคือ 203 bp), M คือ 100 bp DNA size marker

ก่อนการทำ PCR จากนั้นทำการเพิ่มจำนวน DNA โดยทำ PCR ตามโปรแกรมดังนี้ 94°ซ นาน 10 วินาที, 58°ซ นาน 20 วินาที และ 72°ซ นาน 45 วินาที เป็น จำนวน 40 รอบ แล้วตามด้วย 72°ซ นาน 5 นาที PCR product ที่ได้จะมีขนาด 215 (bp) เมื่อ run ใน agarosegel (2.5%) electrophoresis และย้อมด้วย ethidium bromide ในการทำ PCR ทุกครั้งใช้ human beta globin เป็น positive control (PCR product มีขนาด 268 (bp) และ

ใช้ double distilledwater เป็น negative control (รูปที่ 3)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ใช้ Chi-square test เปรียบเทียบหาความแตกต่างของความถี่ของ genotypes ของ *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms ระหว่างกลุ่มผู้ป่วย HCC กับกลุ่มคนปกติ ในการศึกษานี้หาก *P* value มีค่าน้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และหาค่า odds ratio (OR) และ 95% confidence interval (CI) โดยใช้วิธี logistic regression เพื่อเปรียบเทียบความเสี่ยงของการเกิดโรค HCC ระหว่างกลุ่มผู้ที่มี Pro/Pro กับ Arg/Arg และ Arg/Pro และระหว่างกลุ่มผู้ที่มี *GSTM1-* กับ *GSTM1+*

ผลการศึกษา

ผลของการตรวจหา *P53* codon 72 polymorphism พบว่าโดยรวมความถี่ของ *P53* genotypes ระหว่างกลุ่มผู้ป่วย HCC กับกลุ่มคนปกติมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ $P<0.05$ โดยพบว่าผู้ที่มี genotype ชนิด Pro/Pro มีความเสี่ยงเพิ่มเป็น 1.9 เท่าในการเกิด HCC เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีชนิด Arg/Arg (OR=1.9; 95%CI=1.2-3.3) ในทำนองเดียวกันผลของการตรวจหา *GSTM1* polymorphism พบว่าความถี่ของ *GSTM1* genotypes ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยHCCกับกลุ่มคนปกติมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่$P<0.001$โดยพบว่าผู้ที่มี *GSTM1* มีความเสี่ยงเพิ่มเป็น 1.8 เท่าในการเกิด HCC เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มี *GSTM1+* (OR=1.8; 95%CI=1.3-2.5) (ตารางที่ 1)

รูปที่ 3 PCR product ของ *GSTM1* gene polymorphism หลังจากผ่านการทำ electrophoresis บน 2.5% agarose gel และย้อมด้วย ethidium bromide ผลที่ได้ มี 2 แบบ คือ *GSTM1+* (laneที่ 1: เกิดแถบของ DNA 2 แถบ คือ 215 bp และ 268 bp) และ *GSTM1-* (laneที่ 2: เกิดแถบของ DNA 1 แถบคือ 268 bp) สำหรับlaneที่ 3 คือ negative control (ใช้doubleditilled water) และ M คือ 100 bp DNA size marker

สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

HCC เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สร้างความเสียหายให้กับประเทศไทยปีละมากมาย และอัตราการเกิดของโรคมะเร็งนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี แต่อย่างไรก็ตามผู้ป่วย HCC ระยะเริ่มแรกนั้น การรักษาด้วยวิธีผ่าตัดสามารถรักษาโรคให้หายขาดได้ ดังนั้น HCC จึงนับได้ว่าเป็นโรคที่มีความสำคัญซึ่งควรได้รับความสนใจที่จะทำการป้องกัน และควบคุมอย่างจริงจัง การตรวจหาตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรมเพื่อใช้ตรวจคัดกรองหาผู้ป่วย HCC ให้พบโดยเร็วตั้งแต่ระยะเริ่มแรกในกลุ่มคนไทยที่มีความเสี่ยงสูงจึงเป็นเรื่องจำเป็นเร่งด่วนในปัจจุบัน การนำเอาความก้าวหน้าทางด้าน Molecular Biology ไปประยุกต์ใช้ให้เป็นประโยชน์ในทางการแพทย์นั้นเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยทำให้การป้องกันและควบคุม HCC มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น มีรายงานว่าการตรวจหาความหลากหลายทางพันธุกรรมในมนุษย์ด้วยวิธี PCR และ PCR-RFLP นั้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทำนาย และค้นหากลุ่มคนที่มีความเสี่ยงสูงของโรคมะเร็งที่กำลังจะกลายเป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งระยะเริ่มแรกในอนาคตได้ ดังนั้นการวิจัยเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมต่างๆ กับ HCC ในคนไทย จึงควรได้รับการพิจารณาให้การสนับสนุน และส่งเสริมอย่างจริงจังและต่อเนื่องเป็นอย่างยิ่ง

ในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถตรวจพบ *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms ในเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วย HCC และคนปกติได้ด้วยวิธี PCR-RFLP และ PCR ตามลำดับ (รูปที่ 1-3) และ

ตารางที่ 1 ความถี่ของ *P53* codon 72 และ *GSTM 1* genotypes ในคนปกติ และผู้ป่วย HCC

กลุ่ม	จำนวน	อายุ	***P53* genotypes (n)**			***GSTM1* genotypes (n)**	
	ตัวอย่าง	**เฉลี่ย**	**Arg/Arg**	**Arg/Pro**	**Pro/Pro**	***GSTM1*+**	***GSTM1*-**
คนปกติ	400	51	100	211	89	220	180
ผู้ป่วย HCC	200	55	32	112	56*	81	119**
				(OR=1.9, CI=1.2-3.3)[a]		(OR=1.8, CI=1.3-2.5)[b]	

*, *P*< 0.05;
**, *P*<0.001,
[a] เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม Arg/Arg และ Pro/Pro, [b] เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม *GSTM1*+ and *GSTM1*-

ยังชี้ให้เห็นว่าความถี่ของการตรวจพบ *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms ในกลุ่มผู้ป่วย HCC มีความแตกต่างจากกลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกด้วย ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเชื่อว่าการตรวจหา *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms น่าจะนำไป ประยุกต์ใช้เป็น biomarker ช่วยในการตรวจวินิจฉัยและค้นหาผู้ป่วย HCC ระยะเริ่มแรกในคนไทยได้ แต่อย่างไรก็ตามควรตระหนักว่าการใช้ *P53* codon 72 หรือ *GSTM1* polymorphism ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียวเพื่อการวินิจฉัย HCC นั้นไม่เพียงพอ เนื่องจาก *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms ยังสามารถตรวจพบในโรคมะเร็งอีกหลายชนิด[5-11] ดังนั้นควรใช้ผลการตรวจของ *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms ร่วมกับการตรวจสอบประวัติ ผลการตรวจร่างกาย ผลการตรวจทางพยาธิวิทยา และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ของผู้ป่วย เพื่อช่วยให้การวินิจฉัยโรค HCC มีความถูกต้อง และแม่นยำมากขึ้น

ผลจากการศึกษานี้พบว่าผู้ที่มี *P53* codon 72 polymorphism ชนิด Pro/Pro มีความเสี่ยงในการเกิด HCC เพิ่มขึ้นเป็น 1.9 เท่า เมื่อเทียบกับผู้ที่มีชนิด Arg/Arg (OR=1.9) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานอื่นที่ผ่านมา[44,45] ในขณะเดียว กันผู้ที่มี *GSTM1*- มีความเสี่ยงในการเกิด HCC เพิ่มขึ้นเป็น 1.8 เท่า เมื่อเทียบกับผู้ที่มี *GSTM1*+ (OR=1.8) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานอื่นที่ผ่านมาด้วยเช่นกัน[46] ดังนั้นจึงเชื่อว่าการตรวจหา *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms น่าจะนำไปประยุกต์ใช้เป็น genetic risk factor ช่วยในการค้นหาผู้ที่เป็น กลุ่มเสี่ยงของ HCC ในคนไทยได้

ในปัจจุบันการตรวจหา *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms ด้วยวิธี PCR-RFLP และ PCR ที่นิยมใช้กัน (conventional) ยังมีข้อจำกัดอยู่มาก เนื่องจากมีความยุ่งยากในการตรวจใช้เวลานาน (18 และ 3 ชั่วโมงตามลำดับ) และต้องใช้สารก่อมะเร็ง (ethidium bromide) ในการย้อมแถบ DNA บน agarose gel จึงทำให้วิธี PCR-RFLP และ PCR assay ที่ใช้กันนี้ไม่มีความปลอดภัยและไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจคัดกรอง ตัวอย่างที่มีจำนวนมากๆ (mass screening) ได้ ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจแบบ real-time PCR ซึ่งมีความยุ่งยากน้อยกว่า ใช้เวลาสั้นกว่า (1-2 ชั่วโมง) และไม่ต้องใช้สาร ethidium bromide ในการ ย้อมแถบ DNA รวมทั้งสามารถทำการตรวจได้รวดเร็วครั้งละหลายๆ ตัวอย่าง จึงเป็นวิธีที่มีความปลอดภัย และมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ทดแทนวิธีการตรวจด้วยวิธี PCR-RFLP และ PCR ในการตรวจคัดกรองตัวอย่างที่มีจำนวนมากๆ ได้เป็นอย่างดี ในขณะนี้งานชีววิทยามะเร็งกลุ่มงานวิจัยสถาบันมะเร็งแห่งชาติได้พัฒนาวิธีการตรวจแบบ real-time PCR เพื่อใช้ในการตรวจหา *GSTM1* polymorphism ได้ผลแล้ว[47] สำหรับการพัฒนาวิธีการตรวจแบบ real-time PCR ในการตรวจหา *P53* codon 72 gene polymorphism กำลังอยู่ระหว่างดำเนินการ

ผลของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms โดยเฉพาะกลุ่มที่มี genotype ชนิด Pro/Pro และ *GSTM1*- มีความสัมพันธ์กับการเสี่ยงต่อการเกิด HCC ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การตรวจหา *P53* codon 72 และ *GSTM1* polymorphisms นี้น่าจะนำไปใช้ประโยชน์เป็นตัวช่วยบ่งชี้ในการตรวจคัดกรองหากลุ่มเสี่ยงของ HCC ในประชากรไทยได้ การศึกษาโดยการเพิ่มขนาดตัวอย่างและติดตามกลุ่มเสี่ยงอย่างต่อเนื่องกำลังอยู่ระหว่างการดำเนินการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2550-2551

เอกสารอ้างอิง

1. กระทรวงสาธารณสุข. สถิติสาธารณสุข พ.ศ. 2549. กรุงเทพฯ: สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข; 2549.
2. Khuhaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P, editors. Cancer in Thailand. Vol IV, 1998-2000. Bangkok; 2007, p 132.
3. Attasara P, Buasom R, editors. Hospital-based Cancer Registry 2007. Bangkok, Thailand 2008.
4. Bartsch H, Hietanen E. The role of individual susceptibility in cancer burden related to environmental exposure. Environmental Health Perspect 1996; 104:569-77.
5. Nazar-Stewart V, Motulsky AG, Eaton DL, White E, Hornung SK, Leng ZT, et al. The glutathione S-transferase polymorphism as a marker for susceptibility to lung cancer. Cancer Res 1993; 53: 2313-8.
6. Cai L, Yu SZ and Zhang ZF. Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk gastric cancer: A case-control study. World J Gastroenterol 2001;7:506-9.
7. Gawronska-Szklarz B, Lubinski J, Kladny J, Kurzawski G, Bielicki D, Wojcicki M, et al. Polymorphism of GSTM1 gene in patients with colorectal cancer and colonic polyps. Exp Toxicol Pathol 1999; 51: 321-5.
8. Nazar-Stewart V, Vaughan TL, Burt RD, Chen C, Berwick M, Swanson GM, et al. Glutathione S-transferase M1 and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999; 8: 547-51.
9. Srivastava DS, Kumar A, Mittal B, Mittal RD. Polymorphism of GSTM1 and GSTT1 genes in bladder cancer: a study from North India. Arch Toxicol 2004; 78: 430-4.
10. Van der Hel OL, Peeters PH, Hein DW, Doll MA, Grobbee DE, Kromhout D, et al. NAT2 slow acetylation and GSTM1 null genotypes may increase postmenopausal breast cancer risk in long-term smoking women. Pharmacogenetics 2003; 13: 399-407.
11. Deng ZL, Wei YP, Ma Y. Polymorphism of glutathione S-transferase mu 1 and theta 1 genes and hepatocellular carcinoma in southern Guangxi, China. World J Gastroenterol 2005; 11: 272-4.
12. Beasley RP. Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. Cancer (Phila.) 1988; 61: 1942-56.
13. Sugimura T. Carcinogenicity of mutagenic heterocyclic amines formed during the cooking process. Mutat Res 1985; 150: 33-41.
14. Hecht SS. Approaches to cancer prevention based on an understanding of N-nitrosamine carcinogenesis. Proc Soc Exp Biol Med 1997; 216: 181-91.
15. Sjalander A, Birgander R, Hallmans G, Cajander S, Lenner P, Athlin L, Beckman G, Beckman L. p53 polymorphisms and haplotypes in breast cancer. Carcinogenesis (Lond.) 1996; 17: 1313-6.
16. Wang YC, Chen CY, Chen SK, Chang YY, Lin P. p53 codon 72 polymorphism in Taiwanese lung cancer patients: association with lung cancer susceptibility and prognosis. Clin Cancer Res 1999; 5: 129-34.
17. Tiwawech D, Srivatanakul P, Karaluk A, Ishida T. The p53 codon 72 polymorphism in Thai nasopharyngeal carcinoma. Cancer Lett 2003; 198: 69-75.
18. Lai KC, Chen WC, Tsai FJ, Li SY, Jeng LB. Arginine and proline alleles of the p53 gene are associated with different locations of gastric cancer. Hepatogastroenterology. 2005; 52: 944-8.
19. Palli D, Saieva C, Gemma S, Masala G, Gomez-Miquel MJ, Luzzi I, et al. GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms and gastric cancer in a high-risk italian population. Int J Cancer 2005; 115: 284-9.
20. Ates NA, Tamer L, Ates C, Ercan B, Elipek T, Ocal K, et al. Glutathione S-transferase M1, T1, P1 genotypes and risk for development of colorectal cancer. Biochem Genet 2005; 43: 149-63.
21. Zhu MH, Chen XH, Zhou LF. Association of genetic

polymorphisms in glutathione S-transferases M1 with hepatitis beta-related hepatocellular carcinoma. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2005; 34: 126-30.

22. Deng ZL, Wei YP, Ma Y. Polymorphism of glutathione S-transferase mu 1 and theta 1 genes and hepatocellular carcinoma in southern Guangxi, China. World J Gastroenterol 2005; 11: 272-4.
23. Zhu ZZ, Cong WM, Liu SF, Dong H, Zhu GS, Wu MC. Homozygosity for Pro of p53 Arg72Pro as a potential risk factor for hepatocellular carcinoma in Chinese population. World J Gastroenterol 2005; 11: 289-92.
24. Matlashewski GJ, Tuck S, Pim D, Lamb P, Schneider J, Crawford LV. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53. Mol Cell Biol 1987;7:961-3.
25. Miller C, Mohandas T, Woff D, Prokocimer M, Rotter V and Koeffer HP. Human p53 gene localized to short arm of chromosome 17. Nature 1986, 319:783-4.
26. Ara S, Lee PS, Hansen MF, Saya H. Codon 72 polymorphism of the TP53 gene. Nucleic Acids Res 1990; 18: 4961.
27. de la Calle-Martin O, Fabregat V, Romero M, Soler J, Vives J, Yague J. AccII polymorphism of the p53 gene. Nucleic Acids Res 1990; 18: 4963.
28. Thomas M, Kalita A, Labrecque S, Pim D, Banks L and Matlashewski G. Two polymorphic variants of wild-type human p53 differ biochemically and biologically. Mol Cell Biol 1999;19:1092-100.
29. Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus- associated cancer. Nature 1998; 393: 229
30. Papadakis EN, Dokianakis DN, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism as a risk factor in the development of breast cancer. Mol Cell Biol Res Commun. 2000; 3: 389-92.
31. Chen WC, Tsai FJ, Wu JY, Wu HC, Lu HF, Li CW. Distributions of p53 codon 72 polymorphism in bladder cancer--proline form is prominent in invasive tumor. Urol Res 2000; 28: 293-6.
32. Fan R, Wu MT, Miller D, Wain JC, Kelsey KT, Wiencke JK, Christiani DC. The p53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000; 9: 1037-42.
33. Wang YC, Chen CY, Chen SK, Chang YY, Lin P. p53 codon 72 polymorphism in Taiwanese lung cancer patients: association with lung cancer susceptibility and prognosis. Clin Cancer Res 1999; 5: 129-34.
34. Hayes JD. and Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. Crit Rev Biochem Mol Biol 1995; 30: 445-600.
35. Strange RC, Jones PW, Fryer AA. Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology. Toxicol Lett 2000; 112/113: 357-63.
36. Gao Y, Zhang Q. Polymorphisms of the GSTM1 and CYP2D6 genes associated with susceptibility to lung cancer in Chinese. Mutat Res 1999; 444: 441-9.
37. Kiyohara C, Shirakawa T, Hopkin JM. Genetic polymorphism of enzymes involved in xenobiotic metabolism and the risk of lung cancer. Environ Health Prevent Med 2002; 7: 47-59.
38. Ford JG, Li Y, O'Sullivan MM, Demopoulos R, Garte S, Taioli E, et al. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and lung cancer risk in African-Americans. Carcinogenesis 2000; 21: 1971-5.
39. Seidegard J, Pero RW, Miller DG and Beattie EJ. A glutathione transferase in human leukocytes as a marker for the susceptibility to lung cancer. Carcinogenesis 1986; 7: 751-3.
40. Seidegard J, Pero RW, Markowitz MM, Roush G, Miller DG, Beattie EJ, et al. Isoenzyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow-up study. Carcinogenesis 1990; 11: 33-6.
41. Hayashi SI, Watanabe J and Kawajiri K. High susceptibility to lung cancer analyzed in terms of combined genotypes of P450IA1 and mu-class glutathione S-transferase genes. Jap J Cancer Res 1992; 83: 866-70.
42. Nazar-Stewart V, Motulsky AG, Eaton DL, White E, Hornung SK, Leng ZT, et al. The glutathione S-transferase polymorphism as a marker for susceptibility to lung cancer. Cancer Res 1993; 53: 2313-8.
43. Kihara M, Kihara M and Noda K. Lung cancer risk of GSTM1 null genotype is dependent on the extent of tobacco smoke exposure. Carcinogenesis 1994; 15: 415-8.
44. Zhu ZZ, Cong WM, Liu SF, Dong H, Zhu GS, Wu MC. Homozygosity for Pro of p53 Arg72Pro as a potential risk factor for hepatocellular carcinoma in Chinese population. World J Gastroenterol 2005; 11: 289-92.
45. Ezzikouri S, El Feydi AE, Chafik A, Benazzouz M, El

Kihal L, Afifi R, Hassar M, et al. The Pro variant of the p53 codon 72 polymorphism is associated with hepatocellular carcinoma in Moroccan population. Hepatol Res 2007; 37: 748-54.
46. Deng ZL, Wei YP, Ma Y. Polymorphism of glutathione S-transferase mu 1 and theta 1 genes and hepatocellular carcinoma in southern Guangxi, China. World J Gastroenterol 2005; 11: 272-4.
47. Tiwawech D, Chindavijak S, Karalak A, and Ishida T. Real-Time PCR assay for rapid detection of GSTM1 polymorphism in nasopharyngeal carcinoma patients. Asian Pacific J Cancer Prev 2008; 9: 233-8.

❖ ❖ ❖

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 29 ฉบับที่ 1
มกราคม - มีนาคม 2552

การจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด

สุจิรา ฟุ้งเฟื่อง

บทคัดย่อ การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด คือ การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดเข้าไปใต้เนื้อเยื่อรอบๆ บริเวณที่บริหารยา ทำให้ผู้ป่วยมีอาการเจ็บหรือแสบร้อนบริเวณที่ฉีดหรือบริหารยา และอาจรุนแรงจนเกิดการตายของเนื้อเยื่อได้ พยาบาลที่รับผิดชอบการบริหารยาเคมีจึงต้องมีความรู้และทักษะที่เหมาะสมเกี่ยวกับยาเคมีบำบัด และการบริหารยา รวมทั้งติดตามการเปลี่ยนแปลงขององค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากหลักฐานเชิงประจักษ์ เพื่อนำมาพัฒนาปรับปรุงคุณภาพการดูแลให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น บทความนี้ได้กล่าวถึง ความหมาย ปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อที่พบจากการรั่วไหลของยาเคมีบำบัด อุบัติการณ์ อาการและอาการแสดง ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิด การป้องกัน และการดูแลจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด *(วารสารโรคมะเร็ง 2552;29:35-43.)*

คำสำคัญ : Extravasation of Cytotoxic Drugs การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด

บทนำ

การให้ยาเคมีบำบัดทางเส้นเลือดดำทั้งการให้ฉีดหยดต่อเนื่อง (continuous infusion) และการฉีดทางเส้นเลือดดำ (bolus injection) พบมากในแต่ละวันของหน่วยเคมีบำบัดแผนกผู้ป่วยนอก และหอผู้ป่วยในที่รับผิดชอบการบริหารยาเคมี เหตุการณ์ที่ไม่พึงประสงค์หนึ่งที่พบคือ การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด แม้เป็นส่วนน้อยประมาณร้อยละ 0.1-6 ของการให้ทางหลอดเลือดดำส่วนปลาย และร้อยละ 0.3-4.7ของการให้ทางหลอดเลือดดำใหญ่ [1-3] แต่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อน และมีผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย[4,5] การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดจึงเป็นปัญหาที่เฉพาะและต้องการการแก้ไขหรือการจัดการที่รีบด่วน[6] โดยเฉพาะยาเคมีบำบัด ที่อยู่ในกลุ่มที่ทำลายเนื้อเยื่อ (vesicant) เมื่อมีการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดไปรอบๆ เนื้อเยื่อบริเวณใต้ผิวหนังระหว่างการบริหารยา จะเป็นสาเหตุ ทำให้เกิดตุ่มพอง แผล และอาจรุนแรงจนถึงมีการตาย ของเนื้อเยื่อ (tissue necrosis)[7] ดังนั้นพยาบาลที่รับผิดชอบการบริหารยาเคมีจึงต้องมีความรู้และทักษะที่เหมาะสมเกี่ยวกับการป้องกัน และการจัดการเมื่อมีการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดเกิดขึ้นกับผู้ป่วย รวม

กลุ่มงานวิชาการพยาบาล สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ทั้งควรกำหนดแนวทางการปฏิบัติการพยาบาล โดยการทบทวนองค์ความรู้ แนวทางปฏิบัติในการจัดการดูแลการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดในปัจจุบัน กรณีศึกษา งานวิจัยหรือข้อมูลที่มีการทบทวนอย่างเป็นระบบ เพื่อนำมาปรับปรุงการดูแลผู้ป่วยให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ความหมาย

การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด (Extravasation of cytotoxic drugs)

คือ การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดเข้าไปใต้เนื้อเยื่อรอบๆ บริเวณที่บริหารยา ทำให้ผู้ป่วย มีอาการเจ็บหรือแสบร้อนบริเวณที่ฉีดและอาจรุนแรงจนเกิดการตายของเนื้อเยื่อได้ หากให้ยาโดยวิธีการฉีดเข้าเส้นเลือดดำ (bolus injection) จะเกิดแรงต้านสูงและหากให้ยาโดยการผสมกับสารน้ำหรือฉีด หยดร่วมกับสารน้ำโดยเปิดสารน้ำเร็ว (free flow) ยากับสารน้ำจะหยดช้ากว่าเดิม อาการของการรั่วไหลของยาออกนอกเส้นเลือด (extravasation) ส่วนใหญ่จะแสดงให้เห็นใน 2-7 วัน หลังมีการรั่วไหลของยา[8, 9]

ชนิดของยาเคมีบำบัด แบ่งตามการทำลายเนื้อเยื่อเป็น 3 กลุ่ม (ตารางที่1) ดังนี้[9]

1. Non Vesicant จะไม่ทำลายเนื้อเยื่อ

2. Irritant ทำให้เกิดอาการระคายเคืองในบริเวณที่ยารั่วมีอาการปวดบริเวณที่ฉีดยา มีอาการแสบร้อนและ/หรือมีการอักเสบของหลอดเลือดดำส่วนปลาย แต่ไม่ทำให้เนื้อเยื่อตาย (necrosis)

3. Vesicant ทำให้มีการระคายเคืองในเส้นเลือดที่มีการบริหารยาแล้วมีการรั่วของยาออกนอกเส้นเลือดมีการอักเสบของเนื้อเยื่อ เนื้อเยื่อตาย (necrosis)

จากการรายงานยังมีความหมายของ flare reaction คือ ปฏิกิริยาที่เกิดจากการได้รับยา Doxorubicin พบว่าเกิดได้ร้อยละ 3-6 ของผู้ป่วยที่ได้รับยา ผลที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดรอยแดงตลอดความยาวของเส้นเลือดดำที่บริหารยา หรือมีลักษณะคล้ายรอยแดงเป็นกลุ่ม อาจจะประกอบด้วย อาการบวม แห้งเป็นขุย และยังสามารถดูดเลือดกลับได้ดี แต่ผู้ป่วยอาจมีอาการแสบคัน หรือปวดได้ ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นชั่วคราวนาน 30- 90 นาที โดยร้อยละ 86 สามารถจัดการได้ภายใน 45 นาที[8]

ตารางที่ 1 การจัดกลุ่มของยาเคมีบำบัดตามศักยภาพการทำลายเนื้อเยื่อ[3, 10, 11]

ยาเคมีบำบัดที่ไม่ทำลายเนื้อเยื่อ (Non-vesicant Agents)	ยาเคมีบำบัดที่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อ (Irritant Agents)	ยาเคมีบำบัดที่ทำลายเนื้อเยื่อ (Vesicant Agents)
Aldesleukin (interleukin-2)	Carmustine	Cisplatin >20 ml of 0.5 mg/ml หรือ(>0.4 mg/ml)
Asparaginase	Cisplatin (<0.4 mg/ml)	Dactinomycin
Bleomycin	Dacarbazine	Daunorubicin
Cladribine	Daunorubicin	Doxorubicin
Cyclophosphamide	Daunorubicin liposomal	Epirubicin
Cytarabine	Docetaxel	Idarubicin
Fludarabine	Doxorubicin liposomal	Mechlorethamine
Gemcitabine	Etoposide	Melphalan
Gemtuzumab ozogamicin	Floxuridine	Mitomycin
Ifosfamide	Irinotecan	Paclitaxel
Methotrexate	Mitoxantrone*	Vinblastine
Pentostatin	Oxaliplatin**	Vincristine
Rituximab	Topotecan	Vindesine
Thiotepa		
Trastuzumab		

* Mitoxantrone อาจจะจัดอยู่ในกลุ่ม vesicant ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น,ในแนวปฏิบัติของสมาคมพยาบาลเคมีบำบัดจัด Mitoxantrone อยู่ในกลุ่ม vesicant

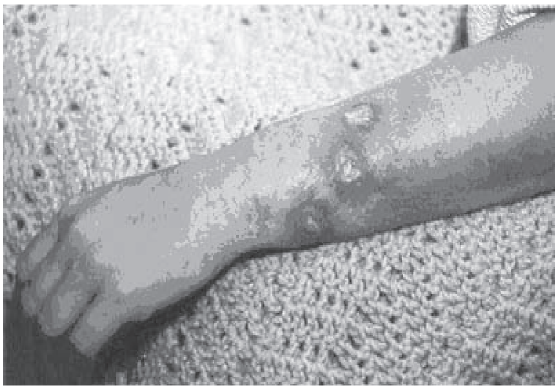
* * Oxaliplatin มีรายงานว่าทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ (vesicant)

อุบัติการณ์

อุบัติการณ์ของการเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดพบประมาณร้อยละ 0.1-6 ของการให้ทางหลอดเลือดดำส่วนปลาย และร้อยละ 0.3-4.7 ของการให้ทางหลอดเลือดดำใหญ่[1,2] และจากรายงานอุบัติการณ์ของการเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดของการใช้ยา Docetaxel ในผู้ป่วยมะเร็งปอดระยะลุกลามพบร้อยละ 2.1 และในยาเคมีบำบัดบางตัวที่ให้แบบผสมกับสารน้ำ โดยใช้มากกว่าชั่วโมงหรือวันจะเพิ่มปัจจัยเสี่ยงของการเกิด extravasation ถึงร้อยละ 11[8]

อาการและอาการแสดง

อาการเริ่มแรกของการเกิด extravasation ส่วนใหญ่ผู้ป่วยจะบอกถึงความรู้สึกเปลี่ยนแปลงบริเวณที่ฉีดยาว่ามีอาการแสบ ตึงหรือปวด ผู้ป่วยแต่ละรายอาจจะมีอาการแตกต่างกัน ถ้าสังเกตผิวหนังบริเวณที่ฉีดยาจะพบว่าเกิดรอยแดงเล็กน้อยหรือสัมผัสผิวหนังจะมีอุณหภูมิสูงขึ้นหรือร้อนขึ้น และระหว่างการบริหารยาจะพบว่ามีแรงต้านหรือทดสอบการย้อนกลับของเลือดจะพบว่าเลือดไม่ย้อนกลับมาในหลอดฉีดยา (syringe) รวมทั้งยากับสารน้ำจะหยดช้ากว่าเดิมหรือไม่หยด และการเกิด extravasation จะทำให้ผิวหนังเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงแห้งลอกเป็นขุย และมีตุ่มพองเกิดขึ้น (รูปที่1) อาจตามมาด้วยความรู้สึกปวดไม่สุขสบาย ถ้าไม่ได้รับการแก้ไขอาจพัฒนาให้เกิดแผลและเนื้อตายได้ (รูปที่ 2) รวมทั้งถ้ามีการทำลายเนื้อเยื่อที่รุนแรงอาจจะสูญเสียการฟื้นหายของเนื้อเยื่อ (healing) และทำให้สูญเสียการไหลเวียนของเลือดบริเวณนั้น (เส้นเลือดแดง, เส้นเลือดดำและเส้นเลือดฝอย) ซึ่งจะมีผลต่อการทำหน้าที่ของแขนหรือขาข้างที่ให้ยา[11,]



รูปที่ 1 แสดงตัวอย่างของแผลที่เกิดจากการรั่วไหลของยาออกนอกเส้นเลือดของยา Mitomycin C โดยปรากฏหลังการ บริหารยาหลายสัปดาห์ และผู้ป่วยต้องได้รับการจัดการ ด้วยการผ่าตัด [13*]

รูปที่ 2 แสดงตัวอย่างการเกิดการรั่วไหลของยากลุ่ม vesicant ออกนอกเส้นเลือด และพัฒนาไปอยู่ในช่วงระยะการเกิด เนื้อตาย (necrotic-phase)[14]

ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด[4,8,15-18]

ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด ประกอบด้วยลักษณะของผู้ป่วยลักษณะของพยาบาลผู้บริหารยา ความพร้อมของอุปกรณ์และวิธีการบริหารยาและชนิดของยาเคมีบำบัด

ลักษณะของผู้ป่วย

ผู้ป่วยที่เส้นเลือดดำมีขนาดเล็กและเปราะบาง เส้นเลือดแข็ง ผู้สูงอายุ คนอ้วน การมีโรคร่วม เช่น โรคเบาหวานหรือกลุ่มโรคที่เกี่ยวข้องกับการไหลเวียนของเลือด และผู้ป่วยที่สูญเสียการรับความรู้สึกทำให้ผู้ป่วยอาจจะไม่สามารถบอกถึงความผิดปกติหรือบอกได้ช้า และในผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการให้ยากลุ่มสเตียรอยด์ควรได้

รับการติดตามเฝ้าระวังอย่างใกล้ชิด เพราะการตอบสนองจากการอักเสบอาจจะถูกกดทำให้การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดสังเกตได้ยาก

ลักษณะของพยาบาลผู้บริหารยา

การขาดความรู้และทักษะในการบริหารยาเคมีบำบัดของพยาบาลผู้บริหารยาหรือความไม่คุ้นเคยในการใช้และจัดการกับอุปกรณ์ที่ใส่บริเวณหลอดเลือดดำส่วนกลางและส่วนปลาย การขาดความตระหนักและความสนใจสังเกตอาการผิดปกติระหว่างการบริหารยาเคมีบำบัด

อุปกรณ์ การใส่อุปกรณ์ และวิธีการบริหารยา

อุปกรณ์หรือเข็มที่ใส่บริเวณเส้นเลือดดำส่วนปลาย (peripheral IV access) การใช้เข็มที่เป็นโลหะจะทำให้เกิด extravasation มากกว่าเข็มที่เป็นพลาสติก เนื่องจากไม่มีความยืดหยุ่นระหว่างการแทง และขณะอยู่ในเส้นเลือด ทำให้เส้นเลือดเกิดการบาดเจ็บมากกว่า ขนาดของเข็มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดใหญ่จะทำให้เส้นเลือดเกิดการบาดเจ็บมากกว่าเข็มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาดเล็ก ขนาดเหมาะสมที่แนะนำคือเบอร์ 23 หรือ 21 (ในสถาบันมะเร็งแห่งชาติเลือกใช้ขนาด 24 ถึง 22 โดยพิจารณาจากขนาดของเส้นเลือด วิธีการบริหารยา โดยเฉพาะยาที่จัดอยู่ในกลุ่ม vesicant แนะนำให้บริหารยา โดยวิธีการฉีดเข้าทางเส้นเลือดร่วมกับการเปิดสารน้ำเร็ว (free flow) ไม่แนะนำให้ยาโดยฉีดหยดต่อเนื่อง (continuous infusion) ทางเส้นเลือดดำส่วนปลาย การเลือกตำแหน่งที่แทงเส้นเลือดดำที่ไม่เหมาะสม เช่น บริเวณหลังมือหรือเท้า ข้อมือข้อพับศอก หรือบริเวณที่มีการไหลเวียนไม่ดี เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีโครงสร้างของเนื้อเยื่อบางที่จะป้องกันเส้นประสาท เอ็น และมีการเคลื่อนไหว ทำให้เข็มเลื่อนจากตำแหน่ง ทำให้ยารั่วออกนอกเส้นเลือดได้ง่าย รวมทั้งการใช้เส้นเดิมในการบริหารยา(ใช้งานมานานกว่า 48 ชั่วโมง)

สำหรับอุปกรณ์หรือเข็มที่ใส่บริเวณเส้นเลือดดำส่วนกลาง (central venous catheter IV access) ความไม่ปลอดภัยของ catheter or port เช่น แตกหักหรือทำให้เกิด thrombinในหลอดเลือด เข็มที่ใช้แทง port มีความยาวไม่เหมาะสมกับตัว port สั้นเกินไป อาจทำให้เกิดการเลื่อนจากตำแหน่งที่เหมาะสม การใช้ syringe ขนาดเล็ก(น้อยกว่า10 ซีซี) ในการสวนล้าง (flush) เข้าทาง port ทำให้แรงดันสูงขึ้น ซึ่งอาจทำให้สายสวนแตกได้

ชนิดของยา

ปัจจัยของยาเคมีบำบัดที่มีส่วนสัมพันธ์ที่ทำให้เกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด ประกอบด้วยความสามารถในการทำลายเนื้อเยื่อยาที่มีความเข้มข้นสูง ยาเคมีบำบัดที่จัดอยู่ในกลุ่ม vesicant ปริมาณของยาที่รั่วไหลออกนอกเส้นเลือด ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความสามารถที่ทำให้เนื้อเยื่อขาดเลือดไปเลี้ยง และการจับโดยตรงของยากับยีน deoxyribonucleic acid (DNA -binding) ซึ่งพบว่ายาเคมี ในกลุ่ม DNA-binding (ตารางที่2) เป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดที่รุนแรงมากขึ้น และทำให้แผลที่เกิดขึ้นมีการฟื้นหายช้า นอกจากนั้นยังมีรายงานพบว่า Oxaliplatin จะทำลายเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติมากกว่า Cisplatin เพราะจับกับโมเลกุลในเนื้อเยื่อแน่นกว่า [19]

ตารางที่ 2 ยาเคมีบำบัดที่จัดอยู่ในกลุ่ม DNA -binding[4]

กลุ่ม Anthracyclines	กลุ่ม Antitumor antibiotics	กลุ่ม Alkylating agent
Doxorubicin	Mitomycin	Mechlorethamine
Daunorubicin		Platinum analogs เช่น oxaliplatin
Idarubicin		cisplatin
Mitoxantrone		

การป้องกัน

สิ่งสำคัญที่สุดของการดูแลการเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดคือ "การป้องกัน" ซึ่งการป้องกันประกอบด้วยปัจจัยหลายด้านได้แก่[3, 5, 8]

1. ในหน่วยที่มีการให้ยาเคมีบำบัดควรมีคู่มือในการบริหารยาเคมีบำบัดที่บอกถึงแนวปฏิบัติและกระบวนการในการประเมินและการดูแลเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด มีการเตรียมชุดในการดูแลเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด (extravasation kit) ให้เหมาะสมกับการรักษา และสามารถหยิบใช้ได้สะดวก โดยเฉพาะเมื่อให้ยาในกลุ่ม vesicant extravasation kit ประกอบด้วย ยา และอุปกรณ์ในการจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด ได้แก่ เข็มฉีดยาเบอร์ 25, ขนาด 3 และ 10 ซีซี ยาที่ใช้จัดเตรียมให้เหมาะสมกับการรักษาและตามนโยบายของโรงพยาบาล รวมทั้งควรมีแบบฟอร์มในการรายงาน เมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดแก่บุคคล หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น เภสัชกร แพทย์เจ้าของไข้ และ หน่วยความเสี่ยงของโรงพยาบาล เป็นต้น

2. ผู้ที่บริหารยาเคมีบำบัดควรมีความรู้ความชำนาญ และผ่านการอบรมเกี่ยวกับความรู้ที่เกี่ยวกับยาเคมีบำบัด สาเหตุ การป้องกันและกระบวนการในการดูแลเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด

3. ให้ความรู้เบื้องต้นแก่ผู้ป่วยในเรื่องอาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นการแจ้งความผิดปกติที่เกิดขึ้น เช่น ระคายเคือง ปวดแสบ หรือบวมบริเวณที่บริหารยา หรือในกรณีที่บริหารยาทางเส้นเลือดดำส่วนกลาง (central venous catheter) อาจจะมีอาการปวดบริเวณคอข้างที่แทง port หรือด้านตรงข้าม และบริเวณไหล่ บางครั้งอาจเป็นสาเหตุให้มีอาการเจ็บหน้าอก หายใจเร็ว มีไข้ หรือมีอาการเกี่ยวกับทางเดินหายใจ เช่น ไอ หายใจลำบากได้ และไม่ควรมีกิจกรรมที่เคลื่อนไหวออกนอกบริเวณที่บริหารยา โดยเฉพาะเมื่อให้ยาเคมีบำบัดที่จัดอยู่ในกลุ่ม vesicant

4. เมื่อผู้ป่วยบอกถึงอาการหรือความรู้สึกปวดไม่สุขสบายพยาบาลควรรีบประเมิน หรือจัดการทันที แม้ว่าการเกิดการหดรัดตัวของเส้นเลือด (venous spasm) จะเริ่มเกิดขึ้นได้เมื่อเริ่มการบริหารโดยการฉีดทางเส้นเลือดดำ (bolus injection) ผู้ป่วยจะมีความรู้สึกปวด ซึ่งจะเป็นการยากในการแยกความแตกต่างกับการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด อย่างไรก็ตามพบว่าตามปกติความรู้สึกปวดที่สัมพันธ์กับการหดรัดตัวของเส้นเลือดจะเกิดแค่ในช่วงไม่เกินนาที

5. ตามคำแนะนำจากวรรณกรรมพบว่าในกรณีที่ให้ยาเคมีบำบัดที่จัดอยู่ในกลุ่ม vesicant ร่วมกันควรที่จะบริหารยาทางหลอดเลือดดำส่วนกลาง (central venous catheter)

6. ยาเคมีบำบัดไม่ควรให้ในเส้นเลือดที่ผ่านการใช้งานมานานกว่า 48 ชั่วโมง

7. การบริหารยาเคมีบำบัดที่จัดอยู่ในกลุ่ม vesicant ควรปฏิบัติตามคำแนะนำคือ เลือกเส้นเลือดที่เหมาะสม โดยเฉพาะยาที่ให้นานมากกว่า 1 ชั่วโมง ควรจะแทงเส้นใหม่ก่อนการบริหารยา และบริหารยาตามเวลาที่กำหนดรวมทั้งต้องเจือจางยา (dilution) ให้ถูกต้อง

8. ควรให้ยาเคมีบำบัดที่เส้นเลือดดำ ขนาดใหญ่ และหลีกเลี่ยงการใช้เส้นเลือดที่บริเวณหลังมือ หรือบริเวณที่มีการเคลื่อนไหวมาก เช่น บริเวณข้อต่อ ข้อมือ ข้อศอก และเป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อปกคลุมอยู่น้อย และใกล้เอ็น (tendon)

9. ยาเคมีบำบัดที่บริหารยาโดยการฉีดทางเส้นเลือดดำ (bolus injection) ควรแทงเส้นเลือดที่บริเวณปลายแขน (forearm) ไม่ควรให้ที่มือ เนื่องจากในกรณีที่เกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดไปยังเนื้อเยื่อและกล้ามเนื้อ การแทงเส้นเลือดที่บริเวณปลายแขน (forearm) จะป้องกันการลุกลามไปที่เอ็นเส้นประสาทและกระดูก

10. ถ้าแทงเส้นเลือดครั้งแรกล้มเหลว ครั้งต่อไปควรเลื่อนขึ้นหรือเปลี่ยนจากตำแหน่งเดิม หรือเปลี่ยนไปแทงที่แขน ขาข้างอื่นแทน (แต่เส้นเลือดที่ ขาไม่ควรให้เมื่อบริหารยาเคมีบำบัดที่จัดอยู่ในกลุ่ม vesicant)

11. การใช้เทปยึด เข็มและสาย IV เพื่อป้องกันการเคลื่อนไว้ ควรจะคุมบริเวณที่แทงและใช้เทปใสเพื่อให้สังเกตเห็นความผิดปกติได้ง่าย

12. ก่อนให้ยาเคมีบำบัดโดยเฉพาะยาที่จัด อยู่ในกลุ่ม vesicant ควรมีการให้สารน้ำเปิดแบบ free flow ก่อนอย่างน้อย 5 นาที และหลังจากยาหมด flush สายด้วยสารน้ำที่ให้อยู่

13. ตรวจสอบการไหลกลับของเลือดก่อนให้ยา โดยตรวจสอบด้วยการดูดเลือดกลับเข้ามาใน syringe เป็นระยะ และในยาเคมีบำบัดที่บริหารยาโดยการฉีดทางเส้นเลือดดำ (bolus injection) ควรตรวจสอบทุกๆ 3 ซีซีของการให้ยา

14. ถ้ากรณีที่ให้ยาเคมีบำบัดมากกว่า 1 ชนิด ควรให้ยาที่ระคายเคืองหรือมีผลต่อเส้นเลือด หรือ vesicant drug ก่อนเพราะเส้นเลือดยังมีความปกติมากที่สุด และยังเกิดการระคายเคืองน้อยที่สุด

15. การฉีดยาเคมีบำบัดเข้าไปที่ injection port ควร push ช้าๆ เพื่อให้ยาเจือจางจากสารน้ำที่เปิดแบบ free flow อยู่

16. การดึงเข็มออกหลังจากสิ้นสุดการให้ยา ควรยกแขนหรือขาข้างที่ให้ยานั้นขึ้น กดเบาๆ เหนือบริเวณที่ฉีดยา ประมาณ 3- 5 นาที

การดูแลและการจัดการเมื่อการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด

แนวปฏิบัติของ European Oncology Nursing Society extravasation[5] แนะนำการจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดโดยเริ่มจาก

1. หยุดการบริหารยาทันที

2. ดูดยาที่ค้างในเข็มที่ใส่บริเวณเส้นเลือดดำส่วนปลาย หรือเข็มที่ใส่บริเวณเส้นเลือดดำส่วนกลางออกโดยใช้ syringe 10 ซีซี (ตามจำนวนที่ยาเข้าไปหรือออกเท่าที่ดูดออกได้)

3. วัดและทำเครื่องหมายรอบบริเวณที่เกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด

4. ถ่ายรูปบริเวณที่เกิดการรั่วไหลของยาออกนอกเส้นเลือดและจดบันทึกวันที่ถ่ายรูปไว้

5. ถอนเข็มที่ใส่บริเวณเส้นเลือดดำส่วนปลาย หรือเข็มที่ใส่บริเวณหลอดเลือดดำส่วนกลางออก

6. ประคบบริเวณที่เกิดขึ้นด้วยความเย็น หรือความร้อนปานกลาง (อุ่น) ตามความเหมาะสมของชนิดยาเคมีบำบัดที่รั่ว โดยในกลุ่มยา vesicant ของกลุ่ม Anthracyclines และ antitumor antibiotics ใช้การประคบด้วยความเย็น (ice packs) 20 นาทีวันละ 4 ครั้ง เป็นเวลา 2 วัน เพื่อจำกัดการแพร่กระจายของการทำลายเนื้อเยื่อ ความเย็นจะช่วยชะลอการทำลายเซลล์จากยาเคมีบำบัด และลดการบาดเจ็บ และ กลุ่ม Vinca alkaloid ประคบด้วยความร้อน (ปานกลาง)หรืออุ่น 20 นาทีวันละ 4 ครั้ง หรือ 15 นาที ทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน เพื่อเพิ่มการไหลเวียนของเลือด และเพิ่มการดูดซึมยาจากเนื้อเยื่อไต

7. รายงานแพทย์เกี่ยวกับการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด และการจัดการที่ให้

8. การเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดกลุ่ม Anthracyclines ยา Mitomycin C และ Actinomycin D ออกนอกเส้นเลือด การเตรียมยาแก้พิษ (antidotes) คือ dimethylsulfoxide (DMSO) 99% เพื่อทาบางๆ รอบบริเวณที่เกิดการรั่วไหลของยาออกนอกเส้นเลือดรอให้แห้ง ทาทุกๆ 8 ชั่วโมงเป็นเวลา 7 วัน (การทาควรทำความสะอาดไม่ให้ผิวหนังบริเวณนั้นเกิดการอุดตัน) จากรายงานพบว่า DMSO เป็นตัวขับอนุมูลอิสระจึงไม่ควรให้ร่วมกับ corticosteroids

9. ให้ยาแก้ปวดถ้าผู้ป่วยมีอาการปวด เนื่องจากถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของการบาดเจ็บจนเกิดตุ่มพองแผล หรือเนื้อตายสิ่งที่ตามมาคือ อาการปวด ซึ่งการประคบบริเวณที่เกิดด้วยความเย็น หรือความร้อนไม่น่าจะบรรเทาให้รู้สึกสุขสบายได้ ดังนั้นการให้ยาระงับปวดชนิด nonopioids น่าจะมีประโยชน์บ้าง แต่จากรายงานพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีระดับของความปวดปานกลางถึงรุนแรงจึงต้องการยาระงับปวดชนิด opioid จึงจะควบคุมอาการปวดได้เพียงพอ

10. การบันทึกเหตุการณ์การเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด หัวข้อในการบันทึกประกอบด้วย

10.1 ชื่อ-สกุล และเลขประจำตัวผู้ป่วย(HN)

10.2 สถานที่ที่บริหารยา

10.3 วัน และเวลาที่เกิดหรือพบ extravasation

10.4 ชื่อยาที่ทำให้เกิด extravasation

10.5 อาการและอาการแสดง (เช่น สีของผิว

หนัง ขนาดของบริเวณที่เกิด extravasation เป็นต้น

10.6 รายละเอียดของการแทงเส้นเลือดหรือบริหารยาเคมี เช่น ขนาดของเข็ม ตำแหน่งที่แทงเส้นเลือด จำนวนครั้งที่แทงเข็ม วิธีการบริหารยา (ฉีดทางเส้นเลือดดำ โดยตรงหรือฉีดหยดร่วมกับสารน้ำ) ผลหลังจากบริหารยา การตรวจสอบการไหลกลับของเลือด

10.7 การจัดการเมื่อเกิด extravasation วันเวลา ขั้นตอนที่จัดการ ยาที่ให้ การรายงาน เช่น ผลของดูดกลับยา การประคบ ยาแก้พิษ (antidote) การส่งต่อ (ถ้ามี)

10.8 สิ่งที่ผู้ป่วยบอก

10.9 ข้อมูลคำแนะนำที่ให้กับผู้ป่วย

10.10 การติดตามการจัดการที่ให้ทั้งผู้ป่วย พยาบาล และแพทย์ ฯลฯ

10.11 ชื่อของบุคลากรที่เกี่ยวข้องทั้งหมดในการบริหารยา และการจัดการที่ให้

10.12 ชื่อของผู้บันทึก

และจากรายงานอื่นๆ พบว่าการยกแขนหรือขาข้างที่เกิด extravasation ขึ้น จะช่วยลดอาการบวมได้ และควรหลีกเลี่ยงการกด บริเวณที่เกิด extravasations[20] ยาในกลุ่ม vinca alkaloid พบว่าการประคบด้วยความร้อนปานกลางร่วมกับการใช้ antidote คือ hyaluronidase 150-1500 units เจือจางด้วย water injection หรือ normal saline 1 ซีซี ฉีดพบว่าได้ผลดี[21] และยาในกลุ่ม Anthracyclines พบว่าการใช้ antidote คือ dexrazoxane 1000 mg/m^2 ทางหลอดเลือดดำที่แขนด้านตรงข้ามกับการเกิด extravasation โดยเริ่มไม่เกิน 6 ชั่วโมงหลังจากเกิด extravasation อีก 1,000 mg/m^2 ใน 24 ชั่วโมงถัดมา และตามด้วย 500 mg/m^2 ใน 48 ชั่วโมงต่อมารวม 3 ครั้ง

ตารางที่ 3 แสดงถึงการจัดการการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดของยาในกลุ่ม irritant or vesicant [3,4,8,11,18,23]

ยา	ชนิดของยาเคมีบำบัด	อุณหภูมิที่ใช้ในการประคบ	ยาแก้พิษ (antidote) ที่แนะนำ
Cisplatin	Irritant (< 20 ml, 0.5 mg/ml) Vesicant(> 20ml, 0.5 mg/ml)	เย็น	Sodium thiosulfate 0.16 M
Dactinomycin	Vesicant	เย็น	ไม่มีรายงาน
Daunorubicin	Vesicant	เย็น	Topical DMSO 99% Dexrazoxane
Doxorubicin	Vesicant	เย็น	Topical DMSO 99% Dexrazoxane
Epirubicin	Vesicant	เย็น	Topical DMSO 99%
Idarubicin	Vesicant	เย็น	Topical DMSO 99%
Mechlorethamine or Nitrogen mustard	Vesicant	ไม่มีรายงาน	Sodium thiosulfate 0.16 M
Mitomycin C	Vesicant	เย็น	Topical DMSO 99%
Mitoxantrone	Irritant ,Vesicant	เย็น	Topical DMSO 99%
Docetaxel	Irritant	เย็น	Normal saline (dilutional effect), Hyaluronidase Topical DMSO 99%
Oxaliplatin	Irritant ,Vesicant	อุ่น	Sodium thiosulfate 0.16 M
Paclitaxel	Irritant,Vesicant	เย็น	Normal saline (dilutional effect) , Topical DMSO 99%
Vinblastine	Vesicant	อุ่น	Hyaluronidase
Vincristine	Vesicant	อุ่น	Hyaluronidase
Vinorelbine	Vesicant	อุ่น	Hyaluronidase

Mitoxantrone และ Oxaliplatin บางรายงานพบว่าจัดอยู่ในกลุ่ม irritant และบางรายงานจัดอยู่ในกลุ่ม vesicant [4, 8]

พบว่า ผู้ป่วย 53 ใน 54 คน (ร้อยละ 98.2) ไม่พบการเกิดเนื้อตายหรือการต้องใช้การผ่าตัดเพื่อแก้ไขความผิดปกติ และผู้ป่วยส่วนใหญ่สามารถให้การรักษาต่อเนื่องได้[22] และการประคบด้วยความเย็นและการยกแขนหรือขาข้างที่เกิด extravasation ขึ้นเหมาะสมกับการจัดการในยาที่จัดอยู่ในกลุ่ม irritant ยกเว้นยา Oxaliplatin รวมทั้งจากการทบทวนวรรณกรรมไม่พบคำแนะนำในการจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดเมื่อบริหารยามากกว่า 1 ชนิด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าอาจสับสนถึงสาเหตุของการเกิด extravasations แต่เมื่อให้ยาร่วมกันการจัดการที่เหมาะสมควรจะมุ่งไปที่ยาในกลุ่ม DNA-binding [8]

ดังนั้นจากการทบทวนวรรณกรรมในการจัดการเมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดจึงพอสรุปได้ดังตารางที่ 3

นอกจากสิ่งที่กล่าวมาข้างต้น เรื่องที่ควรเน้นในการป้องกันและดูแลการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือดคือ การตรวจสอบบริเวณที่เกิด extravasation ทุก 8 ชั่วโมง เพื่อติดตามอาการเปลี่ยนแปลง และอาการต่างๆ ที่พบการรั่วของสารน้ำโดยเฉพาะบริเวณเข็มหรือตำแหน่ง ที่แทงเส้นและควรมีการบันทึกในรายงานหรือบันทึกทางการพยาบาล เพื่อส่งต่อการดูแลรวมทั้งเป็นการติดตามประเมิน การเปลี่ยนแปลงและรายงานถึงสิ่งที่ให้การดูแลและจัดการที่ให้กับผู้ป่วย [5]

สรุป

การรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด สิ่งที่สำคัญที่สุดของการดูแลคือ "การป้องกัน" เพื่อไม่ให้เกิดหรือมีโอกาสเกิดน้อยที่สุด แม้ว่าที่ผ่านมาจะมีอุบัติการณ์ของการเกิดน้อยก็ตาม แต่ก็พบว่าผลที่เกิดขึ้น ส่งผลต่อคุณภาพการดูแลของพยาบาล และคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ดังนั้นการจะให้การดูแลผู้ป่วย พยาบาลที่รับผิดชอบในการบริหารยาเคมีบำบัด ต้องมีความรู้ ความชำนาญ และผ่านการอบรมเกี่ยวกับยาเคมีบำบัด สาเหตุการป้องกัน และกระบวนการในการดูแล เมื่อเกิดการรั่วไหลของยาเคมีบำบัดออกนอกเส้นเลือด รวมทั้งติดตามการเปลี่ยนแปลงขององค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากหลักฐานเชิงประจักษ์ ศึกษาและ/หรือร่วมศึกษาในประเด็นที่ยังขาดความชัดเจน นอกจากนั้นควรจะมีการพัฒนาวิธีการดูแลร่วมกับทีมสหสาขาวิชาชีพ เพื่อกำหนดเป็นแผนการดูแลร่วมกัน (clinical pathway) เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการดูแลผู้ป่วยให้ครอบคลุมและมีประสิทธิภาพมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ธิราภรณ์ จันทร์ดา ภาควิชาพยาบาลศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี คุณกาญจนา ชาญวิทย์การ และคุณพรจันทร์ สัยละมัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขให้บทความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Shetty PC, Mody MK, Kastan DJ, Sharma RP, Burke MW, Venugopal C, et al. Outcome of 350 implanted chest ports placed by interventional radiologists. J Vasc Int Rad 1997; 8:991-5.
2. Langstein HN, Duman H, Seelig D. Retrospective study of the management of chemotherapeutic extravasation injury. Ann Plast Surg 2002; 49: 369-74.
3. Schrijvers DL. Extravasation: a dreaded complication of chemotherapy. Ann Oncol 2003; 14: 26-30.
4. Sauerland C, Engelking C, Wickham R, Corbi D. Vesicant extravasation part I: mechanisms,pathogenesis, and nursing care to reduce risk. Oncol Nurs Forum 2006; 33:1134-41.
5. Wengstrom Y, Margulies A. European Oncology Nursing Society extravasation guidelines. Eur J Oncol Nurs 2008; 12: 357-61.
6. Jone L, Coe P. Extravasation. Eur J Oncol Nurs 2004; 8: 355-8.
7. Schulmeister L. Extravasation management. Eur J Oncol Nurs 2007; 12: 357-61.
8. How C, Brown J. Extravasation of cytotoxic chemotherapy from peripheral veins. Eur J Oncol Nurs 1998; 2: 51-8.
9. จินตนา ตั้งสิชฌนกุล, สุรสิทธิ์ วัชระสุขโพธิ์. งานบริการเภสัชกรรมด้านยาที่มีพิษต่อเซลล์โรงพยาบาลขอนแก่น. ขอนแก่น: เพ็ญพรินติ้ง; 2547. หน้า 51-66.
10. Polovich M, White J, Kelleher L. (Eds.). Chemotherapy and biotherapy guidelines and recommen-

dations for practice 2nd ed. . PittsburghPA: Oncology Nursing Society. 2005.

11. Ener RA, Meglathery SB, Styler M. Extravasation of systemic hemato-oncological therapies. Ann Oncol 2004; 15: 858-62.
12 . ชวนพิศ นรเดชาน. เคมีบำบัด: หลักการพยาบาล. กรุงเทพ: คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2547. หน้า 85-133.
13. Patel JS, Krusa M. Distant and delayed mitomycin C extravasation . Pharm 1999 ; 19 : 1002-5 * Access www.medscape.com
14. Boyle DM, Engelking C. Vesicant extravasation: Myths and realities. Oncol Nurs Forum 1995; 22: 57-67.
15. Viale PH. Complication associated with implantable vascular access device in the patient with cancer. J Infus Nurs 2003; 26: 97-102.
16. Bozkurt AK, Uzel B, Akman C, Ozguroglu M, Molinas Mandel N. Intrathoracic extravasation of antineoplastic agent: Case report and systematic review. Am J Clin Oncol 2003; 26: 121-3.
17. Luke E. Mitoxantrone- induced extravasation. Oncol Nurs Forum 2005; 32: 27-9.
18. Polovich M, White J, Kelleher L. (Eds.). Chemotherapy and biotherapy guidelines and recommenations for practice (2nd ed.). PittsburghPA: Oncology Nursing Society. 2005.
19. Kenndy JG, Donahue JP, Hoang P, Boland PJ. Vesicant characteristics of oxaliplatin following antecubital extravasation. Clin Oncol 2003; 15:237-9.
20. Langhorne M, Barton BM. Chemotherapy administration: general principles for nursing practice. In: Barton BM, Wilkes GM & Ingwersen KC, editor. Cancer chemotherapy a nursing process approach. 3rd ed. Boston: Jone and Bartlett ; 2001. p. 608-641.
21. Pattison J. Managing cytotoxic extravasation. Nurs Times 2002; 98: 32-4.
22. Mouridsen HT, Langer SW, Buter J, Eidtmann H, Rosti G, Dewit M. Treatment of anthracycline extravasation with saveve(dexrazoxane): result from two prospective clinical multicentre studies. Ann Oncol 2007; 18: 546-50.
23. Patel JS, Krusa M. Distant and delayed mitomycin C extravasation. Pharm 1999; 19: 1002-5.

❖ ❖ ❖

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 29 ฉบับที่ 1
มกราคม - มีนาคม 2552

คำแนะนำการส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ในวารสารโรคมะเร็ง

วารสารโรคมะเร็งยินดีรับบทความทางวิชาการหรือเรื่องราวที่น่าสนใจเกี่ยวกับโรคมะเร็งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารฯ โดยคณะผู้จัดทำวารสารโรคมะเร็งขอให้ผู้นิพนธ์ส่งต้นฉบับ ซึ่งจัดเตรียมถูกต้องตามคำแนะนำในเอกสารนี้ มายัง

บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์
ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี
กรุงเทพฯ 10400
หรือทาง E-mail : nci_journal@hotmail.com

ประเภทของบทความ

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles) ควรจะเขียนลำดับเป็นข้อๆ ได้แก่ เรื่องย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย) บทนำสั้นๆ (เหตุผลที่ทำการศึกษานี้รวมทั้งวัตถุประสงค์) วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา วิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

รายงานผู้ป่วย (Case Report) ควรประกอบด้วยเรื่องย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย) บทนำ รายงานผู้ป่วย บทวิจารณ์ ข้อคิดเห็น สรุป และเอกสารอ้างอิง

บทความทางวิชาการหรือบทฟื้นวิชาการ (Review Articles) ควรเป็นบทความที่ให้ความรู้รวบรวมสิ่งตรวจพบใหม่ หรือเรื่องที่น่าสนใจที่ผู้อ่านนำไปประยุกต์ได้ ประกอบด้วย บทนำ ความรู้เกี่ยวกับเรื่องที่เขียนและเอกสารอ้างอิง

การเตรียมต้นฉบับ

1. บทความที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องส่งต้นฉบับ 2 ชุด (พร้อมไฟล์) และต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังส่งตีพิมพ์ที่ใด

2. บทความที่พิมพ์รับทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยควรหลีกเลี่ยงคำภาษาอังกฤษยกเว้นในกรณีจำเป็นเท่านั้น พยายามไม่ใช้คำย่อนอกจากคำที่ยอมรับกันโดยทั่วไป

3. บทคัดย่อ ให้ย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ว่าเนื้อเรื่องจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษและมีคำสำคัญ (Key words) ด้วย

4. ชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน ต้องมีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พร้อมด้วยสถาบันที่ทำงาน (ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) และระบุผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ (corresponding author)

5. ต้นฉบับต้องพิมพ์อย่างชัดเจนมีระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่อง พิมพ์หน้าเดียวในกระดาษ A4 โดยพิมพ์ห่างจากขอบทุกด้าน 1 นิ้ว โดยตลอดและใส่เลขหน้าทางมุมขวาบน

6. ภาพประกอบ ใช้ภาพขาวดำ ขนาดโปสการ์ดผิวหน้าเรียบเป็นมัน กำกับหมายเลขภาพ ชื่อผู้เขียนไว้ด้านหลังภาพทุกภาพ พิมพ์คำบรรยายภาพเป็นลำดับแยกไว้ในกระดาษอีกแผ่น หรือเป็นรูปดิจิตอล file.jpeg ความละเอียด 600 dpi กำกับหมายเลขภาพ และคำบรรยาย ส่งเป็นไฟล์แยกต่างหากจากเนื้อเรื่อง

7. ตาราง พิมพ์แยกต่างหากโดยมีหัวข้อ (title) และเชิงอรรถ (foot note) พร้อมทั้งอธิบายตัวย่อใน ตารางตลอดจนบอกนัยสำคัญทางสถิติอย่างครบถ้วน

8. เอกสารอ้างอิง ใช้ระบบแวนคูเวอร์ ซึ่งเป็นระบบที่ใช้กันอยู่ในวารสารทางการแพทย์ชั้นนำในขณะนี้ให้กำกับการอ้างด้วยหมายเลขและเรียงลำดับการอ้างหมายเลขที่กำกับในรายชื่อเอกสารอ้างอิงจะต้องตรงกับหมายเลขในเนื้อเรื่องด้วย

การเขียนเอกสารอ้างอิง

8.1 จากวารสาร

วารสารภาษาอังกฤษ ประกอบด้วย ชื่อผู้แต่ง (ถ้ามีผู้แต่งไม่เกิน 6 คน ให้ใส่ชื่อทุกคนแต่ถ้ามี 7 คนขึ้นไปให้ใส่เพียง 6 ชื่อแรก แล้วเติม et al.) ชื่อเต็มของบทความ ชื่อย่อวารสาร (ใช้ตาม Index Medicus) ปีที่พิมพ์; ปีที่:หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

วารสารภาษาไทย ให้เขียนแบบเดียวกับภาษาอังกฤษ เว้นแต่ชื่อผู้เขียนใช้ชื่อเต็มโดยใส่ชื่อตัวก่อนแล้วตามด้วยนามสกุลและใช้ปี พ.ศ.

ตัวอย่าง

1. Chariyalertsak S, Sirikulchayanonta V, Mayer D, Kopp-Schneider A, Fuerstenberger G, Marks F, et al. Aberrant cyclooxygenase isozyme expression in human intrahepatic cholangiocar- cinoma. Gut 2001; 48: 80-6.

2. สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, พงษ์กิตติ ฐิศุภกร, สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์. Proliferating Cell Nuclear Antigen ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม: บทบาทในการ พยากรณ์โรค.วารสารโรคมะเร็ง 2542; 25: 1-6.

8.2 จากหนังสือและโมโนกราฟอย่างอื่น

8.2.1 ผู้นิพนธ์เป็นบุคคล ตัวอย่างเช่น

Getzen TE. Health economics: fundamental of funds. New York: John Wiley & Sons; 1997.

8.2.2 บรรณาธิการ ผู้รวบรวม ประธาน ที่เป็นผู้นิพนธ์ ตัวอย่างเช่น

Millares M, editor. Applied drug information: strategies for information management. Vancouver, WA: Applied Therapeutics, Inc.; 1998.

8.2.3 บทหนึ่งในหนังสือหรือตำรา ตัวอย่างเช่น

Porter RJ, Meldrum BS. Anti-epileptic drugs. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical pharmacology. 6th ed. Norwalk, CN: Appleton and Lange; 1995. p. 361-80.

8.2.4 หนังสือที่เป็นชุด (series) ตัวอย่างเช่น

Bennett GL, Horuk R. Iodination of chemokines for use in receptor binding analysis. In: Horuk R, editor. Chemokine receptors. New York: Academic Press; 1997. p. 134-48. (Methods in enzymology; vol 288).

หมายเหตุ : Chemokine receptors = ชื่อ หนังสือ
Methods in enzymology = ชื่อหัวข้อเรื่องของ series

8.2.5 หนังสือ proceeding ของการประชุม ตัวอย่างเช่น

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

8.2.6 เอกสารหรือแหล่งข้อมูลอื่น

<u>เรื่องจากหนังสือพิมพ์</u> ตัวอย่างเช่น

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution : study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A: 3 (col.5).

<u>เรื่องจากวารสารใน internet</u> ตัวอย่างเช่น

Laporte RE, Marler E, Akazawa S, Sauer F. The death of biomedical journals. BMJ [serial online]. 1995;310:1387-90. Available from: http://www.bmj.com/bmj/archive/6991ed2.htm. Accessed September 26, 1996.

<u>เรื่องจาก web site</u> ตัวอย่างเช่น

Health on the net foundation. Health on the net foundation code of conduct (HONcode) for medical and health web sites. Available at : http://www.hon.ch/conduct.html. Accessed June 30, 1998.

❖ ❖ ❖

หนังสือแจ้งความจำนงลงโฆษณา ในวารสารโรคมะเร็ง

เขียนที่..
วันที่.........เดือน..........................พ.ศ.............

ข้าพเจ้า..ตำแหน่ง..
ในนามของ...เลขที่...............ถนน..
ตำบล/แขวง...อำเภอ/เขต...............................จังหวัด...
รหัสไปรษณีย์..................................โทรศัพท์....................................โทรสาร...
มีความประสงค์ลงโฆษณาในวารสารโรคมะเร็ง

- ❒ ฉบับที่ 1 เดือน มกราคม – มีนาคม
- ❒ ฉบับที่ 2 เดือน เมษายน – มิถุนายน
- ❒ ฉบับที่ 3 เดือน กรกฎาคม – กันยายน
- ❒ ฉบับที่ 4 เดือน ตุลาคม – ธันวาคม

รวม................................**ฉบับ**

โดยลงโฆษณาในลักษณะ

❒ พิมพ์เนื้อใน ½ หน้า	อัตรา	5,000	บาท ต่อ ฉบับ	(1,000 เล่ม)
❒ พิมพ์เนื้อในเต็มหน้า	อัตรา	10,000	บาท ต่อ ฉบับ	(1,000 เล่ม)
❒ พิมพ์ปกหลังด้านใน ½ หน้า	อัตรา	10,000	บาท ต่อ ฉบับ	(1,000 เล่ม)
❒ พิมพ์ปกหลังด้านในเต็มหน้า	อัตรา	20,000	บาท ต่อ ฉบับ	(1,000 เล่ม)
❒ พิมพ์ปกหลังด้านนอกเต็มหน้า	อัตรา	35,000	บาท ต่อ ฉบับ	(1,000 เล่ม)
❒ ใบแทรก	อัตรา	6,000	บาท ต่อ ฉบับ	(1,000 เล่ม)

❒ พิมพ์สี จ่ายค่าเพลทและค่าพิมพ์เพิ่ม 10,000 บาท

รวมเป็นเงินทั้งสิ้นจำนวน...บาท

ตัวอักษร(..) บาท

ลงนาม…………………………………....ผู้สั่งโฆษณา
(...)

__**หมายเหตุ**__ ถ้าลงโฆษณาทั้งปี (4 ฉบับ) จะลดค่าโฆษณาให้ 10 %

ส่งอาร•ตเวิร•ค / ข้อความโฆษณาทาง E-mail : nci_journal@hotmail.com

การชำระค่าโฆษณา ให้ขีดเช็คสั่งจ่ายในนาม **“มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ”**