วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

ISSN 0125-2038

มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

บรรณาธิการ

ธีรวุฒิ คูหะเปรมะ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

จรัญญา งามขำ
เพ็ญศรี แซ่หลี
วิโรจน์ เหล่าสุนทรศิริ
ศุลีพร แสงกระจ่าง
สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์
อรพินท์ ก้องตระกูลชน

คณะบรรณาธิการ

กนกพร ใจสถาพร
กิติ จินดาวิจักษณ์
กวิญ ลีละวัฒน์
ฉันทนา หมอกเจริญพงศ์
ชนินทร์ อภิวาณิชย์
ดนัย ทิวาเวช
ธิดา ปัญจพันธ์พงศ์
ปัญญรัตน์ ลาภวงศ์วัฒนา
เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล
วีรวุฒิ อิ่มสำราญ
วิชิต อาภรณ์วิรัตน์
วุฒิ สุเมธโชติเมธา
วสันต์ ลีนะสมิต
วรรณเพ็ญ เบ็ญจชัย
สมจิตร ประภากร
สมจินต์ จินดาวิจักษณ์
สมชาย ธนะสิทธิชัย
สายพิน ตั้งครัชต์
สุพล มโนรมณ์
สุเมธ รินสุรงควงศ์
สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์
อนงค์ เทพสุวรรณ์
อมรรัตน์ วิจิตรลีลา
อัครียา สมรรคบุตร
อนันต์ กรลักษณ์
อารยะ อดุลยพันธ์
อารีย์ ประสิทธิพยงค์
อรชร เอี่ยมอารีรัตน์

ผู้จัดการ

อาคม ชัยวีระวัฒนะ

ผู้ช่วยผู้จัดการ

พรนภา จันทรวีระกุล
มลินี สนธิไชย
วารีพร ศักดิ์สมบูรณ์
เสาวคนธ์ ศุกรโยธิน
อุมานาฏ อุณอนันต์

พิมพ์ที่ บริษัท โฆสิตการพิมพ์ จำกัด
373 ถ.จรัญสนิทวงศ์ แขวงบางอ้อ เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700 โทร. 0-2424-8715, 0-2433-3011

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

ISSN 0125-2038

The National Cancer Institute Foundation

Editor–in–Chief

Thiravud Khuhaprema

Assistant Editors

Jarunya Ngamkham
Pensri Saelee
Wirote Lausoontornsiri
Suleeporn Sangrajrang
Sunanta Chariyalertsak
Orapin Kongtragulchone

Editorial Board

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

Managing Editor

Arkom Chaiwerawattana

Assistant Managers

Pornnapa Jantaraweragul
Malinee Sontichai
Wareeporn Saksomboon
Saowakon Sukarayodhin
Aumanad Aunanan

KOSIT PRESS COMPANY LIMITED

373 Charansanitwong Rd., Bang-ow, Bangplad, Bangkok 10700 Tel. 0-2424-8715, 0-2433-3011

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

วัตถุประสงค์ เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ ผลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคมะเร็ง และอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

สำนักงาน สำนักงานวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2206
โทรสาร 0-2644-9097

เว็บไซต์เผยแพร่ www.nci.go.th, www.kmnci.com/km/,
http://thailand.digitaljournals.org/index.php/TCJ

กำหนดการตีพิมพ์ กำหนดออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 ฉบับ

การส่งต้นฉบับ บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2206
โทรสาร 0-2644-9097
E - mail : nci_journal@hotmail.com

การบอกรับเป็นสมาชิก

- ห้องสมุดและหน่วยงานราชการแจ้งความจำนงได้ที่สำนักงานวารสารโรคมะเร็งโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
- หน่วยงานเอกชน อัตราค่าสมาชิก 200 บาท ต่อปี (4 ฉบับ) รวมค่าจัดส่ง และโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน)
  สาขารามาธิบดี เลขที่บัญชี 026-2-27518-2
  ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL

สารบาญ
Content

ปีที่ 33 ฉบับที่ 1 มกราคม-มีนาคม 2556

หน้า

บทบรรณาธิการ 1

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)

การเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับวิตามินดีในซีรัมของผู้มารับบริการที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography และวิธี Electrochemiluminescence Immunoassay 4

อารีย์ ประสิทธิพยงค์, สมชาย ธนะสิทธิชัย, วิชุดา ไตรรัตน์อภิชาต, สมมาตย์ จันทร

ความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระของผู้มารับการตรวจสุขภาพ ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 12

อนุพงษ์ ไชยมูล

Comparison of Selenium Levels in Patients with Osteosarcoma and Healthy Subjects in Thailand 20

Watcharee Attatippaholkun, Kornwipa Wikainapakul, Lerson Suwannathon, Apichat Asavamonkolkul, Sirirat Tansakul

บทฟื้นวิชาการ (Review Articles)

โปรตีน E5 ในไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมากับการเกิดมะเร็งปากมดลูก 28

จรัญญา งามขำ

คำแนะนำการส่งต้นฉบับ 34

หนังสือแจ้งความจำนงลงโฆษณาในวารสารฯ 36

ใบสมัครสมาชิก/ใบต่ออายุสมาชิกวารสารฯ 37

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 33 ฉบับที่ 1
มกราคม-มีนาคม 2556

บทบรรณาธิการ

การจัดทำแผนการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งแห่งชาติ

โรคมะเร็งเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย ทำให้เกิดการสูญเสียชีวิตของประชาชนก่อนวัยอันควร และเสียค่าใช้จ่ายในการรักษาเป็นจำนวนมาก ในปัจจุบันโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งของประเทศไทย จากข้อมูลสถิติสถาบันวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ (IARC) คาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2551 ประเทศไทยมีจำนวนผู้ป่วยใหม่ราว 112,666 ราย เป็นเพศชาย 50,407 ราย และเพศหญิง 62,259 ราย[1] จากสถิติล่าสุดพบว่าโรคมะเร็งที่พบมากที่สุดในเพศชาย 5 อันดับแรกได้แก่ มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งเม็ดเลือดขาว ส่วนมะเร็งที่พบมาก 5 อันดับแรกในเพศหญิง ได้แก่ มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ มะเร็งปากมดลูก มะเร็งปอด และมะเร็งลำไส้ใหญ่ เรียงตามลำดับ[2]

สำหรับสถานการณ์มะเร็งทั่วโลกนั้น จากสถิติและการคาดการณ์ขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization) ประมาณเอาไว้ว่าในปี พ.ศ. 2548-2558 จะมีผู้ป่วยเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งประมาณ 84 ล้านรายทั่วโลก และร้อยละ 40 สามารถป้องกันได้ และคาดการณ์ว่าประมาณปี พ.ศ. 2573 จะมีผู้ป่วยตายด้วยโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นเป็นจำนวน 11.4 ล้านคน โดยจะเกิดขึ้นในประเทศกำลังพัฒนามากกว่า 9 ล้านคน โรคมะเร็งเป็นโรคที่มักจะใช้ระยะเวลานานหลายปีในการก่อให้เกิดโรค มีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค เช่น การสูบบุหรี่ การรับประทานอาหารประเภทไขมัน หรือมีสารก่อมะเร็งปนเปื้อน การได้รับเชื้อโรคต่างๆ หรือการได้รับสารก่อมะเร็งจากการประกอบอาชีพ ชนิดของโรคมะเร็งที่พบบ่อยในแต่ละประเทศจะมีความแตกต่างกัน เช่น ประเทศในแถบตะวันตก จะพบมะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ และมะเร็งเต้านมเป็นอันดับต้นๆ สาเหตุน่าจะมาจากการสูบบุหรี่หรือการรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง ในขณะที่ประมาณ 1 ใน 5 ของโรคมะเร็งที่เกิดขึ้นในประเทศกำลังพัฒนามีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ เช่น เชื้อไวรัส Hepatitis B ที่เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งตับ และไวรัส human papilloma ที่ทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูก[3] ปัจจุบันประชาชนมีอายุยืนยาวขึ้น มีการควบคุมโรคติดต่อดีขึ้น มีการควบคุมให้อัตราการตายของทารกแรกคลอดและเด็กลดลง ทำให้มีฐานโครงสร้างของประชากรที่เปลี่ยนไป อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงวิถีการดำเนินชีวิตแบบชาวตะวันตกที่เพิ่มขึ้นของ

ประชาชนและสิ่งแวดล้อมที่มีการขยายตัวทางอุตสาหกรรมและบริการ ล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้อัตราการเกิดโรคมะเร็งสูงขึ้นเป็นลำดับ

องค์การอนามัยโลกได้สนับสนุนให้ทุกประเทศทั่วโลกจัดทำแผนการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งระดับชาติ โดยเน้นการควบคุมโรคมะเร็งที่พบบ่อย จัดทำแผนที่เหมาะสมสอดคล้องกับโครงสร้างและทรัพยากรที่มีในประเทศ เพื่อให้การดำเนินงานสามารถปฏิบัติได้จริงและบรรลุวัตถุประสงค์ที่ได้ตั้งไว้ สำหรับประเทศไทยได้กำหนดแผนการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งไว้ 7 ยุทธศาสตร์หลัก คือ

ยุทธศาสตร์ด้านการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Primary Prevention) ถือเป็นยุทธศาสตร์หลักที่สำคัญ โดยเฉพาะประเทศกำลังพัฒนา โดยจะเน้นให้การศึกษาเรื่องการหลีกเลี่ยงและการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมเสี่ยงต่อการเกิดโรค โดยเฉพาะการควบคุมการบริโภคยาสูบและสุรา การฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีและไวรัส HPV การควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ พฤติกรรมการบริโภคและการออกกำลังกาย หลีกเลี่ยงการสัมผัสสารก่อมะเร็งจากการทำงานและสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

ยุทธศาสตร์ด้านการดำเนินการเพื่อตรวจหาโรคมะเร็งระยะเริ่มแรก (Secondary Prevention) นั้นเป็นเรื่องสำคัญ เนื่องจากโรคมะเร็งบางชนิดรักษาให้หายได้หากตรวจพบเมื่ออยู่ในระยะเริ่มแรก และเสียค่าใช้จ่ายน้อยกว่าการรักษาโรคในระยะลุกลาม จึงควรมีการรณรงค์ในการตรวจหาโรคมะเร็งในระยะแรกเริ่ม โดยเฉพาะมะเร็งปากมดลูก มะเร็งเต้านม และมะเร็งลำไส้ใหญ่ ให้เป็นรูปธรรมมากขึ้นและควรทำการประเมินผลถึงประสิทธิผลของการดำเนินการด้วย

ยุทธศาสตร์ด้านการรักษาผู้ป่วยโรคมะเร็ง (Tertiary Prevention) จุดมุ่งหมายของการรักษาโรคมะเร็งตามที่องค์การอนามัยโลกกำหนดไว้คือ ทำให้ผู้ป่วยหายจากโรคมะเร็ง และทำให้ผู้ป่วยมะเร็งมีชีวิตที่ดีอย่างยืนยาว ทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งดีขึ้น ควรมีนโยบายเกี่ยวกับการวินิจฉัยและการรักษาโรคมะเร็งอย่างแน่ชัดสำหรับโรคมะเร็งที่พบบ่อยในประเทศไทยให้เหมาะสมกับวิธีการรักษาที่มีอยู่ มีการแยกกลุ่มของผู้ป่วยมะเร็งชนิดที่ควรได้รับการรักษาและชนิดที่ควรได้รับการรักษาแบบบรรเทาอาการ จัดทำขั้นตอนการรักษาด้วยวิธีต่างๆ หรือแบบผสมผสานให้เหมาะสมกับชนิดและระยะของโรคมะเร็ง โดยจัดทำเป็นคู่มือแนะนำ มีนโยบายในการจัดตั้งระบบการส่งต่อให้ใช้ได้ทั่วประเทศและมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ

ยุทธศาสตร์การดูแลผู้ป่วยแบบประคับประคอง (Palliative Care) เป็นที่ทราบกันดีว่าผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็งระยะสุดท้ายหรือโรคลุกลามไปเกินกว่าจะรักษาได้ การรักษาจึงเป็นแบบประคับประคอง ซึ่งจำเป็นต้องมีแผนการบริการสำหรับผู้ป่วยกลุ่มนี้อย่างเป็นรูปธรรม โดยเน้นทางจริยธรรมและมนุษยธรรม ควรมีความร่วมมือของบุคลากรทางการแพทย์และทางสังคมที่เกี่ยวข้องทุกระดับเข้ามาร่วมงานเป็นทีม ทั้งในระดับสถานพยาบาลในสังคมชุมชนและสังคมครอบครัว เพื่อให้ผู้ป่วยเหล่านี้สามารถใช้ชีวิตที่เหลืออย่างมีคุณภาพและสมศักดิ์ศรีของความเป็นมนุษย์

ยุทธศาสตร์สารสนเทศโรคมะเร็ง (Cancer Informatics) ก็เป็นอีกหนึ่งยุทธศาสตร์ซึ่งถือเป็นหัวใจสำคัญต่อการป้องกันและควบคุมโรคในทุกระดับ

การจัดทำทะเบียนมะเร็งในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ รวมทั้งการส่งเสริมการทำทะเบียนมะเร็งชุมชนในพื้นที่ที่เหมาะสมให้มีคุณภาพมากขึ้น มีการจัดสร้างเครือข่ายข้อมูลมะเร็งโดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศเพื่อให้สามารถมีการติดต่อสื่อสารและรับส่งข้อมูลได้ในทุกภูมิภาคของประเทศ

ยุทธศาสตร์ด้านการวิจัย (Cancer Research) ควรมีแผนการวิจัยเกี่ยวกับสาเหตุ/ปัจจัยเสี่ยง กระบวนการเกิดโรคของโรคมะเร็งที่พบบ่อยในประเทศไทย รวมทั้งมีการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพสูงและต้นทุนต่ำ เพื่อนำมาใช้ในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง การตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็งระยะเริ่มแรก การรักษาและการดูแลผู้ป่วยแบบประคับประคอง ควรมีนโยบายการทำงานวิจัยแบบบูรณาการ ทั้งในระดับชาติและระดับนานาชาติ เพื่อให้ได้องค์ความรู้ใหม่ๆ

ยุทธศาสตร์ที่สำคัญอีกด้านหนึ่งที่จะทำให้แผนการป้องกันโรคมะเร็งสัมฤทธิ์ผลได้ คือ การเสริมสร้างสมรรถนะองค์กรในการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็ง (Capacity Building) ยุทธศาสตร์นี้จะครอบคลุมถึงแผนการพัฒนาบุคลากร การจัดหาเครื่องมือที่ทันสมัยเหมาะสมกับองค์ความรู้ด้านโรคมะเร็ง การผลิตบุคลากรให้เพียงพอต่อการบริการของผู้ป่วยทั่วประเทศ หรือมีการศึกษาและฝึกอบรมอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับวิชาการด้านโรคมะเร็งในทุกๆด้านแก่แพทย์และบุคลากรทางสาธารณสุขทุกระดับ มีการสนับสนุนให้หน่วยงานที่รับผิดชอบการดูแลและรักษาผู้ป่วยมะเร็งสามารถมีเครื่องมือที่ทันสมัยและเพียงพอต่อความต้องการ รวมทั้งการพัฒนาการบริหารจัดการการดูแลระบบส่งต่อผู้ป่วย

ในการดำเนินการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งต้องคำนึงถึงผลกระทบต่อเศรษฐกิจสังคมโดยส่วนรวมจากการให้บริการนั้นๆด้วย จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องนำทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัดมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อสังคม การป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งระดับชาติจะทำให้ได้ผลดีและมีความเป็นไปได้จะต้องมีความร่วมมือจากหลายหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน ต้องนำความรู้ในทุกๆด้านลงไปปฏิบัติ และดำเนินการตามแผนการป้องกันและควบคุมโรคมะเร็งแห่งชาติที่กำหนดไว้อย่างถูกต้องและเหมาะสมกับปัญหาของประเทศที่มีอยู่ในปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

1. Globocan 2008. International Agency for Research on Cancer (IARC). available at: http://globocan.iarc.fr/. Accessed January 30, 2013.
2. Khuhaprema T, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Sangrajrang S, editors. Cancer in Thailand, Vol. VI, 2004-2006, Bangkok, Thailand, 2012.
3. Cancer-Key facts. World Health Organization. available at: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr06/en/index.html. Accessed January 30, 2013.

บรรณาธิการ

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 33 ฉบับที่ 1
มกราคม-มีนาคม 2556

การเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับวิตามินดีในซีรัมของผู้มารับบริการที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography และวิธี Electrochemiluminescence Immunoassay

อารีย์ ประสิทธิพยงค์[1]
สมชาย ธนะสิทธิชัย[2]
วิชุดา ไตรรัตน์อภิชาต[1]
สมมาตย์ จันทร[1]

บทคัดย่อ การตรวจหาระดับวิตามินดีในซีรัมทำได้หลายวิธี ทั้งวิธีที่ใช้เครื่องมือที่มีขั้นตอนยุ่งยากซับซ้อนและวิธีที่ค่อนข้างสะดวกโดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ การศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการเปรียบเทียบผลการตรวจหาระดับวิตามินดี (25OHD) ระหว่างวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน และวิธี Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA) ในซีรัมของผู้มารับบริการในคลินิกตรวจสุขภาพของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 70 ราย ผลการศึกษาโดยใช้ paired t-test พบว่าการตรวจวิเคราะห์ระดับวิตามินดีจากทั้งสองวิธีให้ผลไม่แตกต่างกัน (P=0.79 และ 95% CI มีค่าระหว่าง -2.79 ถึง 3.61) และยังมีความสัมพันธ์ค่อนข้างดีโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.88 ดังนั้นวิธี ECLIA ซึ่งเป็นวิธีที่ตรวจหาระดับวิตามินดีได้โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและมีค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก น่าจะเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งของห้องปฏิบัติการในการนำมาใช้ตรวจหาระดับวิตามินดี *(วารสารโรคมะเร็ง 2556;33:4-11.)*

คำสำคัญ: vitamin D, 25-hydroxyvitamin D, high performance liquid chromatography (HPLC), electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)

[1]งานอิมมูโนวิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยา, [2]กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ 10400

Comparison in Determination of Vitamin D Level in Serum of Subjects at the National Cancer Institute by High Performance Liquid Chromatography and Electrochemiluminescence Immunoassay

by **Aree Prasitthipayong[1], Somchai Thanasitthichai[2], Vichuda Triratapichat[1], Sommart Jantorn[1]**

[1]Immunology section, Pathology Division, [2]Academic Support Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400.

Abstract **In this study, we compared the analytical method of electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) with high performance liquid chromatography (HPLC) which is the standard method for the quantification of vitamin D (25OHD) in serum of 70 samples obtained from routine checkup clinic at the National Cancer Institute, Bangkok, between July and August 2012. Our findings show no statistically significant difference between the means of these two methods (*P*=0.79, 95% CI: -2.79-3.61) and an acceptable correlation was observed (r=0.88). Therefore, the use of automatic analyzer by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) for quantitative determination of total 25OHD is possible in routine laboratory.** *(Thai Cancer J 2013;33:4-11.)*

Keywords: vitamin D, 25-hydroxyvitamin D, high performance liquid chromatography (HPLC), electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)

บทนำ

มะเร็งเต้านมเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย ข้อมูลจากรายงานทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล (Hospital Based Cancer Registry) ซึ่งรวบรวมโดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ที่มารับการตรวจวินิจฉัยและรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม ถึง 31 ธันวาคม 2553 สูงเป็นอันดับแรกของมะเร็งในสตรีคือมะเร็งเต้านม โดยช่วงอายุที่พบบ่อยคือ 45-50 ปี แม้ว่าจะยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัด แต่ปัจจัยที่เพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมสูงขึ้น ได้แก่ การมีสมาชิกในครอบครัวเป็นมะเร็ง การไม่มีลูกหรือมีลูกคนแรกหลังอายุ 30 ปี การใช้ฮอร์โมนเพศหญิงเป็นเวลานาน ภาวะอ้วน การดื่มแอลกอฮอลล์มาก เป็นต้น[1] อย่างไรก็ตามพบว่ายังมีปัจจัยอื่นๆอีกที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งเต้านม เช่น ภาวะวิตามินดีในร่างกาย โดยพบว่าผู้ที่มีระดับวิตามินดีต่ำมีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมมากกว่าผู้ที่มีระดับวิตามินดีสูง และยังพบว่าระดับวิตามินดีในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมระยะแรกมีความสัมพันธ์กับขนาดของก้อนมะเร็ง การตอบสนองต่อการรักษาและอัตราการรอดชีพของผู้ป่วย โดยเฉพาะในผู้ป่วยหลังหมดประจำเดือน[2-8]

วิตามินดีเป็นสารประกอบสเตียรอยด์ จัดอยู่ในกลุ่มวิตามินประเภทที่ละลายในไขมัน ทำหน้าที่หลักในการรักษาสมดุลของระดับแคลเซียมในเลือดและกระดูก ร่างกายของคนเราได้รับวิตามินดีจากสองทางด้วยกัน คือ ทางผิวหนังโดยร่างกายสามารถสร้างวิตามินดีได้เมื่อผิวหนังได้รับแสงแดด และทางอาหารที่รับประทานเข้าไป[9] วิตามินดีมีหลายรูปแบบ แต่มีเพียง 2 รูปแบบเท่านั้นที่มีความสำคัญ ได้แก่วิตามินดีสอง (ergocalciferol) ซึ่งได้จากอาหารประเภทพืช

และวิตามินดีสาม (cholecalciferol) ซึ่งได้มาจากอาหารประเภทสัตว์และได้จากการที่ผิวหนังสร้างขึ้นเองเมื่อได้รับแสงแดดโดยรังสีอุลตราไวโอเลตชนิดบี (UVB) ไปกระตุ้นคอเลสเตอรอลใต้ผิวหนัง (7-dehydrocholesterol) ให้เปลี่ยนเป็นวิตามินดีสาม ซึ่งทั้งวิตามินดีสองและวิตามินดีสามในร่างกายจะจับกับโปรตีนที่ชื่อว่า vitamin D binding protein (VDBP) คือประมาณร้อยละ 85 ของ 25OHD จะจับกับ vitamin D binding protein ร้อยละ 15 จับกับ albumin และร้อยละ 0.03 อยู่ในรูปอิสระ ไม่จับกับโปรตีนชนิดใดในร่างกายเลย หลังจากนั้นจะถูกนำไปที่ตับ และเมตาบอลิสมของวิตามินดีเริ่มต้นที่ตับโดยกระบวนการ hydroxylation ซึ่งจะได้เมตาโบไลท์ในรูปแบบต่างๆหลายรูปแบบ แต่รูปแบบที่เป็น active form คือ 25-hydroxyvitamin D (25OHD)[2,4,10,11]

การตรวจหาระดับวิตามินดีในซีรัมทางห้องปฏิบัติการมักจะวัดโดยดูระดับของ 25OHD เนื่องจากมีค่าครึ่งชีวิต (half-life) นานประมาณ 3 สัปดาห์ ซึ่งนานกว่า hydroxylated form อื่นๆ จึงใช้เป็นดัชนีทางคลินิกที่ไวที่สุดในการประเมินสภาวะของวิตามินดีในร่างกาย[12-14] การตรวจหาระดับวิตามินดีในซีรัมสามารถทำได้หลายวิธี โดยอาศัย 2 หลักการใหญ่ๆคือ chemical assays เช่นวิธี HPLC, GC-MS, LC-MS/MS เป็นต้น และ protein binding assays เช่น วิธี RIA, EIA, CLIA, ECLIA เป็นต้น[15] ซึ่งแต่ละวิธีอาจเป็นการตรวจวัดระดับ 25-hydroxyvitamin D (25OHD) รวมทั้งหมดหรือวัดแยกเป็นระดับวิตามินดีสอง (25-hydroxy vitamin D_2) และระดับวิตามินดีสาม (25-hydroxy vitamin D_3) ก็ได้ วิธีอ้างอิง (reference method) ในการตรวจหาระดับวิตามินดีคือวิธี liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) แต่มี ขั้นตอนการตรวจที่ยุ่งยาก ค่าใช้จ่ายสูง ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป[13,16,17] จึงได้มีการพัฒนาการตรวจหาระดับวิตามินดีโดยใช้วิธีอื่นมาทดแทน ซึ่งจะต้องเป็นวิธีที่สะดวกขึ้น ค่าใช้จ่ายไม่สูงมากนัก และสิ่งสำคัญคือจะต้องให้ค่าที่ถูกต้องไม่แตกต่างจากวิธีอ้างอิง วิธีที่ได้รับการพัฒนานำมาใช้ในการตรวจหาระดับวิตามินดีมีหลายวิธี เช่น วิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างจากวิธี LC-MS/MS และกำหนดให้วิธี HPLC เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard method) อีกวิธีหนึ่งในการตรวจวัดระดับวิตามินดี[13] อย่างไรก็ตามการใช้วิธี HPLC ก็ยังคงเป็นวิธีที่ไม่สะดวกและไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เนื่องจากวิธี HPLC มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง มีขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเลือดที่ยุ่งยาก ใช้ตัวอย่างตรวจค่อนข้างมากและใช้เวลาในการตรวจนาน แต่สามารถให้ผลการตรวจเป็นโครมาโตแกรมของวิตามินดีสองและวิตามินดีสาม[11,16]

จากการศึกษาพบว่าการทราบสภาวะวิตามินดีของร่างกายจะมีประโยชน์อย่างมาก จึงได้มีการพัฒนาวิธีอื่นขึ้นมาใช้ในการตรวจเพื่อความสะดวกและสามารถนำมาใช้ได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น วิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), วิธี radioimmunoassay (RIA) เป็นต้น ตลอดจนได้มีการนำวิธีอื่นๆที่สามารถตรวจได้ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ เช่น LIASON 25 OH vitamin D total ซึ่งใช้วิธี chemiluminescense immunoassay (CLIA) อีกทั้งเป็นวิธีที่องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาให้การรับรองในการใช้เป็นวิธี

ตรวจหาระดับวิตามินดีได้ และเมื่อเร็วๆนี้ก็ได้มีการนำวิธี electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) มาใช้กับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติในการตรวจหาระดับวิตามินดี[10,13,18,19] การศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการตรวจหาระดับวิตามินดีในซีรัมระหว่างวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน และวิธี electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) ซึ่งเป็นเทคนิคใหม่ล่าสุด

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

คณะผู้วิจัยได้ใช้ซีรัมที่แยกจากตัวอย่างเลือด (clotted blood) ของผู้มารับบริการในคลินิกตรวจสุขภาพของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ตั้งแต่วันที่ 3 กรกฎาคม 2555 ถึงวันที่ 23 สิงหาคม 2555 รวมจำนวน 70 ราย มาตรวจหาระดับวิตามินดีด้วยวิธี ECLIA โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Modular E170 ที่งานอิมมูโนวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ และนำตัวอย่างซีรัมที่เหลือส่งไปตรวจหาระดับวิตามินดีโดยวิธี HPLC ที่บริษัทเนชั่นแนล เฮลท์แคร์ ซิสเท็มส์ จำกัด (N Health) โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยในคนของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ เลขที่ 008/2555 และผู้เข้าร่วมโครงการทุกรายได้ลงชื่อให้ความยินยอมในแบบฟอร์มให้ทำการศึกษาของโครงการ

ซีรัมควบคุมคุณภาพ

การศึกษานี้ใช้ Elecsys Precicontrol Varia สองช่วงระดับ คือช่วงระดับต่ำ (PC V1) และช่วงระดับสูง (PC V2) เป็นซีรัมควบคุมคุณภาพของวิธี ECLIA โดยละลายซีรัมควบคุมคุณภาพด้วยน้ำกลั่นในปริมาณที่กำหนดตามเอกสารกำกับน้ำยา ตั้งทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง แบ่งใส่ cup แล้วเก็บแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะใช้

การตรวจหาระดับวิตามินดี

วิธี HPLC

เนื่องจากวิธีที่ใช้ตรวจหาระดับวิตามินดีในห้องปฏิบัติการของสถาบันมะเร็งแห่งชาติไม่ได้ใช้วิธี HPLC จึงต้องส่งไปทำการตรวจวิเคราะห์ที่บริษัทเนชั่นแนล เฮลท์แคร์ ซิสเท็มส์ จำกัด ซึ่งวิธี HPLC นี้เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมที่อยู่ในสภาวะของเหลว โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่ผ่านไปในเฟสอยู่กับที่ (column) ด้วยการชะหรือการพาของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งสารแต่ละชนิดจะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน สารผสมที่อยู่ในตัวอย่างจะถูกแยกออกจากกันได้ตามความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสที่เคลื่อนที่หรือเฟสที่อยู่กับที่ สารประกอบชนิดที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสที่อยู่กับที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง สารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด (detector) ให้ผลการตรวจเป็นโครมาโตแกรม (chromatogram) ของวิตามินดีสองและวิตามินดีสาม วิธี HPLC สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณโดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

การตรวจหาระดับวิตามินดีด้วยวิธี HPLC ของบริษัทเนชั่นแนล เฮลท์แคร์ ซิสเท็มส์ ใช้เครื่อง Agilent 1260 (ประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยมีขั้นตอนการทำตามเอกสารกำกับน้ำยาของบริษัท และมีช่วงการวัดระดับวิตามินดีสองและวิตามินดีสามที่ 3.0-500.0 และ 2.6-500.0 ng/ml ตามลำดับ

วิธี ECLIA

คณะผู้วิจัยใช้วิธี ECLIA โดยใช้หลักการ direct competitive electrochemiluminescence immunoassay ในการตรวจหาระดับวิตามินดีรวมทั้งหมด (25-hydroxyvitamin D) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Modular E170 (บริษัท Roche Diagnostics ประเทศเยอรมนี) โดยมีขั้นตอนการทำปฏิกิริยาตามเอกสารกำกับน้ำยาของบริษัทและมีช่วงการวัดที่ 3.0-70.0 ng/ml เครื่องจะคำนวณหาระดับวิตามินดีที่ได้จากการทดสอบให้โดยอัตโนมัติจากการเปรียบเทียบกับ calibration curve และใช้ precicontrol varia สองช่วงระดับ คือ ช่วงระดับต่ำ (PC V1) และช่วงระดับสูง (PC V2) เป็นสารควบคุมคุณภาพ

การทดสอบความแม่นยำ (precision) ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ Modular E170 ทำตามข้อกำหนดของ European Committee on Clinical Laboratory Standards (ECCLS)[20]

คุณสมบัติของเครื่องตรวจวิเคราะห์ Agilent 1260 (วิธี HPLC) และเครื่อง Modular E170 (วิธี ECLIA) ที่ใช้หาระดับวิตามินดีในการศึกษาครั้งนี้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของเครื่อง Agilent 1260 และ Modular E170 ในการใช้ตรวจหาระดับวิตามินดี

Principle	Agilent 1260 HPLC (chemical assay)	Modular E170 ECLIA (protein binding assay)
Sample volume (µl)	400	15
Test analysis	25-OH-Vitamin D2 and 25-OH-Vitamin D3	25-OH-Vitamin D (total vitamin D)
Measuring range (ng/ml)	D2 : 3.0-500.0 D3 : 2.6-500.0	3.0-70.0
Reference range (ng/ml)	> 30	> 30

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการบันทึกข้อมูลการตรวจวิเคราะห์และคำนวณค่าทางสถิติในการศึกษานี้ ใช้โปรแกรม Microsoft excel โดยหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ และใช้ paired t-test ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับวิตามินดีที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ทั้งสองวิธี โดยกำหนดให้ข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $P<0.05$

ผลการศึกษา

การทดสอบความแม่นยำ (precision) ของเครื่อง Modular E170

การทดสอบ within-run precision โดยใช้สารควบคุมคุณภาพ PC V1 เปรียบเทียบค่าที่ช่วงระดับต่ำได้ค่าเฉลี่ย (mean) 20.08 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) 0.77 ng/ml และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ร้อยละ 3.83 และใช้สารควบคุมคุณภาพ PC V2 เปรียบเทียบค่าที่ช่วงระดับสูง ได้ค่าเฉลี่ย (mean) 43.16 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) 0.77 ng/ml และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ร้อยละ 1.78

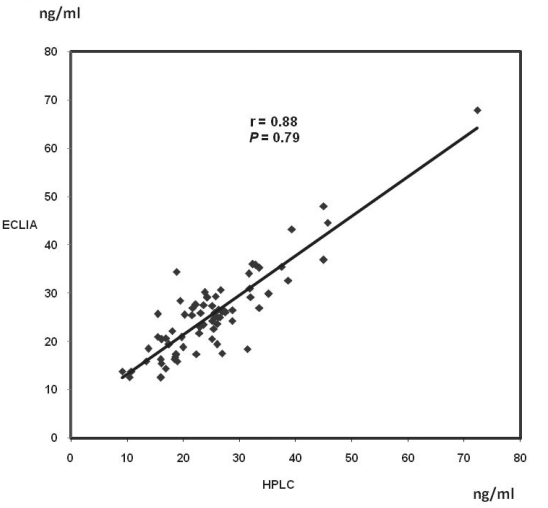
การทดสอบ between-run precision โดยใช้สารควบคุมคุณภาพ PC V1 เปรียบเทียบค่าที่ช่วงระดับต่ำ ได้ค่าเฉลี่ย (mean) 19.37 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) 1.17 ng/ml และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ร้อยละ 6.05 และใช้สารควบคุมคุณภาพ PC V2 เปรียบเทียบค่าที่ช่วงระดับสูง PC V2 ได้ค่าเฉลี่ย (mean) 40.90 ng/ml ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) 1.38 ng/ml และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ร้อยละ 3.36

ระดับวิตามินดีในซีรัม

ซีรัมที่แยกได้จากตัวอย่างเลือดผู้มารับบริการทั้ง 70 ราย ไม่พบ hemolysis และ lipemia ระดับวิตามินดีที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากวิธี HPLC มีค่าอยู่ระหว่าง 9.15-72.31 ng/ml ค่าเฉลี่ย 25.22 (± 9.82) ng/ml และวิธี ECLIA มีค่าอยู่ระหว่าง 12.53-67.95 ng/ml ค่าเฉลี่ย 25.63 (± 9.12) ng/ml

ความสัมพันธ์ระหว่างวิธี HPLC และวิธี ECLIA

การทดสอบความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์หาระดับวิตามินดีในซีรัมระหว่างวิธี HPLC และวิธี ECLIA โดยใช้ paired t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P=0.79) 95% CI อยู่ระหว่าง -2.79 ถึง 3.61 และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.88 (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 การเปรียบเทียบผลการตรวจหาระดับวิตามินดีระหว่างวิธี HPLC และวิธี ECLIA

วิจารณ์และสรุป

จากการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ระดับวิตามินดีในซีรัมระหว่างวิธี HPLC และวิธี ECLIA ในการศึกษานี้พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกัน (P=0.79) และช่วง 95% CI เท่ากับ -2.79 ถึง 3.61 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ครอบคลุม 0 แสดงถึงความไม่แตกต่างกันระหว่างค่าเฉลี่ยของระดับวิตามินดีที่ได้จากการตรวจโดยทั้งสองวิธีดังกล่าว

วิตามินดีทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลของระดับแคลเซียมในเลือดและในกระดูก[21] ดังนั้นใน

อดีตผู้คนส่วนใหญ่มักจะนึกถึงความสำคัญของวิตามินดีในด้านที่เกี่ยวข้องกับโรคกระดูกเพียงอย่างเดียว แต่ในปัจจุบันมีการศึกษาพบความสัมพันธ์ของวิตามินดีกับภาวะต่างๆ เช่น ในโรคเบาหวาน ความดันโลหิต และโรคหัวใจ เป็นต้น[11,18] นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ที่มีระดับวิตามินดีในร่างกายสูง มีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งรังไข่ มะเร็งตับอ่อน และมะเร็งเต้านมน้อยกว่าผู้ที่มีระดับวิตามินดีต่ำ[2,22-25] เช่นการศึกษาในมะเร็งเต้านมพบว่าระดับวิตามินดีในเลือดที่สูงกว่า 40 ng/ml (100 nmol/L) จะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมได้ถึงร้อยละ 30[26] และยังพบว่าผู้ป่วยมะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งต่อมลูกหมากที่มีระดับวิตามินดีในร่างกายสูงมีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่าผู้ป่วยที่มีระดับวิตามินดีต่ำ[27] ดังนั้นจึงมีผู้ให้ความสนใจศึกษาภาวะวิตามินดีในร่างกายเพื่อที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในแง่ของการป้องกันและควบคุมโรคต่างๆ กันมากขึ้น

การตรวจหาระดับวิตามินดีสามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่เลือกใช้ต้องคำนึงถึงความถูกต้องความแม่นยำของการทดสอบเป็นอันดับแรก และควรพิจารณาปัจจัยอื่นๆประกอบด้วย เช่น เวลาที่ใช้ในการทดสอบ ค่าใช้จ่ายที่ต้องไม่สูงมากนัก ขณะเดียวกันก็จะต้องมีความสะดวก ไม่ยุ่งยากซับซ้อนเกินไปที่จะนำมาใช้ทำการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำได้

การตรวจวิเคราะห์ระดับวิตามินดีด้วยวิธี HPLC เป็นวิธีมาตรฐานที่ให้ผลการตรวจไม่ต่างจากวิธี LC-MS/MS ซึ่งเป็นวิธีอ้างอิง แต่มีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อนและมีค่าใช้จ่ายสูง อย่างไรก็ตามวิธี ECLIA ซึ่งเริ่มนำมาใช้ในการตรวจหาระดับวิตามินดีในห้องปฏิบัติการของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ เป็นการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องอัตโนมัติโดยมีขั้นตอนไม่ซับซ้อนและค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธี HPLC มาก ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงได้เปรียบเทียบผลการตรวจหาวิตามินดีระหว่างวิธี ECLIA ที่ใช้อยู่กับวิธีมาตรฐาน ซึ่งผลการศึกษาพบว่าทั้งสองวิธีให้ผลไม่แตกต่างกัน (P=0.79) ดังนั้นวิธี ECLIA จึงน่าจะเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งของห้องปฏิบัติการที่จะนำมาใช้สำหรับการตรวจหาระดับวิตามินดีในงานประจำได้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินบำรุงของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 และขอขอบคุณ ดร.สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์ หัวหน้ากลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. รายงานทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล (Hospital-Based Cancer Registry 2010), ความรู้โรคมะเร็ง. Available at: http://www.nci.go.th. Accessed August 31, 2012.
2. Lin J, Manson JE, Lee IM, Cook NR, Buring JE, Zhang SM. Intakes of calcium and vitamin D and breast cancer risk in women. Arch Intern Med 2007;28: 1050-9.
3. Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Grant WB, Giovannucci EL, Lipkin M, et al. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. J Steroid Biochem Mol Biol 2007;103:708-11.
4. Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Garland FC. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. Ann Epidemiol 2009;19:468-83.

5. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Koo J, Hood N. Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer. J Clin Oncol 2009;27:3757-63.
6. Chlebowski RT. Vitamin D and breast cancer: interpreting current evidence. Breast Cancer Res 2011; 13:217.
7. Peppone LJ, Rickles AS, Janelsins MC, Insalaco MR, Skinner KA. The association between breast cancer prognostic indicators and serum 25-OH vitamin D levels. Ann Surg Oncol 2012;19:2590-9.
8. Haste S, Lambrechts D, Verstuyf A, Smeets A, Brouwers B, Vandorpe T, et al. Vitamin D status at breast cancer diagnosis: correlation with tumor characteristics, disease outcome, and genetic determinants of vitamin D insufficiency. Carcinogenesis 2012;33:1319-26.
9. Vitamin D and cancer prevention: Strengths and limits of the evidence. Available at: http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/prevention/vitamin-D. Accessed September 11, 2012.
10. Wagner D, Hanwell HE, Vieth R. An evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. Clin Biochem 2009;42:1549-56.
11. Jafri L, Khan AH, Siddiqui AA, Mushtaq S, Iqbal R, Ghani F, et al. Comparison of high performance liquid chromatography, radio immunoassay and electrochemiluminescence immunoassay for quantification of serum 25 hydroxy vitamin D. Clin Biochem 2011;44:864-8.
12. Vogeser M, Kyriatsoulis A, Huber E, Kobold U. Candidate reference method for the quantification of circulating 25-hydroxyvitamin D3 by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Clin Chem 2004;50:1415-7.
13. Wootton AM. Improving the measurement of 25-hydroxyvitamin D. Clin Biochem Rev 2005; 26:33-6.
14. Hart GR, Furniss JL, Laurie D, Durham SK. Measurement of vitamin D status: background, clinical use, and methodologies. Clin Lab 2006;52:335-43.
15. Schleicher RL. 25-hydroxyvitamin D assay analytical issues. Available at: http://www.iom.edu/~/media/Files/Activity%20Files/Nutrition/DRIVitDCalcium/Schleicher.ashx. Accessed September 20, 2012.
16. Hollis BW. Editorial: the determination of circulating 25-hydroxyvitamin D: no easy task. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:3149-51.
17. Carter GD. 25-hydroxyvitamin D assays: the quest for accuracy. Clin Chem 2009;55:1300-2.
18. Hollis BW, Horst RL. The assessment of circulating 25(OH)D and 1,25(OH)2D : Where we are and where we are going. J Steroid Biochem Mol Biol 2007; 103:473-6.
19. Rollins G. Vitamin D testing-What's the right answers. Clin Lab News 2009;35:1-9.
20. Haeckel R, Busch EW, Jennings RD, Kokholm G, Truchard A. Guidelines for the evaluation of analysers in clinical chemistry. European Committee for Clinical Laboratory Standards Documents 1986;3:7-8.
21. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. Mayo Clin Proc 2006 Mar;81:353-73.
22. Ahonen MH, Tenkanen L, Teppo L, Hakama M, Tuohimaa P. Prostate cancer risk and prediagnostic 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). Cancer Causes Control 2000;11:847-52.
23. McCullough ML, Robertson AS, Rodriguez C, Jacobs EJ, Chao A, Carolyn J, et al. Calcium, vitamin D, dairy products, and risk of colorectal cancer in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort (United States). Cancer Causes Control 2003;14:1-12.
24. Tworoger SS, Lee IM, Buring JE, Rosner B, Hollis BW, Hankinson SE. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of incident ovarian cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007;16:783-8.
25. Wolpin BM, Ng K, Bao Y, Kraft P, Stampfer MJ, Michaud DS, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer. Epidemiol Biomarkers Prev 2012;21:82-91.
26. Breast cancer patient friendly summary. Available at: http://www.vitamindcouncil.org/health-conditions/cancer/breast-cancer/. Accessed October 31, 2012.
27. Robsahm TE, Tretli S, Dahlback A, Moan J. Vitamin D3 from sunlight may improve the prognosis of breast-, colon- and prostate cancer (Norway). Cancer Causes Control 2004;15:149-58.

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 33 ฉบับที่ 1
มกราคม–มีนาคม 2556

ความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระของผู้มารับการตรวจสุขภาพ ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

อนุพงษ์ ไชยมูล

บทคัดย่อ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระ ที่เก็บที่อุณหภูมิ 30˚ซ และในตู้เย็นอุณหภูมิ 4˚ซ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน และตรวจหาระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บในน้ำยาบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบิน ด้วยน้ำยาตรวจหาเลือดในอุจจาระโดยใช้วิธี fecal immunochemical test (FIT) ผลการศึกษาพบว่าฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บที่อุณหภูมิ 30˚ซ มีระดับคงเหลือร้อยละ 91.5, 83.6, 65.2, 54.3, 49.6, 43.5, 41.1, 36.9, 35.0 และ 24.5 เทียบกับระดับฮีโมโกลบินเริ่มต้น เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ ในขณะที่ระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บที่อุณหภูมิ 4˚ซ ลดลงเหลือร้อยละ 99.1, 97.5, 93.1, 83.9, 81.2, 80.8, 75.8, 74.5, 72.4 และ 59.9 ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ พบว่า การเก็บอุจจาระไว้ที่อุณหภูมิ 30˚ซ ระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระลดลงอย่างรวดเร็ว ในขณะที่การเก็บรักษาอุจจาระไว้ที่อุณหภูมิ 4˚ซ จะสามารถคงสภาพของฮีโมโกลบินได้ดีกว่า โดยที่อุณหภูมิ 30˚ซ จะรักษาระดับฮีโมโกลบินได้สูงกว่าร้อยละ 90 ได้เพียง 1 ชั่วโมง ในขณะที่การเก็บอุจจาระที่อุณหภูมิ 4˚ซ จะรักษาระดับฮีโมโกลบินให้สูงกว่าร้อยละ 90 ได้นานถึง 3 ชั่วโมง การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงข้อจำกัดและข้อควรระวังที่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจะต้องทราบและตระหนักถึงปัญหาของการเก็บตัวอย่าง ระยะเวลาการนำส่ง และอุณหภูมิของการเก็บรักษาตัวอย่างที่จะมีผลต่อระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระ และส่งผลกระทบต่อการตรวจวิเคราะห์ การแปลผลและการวินิจฉัยโรคของแพทย์ เพื่อนำมาปรับปรุงกระบวนการตรวจหาเลือดในอุจจาระให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้องมีคุณภาพ นอกจากนั้นการศึกษานี้ยังพบว่าการเก็บตัวอย่างอุจจาระในบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินของชุดน้ำยาตรวจวิเคราะห์สามารถรักษาความคงตัวของฮีโมโกลบินได้ในระดับสูงกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นได้นาน 5 วันโดยไม่ต้องแช่เย็น จึงเหมาะที่จะนำมาพิจารณาใช้ในการเก็บอุจจาระส่งตรวจหาเลือดในอุจจาระเพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีคุณภาพและผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยสูงสุด *(วารสารโรคมะเร็ง 2556;33:12-19.)*

คำสำคัญ: การตรวจหาเลือดในอุจจาระ วิธี fecal immunochemical test การส่งตรวจอุจจาระล่าช้า ความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระ

งานจุลทัศน์วิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

Stability of Hemoglobin in Feces of the Subjects at the National Cancer Institute

by **Anupong Chaiyamool**

Microscopy Section, Pathology Department, National Cancer Institute, Bangkok 10400.

Abstract **This study aimed to evaluate the stability of fecal hemoglobin from the samples stored at 30 °C and 4 °C for a various range of time periods as well as the sample preserved in liquid buffers. The results showed that the remaining percentages of hemoglobin in feces stored at 30 °C were 91.5, 83.6, 65.2, 54.3, 49.6, 43.5, 41.1, 36.9, 35.0 and 24.5; while the remaining percentages of hemoglobin in feces stored at 4 °C were 99.1, 97.5, 93.1, 83.9, 81.2, 80.8, 75.8, 74.5, 72.4 and 59.9 at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 and 24 hours after collecting, respectively. At the temperature of 30 °C, the hemoglobin level sharply decreased whereas the feces stored at 4 °C was able to maintain the better hemoglobin level. The hemoglobin level was maintained higher than 90 percent for 1 hour in feces stored at 30 °C and 3 hours in feces stored at 4 °C. Therefore, laboratory staff must be informed and aware of the sample collection problems, the transitional period and the temperature of storage which have an impact on feces hemoglobin level. In addition, the results in this study indicated that preserving feces in buffer could maintain hemoglobin for 5 days without refrigeration. Thus, preserving feces in buffer provides good quality and accuracy for fecal hemoglobin analysis and it could be the most beneficial to the patients.** *(Thai Cancer J 2013;33:12-19.)*

Keywords: fecal occult blood test, fecal immunochemical test, delayed sample return, stability of hemoglobin in feces

บทนำ

มะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นปัญหาทางการแพทย์และสาธารณสุขที่สำคัญ และเป็นโรคที่พบเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบอุบัติการณ์ของโรคสูงในทวีปอเมริกาเหนือ ยุโรปตอนเหนือ ยุโรปตะวันตก ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และญี่ปุ่น ซึ่งเป็นกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว อันเนื่องมาจากพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่มีไขมันสูง มีกากใยอาหารน้อย การดื่มสุรา สูบบุหรี่ รวมทั้งมลภาวะที่เป็นพิษ[1-3] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบว่ามะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นสาเหตุการตายมากเป็นอันดับสองในบรรดาโรคมะเร็งทั้งหมดรองจากมะเร็งปอด[4] ปัจจุบันคนไทยมีพฤติกรรมการใช้ชีวิตและบริโภคอาหารแบบชาวตะวันตกมากขึ้น ทำให้พบมะเร็งลำไส้ใหญ่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากรายงานสถิติโรคมะเร็งในประเทศไทยเมื่อปี 2547-2549 ในเพศชายพบอัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นอันดับสามรองจากมะเร็งตับ และมะเร็งปอด ส่วนในเพศหญิงพบอัตราการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นอันดับห้ารองจากมะเร็งเต้านม มะเร็งตับ มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งปอด[5] และจากรายงานทะเบียนมะเร็งของสถาบันมะเร็งแห่งชาติในปี 2553 พบมะเร็งลำไส้ใหญ่ในเพศชายมากเป็นอันดับสอง โดยพบร้อยละ 21.5 ของจำนวนผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ทั้งหมด ส่วนในเพศหญิงพบมากเป็นอันดับสาม (ร้อยละ 10.4)[6]

มะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นโรคมะเร็งที่สามารถรักษาให้หายได้ถ้าได้รับการตรวจวินิจฉัยและรักษาตั้งแต่ระยะเริ่มแรก โดยการค้นหามะเร็งลำไส้ใหญ่ตั้งแต่ก่อนที่อาการจะปรากฏด้วยการตรวจคัดกรอง

(screening) ซึ่งมีหลายวิธี ได้แก่ การตรวจทางทวารหนัก (digital rectal examination) การตรวจหาเลือดในอุจจาระ (fecal occult blood Test; FOBT) การสวนแป้งแบเรียมเพื่อการถ่ายภาพรังสี (barium enema) การส่องกล้อง sigmoidoscopy และการส่องกล้อง colonoscopy เนื่องจากมะเร็งลำไส้ใหญ่ในระยะแรกมักจะไม่มีอาการแสดง แต่ส่วนใหญ่จะพบเลือดปนออกมาในอุจจาระ การตรวจพบเลือดในอุจจาระจึงเป็นตัวบ่งชี้ความผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งนิยมใช้ในการตรวจคัดกรองมะเร็งลำไส้ใหญ่ เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ ผู้ป่วยไม่ต้องเจ็บตัว และเสียค่าใช้จ่ายน้อยมาก

ปัจจุบันการตรวจหาเลือดในอุจจาระมี 2 วิธี คือวิธี guaiac test และ fecal immunochemical test (FIT) สำหรับวิธี guaiac test นั้นเป็นการตรวจหาฮีม (heme) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหนึ่งของฮีโมโกลบิน โดยฮีมทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับน้ำยาตรวจ ซึ่งมีปัญหาเกิดผลบวกปลอมได้กับเนื้อสัตว์ ผัก ผลไม้ ยาและสารเคมีหลายชนิดที่สามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้เช่นเดียวกับฮีม จึงจำเป็นจะต้องมีการควบคุมอาหารก่อนการเก็บตัวอย่าง 2-3 วัน ส่วนวิธี FIT อาศัยปฏิกิริยาทางอิมมูโนที่จำเพาะกับโปรตีนโกลบิน (globin) ของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง การตรวจหาเลือดในอุจจาระด้วยวิธี FIT จึงได้รับความนิยมแพร่หลายกันมาก เนื่องจากมีความจำเพาะกับฮีโมโกลบินของคนเท่านั้นจึงลดปัญหาผลบวกปลอม อีกทั้งมีความไวสูงกว่าวิธี Guaiac และผู้ป่วยก็ไม่ต้องควบคุมอาหารก่อนการตรวจด้วย[7,8]

ในประเทศไทย การเก็บตัวอย่างอุจจาระเพื่อส่งตรวจหาเลือดในอุจจาระจะให้ผู้ป่วยเก็บอุจจาระเองโดยใส่กระป๋องพลาสติกสะอาดมีฝาปิด ไม่มีสารรักษาสภาพ แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้องปกติ ผู้ป่วยบางรายเก็บตัวอย่างอุจจาระภายในโรงพยาบาลหรือที่หอผู้ป่วย ในขณะที่บางรายเก็บมาจากบ้านที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติมีผู้เข้ารับการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งที่คลินิกตรวจสุขภาพวันละประมาณ 150-200 คน ซึ่งส่วนใหญ่มักจะเก็บอุจจาระมาจากบ้านในเวลาเช้าของวันนัดตรวจ กระบวนการตั้งแต่การเก็บตัวอย่าง การนำส่งตัวอย่าง จนถึงขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการในแต่ละรายจึงมีระยะเวลาที่แตกต่างกัน โปรตีนโกลบินซึ่งเป็นส่วนที่ทำปฏิกิริยากับน้ำยาตรวจวิเคราะห์มีความเสถียรต่ำสลายตัวได้อย่างรวดเร็วจากการย่อยสลายของแบคทีเรียที่มีอยู่ในอุจจาระ[9-11] ระยะเวลาในกระบวนการนำส่งและการตรวจวิเคราะห์จึงน่าจะมีผลกระทบต่อการตรวจหาเลือดในอุจจาระด้วยวิธี FIT ซึ่งอาจส่งผลต่อการแปลผล และการวินิจฉัยโรคของแพทย์ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระของผู้ที่มารับบริการตรวจสุขภาพที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ด้วยการตรวจหาเลือดในอุจจาระด้วยวิธี FIT ที่อุณหภูมิปกติและแช่เย็น โดยตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บที่อุณหภูมิ 30 ˚ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิโดยเฉลี่ยของประเทศไทย และ อุจจาระที่เก็บแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 ˚ซ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน และศึกษาความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บในบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินของชุดน้ำยาตรวจวิเคราะห์ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะใช้เป็นแนวทางในการกำหนดรูปแบบการเก็บตัวอย่างอุจจาระส่งตรวจหาเลือดในอุจจาระให้ถูกต้องเหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อไป

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างอุจจาระของผู้มารับบริการตรวจสุขภาพ ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติที่ให้ผลลบต่อการตรวจหาเลือดในอุจจาระจำนวน 140 ตัวอย่าง นำอุจจาระทั้งหมดมาเติมเลือดให้มีระดับฮีโมโกลบิน ที่แตกต่างกันครอบคลุมทุกระดับตั้งแต่ 15-1629 ng/ml ตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินในทุกตัวอย่างอุจจาระเป็นค่าเริ่มต้น แบ่งตัวอย่างออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มละ 70 ตัวอย่าง กลุ่มที่หนึ่ง เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 30˚ซ กลุ่มที่สองเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4˚ซ ตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินซ้ำในอุจจาระทั้งสองกลุ่ม ที่ช่วงเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงหลังจากวัดครั้งแรก การตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระจะเตรียมตัวอย่างอุจจาระให้อยู่ในสภาพที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยการเตรียมให้เป็นสารละลายในบัฟเฟอร์ที่มีมาพร้อมในชุดน้ำยาตรวจ การตรวจวัดทุกครั้งจะทำซ้ำสองครั้งและหาค่าเฉลี่ยเพื่อลดความคลาดเคลื่อนของการสุ่มตัวอย่างจากการกระจายตัวของเลือดในอุจจาระที่ไม่สม่ำเสมอ และลดความคลาดเคลื่อนของปริมาณอุจจาระที่สุ่มตรวจในแต่ละครั้ง

สุ่มตัวอย่างอุจจาระที่เติมเลือดแล้วมาจำนวน 30 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างอุจจาระกลุ่มนี้ในบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินของ ชุดน้ำยาตรวจหาเลือดในอุจจาระ ตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินในทุกตัวอย่างอุจจาระเป็นค่าเริ่มต้น แล้วเก็บตัวอย่างอุจจาระไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 30˚ซ และตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินซ้ำทุกวันจนกว่าระดับฮีโมโกลบินเหลือต่ำกว่าร้อยละ 90 ของค่าเริ่มต้น

การวัดระดับฮีโมโกลบินด้วยวิธี FIT

การวัดระดับฮีโมโกลบินในการศึกษาครั้งนี้ใช้หลักการ FIT ตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ NS-Plus (Infresa, ประเทศญี่ปุ่น) โดยหลักการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี FIT คือใช้ anti-human hemoglobin ที่จับกับ colloidal gold ตรวจจับ human hemoglobin (globin) ในอุจจาระ แล้ววัดความเข้มข้นของสีที่เกิด ค่าที่ได้มีหน่วยเป็น ng/ml

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

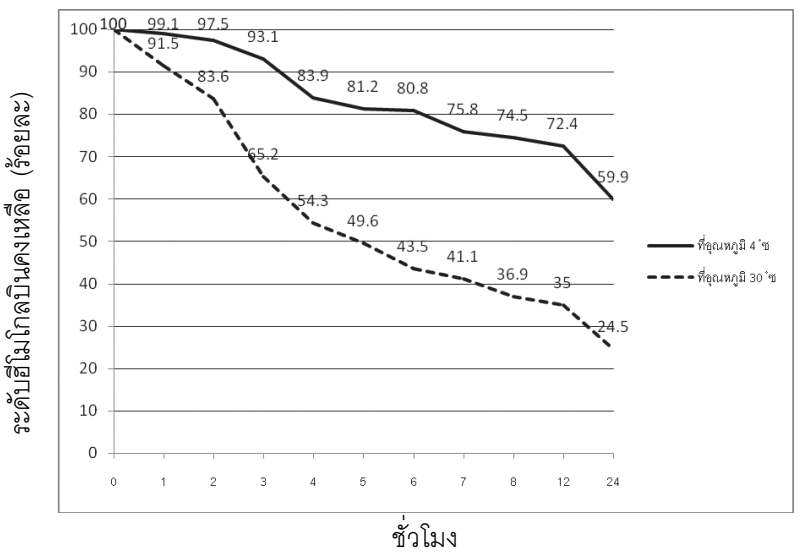
ในการศึกษานี้ ผู้วิจัยวิเคราะห์ค่าที่ได้จากการตรวจหาระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระของแต่ละกลุ่มตัวอย่างที่สภาวะต่าง ๆ เป็นร้อยละของระดับฮีโมโกลบินคงเหลือในแต่ละสภาวะเทียบกับระดับฮีโมโกลบินเริ่มต้น

ผลการศึกษา

จากการศึกษาความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระจากจำนวน 70 ตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 30˚ซ และที่เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4˚ซ อีก 70 ตัวอย่าง พบว่าระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30˚ซ ลดลงเหลือร้อยละ 91.5, 83.6, 65.2, 54.3, 49.6, 43.5, 41.1, 36.9, 35.0 และ 24.5 เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อเทียบกับระดับฮีโมโกลบินเริ่มต้น ส่วนระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4˚ซ ลดลงเหลือร้อยละ 99.1, 97.5, 93.1, 83.9, 81.2, 80.8, 75.8, 74.5, 72.4 และ 59.9 เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อเทียบกับระดับฮีโมโกลบินเริ่มต้น (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 1)

ตารางที่ 1 ระดับฮีโมโกลบินคงเหลือในอุจจาระที่เวลาต่างๆ คิดเป็นร้อยละเทียบกับระดับฮีโมโกลบินที่เวลาเริ่มต้น ในอุจจาระเก็บที่อุณหภูมิ 30°ซ และ อุจจาระเก็บที่อุณหภูมิ 4°ซ

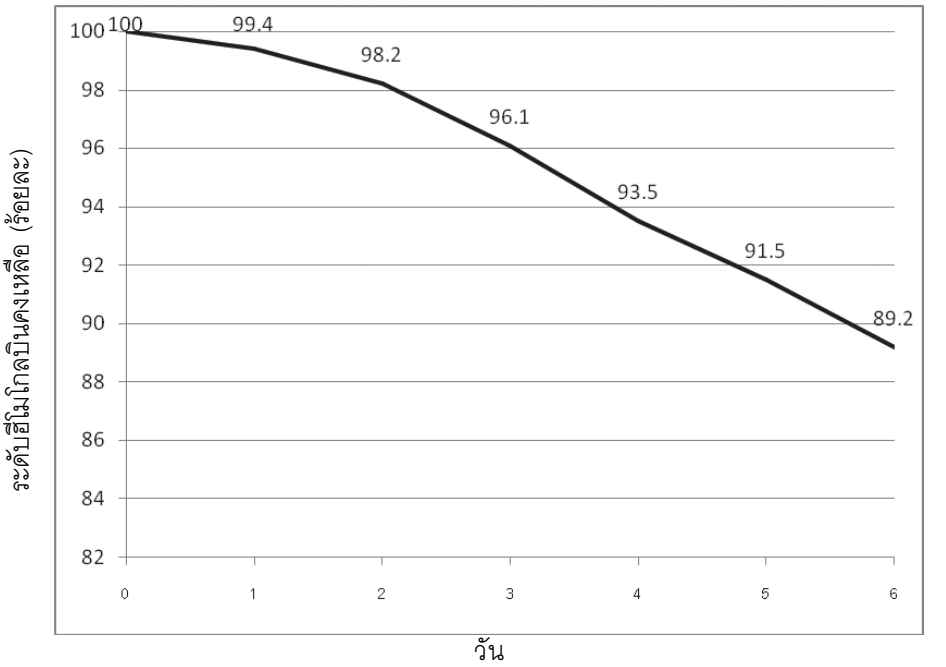
เวลา (ชั่วโมง)	ระดับฮีโมโกลบินคงเหลือ (ร้อยละ)	
	อุณหภูมิ 30°ซ	อุณหภูมิ 4°ซ
0	100	100
1	91.5	99.1
2	83.6	97.5
3	65.2	93.1
4	54.3	83.9
5	49.6	81.2
6	43.5	80.8
7	41.1	75.8
8	36.9	74.5
12	35.0	72.4
24	24.5	59.9



รูปที่ 1 แสดงระดับร้อยละฮีโมโกลบินคงเหลือในอุจจาระที่อุณหภูมิ 30°ซ และ 4°ซ

ระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เตรียมในบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินของชุดน้ำยาตรวจจำนวน 30 ตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30°ซ ลดลงเหลือต่ำกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับระดับฮีโมโกลบินเริ่มต้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน (รูปที่ 2)

เมื่อเปรียบเทียบความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บในสภาวะต่างๆ พบว่า ที่อุณหภูมิ 30°ซ สามารถคงสภาพฮีโมโกลบินในอุจจาระให้เหลือที่ระดับไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับระดับฮีโมโกลบินเริ่มต้นได้นาน 1 ชั่วโมง ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 ได้นาน 2 ชั่วโมง ในขณะที่การเก็บรักษาอุจจาระไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°ซ สามารถรักษาระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระให้เหลือไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 ได้นาน 3 ชั่วโมง และที่ระดับไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 ได้นาน 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) และการเก็บอุจจาระในบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินของชุดน้ำยาตรวจวิเคราะห์โดยเก็บที่อุณหภูมิ 30°ซ สามารถคงสภาพฮีโมโกลบินให้มีระดับเหลือไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 ได้นาน 5 วัน (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงร้อยละของระดับฮีโมโกลบินคงเหลือในอุจจาระที่เก็บในบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบิน

วิจารณ์และสรุป

การตรวจหาเลือดในอุจจาระเป็นการตรวจคัดกรองมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่ดีที่สุด เนื่องจากทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว เหมาะในการใช้เป็นการตรวจคัดกรองในประชากรกลุ่มใหญ่ ไม่ต้องใช้เครื่องมือและผู้เชี่ยวชาญพิเศษ และราคาไม่แพง สามารถค้นพบมะเร็งลำไส้ใหญ่ในระยะเริ่มแรก ได้ก่อนที่จะมีอาการแสดง ซึ่งเป็นระยะที่สามารถรักษาให้หายขาดได้ มีรายงานพบว่าการตรวจหาเลือดในอุจจาระสามารถลดอัตราการตายจากโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ถึงร้อยละ15-33[12,13]

การตรวจหาเลือดในอุจจาระด้วยวิธี FIT ซึ่งเป็นการตรวจจับโปรตีน globin ในเม็ดเลือดแดง เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความจำเพาะและความไวสูง แต่มีข้อจำกัดของการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากโปรตีน globin สลายตัว

ได้ง่าย จากแบคทีเรียในอุจจาระและในสภาพแวดล้อมที่เปียกชื้น[9-11] จากผลการศึกษานี้พบว่าระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บที่อุณหภูมิ 30˚ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิโดยเฉลี่ยของประเทศไทยลดลงอย่างรวดเร็ว โดยลดลงเหลือร้อยละ 91.5 เมื่อเทียบกับระดับฮีโมโกลบินเริ่มต้นเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง และลดลงเหลือร้อยละ 83.6 เมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง และอุจจาระที่เก็บที่อุณหภูมิ 4˚ซ มีระดับฮีโมโกลบินลดลงเหลือร้อยละ 93.1 เมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมง และลดลงเหลือร้อยละ 83.9 เมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าการเก็บอุจจาระโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4˚ซ สามารถคงสภาพฮีโมโกลบินได้นานขึ้น ดังนั้นเพื่อให้ผลการตรวจหาเลือดในอุจจาระได้ผลที่ถูกต้องสามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ การตรวจวิเคราะห์หาเลือดในอุจจาระที่เก็บที่อุณหภูมิ 30˚ซ หรืออุณหภูมิปกติควรจะนำอุจจาระส่งและตรวจวิเคราะห์ทันทีภายใน 1 ชั่วโมง แต่ถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4˚ซ สามารถเก็บได้นาน 3 ชั่วโมง

โดยทั่วไป เมื่อมีการสั่งตรวจหาเลือดในอุจจาระจะให้ผู้ป่วยเก็บตัวอย่างอุจจาระใส่กระป๋องที่ปราศจากสารรักษาสภาพ นำส่งห้องปฏิบัติการในอุณหภูมิปกติ ซึ่งจะมีทั้งผู้ป่วยที่เก็บตัวอย่างภายในโรงพยาบาลและเก็บมาจากบ้าน ระยะเวลาตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างจนถึงการนำส่งห้องปฏิบัติการจึงแตกต่างหลากหลาย เป็นการยากที่จะควบคุมให้มีการนำส่งตัวอย่างและทำการตรวจวิเคราะห์ได้ภายในเวลา 1 ชั่วโมง การตรวจหาเลือดในอุจจาระด้วยวิธี FIT ไม่ว่าจะเป็นการตรวจด้วยชนิดแถบตรวจ (immunochromatography) ที่รายงานผลการตรวจเป็น positive/negative หรือด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (automated immunochemical) ที่รายงานผลระดับฮีโมโกลบินเป็น ng/ml จะมีค่า cutoff ตามโรงงานผู้ผลิตหรือตามที่ผู้ใช้กำหนด การนำส่งตัวอย่างหรือการตรวจวิเคราะห์ล่าช้าอาจทำให้ระดับฮีโมโกลบินในอุจจาระลดลงจนต่ำกว่าค่า cutoff ที่กำหนดไว้ ทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์เกิดผลลบปลอม (false negative) ได้ เป็นเหตุให้วินิจฉัยโรคผิดพลาดซึ่งเป็นผลเสียต่อผู้ป่วยที่ต้องสูญเสียโอกาสในการตรวจพบความผิดปกติในระบบทางเดินอาหารและสูญเสียโอกาสที่จะได้รับการรักษาพยาบาลอย่างทันท่วงที

ในชุดน้ำยาตรวจหาเลือดในอุจจาระด้วยวิธี FIT จะมีขวดบัฟเฟอร์สำหรับเก็บตัวอย่างอุจจาระมาพร้อมในชุดการตรวจ บัฟเฟอร์นี้ใช้สำหรับเตรียมอุจจาระให้เป็นของเหลวเพื่อให้สามารถทำการตรวจวิเคราะห์ได้และมีคุณสมบัติช่วยรักษาสภาพฮีโมโกลบินให้คงตัวอยู่ได้นาน จากการศึกษาการเก็บตัวอย่างอุจจาระในบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินของชุดน้ำยาตรวจ สามารถรักษาระดับฮีโมโกลบินให้มีค่าสูงเทียบเท่าค่าเริ่มต้นและคงสภาพฮีโมโกลบินให้มีระดับมากกว่าร้อยละ 90 ได้นานถึง 5 วันโดยไม่จำเป็นต้องแช่เย็น สอดคล้องกับการศึกษาของ Brown LF และคณะ[9] ที่พบว่าอุจจาระที่เก็บในบัฟเฟอร์สามารถรักษาระดับฮีโมโกลบินได้นาน 7 วันในอุณหภูมิปกติ Van Roon HC และคณะ[11] ได้ศึกษาความคงตัวของฮีโมโกลบินในอุจจาระที่เก็บในบัฟเฟอร์พบว่าบัฟเฟอร์สามารถคงสภาพฮีโมโกลบินให้สูงในระดับที่ตรวจวัดให้ผลบวกได้นาน 10 วันและพบว่าระดับฮีโมโกลบินลดลงโดยเฉลี่ยต่อวันร้อยละ 5.88 จะเห็นได้ว่าการเก็บตัวอย่างอุจจาระด้วยบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินสามารถรักษาระดับฮีโมโกลบินได้นานหลายวัน

แตกต่างกันไปตามแต่ละผลิตภัณฑ์ จึงเหมาะที่จะนำมาให้ผู้ป่วยใช้เก็บตัวอย่างอุจจาระแทนการเก็บใส่กระป๋องแบบเดิม จะทำให้ได้ตัวอย่างส่งตรวจที่มีคุณภาพ รักษาสภาพฮีโมโกลบินให้คงตัวได้ในระดับสูงได้นานหลายวัน ผู้ป่วยสามารถเก็บตัวอย่างที่บ้านส่งทางไปรษณีย์ได้ การเก็บอุจจาระด้วยบัฟเฟอร์รักษาสภาพฮีโมโกลบินส่งตรวจหาเลือดในอุจจาระจะทำให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง เชื่อถือได้ เป็นประโยชน์ต่อแพทย์และผู้ป่วยอย่างแท้จริง

เอกสารอ้างอิง

1. Wilmink AB. Overview of the epidemiology of colorectal cancer. Dis Colon Rectum 1997;40:483-93.
2. Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. CA Cancer J Clin 2009;59:366-78.
3. Ghadirian P, Lacroix A, Maisonneuve P, Perret C, Potvin C, Gravel D, et al. Nutritional factors and colon carcinoma: a case control study involving French Canadians in Montreal, Quebec, Canada. Cancer (Phila) 1997;80:858-64.
4. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin 2009;59:225-49.
5. Khuhaprema T, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Sangrajrang S, editors. Cancer in Thailand. Vol. VI, 2004-2006. Bangkok; 2012.
6. Attasara P, Buasom R, editors. Hospital-Base Cancer Registry 2010. National Cancer Institute, Thailand; 2011.
7. Allison JE, Tekawa IS, Ransom LJ, Adrain AL. A comparison of fecal occult blood tests for colorectal-cancer screening. N Engl J Med 1996;334:155-9.
8. Nakama H, Kamijo N, Miyata K, Abdul Fattah AS, Zhanq B, Uehara Y. Sensitivity and specificity of several immunochemical tests for colorectal cancer. Hepatogastroenterology 1998;45:1579-82.
9. Brown LF, Fraser CG. Effect of delay in sampling on haemoglobin determined by faecal immunochemical tests. Ann Clin Biochem 2008;45:604-5.
10. Van Rossum LG, van Rijn AF, van Oijen MG, Fockens P, Laheij RJ, Verbeek AL, et al. False negative fecal occult blood tests due to delayed sample return in colorectal cancer screening. Int J Cancer 2009;125:746-50.
11. van Roon AH, Hol L, van Vuuren AJ, Francke J, Ouwendijk M, Heijens A, et al. Are fecal immunochemical test characteristics influenced by sample return time? A population-based colorectal cancer screening trial. Am J Gastroenterol 2012;107;99-107.
12. Hardcastle JD, Chamberlain JO, Robinson MH, Moss SM, Amar SS, Balfour TW, et al. Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer. Lancet 1996;348:1472-7.
13. Hewitson P, Glasziou P, Watson E, Towler B, Irwig L. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemoccult): an update. Am J Gastroenterol 2008;103:1541-9.

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
Volume 33 No. 1
January-March 2013

Comparison of Selenium Levels in Patients with Osteosarcoma and Healthy Subjects in Thailand

Watcharee Attatippaholkun[1]
Kornwipa Wikainapakul[1]
Lerson Suwannathon[2]
Apichat Asavamonkolkul[3]
Sirirat Tansakul[4]

Abstract **Selenium (Se) is an unusual trace element which has its genetic code in mRNA specified as selenomethionine in food and identified as selenocysteine (21st amino acid) which is often an insertion of several selenoproteins. Selenium has been linked to cancer risk due to the basis of several key selenoprotein enzymes including glutathione peroxidases and thioredoxin reductases that have antioxidant effects. This study aimed to evaluate the Se level of healthy Thai subjects and compare it with that of the osteosarcoma patients. The plasma Se levels of 224 healthy subjects including 97 males and 127 females aged 10 to >50 years as well as 145 osteosarcoma patients aged 10-29 years in Thailand were analysed by the method of Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS) with Zeeman background correction. The findings indicated that the plasma Se levels of healthy subjects aged 10-29 years were not significantly different among males and females but they were significantly lower than those of ages 30 to over 50 years (P<0.05). The females showed their plasma Se levels significantly lower than males with the same age ranges of 30 to above 50 years (P<0.05). The plasma Se levels of patients with osteosarcoma were found to be significantly lower than those of healthy controls with the same ranges of age 10-29 years (P<0.05). These findings may be helpful for further investigations on selenium supplementation for cancer prevention and improvement of clinical outcomes in cancer treatment.** *(Thai Cancer J 2013;33:20-27.)*

Keywords: selenium, cancer prevention, osteosarcoma

[1]Department of Clinical Chemistry, [2]Excellence Service Center for Medical Technology and Quality Improvement, Faculty of Medical Technology, [3]Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, [4]Pathology Department, National Cancer Institute, Bangkok.

การเปรียบเทียบระดับซิลิเนียมในผู้ป่วยมะเร็งกระดูกกับคนปกติ

โดย **วัชรี อัตถทิพพหลคุณ[1], กรวิภา วิกัยนภากุล[1], เลอสรร สุวรรณฑล[2], อภิชาติ อัศวมงคลกุล[3], ศิริรัตน์ ตันสกุล[4]**

[1]ภาควิชาเคมีคลินิก, [2]ศูนย์ความเป็นเลิศการบริการ สุขภาพและมาตรฐานวิชาชีพ คณะเทคนิคการแพทย์, [3]ภาควิชาศัลยศาสตร์ออร์โธปิดิคส์และกายภาพบำบัด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, [4]กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ ซิลิเนียมเป็นธาตุสำคัญที่มีรหัสพันธุกรรมพิเศษกำหนดคู่สมบนสายเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) เป็นกรดอะมิโนซิลิโนเมทไธโอนีน (selenomethionine) ในอาหารโปรตีน และเป็นซิลิโนซีสเตอีน (selenocysteine) ซึ่งนับเป็นกรดอะมิโนชนิดที่ 21 ของซิลิโนโปรตีนหลายชนิด (selenoproteins) ธาตุซิลิเนียมมีความเชื่อมโยงกับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งเนื่องจากซิลิโนโปรตีนมีหน้าที่เป็นเอ็นไซม์หลายชนิด รวมทั้งกลูธาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidases) และ ไธโอรีดอกซินรีดัคเตส (thioredoxin reductases) ที่มีผลต่อการกำจัดสารอนุมูลอิสระ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาระดับซิลิเนียมในพลาสมาของคนปกติและผู้ป่วยมะเร็งกระดูก และเปรียบเทียบผลที่ได้โดยการตรวจวิเคราะห์ระดับธาตุซิลิเนียมในพลาสมาของคนไทยปกติที่มีสุขภาพแข็งแรงอายุระหว่าง 10->50 ปี จำนวน 224 ราย เป็นชาย 97 ราย หญิง 127 ราย และผู้ป่วยมะเร็งกระดูก (osteosarcoma) อายุระหว่าง 10-29 ปี จำนวน 145 ราย ด้วยวิธี Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS) with Zeeman background correction ผลจากการศึกษาพบว่าระดับธาตุซิลิเนียมในพลาสมาของคนปกติเพศหญิง และชายอายุระหว่าง 10-29 ปี มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีค่าต่ำกว่าคนปกติอายุระหว่าง 30->50 ปี (P<0.05) และหญิงปกติอายุระหว่าง 30->50 ปี มีระดับธาตุซิลิเนียมในพลาสมาต่ำกว่าเพศชาย (P<0.05) ระดับธาตุซิลิเนียมในพลาสมาของผู้ป่วยมะเร็งกระดูกมีค่าต่ำกว่าคนปกติที่มีอายุช่วงเดียวกัน (10-29 ปี) (P<0.05) ผลการศึกษานี้มีประโยชน์นำไปสู่การศึกษาค้นหาองค์ความรู้ในการเสริมธาตุซิลิเนียมเพื่อการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งและเพิ่มคุณภาพการรักษาผู้ป่วยมะเร็งต่อไป *(วารสารโรคมะเร็ง 2556;33:20-27.)*

คำสำคัญ: ซิลีเนียม การป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง มะเร็งกระดูก

Introduction

Over the past two decades, an intense controversy over the benefits and toxic aspects of selenium (Se) in human nutrition are not yet well understood. Selenium was thought to be toxic and not necessary to human health. However, recently it has been reclassified as an essential micronutrient necessary to human health and it is required for a balanced human diet. It might also be harmful for human when the taken in excess[1].

The most common inorganic selenium forms are selenite and selenate, while the major organic forms are selenocysteine and selenomethionine. Selenium is an unusual trace element in having its own codon in mRNA that specifies as the 21st amino acid (selenocysteine: SeCys) insertion in selenoproteins[2] and many of which have vital enzyme functions in the body. In addition, Selenium can replace sulfur in methionine, forming selenomethionine which can be incorporated non-specifically into proteins in place of methionine. Selenium is the basis of several key selenoprotein enzymes that have antioxidant effects such as glutathione peroxidase (GSH-Px), thioredoxin reductase (TR) and selenoprotein P(SeP)[3]. It has now been recognized that all these

enzymes are selenium-dependent, generally with selenocysteine at the active site. About 35 selenoproteins have been identified, although many have roles that have not yet been fully elucidated.

While oxygen is fundamental to the processes of human life, especially for the release of energy from fuel supplied by the diet, particularly, in the form of its reactive oxygen species (ROS), it can cause damage, resulting in mutagenesis, carcinogenesis, circulatory disturbances and ageing. Oxidative damage to tissues caused by ROS has been implicated in the aetiology of a number of major diseases including cancer[4]. Selenium plays important roles in the body's protective mechanisms that prevent oxygen from showing its sinister side and is also essential for normal functioning of the immune system and thyroid gland. The antioxidative activity of organoselenium compounds is believed to be based on the prominent role that selenium plays in many enzymes of the oxidative defense system[5]. Glutathione peroxidase catalyzes the oxidation of reduced glutathione and allows for the reduction of hydrogen peroxide to water, preventing lipid peroxidation and cellular damage. Thioredoxin reductase, another selenoenzyme that acts as an antioxidant, is found in all tissues. As a major component of the antioxidant system, thioredoxin reductase is responsible for degrading peroxides and hydroperoxides outside cell membranes. Peroxides and hydroperoxides have been shown to cause cell death, DNA damage, and tissue atrophy.

Dietary constituents have been reported to play vital roles in the development or prevention of cancer[6]. Selenium enters the food chain through plants, which take it up from the soil. The soil selenium content, which varies by region, determines the amount of selenium in plant foods. In most countries the major dietary sources of selenium are foods of plant origin. Selenium deficiency has therefore been identified in parts of the world notable for their low soil content of selenium[7].

A variety of analytical methods including fluorometry, neutron activation analysis (NAA), atomic absorption spectroscopy (AAS), inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES), inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS), gas chromatography (GC), spectrophotometry, X-ray and fluorescence analysis can be used to determine the selenium concentrations (ng/g) in plasma, serum, urine, and blood. Graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GFAAS) offers high sensitivity (5x10-11 g selenium/g sample), but interference from the matrix can cause significant difficulties. GFAAS techniques require correction for background absorption. Therefore, the Zeeman-effect back-

ground correction is necessary for the determination of selenium in blood and blood products when GFAAS is used because a spectral interference from iron occurs at the selenium wavelength that cannot be corrected by a deuterium continuum source[8].

Despite its biological importance in human health, data on selenium in healthy subjects and cancer patients are still very limited, particularly in Asian countries, including Thailand. In the present study, plasma selenium of healthy subjects and cancer patients in Thailand were assayed by Graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GFAAS) with the Zeeman-effect background correction[8]. The comparison was performed between plasma Se levels of healthy subjects and patients with osteosarcoma.

Materials and Methods

Human specimen collection

Healthy Thai subjects in this study had applied in the check-up program of the National Cancer Institute, Bangkok, Thailand. All of them (N=224) aged 10-75 years, comprising of 97 females and 127 males. These healthy Thais were defined by physical examination, laboratory examination and historical questionnaires without consideration of occupation or hometown origin. Patients with osteocarcinoma (N=145) aged 10-29 years herein were from Rajavithi Hospital, Bangkok, Thailand. All the presented subjects were accepted to participate after they signed on the informed consent. The Ethical Committees of the National Cancer Institute and Rajavithi Hospital, Bangkok, Thailand approved the research protocol for this study.

Plasma selenium assessment

In the present study, blood samples were collected after a 12-hour fasting period. Heparinized plasma samples were used for selenium assay by the method of Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS) with Zeeman background correction[8]. The selenium assessment was done by Varian Spectra AA 220 Zeeman equipped with a GTA 110 graphite furnance and PSD-100 autosampler (Varian Australia Pty Ltd., Australia). The instrument parameters were: 196.0-nm wavelength, 1.0-nm slit width, co-injection mode, peak height in measurement mode. All the glasswares and plasticwares were washed with 5% (v/v) nitric acid, rinsed with ultrapure water and finally dried at 60°c in a hot air oven. High-quality water, obtained using a Milli-Q system (Millipore), was used exclusively. All the chemicals used were of the highest purity available. All the plasma samples were stored in the selenium free-plastic tubes and kept at -20°C until analyzed. Each plasma sample (50μl) was added with matrix modifier containing 1% (v/v) $NiNO_3$ and 2% (v/v)

Triton-X-100, to reach the final concentration of 1000 μg Ni/ml and 0.1% (v/v) Triton-X-100. Samples were measured in triplicate. Appropriate blank measurements were obtained by repeating the procedure in the absence of the selenium standard solution.

Statistical analysis

All values of plasma selenium levels were presented as mean±standard deviation (SD). Differences between means were assessed with Students't-test. A value level of $P<0.05$ was considered as statistically significant.

Results

The procedure for the direct determination of total selenium in heparinized plasma by the method of electrothermal atomic absorption spectrometry with Zeeman-based correction for the high background signals were used herein. Each diluted sample containing 0.1% (w/v) Triton X-100 was introduced directly into the electrothermal atomizer. Calibration was carried out using the standard additions method. The detection limit was 30 pg selenium. Prior to usage, all the glasswares, plasticwares and chemicals were examined and proved to be free of selenium.

The plasma Se levels of 224 clinically healthy subjects including 97 males and 127 females with the age range of 10 to above 50 years were firstly presented in this study. Our findings in Table 1 demonstrated that no significant difference was found in the plasma Se levels between the males and females (110.20±22.60 and 105.14±18.03, respectively) at ages 10-29 years, but the level in males was significantly higher than that in females (168.27±46.60 and 118.52±17.47, respectively; $P<0.05$) at older ages (30 to above 50 years). In addition, the Se level in the older subjects was significantly higher than that in the younger ones (121.71±19.96, 106.95±19.84, respectively; $P<0.05$).

Table 1 Plasma selenium levels of 224 clinically healthy subjects, comparing among ages and genders

Ages (years)	Total Mean±SD (μg/l)	Plasma selenium level of Thai healthy subjects		
		Male Mean±SD (μg/l)	Female Mean±SD (μg/l)	*P*
10-29	106.95±19.84 (N=172)	110.20±22.60 (N=82)	105.14±18.03 (N=90)	>0.05
30->50	121.71±19.96 (N=52)	168.27±46.60 (N=15)	118.52±17.47 (N=37)	<0.05
Total	116.94±30.51 (N=224)	125.22±39.60 (N=97)	112.74±23.76 (N=127)	<0.05

Table 2 Plasma selenium level of the patients with osteocarcinoma comparing to clinically healthy subjects at the same age (10-29 years)

Group	N	Se level Mean±SD (μg/l)	*P*
Healthy Subjects	172	106.95±19.84	<0.05
Osteocarcinoma	145	86.84±31.57	

When compare the Se level of the osteosarcoma patients with that of the healthy subjects at the same age, the level of the patients was significantly higher than that of the normal subjects ($P<0.05$) as shown in Table 2

Discussion

Low levels of plasma Se could be assayed by the method of Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS) with Zeeman background correction by direct injection of the samples into the Graphite Furnace Spectr AA (Zeeman 220, VARIAN) presented herein. The procedure was fast and it facilitated the routine assay of plasma Se levels since no sample pretreatment was necessary. Consequently, the risk of contamination or analytic loss was reduced. To our survey until now, no report on reference values of plasma selenium levels in clinically healthy subjects for both females and males in Thailand has been reported.

In this study, the plasma Se levels of 224 clinically healthy subjects including 97 males and 127 females with the age ranges of 10 to 29 years (N=172; 82 males, 90 females) and 30 to above 50 years (N=52; 15 males, 37 females) were firstly reported as the Thai Se reference values which were specific for genders and ages of Thai subjects. The levels of healthy subjects with the ages 10 to 29 years were significantly lower than those with the ages 30 to above 50 years (106.95±19.84 μg/l, 121.71±19.96 μg/l, respectively; $P<0.05$). Among the subjects aged 30 to above 50 years, the level of females (118.52±17.47 μg/l) was significantly lower than that of males (168.27±46.60 μg/l) whereas no significant difference were detected from both males (110.20±2.60 μg/l) and females (105.14±18.03 μg/l) aged 10 to 29 years (Table 1). Therefore, the reference values of selenium of healthy subjects matching to either genders or ages were recommended to be used.

As an essential element, selenium has been reported to be a potential cancer preventive and inhibitory agent, although no exact mechanism has yet been proposed. The association between selenium deficiency and the risk of cancers including lung, breast, prostate, lym-

phnode and gastrointestine, has been widely studied[9-11]. Our finding reported herein that plasma selenium level of the patients with osteocarcinoma (86.84 31.57 μg/l) was significantly lower than that of the controls (106.95 19.84 μg/l) with the same age (10-29 years) (Table 2). In prospective studies published in the 1980s and early 1990s involving from 8000 to 11,000 individuals, low selenium status was associated with a significantly increased risk of cancer incidence and mortality. The relationship between selenium and the etiology of cancer in human remains elusive and intriguing, despite the number of studies published on the topic[9-12].

In vitro studies demonstrated that selenium was a strong inhibitor of cell growth, inhibiting a range of cellular processes such as DNA, RNA and protein syntheses, cell attachment and microtubule formation in several cell lines[13,14]. Meanwhile, in vivo studies showed that selenium not only decreased the incidence of both chemically-induced and spontaneously occurring cancers but also inhibited the growth of transplanted tumor[12,15-17]. However, our findings may be helpful for further investigations on selenium supplementation for cancer prevention and improvement of clinical outcomes in cancer treatment.

Conclusion

The plasma selenium levels in clinically healthy subjects both females and males in Thailand have been firstly reported herein. The mean plasma selenium levels of males were significantly higher than females. The plasma selenium levels tended to increase with ages. The plasma selenium levels of patients with osteosarcoma were significantly lower than healthy subjects.

เอกสารอ้างอิง

1. Sunde RA. Selenium. In: O'Dell BL, Sunde RA, editors. Handbook of nutritionally essential mineral elements. New York: Marcel Dekker Inc.; 1997. p. 493-556.
2. Hatfield DL, Gladyshev VN. How selenium has altered our understanding of the genetic code. Mol Cell Biol 2002;22:3565-76.
3. Allan CB, Lacourciere GM, Stadtman TC. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. Annu Rev Nutr 1999;19:1-16.
4. Diplock AT. Antioxidants and disease prevention. Mol Aspects Med 1994;15:293-376.
5. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. J Nutr 2003;133:1517-20.
6. Rayman MP. The importance of selenium to human health. Lancet 2000;356:233-41.
7. Reilly C. Selenium in food and health. 2nd ed. London: Blackie Academic and Professional; 1996.
8. Campillo N, Vinas P, Lopez-Garcia I, Hernandez-Cordoba M. Selenium determination in biological fluids using Zeeman background correction electrothermal atomic absorption spectrometry. Anal Biochem. 2000;280:195-200.
9. Willett WC, Polk BF, Morris JS, Stampfer MJ, Pressel S, Rosner B, et al. Prediagnostic serum selenium and risk of cancer. Lancet 1983;2:130-4.

10. Virtamo J, Valkeila E, Alfthan G, Punsar S, Huttunen JK, Karvonen MJ. Serum selenium and risk of cancer. A prospective follow-up of nine years. Cancer 1987;60:145-8.
11. Knekt P, Aromaa A, Maatela J, Alfthan G, Aaran RK, Hakama M, et al. Serum selenium and subsequent risk of cancer among Finnish men and women. J Natl Cancer Inst 1990;82:864-8.
12. Medina D, Shepherd F. Selenium-mediated inhibition of mouse mammary tumorigenesis. Cancer Lett 1980;8:241-5.
13. Medina D, Oborn CJ. Selenium inhibition of DNA synthesis in mouse mammary epithelial cell lines YN-4. Cancer Res 1984;44:14361-5.
14. Yan L, Frenkel GD. Inhibition of cell attachment by selenite. Cancer Res 1992;52:5803-7.
15. Hiraoka K, Komiya T, Hamasda T, Zenmyo M, Inoue A. Osteosarcoma cell apoptosis induced by selenium. J Orthop Res 2001;19:809-14.
16. Ip C. The chemopreventive role of selenium in carcinogenesis. Adv Exp Med Biol 1986;206:431-47.
17. Medina D, Morrison DG. Current ideas on selenium as a chemopreventive agent. Pathol Immunopathol Res 1988;7:187-99.

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 33 ฉบับที่ 1
มกราคม-มีนาคม 2556

โปรตีน E5 ในไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมากับการเกิดมะเร็งปากมดลูก

จรัญญา งามขำ

ไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมา (Human papillomavirus; HPV) เป็นไวรัสที่มีขนาดเล็ก จัดอยู่ใน Papillomaviridae family[1] และเป็นไวรัสที่มีบทบาทสำคัญต่อการเหนี่ยวนำให้เซลล์ปากมดลูกเกิดความผิดปรกติ หากมีการติดเชื้อเป็นระยะเวลานาน (10-15 ปี) จะทำให้สารพันธุกรรมในเซลล์เกิดการผ่าเหล่าจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด[2] จากรายงานทางระบาดวิทยา พบว่าผู้ป่วยมะเร็งปากมดลูกมากกว่าร้อยละ 90-99 จะพบการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ร่วมด้วย[2,3] และมักพบการติดเชื้อ HPV ประมาณร้อยละ 20-90 ในเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆ ทั้งที่เกี่ยวข้องกับอวัยวะสืบพันธุ์ (genital tract) และไม่เกี่ยวข้องกับอวัยวะสืบพันธุ์ รวมทั้งเนื้องอกหรือหูดที่เกิดขึ้นในบริเวณดังกล่าวทั้งของเพศหญิงและเพศชาย เช่น ช่องคลอด ปากช่องคลอด ทวารหนัก อัณฑะ ช่องปาก (oral cavity) หรือ pharynx เป็นต้น[2,3] นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยในช่วง 10-20 ปีที่ผ่านมา พบการติดเชื้อของ HPV ในเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆเพิ่มมากขึ้น เช่น เซลล์มะเร็งเต้านม เซลล์มะเร็งลำไส้ เป็นต้น โดยมีความซุกหรือสายพันธุ์ที่ค่อนข้างแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ซึ่งในปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกหรือสาเหตุของการติดเชื้อในอวัยวะต่างๆ เหล่านี้อย่างแน่ชัด[3-5]

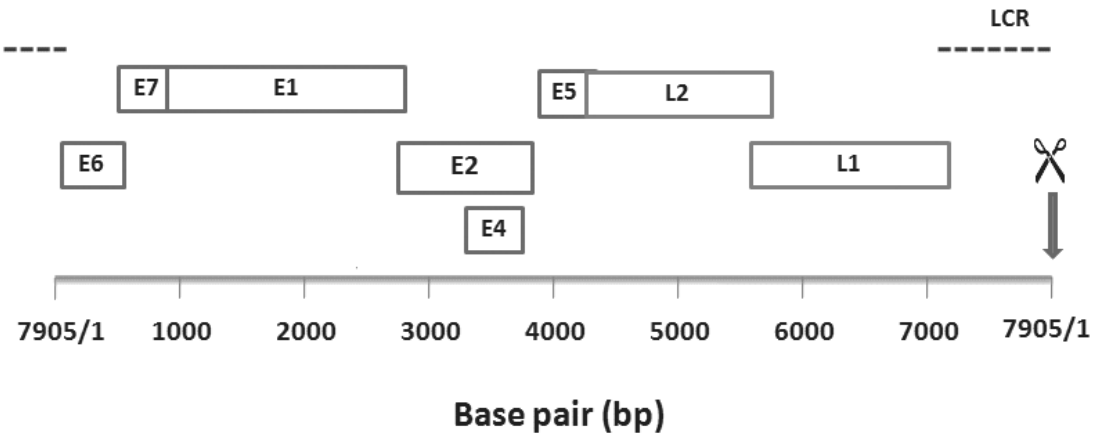
การค้นพบและแยกสารพันธุกรรมหรือลำดับเบสใน HPV ได้ครั้งแรกจากตัวอย่างเซลล์มะเร็งปากมดลูกและยังพบว่าการติดเชื้อของ HPV ในสายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงสูง (high risk HPV strain) เป็นสาเหตุสำคัญของการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ปกติจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งซึ่ง Prof. Harald zur Hausen นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน เป็นผู้ค้นพบดังกล่าวทำให้ได้รับรางวัลโนเบล ในสาขา Physiological and Medicine ในปี 2008[5,6] สำหรับสาเหตุการติดเชื้อของ HPV ส่วนใหญ่มักมาจากพฤติกรรมทางเพศสัมพันธ์ และอาจ

งานวิจัยภาคสนาม กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรุงเทพฯ 10400

มีสาเหตุจากปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย เช่น การดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ หรือการใช้ยาคุมกำเนิดเป็นระยะเวลานาน[3,7] บริเวณที่มักพบการติดเชื้อคือ บริเวณ squamous epithelial หรือ mucosa epithelial surface[8-10] และพบการติดเชื้อ HPV ได้ทั้งระยะที่เซลล์มีความผิดปรกติเพียงเล็กน้อย (benign) เช่น เนื้องอกที่ไม่อันตราย หูด ฯลฯ และเซลล์ที่มีการพัฒนาจนเป็นเซลล์มะเร็ง (invasive cancer)[5,10]

ลักษณะโครงสร้างและสายพันธุ์ของไวรัส HPV

HPV เป็นไวรัสที่มีสายพันธุกรรมหรือ DNA แบบสายคู่มีลักษณะเป็นวงกลม (circular double-stranded) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 55 นาโนเมตร และจีโนม (genome) ขนาด 8000 คู่เบส มีรูปทรงแบบ icosahedral ที่ไม่มีเปลือกหุ้ม (non-enveloped)[11] สำหรับโครงสร้างหลักของไวรัสชนิดนี้ประกอบด้วยโปรตีนที่มีความสำคัญ 2 กลุ่มใหญ่ (รูปที่ 1) คือ early proteins เป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์ในช่วงแรกของวงจรชีวิตของไวรัส และมีหน้าที่เกี่ยวกับ DNA replication (E1, E2), RNA transcription (E2), viral maturation และ release viral particles (E4) และ cell transformation (E5, E6 และ E7) ในบางรายงานจะรวมโปรตีน E8 เพิ่มขึ้นจากโครงสร้างเดิม ซึ่งโปรตีน E8 เป็นชิ้นส่วนของ E1 ที่ถูกตัด (splice) บริเวณที่เป็น original of replication (ORF)[12,13] ส่วนโปรตีนในกลุ่มที่สองเป็นโปรตีนในกลุ่มของ late protein ที่มีการสังเคราะห์ในช่วงหลังของวงจรชีวิตประกอบด้วยโปรตีน L1 และ L2 โดย L1 มีหน้าที่ในการสร้างโปรตีนเพื่อห่อหุ้มไวรัสที่เรียกว่า major capsid และลำดับเบสของโปรตีนในส่วนนี้มีความสำคัญต่อการใช้ในการตรวจหาและจำแนกสายพันธุ์ของ HPV รวมทั้งเป็นส่วนที่นำไปใช้ในการศึกษา วิจัยหรือวินิจฉัยโรคทางด้านระบบภูมิคุ้มกันหรือพัฒนาวัคซีนสำหรับใช้ในการป้องการติดเชื้อ HPV ในขณะที่ L2 ซึ่งเป็น minor capsid ยังไม่มีบทบาทที่แน่ชัด แต่อาจเป็นส่วนสำคัญอีกส่วนหนึ่งที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาวัคซีนเพิ่มเติมในอนาคต[8,11-15]



รูปที่ 1 แผนผังแสดงตำแหน่งของ early proteins (E1, E2, E4, E5, E6, E7) และ late proteins (L1, L2 บน viral genome; linear genome map) ของไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมาสายพันธุ์ที่ 16[11,12]

จากการจำแนกสายพันธุ์ของ HPV พบว่ามีมากกว่า 120 สายพันธุ์ แต่มีเพียงประมาณ 30-40 สายพันธุ์ที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อบริเวณ squamous epithelial ของระบบสืบพันธุ์[1,10] โดยสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆตามความรุนแรงต่อการเหนี่ยวนำให้เซลล์มีความผิดปกติและการก่อโรค คือ กลุ่มของสายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงสูง (high risk group) ซึ่งมีประมาณ 15 สายพันธุ์ ได้แก่ HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 และ 82 ไวรัสในกลุ่มนี้มักตรวจพบในเซลล์ที่มีความผิดปกติรุนแรงจนถึงเซลล์มะเร็ง จึงมีการเรียกสายพันธุ์เหล่านี้เป็น oncogenic types หรือ oncogenic group[10,16-18] โดยเฉพาะ HPV 16 เป็นสายพันธุ์ที่พบมากและมีความรุนแรงกว่าสายพันธุ์อื่น และจากผลการศึกษาทางระบาดวิทยา พบว่า ประมาณร้อยละ 50 ของผู้ที่มีการติดเชื้อ HPV ทั้งหมดจะพบการติดเชื้อสายพันธุ์นี้ รองลงมาจะเป็นการติดเชื้อสายพันธุ์ HPV 18, 31, 33, 35, 45, 52 และ 58[2,19] สำหรับอีกกลุ่มเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ค่อยตรวจพบหรือพบได้น้อยมากในเซลล์มะเร็ง คือ กลุ่มของสายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงต่ำหรือ low risk group กลุ่มนี้มักตรวจพบในหูดหรือเนื้องอกทั่วไปที่มีอันตรายน้อย สายพันธุ์ที่พบมากในกลุ่มนี้คือ HPV 6 และ 11[8,14]

ไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมาและการเกิดมะเร็ง

จากรายงานการศึกษาจำนวนมากพบว่าโปรตีนของ HPV ที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการกลายพันธุ์เป็นเซลล์มะเร็งนั้น คือ E6 และ E7 ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีการสังเคราะห์ในช่วงระยะแรกของวงจรชีวิตของไวรัส โดย E6 และ E7 จะมีคุณสมบัติเป็น oncogenic protein ที่สามารถแทรกเข้าไปรวมกับสายพันธุกรรมของสัตว์หรือมนุษย์ (host DNA) ทำให้สารพันธุกรรมดังกล่าวมีการเพิ่มจำนวนและมีลักษณะโครงสร้างที่ผิดปกติ[2,8,10,16,17] ซึ่ง E6 และ E7 จะเข้าไปรบกวนการทำงานของ tumor suppressor genes คือ p53 และ retinoblastoma (pRb) ตามลำดับ ส่งผลให้สารพันธุกรรมทั้งสองชนิดทำงานบกพร่องหรือสูญเสียการทำงานไป ทำให้เซลล์ที่มีความผิดปกติมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนจนไม่สามารถควบคุมได้และกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด[2] นอกจากนี้ยังพบว่าการทำงานของ E6 และ E7 ยังส่งผลต่อเนื่องให้ระบบหรือกลไกการทำงานอื่นๆ ในเซลล์ทำงานผิดปกติไปด้วย เช่น กดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการเกิดกระบวนการตายแบบ apoptosis เป็นต้น[10,20,21] นอกจากโปรตีน E6 และ E7 ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการก่อกลายพันธุ์ของ HPV แล้ว ยังมีโปรตีน E5 ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็กและสามารถเหนี่ยวนำการก่อกลายพันธุ์ของไวรัสชนิดนี้เช่นกัน โดยมีการศึกษาถึงกลไกและบทบาทการทำงานของ E5 ในสายพันธุ์ HPV 16 ซึ่งตรวจพบมากที่สุดในเซลล์มะเร็งปากมดลูก[22-25]

โปรตีน E5 ของไวรัสฮิวแมนแพพพิวโลมา

E5 เป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็ก (ประมาณ 83 amino acid) มีลักษณะเป็น hydrophobic membrane-bound protein และเป็นโปรตีนที่มีการสังเคราะห์ในช่วงแรกของวงจรชีวิตของไวรัสเช่นเดียวกับ E6 และ E7[11] สามารถตรวจพบ E5 ในช่วงระยะเวลาแรกๆ (early stage) ของเซลล์ที่มีการติดเชื้อ คือในระยะที่ไวรัสอยู่ในลักษณะของ episome form ซึ่งเป็น viral

form ที่เป็นอิสระภายในเซลล์ที่มีการติดเชื้อ และจะถูกกำจัดหรือสลายไปเมื่อเซลล์ที่ติดเชื้อเข้าสู่ระยะ late stage หรือเมื่อบางส่วนของ HPV DNA หรือส่วนของ E6 และ/หรือ E7 แทรกตัว (integrate) เข้าไปรวมกับ host DNA[8] จากการศึกษาบทบาทของ E5 ใน HPV 16 พบว่า E5 มีความสำคัญต่อการก่อกลายพันธุ์ของเซลล์ที่มีการติดเชื้อไวรัสได้เช่นเดียวกับ E6 และ E7 แต่อาจเกิดในช่วงระยะแรกของการติดเชื้อดังที่กล่าวมาข้างต้น และความรุนแรงของการก่อโรคอาจน้อยกว่า E6 และ E7 โดย E5 มีบทบาทในการยับยั้งมิให้เซลล์ที่มีการติดเชื้อ HPV ถูกทำลายด้วยกระบวนการ apoptosis โดยยับยั้งการทำงานของ death receptor ที่เป็นด่านแรกของกลไกการทำลายเซลล์ที่มีความผิดปรกติ[22,23,26] ในขณะที่ E6 หรือ E7 จะแสดงออกในช่วงหลังของการติดเชื้อ[22,23,27,28] และจากการศึกษาลักษณะหรือโครงสร้างของเซลล์ที่มีการแสดงออกของ E5 จะพบว่าเซลล์มีลักษณะที่ผิดปรกติจากเดิม โดยที่นิวเคลียสจะมีโครโมโซมเป็นแบบ tetrapoid ซึ่งมักพบมากในระยะที่เซลล์มีความผิดปรกติหลังจากที่มีการติดเชื้อ HPV ก่อนที่เซลล์จะพัฒนาเป็นเซลล์มะเร็ง (precancer)[25,29,30] และรูปร่างนิวเคลียสจะมีขนาดโตขึ้นและยังพบการเพิ่มจำนวน/สังเคราะห์ของ DNA ที่ผิดปรกติ[23,30] เซลล์สูญเสียสภาพการยึดเกาะซึ่งกันและกัน (cell-cell interaction)[26] นอกจากนี้ยังพบว่า E5 มีกลไกการทำงานที่เกี่ยวพันกับระบบการทำงานของกลไกต่างๆภายในเซลล์ โดยก่อให้กลไกเหล่านั้นสูญเสียการทำงานหรือทำงานผิดปรกติและทำให้เซลล์มีความผิดปรกติเพิ่มมากขึ้น[22,23] การแสดงออกของ E5 ยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายโดยส่งเสริมการทำงานของสารพันธุกรรมต่างๆ ของไวรัสในการลดประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย[22,23] E5 ยังมีบทบาทต่อการส่งเสริมการสร้างเซลล์เส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) ซึ่งเป็นหนึ่งในหลายๆกระบวนการสำคัญของการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (metastasis) และยับยั้งการทำงานของ tumor suppressor p21 และ p27 ที่มีคุณสมบัติเป็น cyclin-dependent protein kinase inhibitor (CKIs) ในวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) และการสังเคราะห์ DNA (DNA synthesis)[22,31] ตลอดจนยับยั้งกระบวนการตายแบบ apoptosis ของเซลล์ที่ผิดปรกติ (anti-apoptosis) ส่งผลให้เซลล์ที่ผิดปรกตินั้นๆ สามารถดำรงอยู่ได้และเพิ่มจำนวนมากขึ้นจน ไม่สามารถควบคุมและกลายเป็นเซลล์มะเร็งในที่สุด[22,23,26] จากรายงานผลการศึกษาปริมาณการแสดงออกของ E5 ในเซลล์ปากมดลูกที่มีการติดเชื้อ HPV 16 และมีความผิดปรกติในระยะต่างๆ โดยการย้อมเซลล์ด้วยวิธี immunohistochemistry พบว่า เซลล์ปากมดลูกที่มีความผิดปรกติแบบ low grade squamous cell intraepithelial lesion (LSIL) ประมาณร้อยละ 80 พบการแสดงออกของ E5 และยังพบ E5 ในพวก high grade squamous cell intraeptheial lesion (HSIL) และเซลล์มะเร็งประมาณร้อยละ 90 และ 60 ตามลำดับ[24] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบว่าโปรตีน E5 สามารถเสริมการทำงานของ E6 และ E7 ได้ ถึงแม้ว่าการแสดงออกหรือบทบาทการทำงานของ E5 และ E6/E7 มักเกิดขึ้นในระยะการติดเชื้อที่แตกต่างกัน แต่ในบางรายงานที่ตรวจพบ E5 ในเซลล์มะเร็งปากมดลูกร่วมกับการแสดงออกของ E6/E7 นั้น เนื่องจากการติดเชื้อ HPV ภายในเซลล์อาจพบไวรัสทั้งรูปที่เป็นอิสระ (episome) และ integrated form ทำให้

ความรุนแรงของการกลายพันธุ์ของเซลล์และความรุนแรงของโรคค่อนข้างสูง[22,23] ซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานร่วมหรือเสริมฤทธิ์กันของ HPV oncogenic proteins ทั้งสามชนิดดังกล่าว โดย E5 จะทำงานร่วมกับ E7 ในการเหนี่ยวนำให้เซลล์เพิ่มจำนวนแบบผิดปรกติ[32,33] และทำงานร่วมกับ E6 ในการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิด koilocytosis structural change และ เกิดการเปลี่ยนแปลง (differentiated) ของ squamous epithelium cells[34] ในขณะเดียวกัน E5 จะเสริมการทำงานของ E6/E7 ในการกระตุ้นการหลั่งของ COX-2 ในกลไกของ inflammatory cell signaling ต่อการอักเสบภายในเซลล์[22,23]

สรุป

ถึงแม้ว่าในปัจจุบันการศึกษาบทบาทหรือกลไกการทำงานของ E5 ต่อกระบวนการเกิดมะเร็งในเซลล์ที่มีการติดเชื้อยังมีค่อนข้างจำกัด และมักเป็นการศึกษาใน cell lines หรือโมเดลจำลองในระดับ in vitro มิใช่การศึกษาโดยตรงในผู้ป่วย แต่ข้อมูลที่ได้นับว่ามีความสำคัญที่น่าสนใจอย่างยิ่งและคาดว่า E5 น่าจะมีส่วนสำคัญที่ช่วยเสริมการทำงานของ E6 และ E7 ต่อการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งผลการศึกษากลไกหรือบทบาทเบื้องต้นในการแสดงออกของ E5 อาจนำไปศึกษาต่อยอดในการใช้เป็นตัวบ่งชี้ (indicator) การติดเชื้อ HPV ในระยะเริ่มแรก (early stage) นอกเหนือจากการแสดงออกของ E6 และ E7 ที่ทราบกลไกหรือบทบาทที่แน่ชัด และมักจะสัมพันธ์กับการแสดงออกหรือมีบทบาทต่อกระบวนการกลายพันธุ์ของเซลล์ในระยะ late stage อีกทั้งอาจนำไปสู่การพัฒนา therapeutic target ใหม่ๆในอนาคตต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. Virology 2004;324:17-27.
2. Ramet J, van Esso D, Meszner Z. Position paper-HPV and the primary prevention of cancer; improving vaccine uptake by paediatricians. Eur J Pediatr 2011;170:309-21.
3. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancer in the year 2002. Int J Cancer 2006;118:3030-44.
4. Simones PW, Medeiros LR, Simones Pires PD, Edelweiss MI, Rosa DD, Silva FR, et al. Prevalence of human papillomavirus in breast cancer: a systematic review. Int J Gynecol Cancer 2012;22:343-7.
5. Shukla S, Bharti AC, Mahata S, Hussain S, Kumar R, Hedau S, et al. Infection of human papillomavirus in cancer of different human organ sites. Indian J Med Res 2009;130:222-33.
6. Moore PS, Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. Nat Rev Cancer 2010;10:878-89.
7. Shah KV. Do human papillomavirus infections cause oral cancer? J Natl Cancer Inst 1998;90:1585-6.
8. zur Haussen H. Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer 2002;2:342-50.
9. Gillison ML, Shah KV. Chapter 9: Role of mucosal human papillomavirus in nongenital cancers. J Natl Cancer Inst Monogr 2003;31:57-65.
10. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. Nat Rev Cancer 2010;10:550-60.
11. International Agency for Research on Cancer Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Human; Human papillmavirus. Lyon, France: IARC 1995;64:35-222.
12. Bharti AC, Shukla S, Mahata S, Hedau S, Das BC. Human papillomavirus and control of cervical in India. Expert Rev Obset Gynecol 2010;5:329-46.
13. Stubenrauch F, Hummel M, Iftner T, Laimins LA. The E8^E2C protein, a negative regulator of viral transcription and replication, is required for extrachro-

วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL
ปีที่ 33 ฉบับที่ 1
มกราคม-มีนาคม 2556

คำแนะนำการส่งต้นฉบับ

วารสารโรคมะเร็งยินดีรับบทความทางวิชาการหรือเรื่องราวที่น่าสนใจเกี่ยวกับโรคมะเร็งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารนี้ สำหรับบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้ถือว่าเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารโรคมะเร็ง และเป็นผลงานวิชาการหรือวิจัยของคณะผู้เขียนไม่ใช่ความคิดเห็นของบรรณาธิการหรือผู้จัดทำ ขอให้ผู้นิพนธ์ส่งต้นฉบับที่จัดเตรียมถูกต้องตามคำแนะนำในเอกสารนี้มายังบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 หรือทาง E-mail: nci_journal@hotmail.com

ประเภทของบทความ

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)

ควรจะเขียนลำดับเป็นข้อๆ ได้แก่ บทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย) บทนำสั้นๆ (เหตุผลที่ทำการศึกษานี้ รวมทั้งวัตถุประสงค์) วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา วิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

รายงานผู้ป่วย (Case Report)

ควรประกอบด้วยบทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษ และภาษาไทย) บทนำ รายงานผู้ป่วย บทวิจารณ์ ข้อคิดเห็น สรุป และเอกสารอ้างอิง

บทความทางวิชาการหรือบทฟื้นวิชาการ (Review Articles)

ควรเป็นบทความที่ให้ความรู้ รวบรวมสิ่งตรวจพบใหม่ หรือเรื่องที่น่าสนใจที่ผู้อ่านนำไปประยุกต์ได้ ประกอบด้วย บทนำ ความรู้เกี่ยวกับเรื่องที่เขียน และเอกสารอ้างอิง

การเตรียมต้นฉบับ

1. บทความที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องส่งต้นฉบับ 2 ชุด (พร้อมไฟล์) และต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังส่งตีพิมพ์ที่ใด

2. บทความที่พิมพ์รับทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยควรหลีกเลี่ยงคำภาษาอังกฤษ ยกเว้นในกรณีจำเป็นเท่านั้น พยายามไม่ใช้คำย่อ นอกจากคำที่ยอมรับกันโดยทั่วไป

3. บทคัดย่อ ให้ย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษไม่ว่าเนื้อเรื่องจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ และมีคำสำคัญ (Keywords) ด้วย

4. ชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน ต้องมีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ พร้อมด้วยสถาบันที่ทำงาน (ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) และระบุผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ (corresponding author)

5. ต้นฉบับต้องพิมพ์อย่างชัดเจนมีระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่อง พิมพ์หน้าเดียวในกระดาษ A4 โดยพิมพ์ห่างจากขอบทุกด้าน 1 นิ้ว โดยตลอด และ ใส่เลขหน้าทางมุมขวาบน

6. ภาพประกอบ ถ้าเป็นภาพใช้ภาพขาวดำ ขนาดโปสการ์ด ผิวหน้าเรียบเป็นมัน หรือพิมพ์จากคอมพิวเตอร์โดยใช้เครื่องพิมพ์เลเซอร์ ใหญ่กว่าขนาดที่จะตีพิมพ์เพื่อให้ได้ภาพชัดเจน กำกับหมายเลขภาพ ชื่อผู้เขียนไว้ด้านหลังภาพทุกภาพ พิมพ์คำบรรยายภาพเป็นลำดับแยกไว้ในกระดาษอีกแผ่น

7. ตาราง พิมพ์แยกต่างหากโดยมีหัวข้อ (title) และเชิงอรรถ (foot note) พร้อมทั้งอธิบายตัวย่อในตารางตลอดจนบอกนัยสำคัญทางสถิติอย่างครบถ้วน

8. เอกสารอ้างอิง ใช้ระบบแวนคูเวอร์ ซึ่งเป็นระบบที่ใช้กันอยู่ในวารสารทางการแพทย์ชั้นนำในขณะนี้ ให้กำกับการอ้างด้วยหมายเลขและเรียงลำดับการอ้างหมายเลขที่กำกับในรายชื่อเอกสารอ้างอิงจะต้องตรงกับหมายเลขในเนื้อเรื่องด้วย

การเขียนเอกสารอ้างอิง

8.1 จากวารสาร

วารสารภาษาอังกฤษ ประกอบด้วยชื่อผู้แต่ง (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 cholangio carcinoma. Gut 2001;48:80-6.

2. สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, พงษ์กิตติ ฐิศุภกร, สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์. Proliferating Cell Nuclear Antigen ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม: บทบาทในการพยากรณ์โรค.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 ประธานที่เป็นผู้นิพนธ์ 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. Antiepileptic 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 = ชื่อหนังสือ
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

เรื่องจาก หนังสือพิมพ์ 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).

เรื่องจากวารสารใน internet 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.

เรื่องจาก web site 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

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรียน ผู้จัดการวารสารมะเร็ง

ข้าพเจ้า.....ตำแหน่ง.....

ในนามของ.....เลขที่.....ถนน.....

ตำบล/แขวง.....อำเภอ/เขต.....จังหวัด.....

รหัสไปรษณีย์.....โทรศัพท์.....โทรสาร.....

มีความประสงค์ลงโฆษณาในวารสารโรคมะเร็ง

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

รวม.....**ฉบับ**

โดยลงโฆษณาในลักษณะ

- ❒ พิมพ์เนื้อใน 1/2 หน้า อัตรา 5,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- ❒ พิมพ์เนื้อในเต็มหน้า อัตรา 10,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม)
- ❒ พิมพ์ปกหลังด้านใน 1/2 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

(.....)

<u>หมายเหตุ</u> ถ้าลงโฆษณาทั้งปี (4 ฉบับ) จะลดค่าโฆษณาให้ 10 %

ส่งอาร์ตเวิร์ค / ข้อความโฆษณาทาง E-mail : nci_journal@hotmail.com

การชำระค่าโฆษณา ให้เขียนเช็คสั่งจ่ายในนาม "มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ"

วารสารโรคมะเร็ง
กองบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

ใบสมัครสมาชิก/ใบต่ออายุสมาชิก

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรียน ผู้จัดการวารสารโรคมะเร็ง

ข้าพเจ้า.....

ในนาม ส่วนราชการ/ บริษัท/ ส่วนตัว.....

ที่อยู่เลขที่ .....ตรอก/ซอย.....แขวง.....

เขต.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....

โทรศัพท์.....โทรสาร.....

E-mail.....

มีความประสงค์สมัครสมาชิกในวารสารโรคมะเร็ง

- ❒ ปีที่ 32 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2555) รวม 4 ฉบับ เป็นเงิน 200 บาท
- ❒ ปีที่ 33 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2556) รวม 4 ฉบับ เป็นเงิน 200 บาท

พร้อมกันนี้ได้จัดส่งเงินจำนวน .....บาท (.....) ตัวอักษร
โดยโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาธิบดี
เลขที่บัญชี 026-2-27518-2 ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ขอแสดงความนับถือ

ลงนาม.....

(.....)

หมายเหตุ: โปรดส่งสำเนาการโอนเงินผ่านธนาคารพร้อมใบสมัครสมาชิกมายังโทรสาร 02-644-9097
หรือส่งเอกสารทางไปรษณีย์โดยนำส่ง กองบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6
เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400