การศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อ ROULEAU FORMATION และขนาดของ CRYSTAL จากผล LIVE BLOOD ANALYSIS ในผู้ป่วยที่เข้ารับการบำบัด

THE STUDY OF RESULT OF CHELATION THERAPY: MONITORING ROULEAU FORMATION AND CRYSTAL DEPOSITIONS BY LOOKING AT LIVE BLOOD ANALYSIS

พริมรตา ติยะจินดา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
2554

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อ ROULEAU FORMATION และขนาดของ CRYSTAL จากผล LIVE BLOOD ANALYSIS ในผู้ป่วยที่เข้ารับการบำบัด

THE STUDY OF RESULT OF CHELATION THERAPY: MONITORING ROULEAU FORMATION AND CRYSTAL DEPOSITIONS BY LOOKING AT LIVE BLOOD ANALYSIS

พริมรตา ติยะจินดา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
2554

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อ ROULEAU FORMATION และขนาดของ CRYSTAL จากผล LIVE BLOOD ANALYSIS ในผู้ป่วยที่เข้ารับการบำบัด

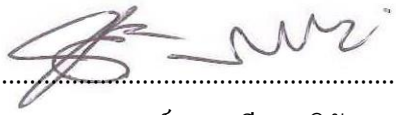
THE STUDY OF RESULT OF CHELATION THERAPY: MONITORING ROULEAU FORMATION AND CRYSTAL DEPOSITIONS BY LOOKING AT LIVE BLOOD ANALYSIS

พริมรตา ติยะจินดา

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
2554

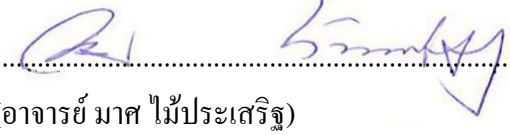
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธาน
(อาจารย์ จรัสพล รินทระ)



..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทวี สายวิชัย)

..... กรรมการ
(ดร. พัฒนา เต็งอำนวย)



..... กรรมการ
(อาจารย์ มาศ ไม้ประเสริฐ)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือและได้รับคำแนะนำอย่างดียิ่งจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ นายแพทย์ มาศ ไม้ประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนะนำวิธีการวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงแนะนำข้อมูลต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยมาโดยตลอด กราบขอบพระคุณ ดร. พัฒนา เต็งอำนวย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ให้คำแนะนำ ตลอดจนชี้แนะแนวทางการอภิปรายและสรุปผลเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทวี สายวิชัย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะในการแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณเพื่อนแพทย์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือตลอดจนให้คำแนะนำตลอดการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงทุกท่านที่ช่วยเหลือผู้วิจัยมาตลอด ทั้งนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนทางการศึกษาแก่ผู้วิจัยตลอดมา

พริมรตา ติยะจินดา

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis
ชื่อผู้เขียน	พริมรตา ติยะจินดา
หลักสูตร	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ มาศ ไม้ประเสริฐ ดร. พัฒนา เต็งอำนวย

บทคัดย่อ

การทำคีเลชัน (Chelation) เป็นการรักษาทางการแพทย์สำหรับการกำจัดสารโลหะหนัก โดยใช้สาร Chelating Agent ที่สำคัญ คือ EDTA (Ethylene Diamine Tetra-Acetic acid) โดยสารนี้สามารถจับกับสารโลหะหนัก รวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อนเพื่อให้ง่ายต่อการกำจัดออกจากร่างกาย งานวิจัยนี้ทำการศึกษา Live Blood Analysis ในผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย 37 คนที่ผ่านการทำคีเลชัน 5 ครั้ง เพื่อเปรียบเทียบผล Rouleau Formation และขนาดของ Crystal ก่อนและหลังการทำคีเลชัน และเปรียบเทียบขนาดของ Crystal ก่อนและหลังการเช็ด Slide ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue พบว่าร้อยละ 67.57 ที่มีภาวะ Rouleau Formation ดีขึ้นหลังทำคีเลชัน โดยค่าเฉลี่ยคะแนน Rouleau grading ลดลงจาก 2.03 ไปเป็น 1.14 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนขนาดของ Crystal ลดลงหลังทำคีเลชันร้อยละ 72.97 โดยมีการลดลงของค่าเฉลี่ยคะแนน Crystal Grading จาก 1.78 ไปเป็น 0.46 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าขนาดของ Crystal ของกลุ่มที่ไม่เช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.97 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกลุ่มที่เช็ดสไลด์ โดยสรุปแล้ว การทำคีเลชันทำให้ภาวะ Rouleau Formation และ ขนาดของ Crystal ดีขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการเช็ดสไลด์ก่อนการดู Live Blood Analysis ช่วยลด Artifact ของ Crystal ลงได้

คำสำคัญ: คีเลชัน/Chelating agent/EDTA/Live Blood Analysis/Rouleau Formation/Crystal

Thesis Title	The Study of Result of Chelation Therapy: monitoring Rouleau Formation and Crystal depositions by looking at Live Blood Analysis in Villa Medica Clinic
Author	Primrata Tiyajinda
Degree	Master of Science (Anti-Aging and Regenerative Medicine)
Supervisory Committee	Lecturer Mart Maiprasert Dr. Patana Tengamnuay

ABSTRACT

Chelation is a medical treatment known for its ability to exterminate heavy metal substances through the use of chelating agent EDTA (Ethylene Diamine Tetra-Acetic acid. This research project evaluates on Live Blood Analysis obtained from 37 participants, each of them had received five chelation treatments altogether, which is used to compare the result of Rouleau Formation and the size of Crystal before and after chelation treatments as well as to compare the size of Crystal before and after wiping slides with Lint Free Tissue. It is found that conditions of those who have Rouleau Formation or 67.57 percent are improved after chelation treatments., which is evidenced by a significant reduction in Rouleau Grading from 2.03 to1.14. The size of Crystal is also found smaller after chelation treatments equivalent to 72.97 percent, which Crystal Grading significantly decreases from 1.78 to 0.46. Moreover, an average of the size of Crystal of those whose slides are not wiped with Lint Free Tissue is equal to 0.97, which is significantly different from those whose slides are wiped. To conclude, chelation treatment is clinically proven to significantly improve the condition of Rouleau Formation as well as the size of Crystal, and

wiping slides with Lint Free Tissue before Live Blood Analysis can also help reduce Artifact of Crystal.

Keywords: Chelation/Chelating agent/EDTA/Live Blood Analysis/Rouleau Formation/Crystal

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**(3)**
บทคัดย่อภาษาไทย	**(4)**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**(5)**
สารบัญตาราง	**(10)**
สารบัญภาพ	**(11)**
บทที่	
1 บทนำ	**1**
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย/การศึกษา	2
1.3 ความสำคัญของการวิจัย	2
1.4 สมมติฐานการวิจัย	2
1.5 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.6 ข้อจำกัดของการวิจัย	3
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (operational definition)	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**5**
2.1 Heavy Metal	5
2.2 Lipid Bilayer	5
2.3 Chelation Therapy	6
2.4 Rouleau Formation	14
2.5 Crystal	15
2.6 Dark field microscopy	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
3 ระเบียบวิธีวิจัย	**16**
3.1 รูปแบบงานวิจัย	16
3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย	16
3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	17
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย	17
3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล (data collection)	19
3.6 การประเมินผล	19
3.7 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล	19
4 ผลการวิจัย	**20**
4.1 ข้อมูลสังคมประชากรของอาสาสมัคร	20
4.2 ข้อมูลจำนวนกลุ่มตัวอย่าง อายุ และการประเมิน	22
4.3 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่าง	27
4.4 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยคะแนน Rouleau Grading และ Crystal Grading	30
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	**38**
5.1 สรุปผลการวิจัย	38
5.2 อภิปรายผล	40
5.3 ข้อเสนอแนะ	42
รายการอ้างอิง	**43**

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	**47**
ภาคผนวก ก แบบบันทึกข้อมูลผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย	48
ภาคผนวก ข การคำนวณค่า Creatinine Clearance	50
ภาคผนวก ค Rouleau Grading	51
ประวัติผู้เขียน	**52**

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	ค่าความแข็งแรงของการจับของ EDTA ต่อธาตุต่าง ๆ	9
4.1	จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะสังคมและประชากร	21
4.2	อายุและค่า Rouleau Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้งแล้ว	23
4.3	อายุและค่า Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชัน และหลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้งแล้ว	25
4.4	จำนวนและร้อยละของคะแนน Rouleau Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง	28
4.5	จำนวนและร้อยละของคะแนน Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง	28
4.6	ผลของการทำคีเลชันต่อภาวะ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal	29
4.7	ค่าเฉลี่ยของคะแนน Rouleau Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง	30
4.8	ค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง	31
4.9	ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของคะแนน Rouleau Grading ระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง	32
4.10	ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง	33
4.11	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ระหว่างการเช็ดสไลด์และไม่เช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue	33

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

1.1 Rouleau Formation 3

1.2 Crystal 4

2.1 โครงสร้างของ phospholipids 3 ลักษณะ; liposome (a closed bilayer), micelle และ bilayer 6

2.2 โครงสร้างของ EDTA 7

2.3 โครงสร้างของ Ethylene 7

2.4 โครงสร้างของ Diamine 8

2.5 โครงสร้างของ Tetraacetic acid 8

4.1 ร้อยละของการเปลี่ยนแปลงภาวะ Rouleau Formation หลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง 29

4.2 ร้อยละของการเปลี่ยนแปลง Crystal Grading หลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง 30

4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Rouleau Grading ตามเวลาการประเมิน ระยะก่อนทำคีเลชัน (Before) และระยะหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (After) 31

4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Crystal Grading ตามเวลาการประเมิน ระยะก่อนทำคีเลชัน(Before) และระยะหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (After) 32

4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างการเช็ดสไลด์กับไม่เช็ดสไลด์ ในช่วงเวลาก่อนทำคีเลชัน 34

4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างการเช็ดสไลด์กับไม่เช็ดสไลด์ ในช่วงเวลาหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง 34

4.7 Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาก่อนทำคีเลชัน 35

4.8 Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาหลังทำคีเลชัน 35

4.9 Crystal จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาก่อนทำคีเลชัน 36

4.10 Crystal จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาหลังทำคีเลชัน 36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ **หน้า**

4.11 Crystal จากผล Live Blood Analysis ของสไลด์ที่ไม่ผ่านการเช็ดก่อน 37

4.12 Crystal จากผล Live Blood Analysis ของสไลด์ที่ผ่านการเช็ดก่อน 37

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การคุกคามต่อสุขภาพของมนุษย์จากผลของโลหะหนักต่าง ๆ นั้น หลัก ๆ แล้วเกิดจากการสัมผัสสารตะกั่ว, แคดเมียม, ปรอท, และสารหนู โลหะหนักถูกใช้อย่างแพร่หลายมานานกว่าพันปี แม้ว่าผลเสียต่อสุขภาพจากโลหะหนักจะเป็นที่ทราบกันดีมาเป็นเวลานานแล้ว แต่การสัมผัสต่อสารโลหะหนักยังคงมีอยู่อย่างต่อเนื่อง และยังเพิ่มขึ้นในบางบริเวณของโลกอีกด้วย ปัจจุบันนี้การใช้แคดเมียมยังถูกใช้อย่างแพร่หลายในแบตเตอรี่ (re-chargeable nickel-cadmium batteries) การสูบบุหรี่ก็เป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้ได้รับแคดเมียม ข้อมูลเร็ว ๆ นี้บ่งชี้ว่าผลเสียต่อสุขภาพจากการสัมผัสแคดเมียมสามารถเกิดขึ้นได้แม้ได้รับแคดเมียมในปริมาณเล็กน้อย ส่วนสารปรอทนั้นได้รับมาจากอาหารโดยมีปลาเป็นแหล่งที่สำคัญ รวมถึงการอุดฟันโดยใช้สารอมัลกัมด้วย ในช่วงศตวรรษที่ผ่านมา การแพร่กระจายของสารตะกั่วไปสู่อากาศรอบกายเราส่งผลให้เกิดมลภาวะทางอากาศอย่างมาก ส่วนใหญ่ได้มาจากการเผาไหม้ของน้ำมันเบนซิน จากข้อมูลเร็ว ๆ นี้ชี้ว่าตะกั่วอาจจะมีผลต่อระบบประสาทแม้เพียงระดับของสารตะกั่วในปริมาณที่ต่ำกว่าค่าที่คาดการณ์ไว้ การสัมผัสกับสารหนูโดยมากได้รับมากับอาหารและน้ำดื่ม การได้รับสารหนูเป็นระยะเวลานานจากแหล่งน้ำดื่มจะสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งผิวหนัง และอาจจะสัมพันธ์กับมะเร็งอื่น ๆ ด้วย (Jarup, 2003)

มีการศึกษาวิจัยมากมายอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับสารโลหะหนักต่างๆเหล่านี้ การศึกษาส่วนหนึ่งพบว่า EDTA Chelation Therapy มีประสิทธิผลในการรักษาอาการพิษจากสารตะกั่วและ/หรือสารโลหะหนักชนิดอื่นได้ การศึกษาผลของการทำคีเลชันนอกจากจะทำการวัดปริมาณของสารโลหะหนักต่างๆ จากเลือดหรือปัสสาวะโดยตรงแล้ว ยังมีการตรวจแบบหนึ่งที่เรียกว่า Live Blood Analysis ซึ่งเป็นการตรวจที่ไม่ยุ่งยาก โดยใช้ตัวอย่างเลือดเพียง 1-2 หยดจากปลายนิ้ว โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อภาวะ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis เพื่อช่วยสนับสนุนผลของการทำคีเลชันให้มีหลักฐานทางการแพทย์

มากยิ่งขึ้น และการดู Crystal จากผล Live Blood Analysis ในบางครั้งยังมีข้อสงสัยว่า Crystal ที่เห็นจากผล Live Blood Analysis นั้นเป็น Artifact จากฝุ่นละอองหรือไม่ การศึกษาวิจัยเปรียบเทียบขนาดของ Crystal จากสไลด์ที่ผ่านการเช็ดและไม่เช็ดทำความสะอาดด้วยกระดาษ Lint Free Tissue ซึ่งเป็นกระดาษเช็ดทำความสะอาดที่ไม่ก่อให้เกิดคราบริ้วรอยกับผิวสัมผัสก่อนจึงมีความสำคัญในการปรับปรุงเทคนิคการตรวจ Live Blood Analysis ให้มีมาตรฐานมากยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย/การศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อ Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis

1.2.3 เพื่อเปรียบเทียบขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis ก่อนและหลังการเช็ด Slide ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue

1.3 ความสำคัญของการวิจัย

1.3.1 เพื่อทำให้การทำ Live Blood Analysis นี้มีหลักฐานทางการแพทย์เพิ่มขึ้น

1.3.2 เพื่อให้ Live Blood Analysis มีส่วนช่วยสนับสนุนถึงผลของการได้รับคีเลชัน

1.3.3 เพื่อนำข้อมูลเกี่ยวกับผลที่ได้หลังการใช้กระดาษ Lint Free Tissue มาปรับเปลี่ยนเทคนิคในการตรวจ Live Blood analysis ให้มีความน่าเชื่อถือมากขึ้น

1.4 สมมติฐานการวิจัย

1.4.1 การทำคีเลชันส่งผลให้ภาวะ Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis ลดลง

1.4.2 การทำคีเลชันส่งผลให้ขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis ลดลง

1.4.3 การเช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue ช่วยลดการเกิด Artifact ในการดู Live Blood Analysis

1.5 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.5.1 ประชากรที่ใช้ในการวิจัย

อาสาสมัครทั้งเพศหญิงและเพศชาย โดยไม่จำกัดช่วงอายุ

1.5.2 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

อาสาสมัครที่เข้ารับการทำคีเลชันจำนวน 5 ครั้งที่วิลล่าเมดิกาคลินิค จำนวน 37 คน

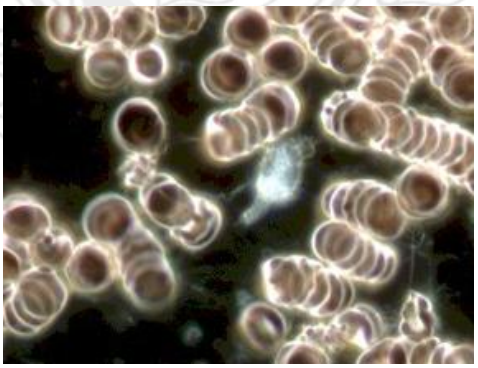
1.6 ข้อจำกัดของการวิจัย

เพื่อศึกษาเกี่ยวกับผลของการทำคีเลชันต่อผล Live Blood Analysis หลังทำคีเลชัน โดยจะไม่รวมไปถึงการศึกษาเกี่ยวกับผลทางคลีนิคหรือผลต่อการรักษาโรคในระยะยาวของผู้ป่วย หลังเข้ารับการทำคีเลชัน

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย (operational definition)

1.7.1 Rouleau Formation

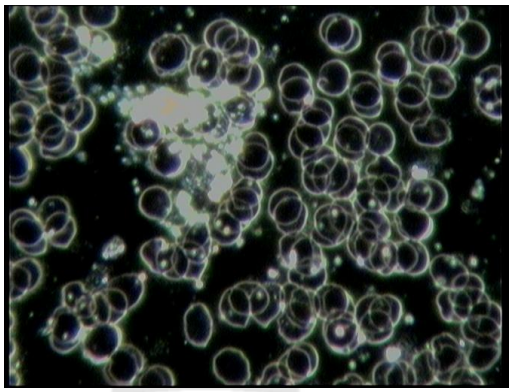
คือ การติดกันของ เม็ดเลือดแดงเป็นกลุ่ม ดังภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 Rouleau Formation

1.7.2 Crystal

คือ ก้อนผลึก ที่เกิดได้จากหลายปัจจัย เช่น จากสารพิษที่เกิดจากมลภาวะในอากาศ, สารพิษที่เกิดขึ้นจากลำไส้ รวมถึงสารพิษ โลหะหนักต่าง ๆ ดังภาพที่ 1.2



ภาพที่ 1.2 Crystal

1.7.3 Chelation Therapy

เป็นการให้สาร Chelating agents ทางหลอดเลือด โดย Chelating agents ที่ใช้กันมีหลายตัว เช่น EDTA, DMSA, DMPS เป็นต้น

1.7.4 Live Blood Analysis

เป็นการตรวจโดยใช้ตัวอย่างเลือดเพียง 1-2 หยดจากปลายนิ้วของผู้เข้ารับการตรวจ จากนั้นจึงนำไปส่องกล้องผ่านเครื่อง Dark Field Microscopy เพื่อวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดที่มีชีวิต ทำให้เราได้ข้อมูลเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน, ภาวะการขาดวิตามิน, ความสมดุลของระบบฮอร์โมน, ระบบการย่อยอาหาร, รวมไปถึงปริมาณของสารพิษต่าง ๆ, สมดุลกรด ด่างในเลือด, ยีสต์หรือเชื้อราในกระแสเลือด เป็นต้น

1.7.5 กระดาษ Lint Free Tissue

เป็นกระดาษเช็ดทำความสะอาด ไม่ก่อให้เกิดคราบริ้วรอยกับทุกผิวสัมผัส อีกทั้งยังดูดซึมของเหลวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือก กระดาษที่ใช้ทำความสะอาดสไลด์คือกระดาษ KIMWIPE® เนื่องจากเป็นกระดาษที่นิยมใช้แบบหนึ่งในห้องปฏิบัติการในต่างประเทศ ด้วยแผ่นพลาสติก LINTGUARD® ที่บรรจุภัณฑ์ จึงสามารถลดไฟฟ้าสถิตและฝุ่นได้ดี ไม่ทิ้งฝุ่นขุย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 Heavy Metal

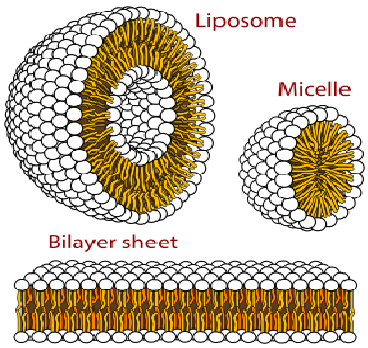
เป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่า โลหะหนักนั้นเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์ โดยระบบประสาทเป็นเป้าหมายที่สำคัญ อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายตำแหน่งในร่างกายมนุษย์ที่จะได้โลหะหนักเหล่านี้จะไปจับได้โดยเฉพาะบริเวณโปรตีนที่ผนังของเซลล์ เช่น ที่ ion channels (Naydenova, Zheliaskova, Ugrinov, Marinov & Petrov, 2003)

มีการศึกษาถึงผลของโลหะหนักต่อ Lipid Bilayers โดยเฉพาะแคดเมียมและปรอท พบว่าแคดเมียมทำให้เกิดการเปิดของ channel ที่ผิวเซลล์มากยิ่งขึ้น และยิ่งปริมาณของแคดเมียมเพิ่มมากขึ้นไปถึง 5 μM ประจุที่ lipid Bilayers ยิ่งมีความไม่เสถียรมากยิ่งขึ้นก่อให้เกิดการสลายตัวของผิวเซลล์ได้ ส่วนผลของปรอทต่อประตู Channel ที่ผิวเซลล์พบว่าถ้าปรอทเพิ่มจำนวนขึ้นถึง 3 μM ก็สามารถเปลี่ยนแปลงประจุที่ผิวเซลล์ได้แล้ว (Naydenova, Mellor & Petrov, 2002)

2.2 Lipid Bilayer

Lipid Bilayer คือ membrane ที่ค่อนข้างบางประกอบด้วยโมเลกุลของไขมันเรียงตัวกันเป็น 2 แถว membrane เหล่านี้ทำหน้าที่เป็นด่านป้องกันรอบ ๆ เซลล์ ผนังเซลล์ส่วนมากในสิ่งมีชีวิตรวมถึงไวรัสเป็น Lipid Bilayer เช่นเดียวกับผนังรอบ ๆ ของนิวเคลียสของเซลล์และผนังเซลล์ของเม็ดเลือดแดงด้วย Lipid Bilayer โดยปกติแล้วส่วนมากประกอบด้วย phospholipids นอกจากนั้นยังมี sphingomyelin และsterol เช่น cholesterol เป็นต้น ซึ่งมีหัวด้านหนึ่งที่สามารถละลายในน้ำได้ (Hydrophilic head) และ 2 หางที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (Hydrophobic tails) เมื่อ phospholipids สัมผัสกับน้ำ จึงทำให้เกิดการเรียงตัวกันของ phospholipids เป็น 2 ชั้น (bilayer) โดยส่วนหางจะชี้เข้าสู่ตรงกลางด้านในของผนังเซลล์ดังภาพที่ 2.1 ส่วน Phospholipids ส่วนหัวจะหันออกด้านนอก Cholesterol ช่วยทำให้ lipid bilayer แข็งแรงมากขึ้น

ส่วนหัวที่ละลายน้ำที่อยู่ด้านนอกนั้นจะมี phosphate group อยู่ phospholipid ที่พบเป็นส่วนประกอบส่วนมากที่ผนังเซลล์นี้มีประจุลบของ phosphate group



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของ phospholipids 3 ลักษณะ; liposome (a closed bilayer), micelle และ bilayer.

อนุมูลอิสระ หรือ Free radical คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มี unpaired electron (Halliwell, 1994) อนุมูลอิสระ อาจจะมีประจุบวก, ประจุลบ หรือไม่มีประจุก็ได้ อนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรอาจจะไปมีปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ได้ เช่น ปฏิกิริยาต่อ Nucleophilic ions with α,β-unsaturated compounds (C=C–C=O) นั่นก็คือที่พบในไขมันไม่อิ่มตัวชนิดต่าง ๆ ที่พบได้ในชีวิตประจำวัน เช่น น้ำมันพืช ไขมัน trans fat ได้ จากปฏิกิริยานี้ส่งผลให้เกิดประจุบวกได้

2.3 Chelation Therapy

คำว่า “คีเลชัน (Chelation)” มีรากศัพท์มาจากภาษากรีกคำว่า “Chele” ที่มีความหมายว่า การยึดติดของก้ามของปู สารที่ใช้ในการทำคีเลชัน เรียกว่า Chelating agents คือ สารที่มีความสามารถในการบริจาคอิเล็คตรอนให้กับสารอีกตัวหนึ่ง จึงสามารถจับกับสารบางตัวรวมไปถึงสารโลหะหนักต่าง ๆ ด้วย มีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติและสารเคมีสังเคราะห์ มีการใช้สารสังเคราะห์ที่เป็น Chelating agents หลายๆ ตัว เช่น EDTA (Ethylene Diamine Tetra-Acetic acid), DMSA (Dimercaptosuccinic Acid), DMPS(2,3-Dimercapto-1-propanesulfonic acid) เป็นต้น เนื่องจากสารแต่ละตัวมีความสามารถในการจับกับสารโลหะหนักได้แตกต่างกัน เช่น DMSA หรือ

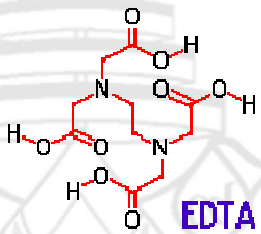
DMPS เป็นตัวจับที่ดีสำหรับสารปรอท, EDTA เป็นตัวจับที่ดีสำหรับตะกั่ว, แคดเมียม, เหล็ก, ทองแดง

สาร Chelating Agent ที่ถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางมากที่สุด คือ EDTA (Ethylene Diamine Tetra-Acetic acid) เป็นกรดอะมิโนตัวหนึ่งที่สังเคราะห์ขึ้นมาอยู่ในรูปแบบผงสีขาว มีอยู่ในหลายรูปแบบด้วยกัน ไม่ว่าจะเป็นในรูปของเกลือโซเดียม (Na_2EDTA), เกลือแคลเซียม ($CaNa_2EDTA$), หรือเกลือแมกนีเซียม ($MgNa_2EDTA$)

2.3.1 Chemistry and pharmacological actions of EDTA

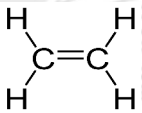
ในที่นี้จะกล่าวถึง disodiumEDTA เป็นหลัก

EDTA = Ethylene Diamine Tetraacetic acid ดังภาพที่ **2.2**



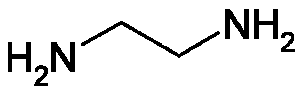
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ EDTA

Ethylene ดังภาพที่ 2.3



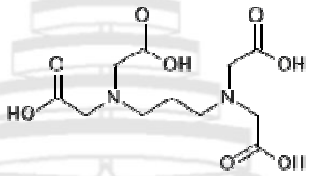
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของ Ethylene

Diamine = 2 ไนโตรเจนอะตอมหรือ amine groups จับกับคาร์บอนอะตอมของ Ethylene group ดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของ Diamine

Tetraacetic acid = acetic groups 4 กลุ่ม จับกับไนโตรเจน 2 ตำแหน่ง ดังภาพที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของ Tetraacetic acid

EDTA มี Unshared electrons อยู่ 6 คู่ นั่นคือมันสามารถบริจาคอิเล็คตรอนให้กับ cation ตัวอื่นได้ ดังนั้นคำจำกัดความของ คีเลชันจึงเป็น การรวมตัวกันของธาตุโลหะไปในโครงสร้างของ heterocyclic ring

สาร chelating agents ควบคุมอะตอมของธาตุต่าง ๆ โดยการไปปิดกั้น reactive sites ของธาตุนั้น ๆ และป้องกันพวกมันจากกิจกรรมปกติ ปรากฏการณ์นี้คือผลของ EDTA ตราบเท่าที่มันยังอยู่ในร่างกาย ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อโครงสร้างที่ซับซ้อนระหว่าง EDTA กับ อะตอมของธาตุต่าง ๆ มีดังนี้

ปัจจัยแรก คือ ความเป็นกรดด่าง ถ้าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการจับกับสารอื่น ๆ ของ EDTA จะมีความมั่นคงมากขึ้น นั่นคือ EDTA จะปลดปล่อยอะตอมของธาตุต่าง ๆ น้อยลง

ปัจจัยที่สอง คือ ความแข็งแรงของการจับของ EDTA ต่อธาตุต่าง ๆ affinity ของ cation ต่อ EDTA สามารถดูได้จากค่า Log K (ดังตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 ค่าความแข็งแรงของการจับของ EDTA ต่อธาตุต่าง ๆ

In-Vitro Log Stability Constants EDTA												
Most stable												Least stable
Cr	Fe^{3+}	Hg	Cu	Pb	Ni	Cd	Zn	Co	Al	Fe^{2+}	Mn	Ca	Mg
>26	25	21	18.8	18.5	16.6	16.5	16.3	16.1	14.3	14	10.9	8.6	
Log constants												Log(K)	

ปัจจัยที่สามคือ ความเข้มข้นของธาตุต่าง ๆ เช่น ถึงแม้ในธาตุที่มี affinity ต่ำแต่มีความเข้มข้นสูง ก็สามารถไปทดแทนธาตุที่มี stability มากกว่าแต่มีความเข้มข้นน้อยได้

2.3.2 Pharmacological action

EDTA ที่ให้เข้าไปจะไปลดระดับแคลเซียมในเลือดเล็กน้อย ซึ่งจะทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนจากต่อมพาราไทรอยด์ ซึ่งจะไปดึงแคลเซียมจากผนังหลอดเลือดและตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ แคลเซียมเหล่านี้จะไปรวมกับ EDTA ไปเป็น CalciumEDTA complex แล้วขับออกทางปัสสาวะ ในทางทางทฤษฎีแล้ว 3 กรัมของ EDTA ที่ให้ทางหลอดเลือดจะดึงแคลเซียมได้ 324 มิลลิกรัม ซึ่งเท่ากับประมาณ 2 เท่าของแคลเซียมที่ขับออกต่อวัน

ผลต่อกระดูก การที่ EDTA ทำให้ระดับแคลเซียมในเลือดลดลง ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนพาราไทรอยด์ เพื่อช่วยปรับให้สมดุลแคลเซียมอยู่ในเกณฑ์ปกติ เริ่มแรกจะไปกระตุ้นเซลล์ Osteoclast ก่อนประมาณ 21 วัน อย่างไรก็ตามก็จะไปกระตุ้นเซลล์ Osteoblast ด้วย ส่งผลให้เกิดการสร้างกระดูกเพิ่มขึ้นในช่วง 120 วัน โดยสรุปแล้วจึงทำให้เกิดการเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมประมาณ 120 วันหลังการทำคีเลชันในแต่ละครั้ง ดังนั้น DisodiumEDTA จึงควรเพิ่มมวลกระดูกโดยรวม แต่สำหรับการใช้ Calcium EDTA จะไม่เปลี่ยนแปลงระดับแคลเซียมในเลือด ดังนั้นสมดุลแคลเซียมจะไม่เปลี่ยนแปลง

2.3.3 Absorbtion and Metabolism of EDTA

EDTA จะไม่ถูก metabolized ในร่างกายหรือดูดซึมกลับที่ไต โดยทั่วไปแล้วผู้ที่การทำงานของไตเป็นปกติ ค่า half life ของ EDTA จะเท่ากับ 45 นาทีโดยประมาณ โดยทั่วไปแล้วสาร EDTA นี้ประมาณไม่เกิน 8 ชั่วโมงจะถูกขับออกจากร่างกายเกือบทั้งหมด โดยที่อีก 1-2% เท่านั้นที่จะยังคงเหลืออยู่ในร่างกายอีก 24 ชั่วโมง แต่ในกรณีผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตบกพร่องไป อัตราการขับ

ออกก็จะลดลง สาร EDTA นี้จะไหลเวียนไปตามหลอดเลือด โดยไม่สามารถผ่านชั้นกั้นของสมอง และ 95% จะถูกขับออกทางไต ส่วนอีก 5% ที่เหลือ จะผ่านไปที่ตับและขับออกทางนำดี

แต่ EDTA ในรูปแบบรับประทาน เพียง 5% เท่านั้นที่จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ที่เหลือก็จะถูกขับออกทางอุจจาระ ดังนั้น EDTA ในรูปแบบนี้จึงได้ผลน้อยกว่า EDTA ในรูปแบบให้เข้าทางหลอดเลือด EDTA สามารถผ่านเข้าสู่ Extracellular space ได้ แต่ไม่สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้

2.3.4 Contraindications

ข้อห้ามในการใช้ EDTA อย่างสิ้นเชิงคือ ในหญิงตั้งครรภ์ ยกเว้นกรณีที่มีภาวะเป็นพิษจากตะกั่วอย่างรุนแรงและฉับพลัน เนื่องจาก EDTA ยังไม่ได้รับการพิสูจน์ว่าปลอดภัยในหญิงตั้งครรภ์ ดังนั้นจึงแนะนำให้หลีกเลี่ยงการใช้ในกรณีนี้ อย่างไรก็ตาม EDTA ถูกขับออกทางไต ดังนั้นผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายหรือการทำงานของไตบกพร่องอย่างรุนแรงจึงไม่แนะนำให้ใช้ EDTA

ในการที่จะบอกความรุนแรงของภาวะไตเสื่อมได้ ผู้ป่วยควรจะมีการวัดค่า Creatinine Clearance (ภาคผนวก ข)

อย่างไรก็ตามแพทย์ไม่ควรดูที่ค่าการทำงานของไตอย่างเดียว เนื่องจากค่าการทำงานของไตจะยังคงอยู่ในเกณฑ์ปกติถึงแม้ว่าหน้าที่การทำงานของไตจะเสียไปแล้ว ค่าการทำงานของไตจะเริ่มเกินค่าปกติเมื่อไตเสื่อมลงไปประมาณ 50%ของค่าปกติ

EDTA เป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านเกล็ดเลือด ดังนั้นจึงสามารถรบกวนกระบวนการแข็งตัวของหลอดเลือดได้แต่ไม่มากนัก ดังนั้นผู้ป่วยที่มีประวัติเลือดออกในทางเดินอาหารควรใช้ EDTA อย่างระมัดระวัง รวมถึงผู้ป่วยที่มีปัญหาโรคตับที่มีเอนไซม์ตับขึ้นสูง และมีความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือด ไม่ควรทำ EDTA chelation บ่อยมากเกินไป และไม่ควรใช้ปริมาณ EDTA สูงมากนัก เมื่อเอนไซม์ตับกลับมาอยู่ในเกณฑ์ปกติจึงค่อยเพิ่มปริมาณ EDTA ไปเป็นปริมาณปกติได้ (Rozema, 1997)

2.3.5 ประโยชน์ของการทำคีเลชัน

การศึกษาส่วนใหญ่พบว่า EDTA Chelation Therapy มีประสิทธิผลในการรักษาอาการพิษที่เกิดจากสารตะกั่วและ/หรือ สารโลหะหนักชนิดอื่น ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม (Controlled Group) (Chelation Medical Association Thai, 2008) โดยที่ Calcium Disodium EDTA ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาว่า สามารถนำไปใช้ ในการรักษาอาการพิษที่เกิดจากสารตะกั่วและ/หรือสารโลหะหนักชนิดอื่น (บางชนิด) ได้อย่างมี ประสิทธิภาพ (U.S FDA, 2008) รวมถึงมีหลักฐานยืนยันการใช้ Calcium Disodium EDTA ในการรักษาพิษ ดังกล่าว

ในประเทศไทย (Department of Medical Sciences, 2005) ทั้งนี้ขนาดที่ใช้ในการแก้พิษ คือ 30-50 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อวัน แต่ไม่เกินขนาด 2 กรัมต่อวัน โดยแบ่งให้ 2 ครั้งผ่านทางหลอดเลือดดำหรือผ่านทางกล้ามเนื้อ ห่างกันอย่างน้อย 12 ชั่วโมง และให้ติดต่อกันนาน 3-5 วัน แล้วแต่กรณี (Department of Medical Sciences, 2005) มีการศึกษาในเด็กขวบปีแรกเป็นเด็กหญิง 2 คนและเด็กชาย 2 คน พบว่า เด็กหญิง 1 คนและเด็กชาย 1 คนที่ได้รับพิษจากสารตะกั่ว พบว่ามีการลดลงของระดับ ตะกั่วในเลือดอย่างมีนัยสำคัญหลังได้รับ EDTA Chelation

ประสิทธิผลในการรักษาอาการหลอดเลือดตีบตัน มีการศึกษาบางส่วนที่รายงาน ถึงประสิทธิผล ของ EDTA Chelation Therapy ในการรักษาอาการหลอดเลือดตีบตัน ซึ่งอาจส่งผลต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ (Dans, Tan & Villarruz-Sulit, 2002) หลังจากการทบทวน ผลงานวิจัยประเภท Randomized Controlled Trial (RCT) ที่เกี่ยวข้องทั้งหมด 5 รายงาน สามารถสรุปได้ว่า EDTA Chelation Therapy อาจนำมาใช้ในการบำบัดอาการของ Peripheral Vascular Disease ได้ในผู้ป่วยบางราย ทั้งนี้อาการที่ดีขึ้นบางส่วนอาจเป็นผลจาก Placebo Effect เนื่องจากมีเพียง 2 รายงาน (Chappell & Stahl, 1993; Olszewer, Sabbag & Carter, 1990) เท่านั้น ที่รายงานถึงประสิทธิผลดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญ

อัตราการตายจากโรคมะเร็งลดลง 90% ในช่วง 18 ปีที่ติดตามผู้ป่วยจำนวน 59 คน ที่ใช้ CalciumEDTA เพียง 1 คนเท่านั้นในจำนวน 59 คน (1.7%) ที่เสียชีวิตจากมะเร็ง ในขณะที่ 30 คนใน 172 คนของกลุ่มควบคุม (เท่ากับ 17.6%) ตายจากโรคมะเร็ง (p=0.002) การตายจากภาวะหลอดเลือดแข็งตัว (artherosclerosis) ก็ลดลงด้วย ผู้ป่วยที่ผ่านการรักษาที่ไม่ได้ป่วยเป็นมะเร็ง ณ เวลาที่เข้าสู่การศึกษานี้ การสังเกตในแง่ของการป้องกันการเสียชีวิตในระยะยาวจากโรคมะเร็ง ถ้าเริ่มทำคีเลชันก่อนที่จะเกิดโรคมะเร็งขึ้น ผู้ป่วยกลุ่มควบคุมและผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาแล้วที่อาศัยอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกัน ติดกันกับถนนสายหลักที่มีการจราจรคับคั่งในเมืองเล็ก ๆ ของ Swiss พบว่าทั้ง 2 กลุ่มได้รับปริมาณตะกั่วในปริมาณใกล้เคียงกันจากการปล่อยควันเสียจากรถยนต์ จากโรงงาน หรือสารก่อมะเร็งอื่น ๆ การสัมผัสต่อสารก่อมะเร็งในกลุ่มประชากรที่ศึกษาไม่ได้เพิ่มขึ้นมากกว่าที่มีอยู่ในบริเวณเมืองใหญ่ทั่วโลก ผลวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการทำ EDTA Chelation therapy ทำให้เกิดข้อแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการรักษา ที่ทำให้เกิดการลดลงอย่างมากของอัตราการตายจากโรคมะเร็ง (cancer mortality) เราทราบกันดีว่า EDTA ใช้ในการรักษาสารตะกั่วเป็นพิษ และยังช่วยดึงสารพิษโลหะหนักต่างๆ และธาตุบางตัวเช่น ธาตุเหล็กซึ่งส่งเสริมให้เกิดมะเร็งโดยการกระตุ้นให้เกิดสารอนุมูลอิสระขึ้น สารตะกั่วจากควันเสียเครื่องยนต์, สารที่ได้มากจากน้ำมันปิโตรเคมีจาก automobile tires, แคดเมียม และสารก่อมะเร็งอื่น ๆ ที่พบในปริมาณที่สูงในบริเวณที่ใกล้กับถนนสายหลักที่การจราจรคับคั่ง สารเหล่านี้เป็นสาเหตุของมะเร็งและกระตุ้น

สารก่อมะเร็งอื่น ๆ ด้วย มีรายงานก่อนหน้านี้ว่าอัตราการตายจากโรคมะเร็งในผู้ป่วยจำนวน 231 คน ที่อาศัยอยู่ตามแนวถนนสายหลักที่มีการจราจรหนาแน่นมีอัตราการตายที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่อาศัยอยู่บริเวณถนนที่การจราจรเบาบางในเมืองเดียวกัน จึงถูกตั้งสมมติฐานว่าการสัมผัสสารตะกั่วจาก ควันเสียรถยนต์อาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งของความแตกต่างนี้ (Blumer & Cranton, 1989)

การศึกษาในผู้ป่วย 30 คนที่มีภาวะหลอดเลือดแข็งตัว (arteriosclerotic vascular disease)ที่ได้รับการรักษาด้วย 3 กรัม EDTA ทางหลอดเลือด ผู้ป่วยเหล่านี้ได้รับการประเมินการตีบของเส้นเลือด Internal carotid ตรงบริเวณ Bifurcation ก่อนและหลังการทำ EDTA chelation ผู้ป่วยในแต่ละรายที่ได้รับการรักษาในช่วงประมาณ 10 เดือน โดยรวมแล้วการอุดตันของหลอดเลือดแดงลดลง 20.9% +/- 2.3%(t—g.921. p<.001*) ในผู้ป่วยที่มีการตีบตันมากกว่า 33**%** เหนือค่าเฉลี่ย พบว่ามีการลดลงของการตีบตัน 35.00% +/- 4.3% หลังการรักษา (t—S.178, p<0.001* n=16) **(***มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ย**)** (Rudolph, McDonagh & Barber, 1991)

EDTA chelation therapy เป็นการรักษาทางเลือกหนึ่งสำหรับการทำ By-pass surgery ในผู้ป่วยโรคหัวใจและหลอดเลือดมานานกว่า 40 ปี มันเป็นการรักษาที่ไม่ได้มีราคาแพงมากเกินไปนักในการฟื้นฟูการไหลเวียนเลือดในผู้ที่มีหลอดเลือดตีบแข็ง อย่างไรก็ตามประโยชน์ของการทำ EDTA chelation ยังคงมีข้อโต้แย้งในการรักษาโรคหัวใจขาดเลือด จากการสังเกตผลของ EDTA chelation ต่อ exercise tolerance ในอาสาสมัครจำนวน 13 คนที่ได้รับการรักษาแบบ conventional therapy โรคหัวใจและหลอดเลือดที่มีอาการ ผู้ป่วยแต่ละคนได้รับการทำ chelation อาทิตย์ละครั้ง จำนวน 30 ครั้ง จากนั้นทำเดือนละครั้ง จำนวน 12 ครั้งตาม ACAM Protocol (American College for Advancement in Medicine) การทำ Chelation นี้ทำร่วมไปกับ conventional therapies โดยแพทย์ประจำตัวผู้ป่วยจากทางโรงพยาบาล จะมีการตรวจ Stress ECG, echocardiography และ coronary angiogram ก่อนเริ่มต้นทำการรักษา ระยะทางที่ผู้ป่วยสามารถเดินได้ตามพื้นราบที่ความเร็วปานกลางและจำนวนขั้นที่ผู้ป่วยสามารถเดินขึ้นบันไดจนกระทั่งผู้ป่วยเริ่มมีอาการเจ็บหน้าอกหรือรู้สึกหายใจไม่อิ่มเป็น 2 ตัวแปรของ exercise tolerance ที่จะต้องถูกบันทึกเพื่อบอกระดับของ angina ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจวัดค่าการทำงานของตับและไตตอนทำ chelation ครั้งที่ 1, ครั้งที่ 5, ครั้งที่ 10, ครั้งที่ 15, และครั้งที่ 30 จากผู้ป่วยจำนวน 13 คน พบว่าจำนวน 11 คนมีระดับความรุนแรงของ angina ดีขึ้น ในขณะที่อีก 2 คนพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง ผู้ป่วยคนหนึ่งระดับความรุนแรงของ angina ดีขึ้นจากระดับ 4 ไปเป็นระดับ 1, 6 คนดีขึ้นจากระดับ 3 ไปเป็นระดับ 1, และ 1 คนดีขึ้นจากระดับ 3 ไปเป็นระดับ 2, และอีก 2 คนดีขึ้นจากระดับ 2 ไปเป็นระดับ 1 การลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ mean score (p=0.002) ที่ 6 เดือนของการรักษาเมื่อเปรียบเทียบกับในช่วงเดือนแรก มี

การเพิ่มขึ้น 1.7 เท่าของระดับ SGPT โดยเฉลี่ย ในช่วงที่ทำ Chelation ครั้งที่ 30 เมื่อเปรียบเทียบกับผลเลือดก่อนการรักษา พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับ SGOT (p=0.664) ไม่มีผู้ป่วยคนใดที่มีภาวะ Hepatocellular damage ค่าการทำงานของไตโดยเฉลี่ยแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของการลดลงในระหว่างการรักษา ไม่พบผลข้างเคียงในระหว่างการทำ Intra- venous EDTA Chelation เช่น การทำลายตับ, การทำลายไต, การแพ้, ภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำที่มีอาการ และ การอักเสบของหลอดเลือด ดังนั้น EDTA chelation therapy ตาม ACAM protocol เป็นการรักษาที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการปรับปรุง exercise tolerance ในผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือดในระหว่างการรักษาด้วย conventional therapy (Goonasekera et al., 2010)

2.3.6 Chelation Protocol

EDTA Chelation Therapy เป็นการให้น้ำเกลือที่มี EDTA ผสมอยู่ด้วย โดยให้ทางหลอดเลือดอย่างช้า ๆ โดยมีการคำนวนปริมาณสาร EDTA ที่ให้อย่างเหมาะสมก่อน โดยคำนวณจากอายุ, เพศ, นำหนัก, ส่วนสูงของผู้ป่วย รวมไปถึงการทำงานของไต การทำคีเลชันด้วย EDTA มี Protocol หลักอยู่ 2 อัน คือ ACAM Protocol จากประเทศอเมริกา และ ACNEM Protocol ที่มีการใช้กันในประเทศออสเตรเลีย ดังนี้

ACAM PROTOCOL

500 cc sterile water
3 grams of Na2EDTA
2 grams of Magnesium chloride
Procaine HCl, 100 mg
Heparin, 2500 units
Pantothenic acid, 250 mg
Ascorbate, 7 grams
Potassium Chloride, 2 mEq
Pyridoxine, 100 mg
Thiamine, 100 mg
Sodium Bicarbomate, 840 mg

ACNEM PROTOCOL

TO 1.5 gram of sodium EDTA add:
250 ml 5% dextrose
2.5 ml 50% magnesium sulphate
Sodium ascorbate 2.5 grams
Vitamin B complex(1 2 3 5 6) 1 ml

การทำ EDTA คีเลชันจะปลอดภัยมากถ้าปฏิบัติตาม Protocol อย่างถูกต้อง มีประวัติการเกิดผลข้างเคียงในกรณีที่ใช้ EDTA ในปริมาณที่สูงมาก ขณะทำคีเลชัน ปัญหาที่พบบ่อยคือ อาการปวด

และรู้สึกไม่สบายที่แขน ส่วนผลข้างเคียงอื่น ๆ ที่พบได้ คือ ภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำ, น้ำตาลในเลือดต่ำ, รู้สึกมีไข้ครั่นเนื้อครั่นตัว,อ่อนเพลีย, กระหายน้ำ, ปวดศีรษะ เป็นต้น

การคำนวนปริมาณของสาร EDTA คำนวนโดยการใช้ค่า Creatinine clearance

Dose EDTA mg = 50 mg EDTA per kg X 1.33 X CrCl/100

โดยปริมาณที่ให้ได้มากที่สุดต่อวันคือ 3 gram (Hromek, 2008)

2.4 Rouleau Formation

Rouleau Formation เป็นการติดกันของเม็ดเลือดแดง โดยปกติแล้วที่ผิวของเม็ดเลือดแดงจะมีประจุลบจึงทำให้เกิดการผลักกันของเม็ดเลือดแดง แต่จากสาเหตุหลายประการ โดยเฉพาะเมื่อเกิดประจุบวกขึ้น ก็จะทำให้เกิดการติดกันของเม็ดเลือดแดงได้ เช่น การมีสารพิษโลหะหนักอยู่ในร่างกาย ประจุบวกที่เกิดจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระต่อไขมันไม่อิ่มตัว ผู้ที่พบ Rouleau Formation อาจมีอาการได้หลากหลายจากภาวะที่เม็ดเลือดแดงขนส่งออกซิเจนได้ไม่เพียงพอ และระบบการไหลเวียนเลือดไม่ดีโดย เฉพาะการไหลเวียนไปตามหลอดเลือดฝอยเล็ก ๆ เช่น มีอาการอ่อนเพลีย, หายใจไม่อิ่ม, ปลายมือปลายเท้าเย็น (Coyle, 1988)

มีการศึกษาพบว่าภาวะการติดกันของเม็ดเลือดแดงดีขึ้นหลังจากการเปลี่ยนแปลงชีวิตประจำวันและปรับโภชนาการ รวมไปถึงการรับประทานอาหารเสริมเพิ่มเติม เช่น วิตามินอี (500 IU), วิตามินซี (1000 mg bd) และซีลีเนียม (200 mcg) (Vitetta, 2008)

มีการศึกษาพบว่า Plasma macromolecular proteins สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของภาวะ Rouleau Formation และ Erytrocyte aggregation (Weng, Cloutier, Beaulieu & Roederer 1996) การติดกันของ เม็ดเลือดแดง (Erythrocyte aggregation) มีผลมาจากปัจจัยใหญ่ 2 ปัจจัย คือ ประจุที่ผิวของเม็ดเลือดแดงโดยปกติแล้วจะมีประจุลบดังนั้นก็จะเกิดการผลักกันกับเม็ดเลือดแดงตัวอื่นแต่การที่ มีภาวะโปรตีนโมเลกุลใหญ่ โดยเฉพาะเมื่อเกิดมีประจุบวกขึ้น การมีความหนืดเพิ่มขึ้น (Ballou & Kushner, 1996; Ballas, 1975) พาราโปรตีน (Paraproteins) เป็นโมเลกุลที่มีประจุบวก พบมากในโรค Multiple Myeloma หรือ Macroglobulinemia ก็จะทำให้เกิดภาวะ Rouleau formation เพิ่มขึ้น (Smith & Samadian, 1994)

สามารถพบ Artificial rouleau ได้จาก Peripheral blood smear ที่มีการเตรียมสไลด์ที่ไม่ดี หรือการดูสไลด์ในตำแหน่งที่มีเลือดหนา โรคที่พบภาวะ Rouleau Formation ได้นอกจาก Multiple

Myeloma, Macroglobulinemias แล้ว สาเหตุอื่นที่พบได้ คือการติดเชื้อฉับพลันหรือเรื้อรัง, โรคตับเรื้อรัง, Connective tissue diseases (Rouleaux Formation, 2006)

2.5 Crystal

สาเหตุการเกิด Crystal จากผล Live Blood Analysis ยังไม่มีการศึกษาที่แน่ชัดนัก คาดว่ากลไกการเกิดคล้ายคลึงกับ plaque ที่สะสมที่ผนังหลอดเลือด โดยเริ่มต้นจากการที่อนุมูลอิสระ คือ Reactive oxygen species (ROS) ไปทำปฏิกิริยา Oxidation กับไขมันคลอเลสเตอรอล แล้วจึงเกิดการรวมตัวกันกับผลึกแคลเซียม (Brock, 2007)

2.6 Darkfield microscopy

การใช้กล้อง Darkfield microscopy ทำงานคล้ายกล้องมาตรฐานทั่วไป แต่ใช้ระบบบางอย่างที่แตกต่างกันในการดูผลเลือด กล้องทั่วไปใช้แสงผ่านไปยังแผ่นสไลด์ และสะท้อนเข้าสู่เลนส์ ซึ่งอาจทำให้มองไม่เห็นโครงสร้างเล็ก ๆ ได้ ในขณะเดียวกันกล้อง Darkfield จะใช้ตัวรวมแสงเพื่อให้เกิดแสงสว่างมากขึ้นในการดูตัวอย่างเลือด จึงทำให้โครงสร้างของเซลล์ สิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ เรืองแสงขึ้นต้านกับพื้นหลังที่มีสีดำ มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องมือที่ชื่อว่า Energy Enhancement System™ ต่อผล Live Blood Cell Analysis พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของผลเลือดอย่างมีนัยสำคัญจำนวน 10 คนจากกลุ่มอาสาสมัคร 29 คน โดยเครื่องมือนี้เป็นเครื่องมือที่ใช้คอมพิวเตอร์จำนวน 4, 6, 8 และ 12 ตัวในการผลิตพลังงานขึ้นมาที่เรียกว่า Scalar waves (Marconi, n.d.)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 รูปแบบงานวิจัย

Observational study

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1 ประชากรที่ใช้ในการวิจัย

อาสาสมัครทั้งเพศพญิงเพศชาย ไม่จำกัดช่วงอายุ

3.2.2 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

อาสาสมัครที่เข้ารับการทำคีเลชันจำนวน 5 ครั้งที่วิลล่าเมดิกาคลินิค จำนวน 37 คน โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกดังนี้

3.2.2.1 เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Inclusion Criteria)

1. เพศชายหรือเพศหญิง
2. ผ่านการทำคีเลชัน จำนวนทั้งหมด 5 ครั้ง
3. ผู้ที่ได้รับ Chelating agent ในรูปของเกลือโซเดียม (Na_2EDTA) หรือเกลือแคลเซียม ($CaNa_2EDTA$)
4. ผู้ที่มีผล Live Blood Analysis ครบ 2 ครั้ง คือก่อนทำคีเลชัน และหลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้งแล้ว
5. ผู้ที่พบภาวะ Rouleau Formation หรือพบ Crystal ตั้งแต่ระดับ 1+ ขึ้นไป จากผล Live
6. Blood Analysis

3.2.2.2 เกณฑ์การแยกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion Criteria)

ผู้ที่มีข้อห้ามในการทำคีเลชัน ได้แก่ ภาวะหรือโรคดังต่อไปนี้ : ผู้ที่ตั้งครรภ์, มีประวัติแพ้ต่อสาร EDTA, ไตเสื่อมหรือไตวาย (Renal Failure) โดยถ้ามีความรุนแรงของภาวะไตวายอยู่ในระดับเล็กน้อย ถึงปานกลางยังสามารถให้ EDTA ได้ แต่ถ้าการทำงานของไตอยู่ในระดับรุนแรงถือเป็นข้อห้ามในการให้ EDTA โดยคำนวณความรุนแรงจาก Creatinine Clearance (ตามภาคผนวก ข)

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.3.1 แบบฟอร์มที่ใช้ในการบันทึกผลที่ประเมินระดับ Crystal และ Rouleau Formation โดยแพทย์ผู้ทำการวิจัย ดังภาคผนวก ก

3.3.2 เครื่อง Dark Field Microscopy

3.3.3 ตัวยาหลักที่ใช้ในการวิจัย คือ CalciumEDTA หรือ disodiumEDTA

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 ศึกษาหาข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำคีเลชัน รวมถึงผลที่ได้รับจากการทำคีเลชัน สาเหตุและลักษณะของ Crystal และ Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis โดยใช้คำในการสืบค้นคือ “Chelation Therapy”, ”Rouleau Formation”, “Crystal”, “Live Blood Analysis”

3.4.2 ขออนุมัติทำการศึกษาในผู้ป่วยจากคณะกรรมการการจริยธรรมในมนุษย์ ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

3.4.3 ทำการคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยที่เข้าได้กับเกณฑ์การคัดเลือกที่กำหนดไว้ รวมทั้งหมด 37 คน โดยผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะต้องผ่านการรับทราบข้อมูลการวิจัยและยินยอมให้ทำการวิจัยก่อน

3.4.4 ทำการสอบถามประวัติเบื้องต้นเกี่ยวกับข้อมูลทั่วไปและข้อมูลสุขภาพของผู้เข้าร่วมโครงการ วิจัย ตามแบบบันทึกข้อมูล ดังภาคผนวก ก

3.4.5 เจาะเลือดจากปลายนิ้วของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย จากนั้นหยดเลือดประมาณ 2 หยดไปใช้ในการดู Live Blood Analysis โดยใช้กล้องชนิด Dark Field Microscopy ก่อนเริ่มทำคีเลชัน

และหลังจากทำคีเลชัน 5 ครั้ง โดยสไลด์ทุกอันที่จะใช้ในการดู Live Blood Analysis จะต้องทำการล้างด้วยแอลกอฮอล์ก่อน

3.4.6 เลือดของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะถูกหยดลงบนสไลด์ 2 แผ่น

แผ่นที่ 1: ก่อนการดู Live Blood Analysis ทำการ เช็ดสไลด์ ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue และทำการส่องกล้องเพื่อประเมินก่อนการใช้จริงว่าปราศจาก Artifact ที่จะทำให้การประเมินเกี่ยวกับ Crystal ผิดพลาดได้

แผ่นที่ 2: ไม่มีการเช็ดสไลด์ ก่อนการดู Live Blood Analysis

โดยการประเมินผล Live Blood Analysis เจ้าหน้าที่จะทำการประเมินผลภาพถ่าย Live Blood Analysis ของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยที่กำลัง 40 โดยผู้ประเมินผลเกี่ยวกับขนาดของ Crystal และ ความรุนแรงของภาวะ Rouleau Formation ของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยแต่ละคนจะถูกประเมินโดยเจ้าหน้าที่คนเดียวกันและผู้ประเมินผลจะไม่ทราบว่าเป็นผล Live Blood Analysis ก่อนหรือหลังการทำคีเลชัน โดยกำหนดให้เกณฑ์ที่จะบอกว่ามีความรุนแรง ในระดับใด นั้น มีรายละเอียดดังนี้

1. Rouleau Grading

0 คือ ไม่พบ Rouleau Formation

1+ คือ พบการซ้อนทับกันของเม็ดเลือดแดง 2-4 ตัว

2+ คือ มีการเรียงตัวกันของเม็ดเลือดแดงเป็นสายยาวหรือเป็น Chain >4 ตัวขึ้นไป

3+ คือ มี Clumping ของเม็ดเลือดแดง

การรายงานผลจะออกมาเป็น 0, 1+, 2+, 3+

2. Crystal Grading

0 คือ ไม่พบ Crystal

1+ คือ Crystal มีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดง

2+ คือ Crystal มีขนาดเท่ากับเม็ดเลือดแดง

3+ คือ Crystal มีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดง

โดยจะพิจารณาขนาดของ Crystal โดยจะพิจารณาขนาดของ Crystal จากหลาย ๆ Field อย่างน้อย 5 Field โดยเลือกที่มีขนาดใหญ่ที่สุด และรายงานผลออกมาเป็น 0, 1+, 2+, 3+

3.4.7 บันทึกข้อมูลที่ได้ลงในแบบบันทึกข้อมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์ต่อไป

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล (data collection)

แพทย์ผู้ทำการวิจัยเป็นผู้เก็บข้อมูลต่าง ๆ ลงในแบบบันทึกข้อมูลและคอมพิวเตอร์

3.6 การประเมินผล

3.6.1 เปรียบเทียบขนาดของ Crystal และ Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis ก่อนและหลังการทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง โดยสไลด์จะทำการล้างด้วยแอลกอฮอล์และเช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue ก่อน

3.6.2 เปรียบเทียบขนาดของ Crystal ในกลุ่มที่เช็ดสไลด์และไม่เช็ดสไลด์ก่อนการดู Live Blood Analysis ทั้ง 2 ช่วงเวลาคือ ก่อนและหลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

3.7 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.7.1 ข้อมูลทั่วไป วิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณา ได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.7.2 ใช้สถิติในการประเมินการเปลี่ยนแปลงก่อนและหลังการทำคีเลชัน

3.7.2.1 ถ้าข้อมูลมีการกระจายแบบปกติ ใช้สถิติเป็น Pair T-test เพราะเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ ซึ่งเปรียบเทียบในผู้ป่วยคนเดียวกัน ก่อนและหลังการรักษา

3.7.2.2 ถ้าข้อมูลไม่มีการกระจายแบบปกติ ใช้สถิติเป็น Wilcoxon Match Pair Sign Rank test เพราะเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ ซึ่งเปรียบเทียบในผู้ป่วยคนเดียวกัน ก่อนและหลังการรักษา

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่วิลล่าเมดิก้าคลินิค การศึกษาในกลุ่มตัวอย่างจำนวน 41 ราย โดยมี 4 รายที่ไม่สามารถใช้ข้อมูลในการประเมินผลการวิจัยได้เนื่องจากผล Live Blood Analysis เริ่มต้น มี grading ของภาวะ Rouleau Formation และขนาดของ crystal เป็น grade 0 อยู่แล้วจึงไม่เข้ากับเกณฑ์การคัดเลือก (inclusion criteria) คงมีผู้เข้าร่วมวิจัยที่ใช้เก็บข้อมูลได้ 37 ราย ผลการศึกษาดังนี้

4.1 ข้อมูลสังคมประชากรของอาสาสมัคร

คุณลักษณะประชากรของอาสาสมัคร พบว่า กลุ่มอายุของอาสาสมัครส่วนใหญ่อายุมากกว่า 50 ปี ร้อยละ 42.5 โดยอายุสูงสุด 77 ปีและต่ำสุด 19 ปี และมีอายุเฉลี่ย 47.43 ปี อาชีพส่วนใหญ่มีกิจการส่วนตัวร้อยละ 52.5 รองลงมาอาชีพพนักงาน ร้อยละ 22.5 ส่วนใหญ่มีโรคประจำตัวร้อยละ 55 ซึ่งเป็นโรคภูมิแพ้ 8 ราย ความดันโลหิตสูง 4 ราย เบาหวาน 3 ราย โรคหัวใจ 2 ราย ไขมันในเลือดสูง 1 ราย มีประวัติการสูบบุหรี่ร้อยละ 15 ประวัติการอุดฟันใช้อมัลกัมร้อยละ 75 รายละเอียดดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะสังคมประชากร

ลักษณะสังคมประชากร	จำนวน	ร้อยละ
อายุ (ปี)		
น้อยกว่า 40 ปี	13	35.14
40-50 ปี	8	21.62
มากกว่า 50 ปี	16	43.24
Mean±SD	47.43±13.56	
Median(Min-Max)	47(19-77)	
อาชีพ		
ข้าราชการ	3	8.11
แม่บ้าน	4	10.81
พนักงาน	8	21.62
นักเรียน/นักศึกษา	2	5.41
กิจการส่วนตัว	20	54.05
ประวัติโรคประจำตัว		
มี	22	59.46
ไม่มี	15	40.54
ประวัติการสูบบุหรี่		
สูบ	6	16.22
ไม่สูบ	31	83.78
ประวัติการดื่มสุรา		
ดื่มนาน ๆ ครั้ง (ไม่ได้ดื่มทุกสัปดาห์)	7	18.92
ดื่มเป็นประจำ	5	13.51
ไม่ดื่ม	25	67.57

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ลักษณะสังคมประชากร	จำนวน	ร้อยละ
ประวัติการออกกำลังกาย		
ไม่ออกกำลัง	15	40.54
น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ครั้ง/สัปดาห์	9	24.32
มากกว่า 2 ครั้ง/สัปดาห์	13	35.14
ประวัติการดื่มน้ำ		
น้อยกว่า 1 ลิตร/วัน	21	56.76
มากกว่า 1 ลิตร/วัน	16	43.24
ประวัติการอุดฟันใช้อมัลกัม		
มี	28	75.68
ไม่มี	9	24.32

4.2 ข้อมูลจำนวนกลุ่มตัวอย่าง อายุ และการประเมิน

ข้อมูลจำนวนกลุ่มตัวอย่าง อายุของอาสาสมัครในแต่ละราย และการประเมินคะแนน Rouleau Grading และ Crystal Grading จำแนกตามช่วงเวลาคือ ก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง พร้อมกับการสรุปผลหลังจากทำคีเลชันโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ ดีขึ้นและ ไม่ดีขึ้นหรือเท่าเดิม รายละเอียดดังตารางที่ 4.2-4.3

ตารางที่ 4.2 อายุและค่า Rouleau Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้งแล้ว

ลำดับที่	อายุ (ปี)	เซ็ด Slide		Result
		ก่อนทำคีเลชัน	หลังทำคีเลชัน	
1	42	2+	1+	+
2	39	2+	1+	+
3	56	1+	1+	-
4	62	3+	2+	+
5	37	3+	3+	-
6	59	2+	1+	+
7	62	3+	0	+
8	47	2+	1+	+
9	49	1+	2+	-
10	38	3+	0	+
11	38	3+	1+	+
12	46	1+	1+	-
13	58	2+	2+	-
14	60	2+	2+	-
15	32	3+	1+	+
16	37	3+	2+	+
17	61	3+	1+	+
18	34	0	1+	-
19	19	2+	1+	+
20	42	3+	2+	+
21	41	2+	1+	+
22	63	1+	0	+
23	72	2+	1+	+
24	36	3+	1+	+

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ลำดับที่	อายุ (ปี)	เช็ด Slide		Result
		ก่อนทำคีเลชัน	หลังทำคีเลชัน	
25	56	2+	1+	+
26	38	1+	1+	-
27	53	1+	1+	-
28	23	1+	1+	-
29	30	3+	0	+
30	51	1+	0	+
31	29	2+	2+	-
32	62	2+	1+	+
33	77	3+	2+	+
34	60	0	1+	-
35	49	3+	1+	+
36	54	2+	1+	+
37	43	2+	1+	+

หมายเหตุ. + เท่ากับ ดีขึ้น

- เท่ากับ ไม่ดีขึ้นหรือเท่าเดิม

ตารางที่ 4.3 อายุและค่า Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้งแล้ว

ลำดับที่	อายุ (ปี)	เช็ด Slide		Result
		ก่อนทำคีเลชัน	หลังทำคีเลชัน	
1	42	1+	0	+
2	39	3+	1+	+
3	56	3+	0	+
4	62	3+	0	+
5	37	3+	0	+
6	59	2+	1+	+
7	62	3+	0	+
8	47	1+	0	+
9	49	2+	0	+
10	38	1+	1+	-
11	38	1+	0	+
12	46	3+	1+	+
13	58	1+	0	+
14	60	1+	1+	-
15	32	1+	1+	-
16	37	3+	1+	+
17	61	3+	0	+
18	34	0	1+	-
19	19	3+	1+	+
20	42	3+	1+	+

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ลำดับที่	อายุ (ปี)	เช็ด Slide		Result
		ก่อนทำคีเลชัน	หลังทำคีเลชัน	
21	41	1+	1+	-
22	63	0	1+	-
23	72	1+	1+	-
24	36	3+	1+	+
25	56	0	1+	-
26	38	1+	0	+
27	53	2+	0	+
28	23	1+	1+	-
29	30	3+	0	+
30	51	1+	0	+
31	29	1+	1+	-
32	62	3+	0	+
33	77	3+	0	+
34	60	1+	0	+
35	49	2+	0	+
36	54	1+	0	+
37	43	1+	0	+

หมายเหตุ. + เท่ากับ ดีขึ้น

\- เท่ากับ ไม่ดีขึ้นหรือเท่าเดิม

4.3 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่าง

จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่าง จำแนกเป็นผล Rouleau Formation และขนาดของ Crystal โดยใช้ Grading ในการประเมินแยกเป็นลำดับความรุนแรงจากน้อยไปมาก ดังนี้

1. Rouleau Grading
   - 0 คือ ไม่พบ Rouleau Formation
   - 1+ คือ พบการซ้อนทับกันของเม็ดเลือดแดง 2-4 ตัว
   - 2+ คือ มีการเรียงตัวกันของเม็ดเลือดแดงเป็นสายยาวหรือเป็น Chain >4 ตัวขึ้นไป
   - 3+ คือ มี Clumping ของเม็ดเลือดแดง
2. Crystal Grading
   - 0 คือ ไม่พบ Crystal
   - 1+ คือ Crystal มีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดง
   - 2+ คือ Crystal มีขนาดเท่ากับเม็ดเลือดแดง
   - 3+ คือ Crystal มีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดง

การประเมินคะแนนของ Rouleau Grading พบว่าก่อนเข้ารับการทำคีเลชันผู้เข้าโครงการวิจัยส่วนมากคิดเป็นร้อยละ 37.84 จะมีคะแนนอยู่ที่ 2+ คือ มีการเรียงตัวกันของเม็ดเลือดแดงเป็นสายยาวหรือเป็น Chain >4 ตัวขึ้นไป รองลงมาจะมีคะแนนอยู่ที่ 3+คือ มี Clumping ของเม็ดเลือดแดง คิดเป็นร้อยละ 35.14 แต่หลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง พบว่าประมาณร้อยละ 62.16 ของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะมีผลคะแนน Rouleau Grading อยู่ที่ 1+ คือ พบการซ้อนทับกันของเม็ดเลือดแดงเล็กน้อย รายละเอียดดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 จำนวนและร้อยละของคะแนน Rouleau Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

		Rouleau Grading			
	n	**0**	**1+**	**2+**	**3+**
เช็ด Slide					
ก่อนทำคีเลชัน	37	2(5.41)	8(21.62)	14(37.84)	13(35.14)
หลังทำคีเลชัน	37	5(13.51)	23(62.16)	8(21.62)	1(2.70)

การประเมินคะแนนของ Crystal Grading พบว่าก่อนเข้ารับการทำคีเลชันผู้เข้าโครงการวิจัยส่วนมากคิดเป็นร้อยละ 43.24 จะมีคะแนนอยู่ที่ 1+ คือ Crystal มีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดง รองลงมาจะมีคะแนนอยู่ที่ 3+ คือ Crystal มีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดง คิดเป็นร้อยละ 37.84 แต่หลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง ไม่พบคะแนน 2+ และ 3+ พบผลคะแนน Crystal Grading ส่วนมากอยู่ที่คะแนน 0 คือ ไม่พบ Crystal คิดเป็นร้อยละ 54.05 รายละเอียดดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 จำนวนและร้อยละของคะแนน Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

		Crystal Grading			
	n	**0**	**1+**	**2+**	**3+**
เช็ด Slide					
ก่อนทำคีเลชัน	37	3(8.11)	16(43.24)	4(10.81)	14(37.84)
หลังทำคีเลชัน	37	20(54.05)	17(45.95)	-	-

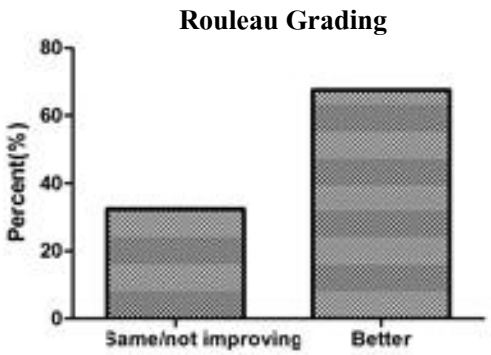
การประเมินผลของการทำคีเลชัน พบว่า หลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง คะแนนของ Rouleau Formation ดีขึ้นคิดเป็นร้อยละ 67.57 ในขณะที่คะแนนของขนาดของ Crystal ดีขึ้นคิดเป็นร้อยละ 72.97 รายละเอียดดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลของการทำคีเลชันต่อภาวะ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal

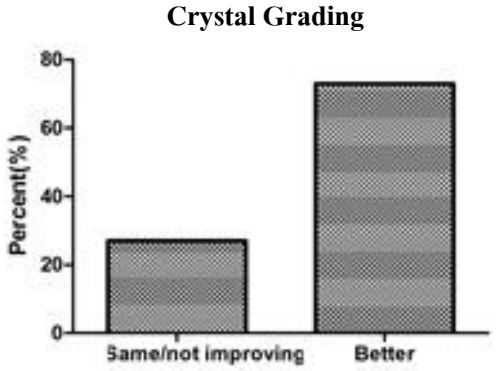
Grading	ผลของการทำคีเลชัน				p-value
	เท่าเดิม/แย่ลง		ดีขึ้น		
	n	%	n	%	
Rouleau grading	12	32.43	25	67.57	0.033*
Crystal grading	10	27.03	27	72.97	0.005*

หมายเหตุ. *ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่=0.05

จากตารางที่ 4.6 แสดงแผนภูมิเปรียบเทียบให้เห็นว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงของผลของการทำคีเลชันครบ 5 ครั้งต่อภาวะ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal (ดังภาพที่ 4.1 และ 4.2) โดยแบ่งการรายงานผลออก เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีผล Rouleau Grading หรือ Crystal Grading ดีขึ้นและกลุ่มที่มีผล Rouleau Grading หรือ Crystal Grading ไม่ดีขึ้นหรือเท่าเดิม



ภาพที่ 4.1 ร้อยละของการเปลี่ยนแปลงภาวะ Rouleau Formation หลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง



ภาพที่ 4.2 ร้อยละของการเปลี่ยนแปลง Crystal Grading หลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

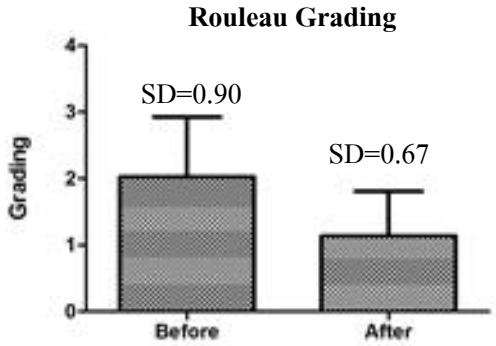
4.4 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยคะแนน Rouleau Grading และ Crystal Grading

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยคะแนน Rouleau Grading ระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง พบว่าหลังทำคีเลชันมีค่าเฉลี่ยของคะแนนลดลงจาก 2.03 ไปเป็น 1.14 ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยของคะแนน Rouleau Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

	Mean	SD	Median	Min	Max
เช็ด Slide					
ก่อนทำคีเลชัน	2.03	0.90	2	0	3
หลังทำคีเลชัน	1.14	0.67	1	0	3

จากตารางที่ 4.7 แสดงแผนภูมิเปรียบเทียบให้เห็นลักษณะการเปลี่ยนแปลงของ Rouleau Grading เปรียบเทียบ 2 ช่วงเวลา คือก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (ดังภาพที่ 4.3)



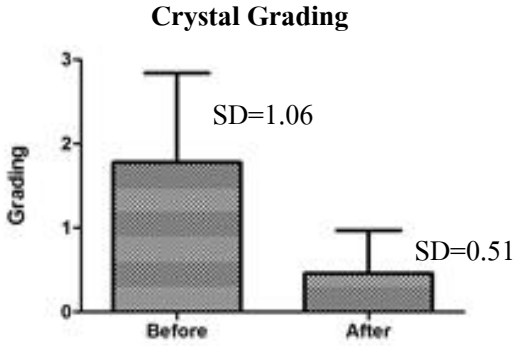
ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Rouleau Grading ตามเวลาการประเมิน ระยะก่อนทำคีเลชัน (Before) และระยะหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (After)

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยคะแนน Crystal Grading ระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง พบว่าหลังทำคีเลชันมีค่าเฉลี่ยของคะแนนลดลงจาก 1.78 ไปเป็น 0.46 ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

	Mean	**SD**	**Median**	**Min**	**Max**
เช็ด Slide					
ก่อนทำคีเลชัน	1.78	1.06	1	0	3
หลังทำคีเลชัน	0.46	0.51	0	0	1

จากตารางที่ 4.8 แสดงแผนภูมิเปรียบเทียบให้เห็นลักษณะการเปลี่ยนแปลงของ Crystal Grading เปรียบเทียบ 2 ช่วงเวลา คือก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (ดังภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Crystal Grading ตามเวลาการประเมิน ระยะก่อนทำคีเลชัน (Before) และระยะหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (After)

ตารางที่ 4.9 ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของคะแนน Rouleau Grading ระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

	n	Mean±SD	Median (Min-Max)	p-value
เช็ด Slide				<0.001
ก่อนทำคีเลชัน	37	2.03±0.90	2(0-3)	
หลังทำคีเลชัน	37	1.14±0.67	1(0-3)	

การประเมินความแตกต่างค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้งพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ระหว่างก่อนทำคีเลชันและหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

	n	Mean±SD	Median (Min-Max)	p-value
เช็ด Slide				<0.001
ก่อนทำคีเลชัน	37	1.78±1.06	1(0-3)	
หลังทำคีเลชัน	37	0.46±0.51	0(0-1)	

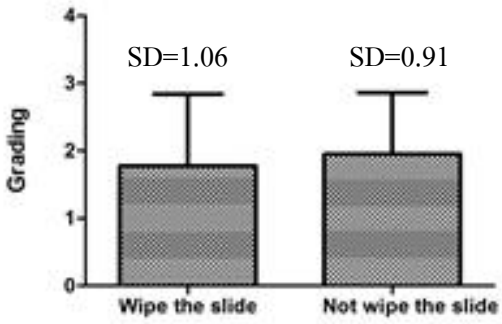
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ระหว่างการเช็ดสไลด์และไม่เช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue ก่อนการดูผล Live Blood Analysis พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงระยะหลังการทำคีเลชัน รายละเอียดดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ระหว่างการเช็ดสไลด์และไม่เช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue

	เช็ด Slide		ไม่เช็ด Slide		p-value
	Mean±SD	Median (Min-Max)	Mean±SD	Median (Min-Max)	
Crystal grading					
ก่อนทำคีเลชัน	1.78±1.06	1(0-3)	1.95±0.91	2(0-3)	0.373
หลังทำคีเลชัน	0.46±0.51	0(0-1)	0.97±0.73	1(0-3)	0.001
	1.32±1.25	1(-1-3)	0.97±1.19	1(-1-3)	0.182

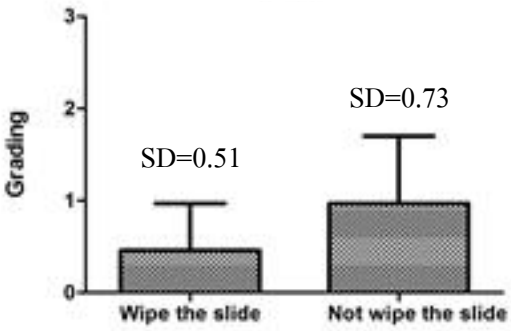
จากตารางที่ 4.11 แสดงแผนภูมิเปรียบเทียบให้เห็นลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างการเช็ดสไลด์กับไม่เช็ดสไลด์ ในช่วงเวลาก่อนทำคีเลชันและหลังจากทำคีเลชันครบ 5 ครั้งแล้วตามลำดับ (ดังภาพที่ 4.5 และ 4.6)

ก่อนทำคีเลชัน



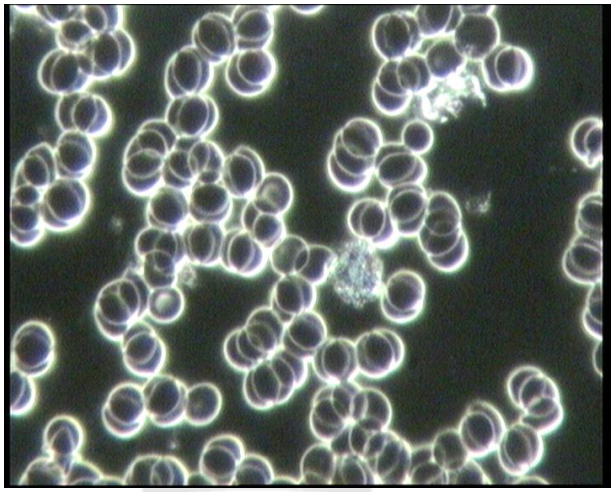
ภาพที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างการเช็ดสไลด์กับไม่เช็ดสไลด์ ในช่วงเวลาก่อนทำคีเลชัน

หลังทำคีเลชัน

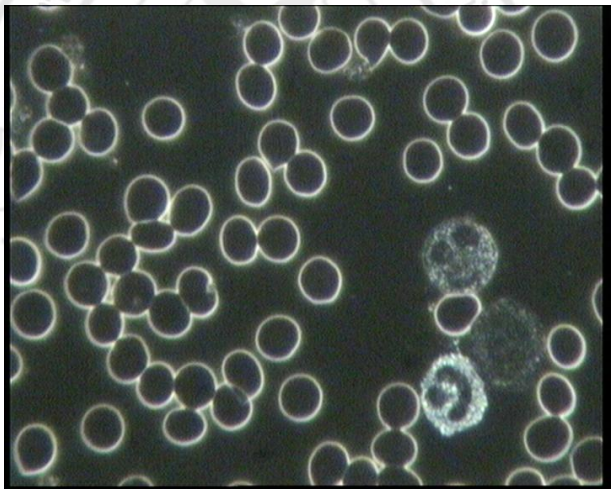


ภาพที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของค่า Crystal Grading เปรียบเทียบระหว่างการเช็ดสไลด์กับไม่เช็ดสไลด์ ในช่วงเวลาหลังทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

ตัวอย่างผล Live Blood Analysis ของอาสาสมัคร แสดงการเปลี่ยนแปลงที่ดีขึ้นของ Rouleau Formation หลังการทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (ดังภาพที่ 4.7, 4.8)

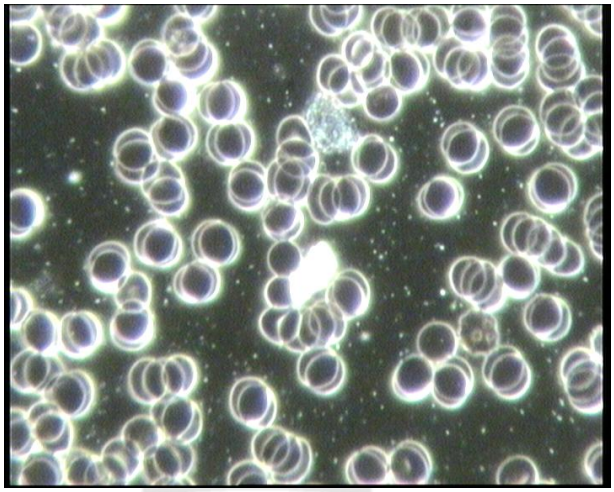


ภาพที่ 4.7 Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาก่อนทำคีเลชัน

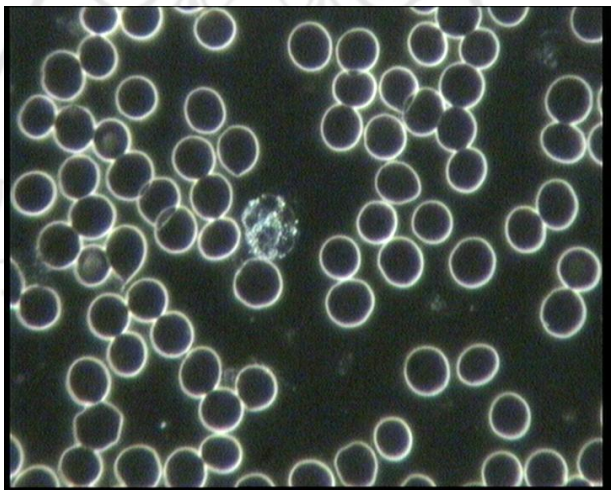


ภาพที่ 4.8 Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาหลังทำคีเลชัน

ตัวอย่างผล Live Blood Analysis ของอาสาสมัคร แสดงการเปลี่ยนแปลงที่ดีขึ้นของขนาดของ Crystal หลังการทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง (ดังภาพที่ 4.9, 4.10)

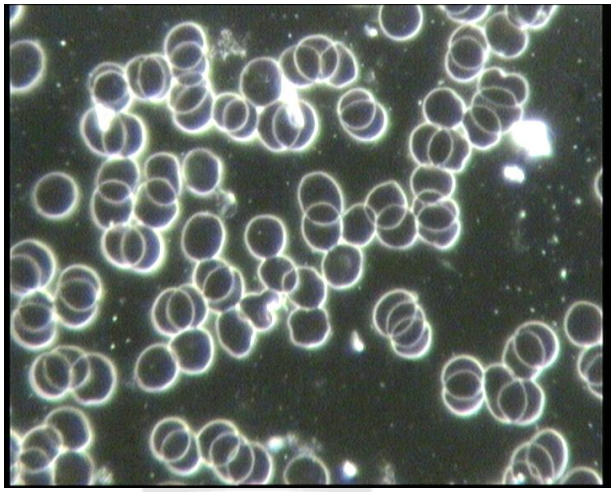


ภาพที่ 4.9 Crystal จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาก่อนทำคีเลชัน

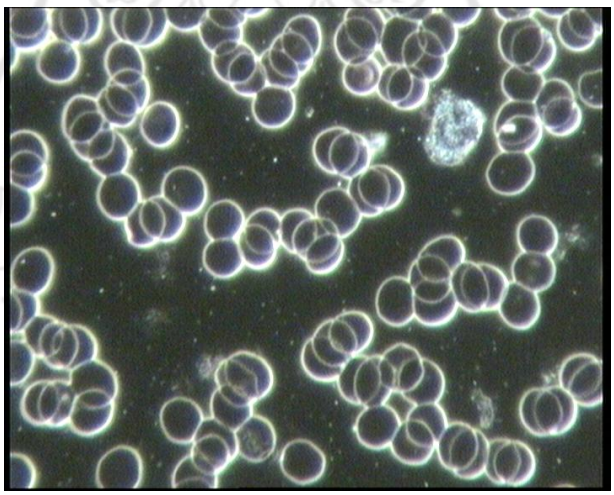


ภาพที่ 4.10 Crystal จากผล Live Blood Analysis ในช่วงเวลาหลังทำคีเลชัน

ตัวอย่างผล Live Blood Analysis ของอาสาสมัคร แสดงขนาดของ Crystal เปรียบระหว่างการเช็ดสไลด์และไม่เช็ดสไลด์ก่อนการดูผล Live Blood Analysis (ดังภาพที่ 4.11 และ 4.12)



ภาพที่ 4.11 Crystal จากผล Live Blood Analysis ของสไลด์ที่ไม่ผ่านการเช็ดก่อน



ภาพที่ 4.12 Crystal จากผล Live Blood Analysis ของสไลด์ที่ผ่านการเช็ดก่อน

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่วิลล่าเมดิก้าคลินิคจำนวน 37 รายซึ่งผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย จะเข้ารับการทำคีเลชันจำนวนทั้งหมด 5 ครั้งโดยจะมีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำไปประเมินดูผล Live Blood Analysis ก่อนและหลังการทำคีเลชัน และเปรียบเทียบระหว่างการเช็ดสไลด์และไม่เช็ดสไลด์ เพื่อศึกษาผลของการทำคีเลชันต่อขนาดของ Crystal และต่อภาวะ Rouleau Formation อีกทั้งยังเปรียบเทียบขนาดของ Crystal ก่อนและหลังการเช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue ข้อมูลถูกวิเคราะห์ด้วยระบบคอมพิวเตอร์ ด้วยสถิติ Wilcoxon Signed Ranks Test ดังสรุปผลอภิปรายและข้อเสนอแนะต่อไปนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ข้อมูลคุณลักษณะประชากร

คุณลักษณะประชากรของกลุ่มตัวอย่าง พบว่า กลุ่มอายุของกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่อายุมากกว่า 50 ปี ร้อยละ 42.5 โดยอายุสูงสุด 77 ปีและต่ำสุด 19 ปี และมีอายุเฉลี่ย 47.43 ปี อาชีพส่วนใหญ่มีกิจการส่วนตัวร้อยละ 52.5 รองลงมาอาชีพพนักงาน ร้อยละ 22.5 ส่วนใหญ่มีโรคประจำตัวร้อยละ 55 ซึ่งเป็นโรคภูมิแพ้ 8 ราย ความดันโลหิตสูง 4 ราย เบาหวาน 3 ราย โรคหัวใจ 2 ราย ไขมันในเลือดสูง 1 ราย มีประวัติการสูบบุหรี่ร้อยละ 15 ประวัติการอุดฟันใช้อมัลกัมร้อยละ 75

5.1.2 การประเมินภาวะ Rouleau Formation และขนาดของ Crystal

5.1.2.1 การประเมินภาวะ Rouleau Formation

การประเมินภาวะ Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis พบว่าก่อนทำคีเลชันมีอาสาสมัครจำนวน 14 คนคิดเป็นร้อยละ 37.84 ที่มี Rouleau Grading เท่ากับ 2+, มีจำนวน 13 คนคิดเป็นร้อยละ 35.14 ที่มี Rouleau Grading เท่ากับ 3+, ร้อยละ 21.62 ที่ Grading 1+ และร้อยละ

5.41 ที่มี Grading เท่ากับ 0 (ดังตารางที่ 5) โดยหลังทำคีเลชันพบว่ามีจำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 67.57 ที่มีผลคะแนน Rouleau Grading ดีขึ้น และผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยส่วนหนึ่งจำนวน 12 คนคิดเป็นร้อยละ 32.43 มีผลคะแนน Rouleau Grading เท่าเดิมหรือแย่ลง

5.1.2.2 การประเมินขนาดของ Crystal

การประเมินขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis พบว่าก่อนทำคีเลชันมีอาสาสมัครจำนวน 16 คนคิดเป็นร้อยละ 43.24 ที่มี Crystal Grading เท่ากับ 1+, มีจำนวน 14 คนคิดเป็นร้อยละ 37.84 ที่มี Crystal Grading เท่ากับ 3+, ร้อยละ 10.81 ที่มี Grading 2+ และร้อยละ 8.11 ที่มี Grading เท่ากับ 0 (ดังตารางที่ 7) โดยหลังทำคีเลชันพบว่ามีจำนวน 27 ราย คิดเป็นร้อยละ 72.97 ที่มีผลคะแนน Crystal Grading ดีขึ้น และผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยส่วนหนึ่งจำนวน 10 คนคิดเป็นร้อยละ 27.03 มีผลคะแนน Crystal Grading เท่าเดิมหรือแย่ลง

5.1.3 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างก่อนทำและหลังการทำคีเลชัน

การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของคะแนน Rouleau Grading และ Crystal Grading ระหว่างก่อนและหลังการทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง

5.1.3.1 การประเมินภายในกลุ่มของค่า Rouleau Grading

คะแนนของ Rouleau Grading ระยะก่อนทำคีเลชันกับระยะหลังทำคีเลชัน มีค่าเฉลี่ยของคะแนน Rouleau Grading แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) โดยค่าเฉลี่ยของคะแนน Rouleau Grading ลดลงจาก 2.03 ไปเป็น 1.14 (ดังตารางที่ 8)

5.1.3.2 การประเมินภายในกลุ่มของค่า Crystal Grading

คะแนนของ Crystal Grading ระยะก่อนทำคีเลชันกับระยะหลังทำคีเลชัน มีค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) โดยค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ลดลงจาก 1.78 ไปเป็น 0.46 (ดังตารางที่ 8)

5.1.4 การประเมินขนาดของ Crystal ก่อนและหลังการเช็ดสไลด์

การประเมินขนาดของ Crystal เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้กระดาษ Lint Free Tissue เช็ดสไลด์ก่อนการดูผล Live Blood Analysis ด้วยกล้อง Dark Field Microscopy และกลุ่มที่ไม่มีการเช็ดสไลด์ก่อน พบว่า ค่าเฉลี่ยของคะแนน Crystal Grading ในกลุ่มที่ไม่มีการเช็ดสไลด์ก่อนการดู Live Blood Analysis เปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีการเช็ดสไลด์ในช่วงเวลาหลังการทำคีเลชัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p = 0.001$) โดยการที่ไม่เช็ดสไลด์พบว่าคะแนนของ Crystal grading มากกว่า คือค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.97 ในกรณีที่ไม่เช็ดสไลด์ และ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.46 ในกรณีที่เช็ดสไลด์

5.2 อภิปรายผล

การประเมินผลของการทำคีเลชันต่อภาวะ Rouleau Formation จากผล Live Blood Analysis พบว่า การทำคีเลชัน 5 ครั้งมีประสิทธิผลทำให้ภาวะ Rouleau Formation ดีในระดับหนึ่ง โดยมีจำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 67.57 ที่มีผลคะแนน Rouleau Grading ดีขึ้น ผนังเซลล์ของเม็ดเลือดแดงเป็น Lipid bilayer ซึ่งส่วนมากประกอบด้วย phospholipids เรียงตัวกันเป็น 2 ชั้น โดยส่วนหางจะชี้เข้าสู่ตรงกลางด้านในของผนังเซลล์ ส่วนหัวจะหันออกด้านนอก phospholipid ที่พบเป็นส่วนประกอบส่วนมากที่ผนังเซลล์นี้มีประจุลบของ phosphate group ซึ่งสารโลหะหนักต่าง ๆ จะมีประจุบวก เช่น Hg^{2+}, Cd^{2+} เป็นต้น โลหะหนักจับอยู่กับโปรตีนที่ผนังเซลล์ได้ และยิ่งถ้าปริมาณสารโลหะหนักมากยิ่งขึ้นประจุที่ผิวของผนังเซลล์หรือ Lipid Bilayer ยิ่งมีความไม่เสถียรมากยิ่งขึ้น (Naydenova et al., 2002) จึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงประจุที่ผิวของเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงที่ควรจะมีประจุลบ เพื่อให้เกิดการผลักกันกับเม็ดเลือดแดงตัวอื่น ส่วนหนึ่งกลายเป็นประจุบวกของโลหะหนัก จึงทำให้ผิวของเม็ดเลือดแดงเป็นทั้งประจุบวกและลบ จึงเกิดการติดกันของเม็ดเลือดแดงได้ ดังนั้นการทำคีเลชันที่ช่วยในการจับกับสารโลหะหนักออกไปจากร่างกาย จึงส่งผลให้การกระจายตัวกันของเม็ดเลือดแดงดีขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยส่วนหนึ่ง ภาวะ Rouleau Formation หลังการทำคีเลชันแย่ลงหรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงคิดเป็นร้อยละ 32.43 ทั้งนี้เนื่องมาจากภาวะอื่น ๆ ที่ยังเป็นสาเหตุให้ประจุที่ผิวของเม็ดเลือดแดงยังมีประจุบวกอยู่ เช่น ประจุบวกที่เกิดจากปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระต่อไขมันไม่อิ่มตัว ที่พบในน้ำมันพืช, น้ำมันดอกทานตะวัน และที่สำคัญคือไขมัน trans fat ซึ่งเป็นไขมันไม่อิ่มตัวแต่มีคุณสมบัติเหมือนไขมันอิ่มตัว

trans fat นั้นได้มาจากไขมันไม่อิ่มตัวของพืช โดยนำไปผ่านกระบวนการแปรสภาพทางเคมีโดยอาศัยปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชัน (Hydrogenation) จะทำให้เกิดกรดไขมันชนิดทรานส์ (Trans Fatty Acid) ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนไขมันอิ่มตัวที่มาจากสัตว์คือ สามารถแข็งตัวได้ที่อุณหภูมิห้อง trans fat พบได้ในอาหารหลากหลายชนิด เช่น คุ๊กกี้ มาการีน เนยขาว ครีมเทียม เฟรนฟรายด์ ไก่ทอด เป็นต้น ซึ่งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระต่อไขมันไม่อิ่มตัวเหล่านี้ก่อให้เกิดประจุบวกขึ้นได้ ดังนั้นในผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยบางรายที่ยังคงรับประทานไขมันในกลุ่มนี้อยู่ จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่การติดกันของเม็ดเลือดแดงยังไม่ดีขึ้นหลังทำคีเลชันแล้ว หรืออีกกรณีหนึ่งงานวิจัยนี้ยังไม่ได้มีการวัดปริมาณสารโลหะหนักในร่างกายให้ชัดเจน ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าการทำคีเลชันเพียง 5 ครั้งอาจจะไม่เพียงพอที่จะกำจัดสารโลหะหนักให้หมดไปได้จากร่างกายในผู้ป่วยบางราย

การประเมินผลของการทำคีเลชันต่อขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis พบว่าการทำคีเลชัน 5 ครั้ง สามารถทำให้ขนาดของ Crystal ลดลงได้ โดยหลังทำคีเลชันพบว่ามีจำนวน 27 ราย คิดเป็นร้อยละ 72.97 ที่มีผลคะแนน Crystal Grading ดีขึ้น การศึกษาเร็ว ๆ นี้ (Ercal, Gurer-Orhan & Aykin-Burns, 2001) พบว่าโลหะหนักทำหน้าที่เป็นตัว catalysts ใน oxidative reaction ด้วย โดยสามารถเพิ่มการสร้างอนุมูลอิสระ คือ reactive oxygen species (ROS) ได้ เช่น hydroxyl radical (HO.), superoxide radical (O2.-) หรือ hydrogen peroxide (H2O2) ซึ่งสาเหตุการเกิด Crystal จากผล Live Blood Analysis ยังไม่มีการศึกษาที่แน่ชัดนัก คาดว่ากลไกการเกิดคล้ายคลึงกับ plaque ที่สะสมที่ผนังหลอดเลือด โดยเริ่มต้นจากการที่อนุมูลอิสระ คือ Reactive oxygen species (ROS) ไปทำปฏิกิริยา Oxidation กับไขมันคลอเลสเตอรอล แล้วจึงเกิดการรวมตัวกันกับผลึกแคลเซียม (Brock, 2007) การทำคีเลชันช่วยในการจับกับสารโลหะหนักออกไปจากร่างกาย ดังนั้นเมื่อโลหะหนักซึ่งเป็นตัวกระตุ้นหนึ่งที่ทำให้เกิด oxidative stress ส่งผลให้เกิด lipid peroxidation ที่คาดว่าทำให้เกิดการรวมตัวกันเป็น Crystal ลดลงแล้ว ดังนั้นการทำคีเลชันจึงส่งผลให้ขนาดของ Crystal ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

แต่การประเมินผล Live Blood Analysis ของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยส่วนหนึ่งจำนวน 10 คนคิดเป็นร้อยละ 27.03 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดของ Crystal หลังผ่านการทำคีเลชันครบ 5 ครั้งแล้ว และอีกส่วนหนึ่งมีขนาดของ Crystal เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยังมีอนุมูลอิสระอยู่ในร่างกายในปริมาณมาก ซึ่งอนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นมาได้ทุกวันในร่างกายเราอยู่แล้ว เช่น อาจเกิดมาจากรังสีจากสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ, หรือกระบวนการสันดาปอาหารของร่างกาย เป็นต้น จึงยังคงพบ Crystal ในผล Live Blood Analysis ได้ถึงแม้จะผ่านการทำคีเลชันแล้วก็ตาม

การเปรียบเทียบขนาดของ Crystal จากผล Live Blood Analysis ก่อนและหลังการเช็ดสไลด์ด้วยกระดาษ Lint Free Tissue ก่อนการดู Live Blood Analysis พบว่า ขนาดของ Crystal ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p =0.001$) โดยการที่ไม่เช็ดสไลด์พบว่าคะแนนของ Crystal grading มากกว่า คือค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.97 ในกรณีที่ไม่เช็ดสไลด์ และ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.46 ในกรณีที่เช็ดสไลด์ ทั้งนี้เนื่องมาจากเทคนิคการตรวจ Live Blood Analysis ที่สำคัญประการหนึ่ง คือการเช็ดสไลด์ก่อนการดูผล Live Blood Analysis เพื่อลดอัตราการเกิด Artifact จากฝุ่นละอองต่าง ๆ ที่อาจจะพบได้จากสไลด์ที่ไม่ผ่านการทำความสะอาดก่อน (Coyle, 1988)

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ควรทำการศึกษาวิจัยในระยะเวลาที่ยาวนานมากขึ้น คืออาจจะศึกษาหลังผ่านการทำคีเลชันครบ 10 ครั้งแล้วเป็นต้น

5.3.2 ควรทำการศึกษาวิจัยโดยการเจาะเลือดดูผล Live Blood Analysis เพื่อประเมินดูภาวะ Rouleau Formation และ ขนาดของ Crystal ทุก ๆ ครั้งหลังการทำคีเลชัน คือหลังการทำครั้งที่ 1, หลังการทำครั้งที่ 2 ไปเรื่อย ๆ เป็นต้น เพื่อจะได้ทราบว่าโดยความเป็นจริงแล้วโดยเฉลี่ยผล Live Blood Analysis จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงหลังการทำคีเลชันครั้งที่เท่าไร ในผู้ป่วยแต่ละคน

5.3.3 จากผลการวิจัยนี้พบว่าการทำคีเลชันทำให้ขนาดของ Crystal ที่บ่งบอกถึงสารพิษโลหะหนักต่าง ๆ นั้นลดลง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิจัยเพื่อตรวจวัดปริมาณสารโลหะหนักต่าง ๆ ในเลือดออกมา ในกรณีที่พบ Crystal อยู่ในปริมาณที่มากเพื่อพิสูจน์ว่า Crystal ที่มีอยู่ในเลือดนั้นสัมพันธ์กับปริมาณโลหะหนักหรือไม่

5.3.4 การติดตามผลของการทำคีเลชันต่อผล Live Blood Analysis ยังมีข้อมูลค่อนข้างน้อย จึงควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมมากขึ้น

5.3.5 ควรทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับชนิดและปริมาณของ EDTA ที่ใช้ในการทำคีเลชันที่แตกต่างกันต่อผล Live Blood Analysis เพื่อได้ข้อมูลที่ชัดเจนขึ้น

5.3.6 ควรทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับรายละเอียดของเทคนิคการดู Live Blood Analysis เช่น การเลือกสไลด์ที่ใช้ คุณลักษณะหรือคุณภาพของสไลด์ที่ใช้ต่าง ๆ กันมีผลต่อผลของ Live Blood Analysis หรือไม่

5.3.7 ควรศึกษาผล Live Blood Analysis ที่สัมพันธ์กับอาการทางคลีนิคของผู้ป่วยเพิ่มเติม เช่นในผู้ที่สูบบุหรี่และมีภาวะ Rouleau Formation

รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

Ballas, S. K. (1975). The erythrocyte sediment rate, rouleaux formation and hyperviscosity Syndrome (Abstract). **Am J Clin Pathol, 63**(1), 45.

Ballou, S. P. & Kushner, I. (1996). **Laboratory evaluation of inflammation. Textbook of Rheumatology.** Philadelphia, Pa: W.B. Saunders.

Blumer & Cranton. (1989). Ninety percent reduction in cancer mortality after chelation therapy with EDTA. **Journal of advancement in Medicine, 2**(1), Numbers 1, Spring/Summer .

Brock, T. (2007). **Inflammation in atherosclerosis: oxidants and oxidized phospholipids.** Retrieved August 4, 2011, from http://www.caymanchem.com/app/template/ Article.vm/ article/2102

Chappell, L. T. & Stahl, J. P. (1993). The correlation between EDTA chelation therapy and improvement in cardiovascular function: A meta-analysis. **J Adv Med, 6**(3), 139-160.

Chelation Medical Association Thai. (2008). **Case reports on EDTA chelation therapy**. Retrieved August 21, 2010, from http://www.cmat.or.th

Coyle, M. (1988). **Advanced applied Microscopy for nutritional evaluation and correction.** CA: Elbow Room.

Dans, A. L., Tan, F. N. & Villarruz-Sulit, E. C. (2002). Chelation therapy for atherosclerotic cardiovascular disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews, 4,** Abstact.

Department of Medical Sciences. (2005). **TP Information on Antidotes**. Retrieved August 21, 2010, from http://www.dmsc.moph.go.th/2008

Ercal, N., Gurer-Orhan, H. & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. **Current Topics in Medicinal Chemistry, 1**(6), 529-539.

Goonasekera1, C. D. A., Tennakoon, R., Rajakrishna, P. N., Gunasena, G. A., Wanniarachchi, C. R., Yatawatta, A. B. & Munidasa, U. A. D. D. (2010). The effect of EDTA chelation therapy in symptomatic coronary heart Disease: An observational Study. **Chinese Medicine, 1**(2), 49-54.

Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease curiosity, cause, or consequence?. **Lancet, 344**(8924), 721-724.

Hromek, K. (2008). **Australian Handbook of EDTA Chelation Therapy**, Australasian Colledge of Nutritional and Environmental Medicine (ACNEM) Publication.

Jarup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. **British Medical Bulletin, 68,** 167-182.

Marconi, L. & Soleil, A. (n.d.). **Bio-psycho-spiritual effects of the energy enhancement systemTM on adults.** Retrieved July 30, 2011, from http://eesystem.com/docs/EES_Microscopy.pdf

Naydenova, S., Mellor, I. & Petrov, A. G. (2002). **Effects of heavy metal ions on lipid bilayers containing gramicidin channels**, Bulgarian Academy of Sciences, p63-68.

Naydenova, S., Zheliaskova, A., Ugrinov, R., Marinov, Y. & Petrov, A. G**.** (2003). Ion-channel-containing lipid membranes interacting with heavy metal ions. **Journal of Materials Science: Material in electronics, 14**(10-12), 815-816.

Olszewer, E., Sabag, F. C. & Carter, J. P. (1990). A Pilot Double-Blind Study of Sodium-magnesium EDTA in Peripheral Vascular Disease, **J Natl Med Assoc**., 8, 173–177.

Rouleaux Formation. (2006). **Blood.** Retrieved July 30,2011, from http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/107/11/4205.full.pdf

Rozema, T.C. (1997). Special Issue Protocols for Chelation Therapy. **Journal of Advancement in Medicine, 10**(1), 5-100.

Rudolph, C. J., McDonagh, E. W. & Barber, R. K. (1991). A nonsurgical approach to obstructive carotid stenosis using EDTA chelaion. **J Adv Med, 4**(3), 157.

Smith, E. M. & Samadian, S. (1994). Use of the erythrocyte sedimentation rate in the elderly. **Br J Hosp Med, 51**(18), 394-397.

U.S FDA. (2008). **FDA Public Health Advisory on Edetate Disodium (Marketed as Endrate and Generic Products).** Retrieved August 21, 2010, from http://www.fda.gov/cder/drug/advisory/ edetate_disodium.htm.

Vitetta, L., Sali, H., Burke, J., Mrazek, L., Cortizo, F. & Sali, A. (2008). The Live Blood Analysis Technique, **Australasian Integrative Medicine Association Journal, 24,** 16-20.

Weng, X., Cloutier, G., Beaulieu, R. & Roederer, G. O. (1996). Influence of acute-phase proteins on erythrocyte aggregation. **Am J Physiol**, 271(6 Pt 2), H2346–H2352.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกข้อมูลผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ข้อมูลทั่วไป

วัน/เดือน/ปีที่เก็บข้อมูล……...H.N.(Hospital Number)…….

ชื่อ……..นามสกุล……เพศ:……..อายุ……ปี

อาชีพ……ที่อยู่.....

……...เบอร์โทรศัพท์……...

ข้อมูลสุขภาพ

Vital Signs: ความดันโลหิต…….mm/Hg ชีพจร…….BPM

อุณหภูมิ…….c การหายใจ……./min

น้ำหนัก…….กก. ส่วนสูง.....ซม.

โรคประจำตัว:……

ประวัติการแพ้ยา: ไม่แพ้ แพ้ โปรดระบุ……

ประวัติการสูบบุหรี่: ไม่สูบ สูบ ความถี่…….

ประวัติการดื่มสุรา: ดื่ม ไม่ดื่ม ความถี่ …….....

อาหาร:……การดื่มน้ำ…….แก้ว/วัน

การนอนหลับ:……

การออกกำลังกาย:…….....วัน/สัปดาห์ กิจกรรมที่ทำ……..…….

ประวัติอุดฟันอมัลกัม ไม่ใช่ ใช่ จำนวนซี่……..

ระยะเวลาที่เข้ารับการทำคีเลชันครบ 5 ครั้ง ……สัปดาห์

ผล Live Blood Analysis

Rouleau Grading	
Before Chelation	After Chelation
0 1+ 2+ 3+	0 1+ 2+ 3+
Crystal Grading	
Before Chelation	After Chelation
0 1+ 2+ 3+	0 1+ 2+ 3+

ก่อนทำคีเลชัน

Crystal Grading	
เช็ดสไลด์	ไม่เช็ดสไลด์
0 1+ 2+ 3+	0 1+ 2+ 3+

หลังทำคีเลชัน

Crystal Grading	
เช็ดสไลด์	ไม่เช็ดสไลด์
0 1+ 2+ 3+	0 1+ 2+ 3+

ภาคผนวก ข

การคำนวนค่า Creatinine Clearance

คำนวนจาก Modified Cockcroft-Gault Equation:

$$\text{Creatinine Clearance(ml/min)} = \frac{(140 - \text{age in years}) \times (\text{LBW kg} \times 1.33)}{72 \times \text{serum creatinine in mg/dl}}$$

สำหรับผู้หญิง ให้คูณด้วย 0.85

LBW = Lean Body Weight in kg:

Males 50 kg + 2.3 kg for each inch over 5 feet

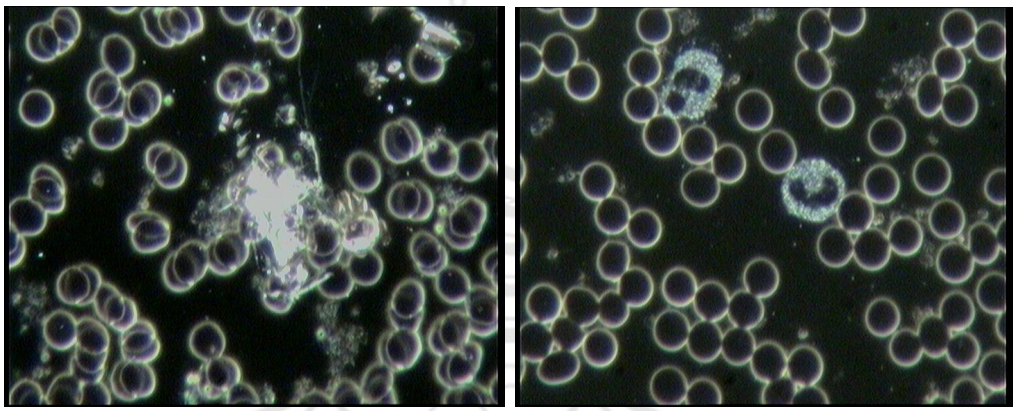
Females 45.5 kg + 2.3 kg for each inch over 5 feet

ตารางที่ ข1 Severity of renal failure ประเมินจากค่า 24 ชั่วโมง urinary creatinine clearance

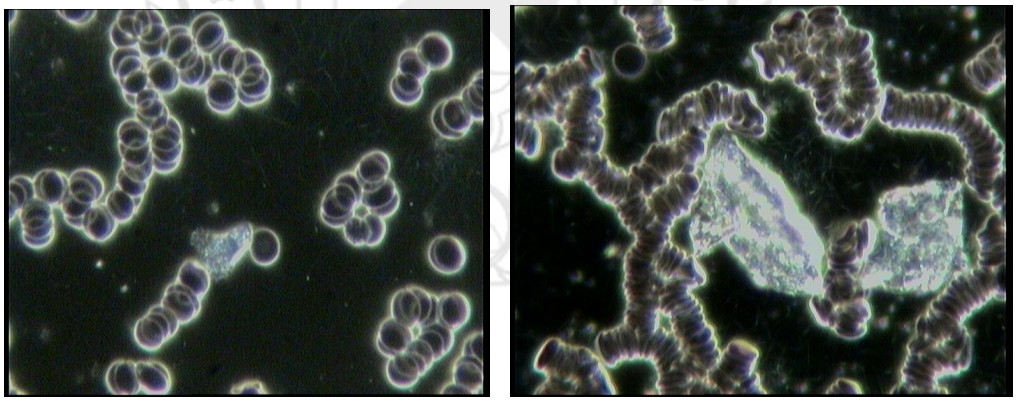
Renal Failure	**ค่าการทำงานของไต (Serum creatinine)**	**EDTA Chelation**
รุนแรง	> 2.5 mg/dl	NO
ปานกลาง	2-2.25 mg/dl	With care
เล็กน้อย	1.6-2 mg/dl	With care

ภาคผนวก ค

Rouleau Grading



ภาพที่ ค1 Grade 0 คือ ไม่พบ Rouleau Formation Grade 1+ คือ พบการซ้อนทับกันของเม็ดเลือดแดง 2-4 ตัว



ภาพที่ ค2 Grade 2+ คือ มีการเรียงตัวกันของเม็ดเลือด Grade 3+ คือ มี Clumping ของเม็ดเลือดแดงเป็นสายยาวหรือเป็น Chain >4 ตัวขึ้นไป

ประวัติผู้เขียน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวพริมรตา ติยะจินดา
วันเดือนปีเกิด	12 ตุลาคม 2525
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	19/37 ตำบลบางแก้ว อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ 10540
ประวัติการศึกษา	
2548	ปริญญาตรี แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยนเรศวร
ประวัติการทำงาน	
2552-ปัจจุบัน	แพทย์ประจำ คลินิควิลล่าเมดิก้า (ประเทศไทย)
2551	แพทย์ประจำโรงพยาบาลดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา
2550	แพทย์เพิ่มพูนทักษะโรงพยาบาลพะเยา จังหวัดพะเยา