

ภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลต และวิตามินบี 12  
ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

นางสาวอรุณีตา ทองกิจปรีชา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี  
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2553  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

NUTRITIONAL STATUS AND THE LEVELS OF FOLATE AND VITAMIN B12  
IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL

Miss Phurita Thongkijpreecha

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Food Chemistry and Medical Nutrition  
Department of Food and Pharmaceutical Chemistry  
Faculty of Pharmaceutical Sciences  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2010  
Copyright of Chulalongkorn University

|                   |   |
|-------------------|---|
| Thesis Title      | NUTRITIONAL STATUS AND THE LEVELS OF FOLATE AND VITAMIN B12 IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL |
| By                | Miss Phurita Thongkijpreecha  |
| Field of Study    | Food Chemistry and Medical Nutrition  |
| Thesis Advisor    | Assistant Professor Kulwara Meksawan, Ph.D.   |
| Thesis Co-advisor | Associate Professor Oranong Kangsadalampai, Ph.D.   |

---

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....Dean of the Faculty of  
Pharmaceutical Sciences  
(Associate Professor Pintip Pongpech, Ph.D.)

#### THESIS COMMITTEE

..... Chairman  
(Assistant Professor Linna Tongyonk, D.Sc.)

..... Thesis Advisor  
(Assistant Professor Kulwara Meksawan, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor  
(Associate Professor Oranong Kangsadalampai, Ph.D.)

..... Examiner  
(Assistant Professor Suyanee Pongthananikorn, Dr.P.H.)

..... External Examiner  
(Assistant Professor Bunchoo Pongtanakul, M.D.)

กฤษดา ทองกิจปรีชา: ภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลต และวิตามินบี 12 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช (NUTRITIONAL STATUS AND THE LEVELS OF FOLATE AND VITAMIN B12 IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ศศ.ภญ.ดร. กุลวรา เมฆสุวรรณค์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ.ภญ.ดร. อรอนงค์ กังสดาลอำไพ, 126 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินภาวะโภชนาการ วัดระดับโฟเลตในซีรัมและเม็ดเลือดแดง ระดับวิตามินบี 12 ในซีรัม รวมถึงหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางโภชนาการ ค่าทางโลหิตวิทยา ระดับโฟเลต และวิตามินบี 12 ของผู้ป่วยเด็กธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลางที่โรงพยาบาลศิริราช มีผู้ป่วยอายุระหว่าง 5 - 15 ปี จำนวน 30 คน (ชาย 12 คน และหญิง 18 คน) เข้าร่วมการศึกษา เมื่อประเมินภาวะโภชนาการ โดยอาศัยข้อมูลจากตัวบุคคลแบบองค์รวม พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีภาวะโภชนาการปกติ แต่เมื่อประเมินภาวะโภชนาการ โดยใช้น้ำหนักตามเกณฑ์อายุ น้ำหนักตามเกณฑ์ส่วนสูง ส่วนสูงตามเกณฑ์อายุ ความหนาของไขมันใต้ผิวหนัง และเส้นรอบวงกึ่งกลางแขน พบความชุกของภาวะทุพโภชนาการของกลุ่มตัวอย่างเป็น 63.3%, 50.0%, 36.7%, 60.0% และ 70.0% ตามลำดับ และเมื่อประเมินโดยใช้ค่าดัชนีมวลกายตามอายุ พบว่ากลุ่มตัวอย่างร้อยละ 50 มีน้ำหนักต่ำกว่าเกณฑ์ ผู้ป่วยได้รับพลังงานทั้งหมดจากอาหารที่บริโภค ( $1,469.9 \pm 61.6$  กิโลแคลอรีต่อวัน) ต่ำกว่าปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ได้รับประจำวัน ระดับโปรตีนทั้งหมดและระดับอัลบูมินในซีรัมของผู้ป่วยมีค่าอยู่ในช่วงปกติ ผู้ป่วยมีค่าเฉลี่ยของระดับโฟเลตในซีรัมและเม็ดเลือดแดงเท่ากับ  $37.9 \pm 2.7$  และ  $297.6 \pm 23.6$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของระดับวิตามินบี 12 ในซีรัมเท่ากับ  $679.7 \pm 29.8$  พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร การศึกษานี้พบว่าตัวแปรทางโภชนาการหลายตัวมีความสัมพันธ์กัน และพบว่าค่าฮีโมโกลบินมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับเส้นรอบวงกึ่งกลางแขน ( $R = 0.376, p = 0.040$ ) และพื้นที่ของกล้ามเนื้อ ( $R = 0.366, p = 0.047$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับโฟเลตในซีรัม และระดับวิตามินบี 12 มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับตัวแปรสัดส่วนของร่างกายบางตัว อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับโฟเลตในซีรัมและเม็ดเลือดแดง ระดับวิตามินบี 12 และค่าทางโลหิตวิทยา

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ผู้ป่วยเด็กธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลางมีภาวะทุพโภชนาการ ซึ่งควรใช้การประเมินภาวะโภชนาการหลายวิธีร่วมกัน ดังนั้นการให้คำแนะนำทางด้านโภชนาการจึงมีความสำคัญต่อการปรับปรุงภาวะโภชนาการ และการเจริญเติบโตให้ใกล้เคียงกับเด็กปกติ อีกทั้งยังช่วยเพิ่มคุณภาพชีวิตและประสิทธิภาพการรักษา

ภาควิชา.....อาหารและเภสัชเคมี.....ลายมือชื่อนิติ.....  
 สาขาวิชา...อาหารเคมีและ โภชนศาสตร์ทางการแพทย์...ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....  
 ปีการศึกษา .....2553.....ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

##5176579133 : MAJOR FOOD CHEMISTRY AND MEDICAL NUTRITION  
KEYWORDS : NUTRITIONAL STATUS/ THALASSEMIA/ CHILDREN

PHURITA THONGKIJPREECHA: NUTRITIONAL STATUS AND THE LEVELS OF FOLATE AND VITAMIN B<sub>12</sub> IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL. ADVISOR: ASST. PROF. KULWARA MEKSAWAN, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. ORANONG KANGSADALAMPAI, Ph.D., 126 pp.

This study aimed to evaluate the nutritional status, the levels of folate in serum and RBC, serum vitamin B<sub>12</sub>, and the relations between nutritional parameters, hematological parameters, and the levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> in patients with thalassemia intermedia at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital. Thirty subjects (12 males and 18 females) aged between 5 - 15 years participated in the study. Nutritional status assessed by subjective global assessment showed that all subjects had normal nutritional status. However, when the nutritional status was evaluated by the percentages of weight for age, weight for height, height for age, triceps skinfold thickness, and mid arm circumference, the prevalence of malnutrition in these subjects were 63.3%, 50.0%, 36.7%, 60.0% and 70.0% respectively. According to the percentiles of body mass index for age, 50% of the subjects were underweight. The patients had average total energy intake ( $1,469.9 \pm 61.6$  Kcal per day) lower than the dietary reference intake. Serum total protein and albumin levels were in the normal range. The mean levels of serum and RBC folate in these patients were  $37.9 \pm 2.7$  and  $297.6 \pm 23.6$  ng/ml respectively. The mean level of serum vitamin B<sub>12</sub> was  $679.7 \pm 29.8$  pg/ml. This study found that several nutritional parameters were correlated with each other. It was found that hemoglobin was positively correlated with MAMC ( $R = 0.376$ ,  $p = 0.040$ ) and AMA ( $R = 0.366$ ,  $p = 0.047$ ). In addition, serum levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> were negatively correlated with some anthropometric parameters. However, there was no correlation between serum and RBC folate, serum vitamin B<sub>12</sub> and hematological parameters.

This study demonstrated that patients with thalassemia intermedia had malnutrition which needs to be evaluated nutritional status by combination methods. Therefore, the nutritional counseling is necessary to improve nutritional status, growth development as normal children, quality of life and effectiveness of treatment.

Department:....Food and Pharmaceutical Chemistry.....Student's Signature.....

Field of Study:..Food Chemistry and Medical Nutrition..Advisor's Signature.....

Academic Year:.....2010.....Co-advisor's Signature.....

## ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis would not have been possible without the help, supervision, guidance, and support of any people. It is the inspirations that helped and pushed me pass throughout the study.

First of all, I wish to express my sincere gratitude and deepest appreciation to my advisor, Assistant Professor Dr. Kulwara Meksawan, for her valuable advice, and sincere kindness throughout my graduate study. Her tremendous knowledge and kindness enable me to accomplish this thesis. I also would like to express my deep appreciation to my co-advisor, Associate Professor Dr. Oranong Kangsadalampai, for her creative comments, valuable guidance and encouragement during the entire study.

I would like to express my grateful to the thesis committee, Assistant Professor Dr. Linna Tongyonk, Assistant Professor Suyanee Pongthananikorn, and Assistant Professor Bunchoo Pongtanakul, for their supportive attitude, valuable advice and constructive criticisms over my thesis. And special appreciation is extended to all teachers for giving me the valuable knowledge and staff of the Department of Food and Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

I also wish to thank the director and staff members, especially Miss Cheeraratana Cheeramakara, Mrs. Wanyarat Nakosiri, Professor Dr. Apichart Nonprasert, Miss Kriyaporn Songmuaeng, and Mr. Nophachai Suthisai, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University for their kind, helpful and encouragement throughout this study. My deep gratitude is also expressed to Miss Lerlugsu Suwanthol and all personnels at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital for their abundantly help and support. I would like to thank Mrs. Apirom Laocharoenkiat and Miss Alisala Lertbannaphong, for her supportive attitude and constructive criticisms over my thesis. I also duty grateful to all particiants for their participation and I am really thankful to the Faculty of Graduate Studies, Chulalongkorn University for the supporting scholarship which enabled me to undertake this study.

Finally, my success would have been impossible without my parents, all family members for their infinite love, warm care, encouragements and never ending support throughout my life.

# CONTENTS

|  | Page |
|--|------|
| <b>ABSTRACT (THAI)</b> .....   | iv   |
| <b>ABSTRACT (ENGLISH)</b> .....  | v    |
| <b>ACKNOWLEDGEMENTS</b> .....  | vi   |
| <b>CONTENTS</b> .....  | vii  |
| <b>LIST OF TABLES</b> .....  | xi   |
| <b>LIST OF ABBREVIATIONS</b> .....   | x    |
| <b>CHAPTER</b>   |      |
| <b>I INTRODUCTION</b> .....  | 1    |
| 1.1 Background and Rationale.....  | 1    |
| 1.2 Objectives of the Study.....   | 4    |
| 1.3 Benefits of the Study.....   | 4    |
| 1.4 Scope of the Study.....  | 4    |
| <b>II LITERATURE REVIEW</b> .....  | 5    |
| 2.1 Thalassemia.....   | 5    |
| 2.2 Nutritional Status in Thalassemia Patients.....                        | 7    |
| 2.3 Nutritional Assessment for Thalassemia Patients.....                   | 9    |
| 2.4 Folate.....  | 14   |
| 2.5 Vitamin B <sub>12</sub> .....  | 18   |
| 2.6 Metabolic Interaction between Folate and Vitamin B <sub>12</sub> ..... | 23   |
| 2.7 Folate and Vitamin B <sub>12</sub> in Thalassemia Patients.....        | 24   |
| <b>III MATERIALS AND METHODS</b> .....                                     | 25   |
| 3.1 Research Design.....   | 25   |
| 3.2 Subjects.....  | 25   |
| 3.3 Experimental Design.....   | 26   |
| 3.4 Nutritional Assessment.....  | 26   |
| 3.5 Blood Collection.....  | 29   |
| 3.6 Determination of Serum and RBC Folate.....                             | 29   |
| 3.7 Data Analysis.....   | 31   |

| <b>CHAPTER</b>   | <b>Page</b> |
|--|-------------|
| <b>IV RESULTS</b> .....  | 32          |
| 4.1 Subject Characteristics.....   | 32          |
| 4.2 Nutritional Assessment .....   | 34          |
| 4.3 Identification of Nutritional Status .....   | 39          |
| 4.4 Comparison of Anthropometric Parameters for Classifying<br>Nutritional Status..... | 42          |
| 4.5 Serum and RBC Folate and Serum Vitamin B <sub>12</sub> of the<br>Subjects.....     | 43          |
| 4.6 Correlations of Parameters Measured in the Study.....                              | 44          |
| <b>V DISCUSSION</b> .....  | 54          |
| 5.1 Subject Characteristics and Nutritional Status .....                               | 54          |
| 5.2 Serum and RBC Folate and Serum Vitamin B <sub>12</sub> of the<br>Subjects.....     | 58          |
| 5.3 Correlation of Parameters Measured in the Study .....                              | 60          |
| <b>VI CONCLUSION</b> .....   | 63          |
| <b>REFERENCES</b> .....  | 65          |
| <b>APPENDICES</b> .....  | 75          |
| <b>APPENDIX A</b> .....  | 76          |
| <b>APPENDIX B</b> .....  | 82          |
| <b>APPENDIX C</b> .....  | 102         |
| <b>APPENDIX D</b> .....  | 111         |
| <b>APPENDIX E</b> .....  | 116         |
| <b>APPENDIX F</b> .....  | 119         |
| <b>APPENDIX G</b> .....  | 124         |
| <b>BIOGRAPHY</b> .....   | 126         |



## LIST OF TABLES

| <b>TABLE</b>  | <b>Page</b> |
|---|-------------|
| 1. Characteristics of the subjects .....  | 33          |
| 2. Anthropometric measurement of the subjects.....  | 35          |
| 3. Laboratory parameters of the subjects.....   | 36          |
| 4. Average dietary nutrient intakes of the subjects.....  | 38          |
| 5. Nutritional status of the subjects classified by %W/A, %W/H, and<br>%H/A.....  | 40          |
| 6. Nutritional status of the subjects classified by %TSF and %MAC.....  | 41          |
| 7. Comparison of anthropometric parameters for classifying nutritional<br>status.....   | 42          |
| 8. The levels of serum and RBC folate and serum vitamin B <sub>12</sub> of the<br>subjects.....   | 43          |
| 9. Correlations between anthropometric parameters.....  | 45          |
| 10. Correlations between anthropometric parameters for classifying<br>nutritional status and other anthropometric parameters.....                     | 46          |
| 11. Correlations between anthropometry, laboratory parameters, and<br>dietary nutrient intake.....  | 48          |
| 12. Correlations between anthropometric parameters for classifying<br>nutritional status, laboratory parameters, and dietary nutrients<br>intake..... | 49          |
| 13. Correlations between nutritional and hematological parameters.....  | 50          |
| 14. Correlations between serum and RBC folate and serum vitamin B <sub>12</sub> ....  | 51          |
| 15. Correlations between serum and RBC folate and serum vitamin B <sub>12</sub><br>and nutritional parameters .....                                   | 52          |
| 16. Correlations between serum and RBC folate, serum vitamin B <sub>12</sub> and<br>hematological parameters.....                                     | 53          |

**LIST OF ABBREVIATIONS**

|                    |  |
|--------------------|--|
| $\alpha$           | alpha                                    |
| $\beta$            | beta                                     |
| $\gamma$           | delta                                    |
| $^{\circ}\text{C}$ | degree Celsius                           |
| $\mu\text{g}$      | microgram                                |
| $\mu\text{g/day}$  | microgram per day                        |
| $\mu\text{mol/l}$  | micromole per liter                      |
| %H/A               | percentage of height for age             |
| %MAC               | percentage of mid arm circumference      |
| %TSF               | percentage of triceps skinfold thickness |
| %W/A               | percentage of weight for age             |
| %W/H               | percentage of weight for height          |
| 95% CI             | 95% confidence interval                  |
| AFA                | arm fat area                             |
| AMA                | arm muscle area                          |
| ANC                | absolute neutrophils count               |
| BMI                | body mass index                          |
| conc.              | concentration                            |
| cm                 | centimeter                               |
| $\text{cm}^2$      | square centimeter                        |
| CN                 | cyanide group                            |
| DHF                | dihydrofolate                            |
| DRI                | dietary reference intake                 |
| DNA                | deoxyribonucleic acid                    |

|                   |   |
|-------------------|---|
| dTMP              | deoxythymidine monophosphate              |
| dUMP              | deoxyuridine monophosphate                |
| dUST              | deoxyuridine suppression test             |
| et al.            | et alia (and others)                      |
| FIGLU             | formiminoglutamic acid                    |
| fl                | femtoliter                                |
| g/day             | gram per day                              |
| g/dl              | gram per deciliters                       |
| g/kg              | gram per kilogram                         |
| g/kg/day          | gram per kilogram per day                 |
| g/ml              | gram per milliliters                      |
| H/A               | height for age                            |
| Hb                | hemoglobin                                |
| Hct               | hematocrit                                |
| kcal              | kilocalorie                               |
| kcal/day          | kilocalories per day                      |
| kcal/kg/day       | kilocalories per kilogram per day;        |
| kg                | kilogram                                  |
| kg/m <sup>2</sup> | kilogram per square meter                 |
| MAC               | mid-arm circumference                     |
| MAMC              | mid-arm muscle circumference              |
| MCH               | mean corpuscular hemoglobin               |
| MCHC              | mean corpuscular hemoglobin concentration |
| MCV               | mean corpuscular volume                   |
| mg                | milligram                                 |

|        |                                      |
|--------|--------------------------------------|
| mm     | millimeter                           |
| mg/d   | milligram per day                    |
| MMA    | methylmalonic acid                   |
| n      | number                               |
| ng/ml  | nanogram per milliliter              |
| nM     | nanomole                             |
| OR     | odds ratio                           |
| pg/ml  | picogram per milliliter              |
| pmol/l | picomole per liter                   |
| RBC    | red blood cell                       |
| RDA    | recommended daily dietary allowances |
| RNA    | ribonucleic acid                     |
| rpm    | revolutions per minute               |
| SAM    | S-adenosylmethionine                 |
| SEM    | standard error of mean               |
| SGA    | subjective global assessment         |
| THF    | tetrahydrofolate                     |
| TC     | transcobalamins                      |
| TSF    | triceps skinfold thickness           |
| W/A    | weight for age                       |
| WBC    | white blood cell                     |
| W/H    | weight for height                    |
| vs     | versu                                |

# CHAPTER I

## INTRODUCTION

### 1.1 Background and Rationale

Thalassemia is a hereditary disorder of hemoglobin (Hb) synthesis that commonly found in Mediterranean and South-East Asia, especially in Thailand. Approximately 30 - 40% of Thai people have thalassemia traits (20-30% with alpha ( $\alpha$ ) - thalassemia trait and 3 - 9% with beta ( $\beta$ ) - thalassemia trait) (Fucharoen et al., 2007). The most common  $\beta$ -thalassemia in South-East Asia is  $\beta$ -thalassemia/Hb E disease (Viprakasit et al., 2001).

The defective or absent synthesis of either the two chains,  $\alpha$  or  $\beta$ , of the adult Hb tetramer results from gene deletion or mutation. At the cellular level, this result in a reduced amount of normal functional Hb and an imbalance between the two globin types as the unaffected chain is continuously produced whereas the affected chain production is decreased or absent. The abnormal globin synthesis makes the precipitation of the remaining globin chains that alters cellular and membrane properties of red cells. This abnormality is the cause of early destruction of the red cell in the intramedullary spaces, known as ineffective erythropoiesis. The mature red cells from the bone marrow have a short life time because of increased hemolysis, causing various abnormalities such as severe anemia, jaundice, splenomegaly, delayed puberty, and delayed secondary sexual characteristics (Lo and Singer, 2002; Rund and Rachmilewitz, 2005).

The chronic anemia of thalassemia intermedia increases the bone marrow haemopoietic activity and cardiac output to maintain oxygen delivery. This produces hypercatabolic state, increasing resting energy expenditure. Therefore, the body needs more energy, nutrients, hormones, and growth factors (Borgna-Pignatti, 2007; Claster et al., 2009). The recommended daily dietary allowances (RDA) of energy intake for children aged between 4 - 15 years is 1,600 kcal, but the average energy intake of thalassemia children were 65% of the mean RDA (Tanphaichitr, Visuthi, and Tanphaichitr, 1995). In addition, amino acid metabolism is changed. It was found that plasma and urinary essential amino acids were low in patients with thalassemia major compared with subjects with thalassemia minor (Abdulrazzaq et al., 2005). Some researchers found that the patients had multiple deficiencies of vitamins and minerals such as vitamin A, vitamin E, zinc, folate, and vitamin B<sub>12</sub> (Tienboon, Sanguansermisri and Fuchs, 1996; Claster et al., 2009). Thalassemia patients were also found to have growth failure, delayed puberty, and underweight (Karamifar, Shahriari, and Amirhakimi, 2002; Asadi-pooya and Karamifar, 2004), and this could be, in part, the results of malnutrition.

Folate and vitamin B<sub>12</sub> play important roles in erythropoiesis, cell division, and growth development. These nutrients work together as co-enzymes for the nucleic acid synthesis (Mitchell, Snell, and Williams, 2008). Deficiencies of folate and vitamin B<sub>12</sub> affect erythropoiesis, causing anemia and malnutrition. A study examining the relationships between folate and vitamin B<sub>12</sub> deficiency and nutritional status in 470 healthy females found that the level of plasma folate was a significant determinant of Hb status (OR: 1.9; 95%CI: 1.1, 3.5), but there was no relation of vitamin B<sub>12</sub> level with anemia (Khatib et al., 2006). However, the study in 1,459

healthy elderly people found that the level of vitamin B<sub>12</sub> less than 148 pmol/ml was associated with anemia (OR: 2.7; 95% CI: 1.7, 4.2) (Morris et al., 2007).

Thalassemia patients may be at risk of folate and vitamin B<sub>12</sub> deficiency due to overproduction of hematopoiesis. Kumar et al. (1985) examined the levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> in 157 homozygous  $\beta$ -thalassemia patients who received blood transfusion. They found that mean serum folate in patients (6.4 ng/ml) was significantly less than in normal subjects (7.9 ng/ml), but mean serum vitamin B<sub>12</sub> in patients (213.4 pg/ml) was remarkably higher than that in normal subjects (186 pg/ml). Folate deficiency (serum folate less than 3 ng/ml and red blood cell (RBC) folate less than 150 ng/ml) was seen in 9.3% of thalassemia patients, and vitamin B<sub>12</sub> deficiency (plasma vitamin B<sub>12</sub> less than 80 pg/ml) was seen in 7.6% of the patients.

From the past, several techniques have been used to determine nutritional status in thalassemia patients. However, no studies prove which method is the best in providing information about nutritional status in these patients. In addition, most of the studies involving nutritional status in thalassemia patients were generally conducted in the patients who had severe condition and received regular blood transfusion. There are still limited studies of nutritional status in patients with mild to moderate condition, especially in children. Therefore, this study focused on nutritional status and the levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> in children with thalassemia intermedia who do not require regular blood transfusion. The relationships among parameters including anthropometry, biochemical parameters, the levels of folate in serum and RBC, and serum vitamin B<sub>12</sub> level were also evaluated.

## **1.2 Objectives of the Study**

2.1 To evaluate the nutritional status in patients with thalassemia intermedia

2.2 To study the levels of folate in serum and RBC and serum vitamin B<sub>12</sub> in patients with thalassemia intermedia

2.3 To evaluate the relationships between nutritional parameters and the levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> in patients with thalassemia intermedia

## **1.3 Benefits of the Study**

This study provides information on nutritional status, the levels of folate in serum and RBC and serum vitamin B<sub>12</sub> as well as the relations among nutritional parameters in patient with thalassemia intermedia. The information gained from this study is beneficial in developing nutrition recommendation to improve nutritional status, growth, quality of life and treatment in the children patients with thalassemia intermedia.

## **1.4 Scope of the Study**

This research was aimed to study in children (5 - 15 years old) with thalassemia intermedia at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital during March, 2010 through September, 2010.



## CHAPTER II

### LITERATURE REVIEW

#### 2.1 **Thalassemia**

Thalassemia is a heterogeneous group of inherited disorders of hemoglobin (Hb) synthesis characterized by decreased production of either  $\alpha$  or  $\beta$  globin chains. The disease is designated according to which chain is underproduced. Beta-thalassemia involves decreased  $\beta$ -chain production and  $\alpha$ -thalassemia decreased  $\alpha$ -chain production (Lo and Singer, 2002; Kroft and Monaghan, 2007).

Hypochromic microcytic anemia is the basic hematological abnormality in the thalassemia. At the cellular level, unbalanced synthesis of  $\alpha$  and  $\beta$  globin chains can damage red cell in two ways. Firstly, failure of  $\alpha$  and  $\beta$  chains to combine leads to diminished hemoglobinisation of red cells to levels incompatible with survival. The second mechanism for red cell damage is the precipitation of the remaining globin chains, it alters red cell cellular and membrane properties leading to accelerated apoptosis of erythroid precursors in the bone marrow (ineffective erythropoiesis) and destruction of more mature red cells in the spleen (hemolysis), resulting in severe anemia. In general, the clinical severity of any cases of thalassemia is proportionate to the degree of imbalance of  $\alpha$  and  $\beta$  globin synthesis (Lo and Singer, 2002; Howard and Hamilton, 2008).

### **2.1.1 Classification of Thalassemia**

The classification of thalassemia can be divided according to severity of clinic as followed:

#### **2.1.1.1 Thalassemia major**

Thalassemia major is the most severe form. The patient has average Hb levels less than 7 g/dl and hematocrit (Hct) less than 20%. Patients usually develop the symptoms of severe anemia. Patients with thalassemia major require transfusions of red blood cells every 4 to 6 weeks, depending on the individual's consumption of the infused cells. Diseases in the group of thalassemia major are homozygous  $\beta$ -thalassemia disease,  $\beta$ -thalassemia/Hb E disease, and Hb Bart's hydrops fetalis (Kroft and Monaghan, 2007; Howard and Hamilton, 2008).

#### **2.1.1.2 Thalassemia intermedia**

Moderately severe forms of thalassemia include  $\beta$ -thalassemia/Hb E disease, Hb H disease, Hb H with constant spring, Hb AE bart's disease, Hb EF bart's disease, and homozygous Hb constant spring. The patient has average Hb level 7 - 9 g/dl and Hct between 20 - 27%. Thalassemia intermedia covers a wide spectrum, ranging from disorders nearly as severe as thalassemia major (but lacking transfusion dependence) to mild disorders with few clinical manifestation. The complications are dependent on the severity of the hemolysis and largely seen in other forms of hemolytic anemia, including jaundice, organomegaly, gallstones, susceptibility to infections, and leg ulcers (Kroft and Monaghan, 2007).

#### **2.1.1.3 Thalassemia minor**

People with thalassemia minor or carriers are usually asymptomatic with hypochromic microcytic red cells and slightly reduced Hb levels. The disorder may be

confused with iron deficiency leading to unnecessary investigations (Howard and Hamilton, 2008).

## **2.2 Nutritional Status in Thalassemia Patients**

Nutritional status affects every aspect of a child's health, including normal growth and development and physical activity. In patients, an appropriate nutrition can improve both short-term and long-term outcomes of disease treatment (Zemel, Riley, and Stallings, 1997). An illness and its symptoms can lead to malnutrition by reducing food intake, interfering with digestion and absorption, or altering nutrient metabolism and excretion. In addition, poor nutritional status weakens immune function and compromises a person healing ability, influencing both the course of disease and the body response to treatment (Rolfes, Pinna, and Whitney, 2009).

In patient with thalassemia major, blood transfusion remains the mainstay of management. Blood transfusion increases Hb level, which reduces tissue hypoxia and suppresses ineffective hematopoiesis (Kroft and Monaghan, 2007). In children, blood transfusion maintains Hb level, regular growth and growth velocity. If not transfused, children develop a wide spectrum of clinical manifestations such as stunted growth, wasting, fever, hyperuricemia, infections, organomegaly, frontal bossing, spontaneous fractures, and bone abnormalities (Borgna-Pignatti, 2007; Kroft and Monaghan, 2007).

Chronic anemia in thalassemia patients affects the cardiac output to maintain oxygen delivery that makes patients have mildly hypercatabolic state, increased resting energy expenditure and vitamin intake, and chronic oxidative stress. These conditions affect nutritional status of children with thalassemia. It is known that thalassemia children manifest a decrease in muscle mass and low body weight and height, compared with normal children. Therefore, adequate energy and nutrients are

essential for growth of children. Previous study found that thalassemia patients had low energy intake, 65% of the mean recommended energy intake (Tanphaichitr et al., 1995). Serum carnitine and essential amino acids in plasma and urine were found to be lower in thalassemia patient (Abdulrazzaq et al., 2005; Tsagris and Liapi-Adamidou, 2005).

There are several studies about the nutritional status in children with thalassemia major. The prevalence of protein energy malnutrition in thalassemia children, based on height for age (H/A) of less than 95% of standard values and weight for age (W/A), triceps skinfold thickness (TSF), mid-arm circumference (MAC) and mid-arm muscle circumference (MAMC) of less than 90% of standard values were 72.3, 74.5, 53.7, 75.6 and 82.9% respectively (Tanphaichitr et al., 1995). Most children had abnormal Z scores of W/A and H/A. Moreover, previous studies found that children with thalassemia had severe weight deficits and stunting (Tienboon et al., 1996; Karamifar et al., 2002). The growth velocity of children and adolescents with thalassemia were significantly decreased compared to normal children (Soliman et al., 1999; Saxena, 2003). The body mass index (BMI), TSF, MAC, and MAMC was less in children with thalassemia than in normal children (Soliman et al., 1999; Soliman et al., 2004).

Growth retardation in children with thalassemia might be due to several factors. For instance, abnormal endocrine function, nutritional deprivation with or without feeding difficulties, arising from fatigue, and breathlessness might effect on growth. Moreover, increased energy expenditure due to hypermetabolism and gastrointestinal hypoxia can consequently produces anorexia and malabsorption (Soliman et al., 2004; Abdulrazzaq et al., 2005). Abnormal plasma amino acid concentration affected to the production of erythrocyte, which could lead to decreased

growth rate (Abdulrazzaq et al., 2005). Moreover, many studies revealed that thalassemia patients had deficiencies of vitamins and minerals such as folate, vitamin B<sub>12</sub>, vitamin A, vitamin C, riboflavin, vitamin D, vitamin E, zinc and selenium (Claster et al., 2009). However, there have been conflicting reports in relation to the levels of certain vitamins and minerals in the blood of thalassemia patients (Zafeiriou, Economou, and Althanasiou-Metaxa, 2006).

## **2.3 Nutritional Assessment for Thalassemia Patients**

Nutritional assessment is an evaluation of the nutritional status of individuals or populations through measurements of food and nutrient intake and evaluation of nutrition-related health indicators (Lee and Nieman, 2003).

### **2.3.1 Nutritional Assessment Methods**

The measurement of body composition during growth and development provides more detail information about nutritional status than the measurement of stature and weight alone does because the body compartments are indicative of nutritional stores (Zemel et al., 1997; Baer and Harris, 1996). Four different methods were used to evaluate nutritional status including anthropometric, biochemical or laboratory, clinical, and dietary measurement (Lee and Nieman, 2003; Davis, 2005).

#### **2.3.1.1 Anthropometric Measurement**

Anthropometry is the measurement of the physical dimensions and gross composition of body (Lee and Nieman, 2003). This method is a rapid, inexpensive, and noninvasive means of determining short and long term nutritional status. Numerous anthropometric measures are used in nutritional assessment, because no single measure can fully characterize nutritional status (Zemel et al., 1997). Anthropometric data are valuable objective indicators of attained size and physical growth in children (Kuczmarshi et al., 2000). The anthropometric parameters in

children usually include body weight, height, head circumference, MAC, skinfold thickness, estimation of arm muscle area (AMA), and body fatness. These results often are compared with references for age and sex to determine abnormalities in growth and development that may result from nutrient deficiencies or excesses (Lee and Nieman, 2003; Hendricks, 2007).

#### **2.3.1.1.1 Weight and Height**

In children, the most common indicators to assess growth status are weight for age (W/A), weight for height (W/H), and height for age (H/A) (Garza and De-Onis, 2007). Weight and height parameters should be plotted on standard growth of children to determine the W/A, W/H, and H/A (Ekvall et al., 2005). Weight for age and W/H are used to assess the current nutritional status of children, overweight or underweight. Height for age is a parameter to assess the chronic malnutrition (Mosby, Barr, and Pencharz, 2009).

#### **2.3.1.1.2 Body Mass Index**

The Quetelet's index, the most widely used height-weight index, is commonly referred to as the BMI (Lender and Willett, 2008). Body mass index is correlated better with body fat than body weight. Growth charts with BMI for age percentiles can be used to assess risk of underweight and overweight in children. The 5<sup>th</sup> and 85<sup>th</sup> percentiles are used as cutoffs to identify children who may be malnourished and overweight, respectively (Appendix A) (Hendricks, 2007; Rolfes et al., 2009; Centers for Disease Control and Prevention, 2010).

#### **2.3.1.1.4 Triceps Skinfold Thickness**

The most widely used method of indirectly estimating percent body fat is skinfold measurement (Lee and Nieman, 2003). Nearly half of the body fat in humans is in the subcutaneous layer, and measurements of this deposit can lead

to accurate estimates of total body fat. Skinfold thickness measurement is accurate, simple and reproducible and can be used to monitor change in total body fat and assess current nutritional status and body composition (Ekvall et al., 2005; Hendricks, 2007). The triceps skinfold thickness is one of the most valuable anthropometric measures of nutritional status because it is a good indicator of energy reserves and it correlates well with total body fat stores (Zemel et al., 1997). The values measured can be compared with the reference ranges. The percentage of TSF that is less than 85% of standard TSF indicates malnourished state (Ekvall et al., 2005).

#### **2.3.1.1.5 Mid-arm Circumference**

The arm contains both subcutaneous fat and muscle. A decrease in MAC may reflect a reduction in either muscle mass or subcutaneous tissue (or both). Arm circumference changes are easy to detect and require a minimal amount of time and equipment (Gibson, 2005). The combination of TSF and MAC is used to calculate the MAMC and AMA (Ekvall et al., 2005).

Mid-arm muscle circumference can serve as a general index of nutritional status. It reflects both caloric adequacy and muscle mass (Sarden, 2003). Assessment of muscle mass can provide an index of the protein reserves of the body. Mid-arm muscle circumference is the calculated circumference of the inner circle of muscle surrounding a small central core of bone. Arm muscle area is preferable to MAMC as an index of the total body muscle mass because it more adequately reflects the true magnitude of muscle tissue changes (Ekvall et al., 2005; Gibson, 2005).

#### **2.3.1.2 Biochemical Measurement**

Biochemical or laboratory methods provide information about protein-energy nutrition, vitamin and mineral status, fluid and electrolyte balance, and organ function. Most tests are based on analyzing nutrient or metabolite in blood, feces, or

urine or measuring a variety of other components in blood and other tissues that have a relationship to nutritional status (Lee and Nieman, 2003; Rolfes et al., 2009). Biochemical data are used to detect marginal deficiencies before any overt clinical or physical signs appear (Ekvall et al., 2005).

#### **2.3.1.2.1 Serum Total Protein**

Serum total protein is an index of visceral protein status. It is easily measured but is a rather insensitive index of protein status. Protein in the plasma is made up of albumin and globulin (Saubertlich, 1999). This test is often done to diagnose nutritional problem such as kidney disease or liver disease. If total protein is abnormal, further tests must be done to identify the specific problem.

#### **2.3.1.2.2 Serum Albumin**

Serum albumin is the most abundant plasma protein (3 - 5 g/kg of body weight), and its levels are routinely monitored during illness. Although many medical conditions influence albumin, it is slow to reflect change in nutritional status because of its large body pool and slow rate of degradation (Gibson, 2005; Rolfes et al., 2009). Serum albumin concentrations only reflect changes occurring within the intravascular space and not the total visceral protein pool. Serum albumin levels are influenced by a variety of other conditioning factors such as hydration status, renal and liver disease, trauma, edema, dietary protein and hypothyroidism (Gibson, 2005). The reference range of albumin is 3.0 - 3.5 g/dl.

#### **2.3.1.3 Clinical Measurement**

Clinical assessment consists of a routine medical history and physical examination to detect physical signs and symptoms associated with malnutrition (Gibson, 2002). Many clinical signs of malnutrition often appear late in the process of undernutrition. These are preceded for weeks or sometimes months by a gradual



depletion of tissue reserves. Signs associated with such nutrient deficiencies are frequently not very specific and may be two-directional, occurring during both deficiency and recovery, or multiple, co-existing with other nutrient deficiencies (Gibson, 2005).

#### **2.3.1.4 Dietary Measurement**

Dietary evaluation is an important adjunct to the above three assessments because it provides the description of dietary intake background, which may help to explain any observed clinical or biochemical abnormalities and may suggest proper remedial steps. Dietary intake data are assessed either by collecting retrospective intake data as with a 24-hour recall or food frequency questionnaire. Twenty-four hour recall is one of the most common methods of dietary assessment and requires individuals to remember the specific food and amounts of foods consumed in the past 24 hours. The advantage of the 24-hour recall is that it requires little effort on the part of respondent, but the consumption in a single 24 hour period may not be representative of current weekly or monthly consumption (Gibson, 2002; Hammond, 2008).

#### **2.3.1.5 Subjective Global Assessment**

The subjective global assessment (SGA) method is an alternative method of nutritional assessment based exclusively on a carefully performed medical history and physical examination. No anthropometric or laboratory indices are included (Gibson, 2005). It is a form partially filled out by the patient or caregiver and completed by a trained health care provider. It is widely used in the adult population and is considered better for predicting nutritional-associated complications than medical tests. Advantages of this method are inexpensive and valuable tool. Subjective global assessment was validated recently in a preoperative pediatric

population for assessing nutritional status and identifying patients at higher risk for nutrition-associated complications and prolonged hospitalization, but it has not yet been evaluated for its effectiveness specifically in children with thalassemia (Mosby et al., 2009).

## **2.4 Folate**

Folate is the commonly term used to refer to all forms of vitamin including the naturally occurring forms of the vitamins (polyglutamates), folic acid refers to the oxidized, stable, and easily absorbable synthetic form (monoglutamate) (Arcot and Shrestha, 2005). Folate plays a crucial role in deoxyribonucleic acid (DNA) and protein synthesis. Folate derivatives are co-factors in vital metabolic pathways involved in the transfer of methyl groups.

### **2.4.1 Food Sources of Folate**

Humans and other mammals cannot synthesize folate in their tissues. Therefore, they must obtain the vitamin from exogenous sources via intestinal absorption. The major form of food folates in natural sources occur as polyglutamates that are large and strongly electronegative molecules (Sauberlich, 1999). The major source of folate occurs in a wide variety of foods of both plant and animal origin. Liver, mushrooms, green leafy vegetables, fruits, dairy products, and cereals are rich sources of folate in human diets. Folate in foods is almost exclusively in reduced form as polyglutamyl derivatives of tetrahydrofolate (THF) (Ball, 2004; Mitchell et al, 2008).

### **2.4.2 Metabolic Functions of Folate**

Folate is cofactors and cosubstrates in numerous metabolic functions by accepting, transferring, or modifying one-carbon moieties that are attached to the N5 or N10 position of folate or bridge those two positions (Carmel, 2006).

The functions of folate include methylation of deoxyuridylate to thymidylate in DNA synthesis, catabolism of histidine, interconversion of serine and glycine, formate formation and utilization, methylation of uracil residues in transfer DNA, methione formation from homocysteine, and choline synthesis (Sauberlich, 1999).

### **2.4.3 Signs of Folate Deficiency**

Limitation of folate interferes with DNA replication and the number of cell divisions. One of the most noticeable effects of folate deficiency is the occurrence of abnormalities in cell which has the most rapid rates of multiplication, including the intestinal mucosa, regenerating liver and the bone marrow. Folate is also essential for the formation and maturation of both red and white blood cells in the bone marrow. Macrocytic or megaloblastic anemia is a consequence of decreased DNA synthesis and failure of cells to divide properly and coupled with the continued formation of ribonucleic acid (RNA). In contrast to folate deficiency, the hematological abnormality in thalassemia patients is hypochromic microcytic anemia (Basu and Dickerson, 1996; Mitchell et al., 2008; Howard and Hamilton, 2008).

### **2.4.4 Assessment of Folate Status**

#### **2.4.4.1 Serum Folate**

Serum folate, containing mainly monoglutamates THF, is a sensitive indicator of short-term folate balance and recent dietary intake. The normal level of serum folate is 6.0 ng/ml or greater. A value between 3.0 to 6.0 ng/ml indicates a marginal folate deficiency and 3.0 ng/ml or less indicates a folate deficiency. The folate level in serum may not accurately reflect the amount of folate in tissues (Basu and Dickerson, 1996; Brody, 1999; Sauberlich, 1999).

#### **2.4.4.2 Red Blood Cell Folate**

Red blood cell (RBC) folate levels are less sensitive to short-term dietary effects than serum folate. Determination of RBC folate levels has been recommended as a better measure of folate tissue stores. A reduction in liver folate stores is paralleled by a reduction in erythrocyte folate levels. The levels of RBC folate greater than 160 ng/ml indicate normal folate status, the levels of 140 - 160 ng/ml suggest marginal status, and the levels less than 140 ng/ml indicate a deficiency (Basu and Dickerson, 1996; Brody, 1999; Snow, 1999; Brody and Shane, 2001).

#### **2.4.4.3 Formiminoglutamic Acid Excretion**

An analysis of formiminoglutamic acid (FIGLU) in urine can also be useful in evaluating folate status of an individual. When a loading dose of 5 gram histidine is fed (histidine loading test), this amino acid is normally converted to FIGLU and then removed from the tissues by reacting with THF. In the presence of folate deficiency, the conversion is inhibited and the amount of FIGLU in the urine is increased. The excretion of FIGLU in urine greater than 200  $\mu$ mol within 24 hours indicates a folate deficiency (Basu and Dickerson, 1996; Sauberlich, 1999).

#### **2.4.4.4 Hypersegmentation of Neutrophils**

The earliest hematological sign of folate deficiency is an increase in the hypersegmentation of the nuclei of the neutrophilic polymorphonuclear leucocytes. While normal average lobe number of neutrophils is approximately 2 - 4 lobes, hypersegmentation of neutrophils have 5 or more lobes. Following the changes in the neutrophils, the next hematological alteration is a gradual appearance of macroovalocytosis, with gradual increase in the mean corpuscular volume (Sauberlich, 1999).

#### **2.4.4.5 Deoxyuridine Suppression Test**

The deoxyuridine suppression test (dUST) has not found widespread usage because of the difficulty in obtaining marrow cells from patients on a routine basis. This test measures the effect of deoxyuridine in suppressing the uptake of tritiated labeled thymidine into DNA. Under conditions of low cellular folate, the conversion of deoxyuridine monophosphate (dUMP) to Deoxythymidine monophosphate (dTMP) is reduced, and the suppression of labeled thymidine incorporation into DNA is reduced. The dUST can distinguish between folate and vitamin B<sub>12</sub> deficiencies (Sauberlich, 1999; Brody and Shane, 2001).

#### **2.4.4.6 Serum Homocysteine Concentrations**

The serum homocysteine level is a functional test of folate coenzyme activity, which reflects tissue deficiency of methyl THF as a substrate in the methionine synthase reaction. Serum homocysteine can also serve as a marker of inadequate for vitamin B<sub>6</sub> and vitamin B<sub>12</sub>. The prevalence of high serum homocysteine increases with age. It is inversely associated with serum folate concentration. The upper limit of normal plasma homocysteine has been suggested to be less than 12 µmol/l (Lindenbaum and Allen, 1995; Sauberlich, 1999).

#### **2.4.5 Folate Requirements**

In Thailand, dietary reference intake (DRI) of folate is set at 400 µg/day for adult males and females, 600 µg/day for pregnant women, and 500 µg/day for lactating women. In children, age between 1 - 8 years, folate recommendation is set at 150 - 200 µg/day, and the amount of 300 - 400 µg/day is recommended for adolescent (Department of Health, Ministry of Public Health, 2003).

#### **2.4.6 Effect of High dose of Folic Acid Supplementation**

Folate is generally considered to have a low acute and chronic toxicity for humans (Ball, 2004). Large doses of folate have been useful in the treatment of few rare diseases such as homocysteinuria, defect in absorption of the vitamin, and deficiency of dihydrofolate reductase (Sarden, 2003). Nonetheless, in humans, increased folic acid intake leads to elevated blood concentrations of naturally occurring folates and of unmetabolized folic acid. High blood concentrations of folic acid may relate to decreased natural killer cell cytotoxicity, and high folate status may reduce the response to antifolate drugs used against malaria, rheumatoid arthritis, psoriasis, and cancer. In elderly, a combination of high folate level and low vitamin B<sub>12</sub> status may be associated with an increased risk of cognitive impairment and anemia. In pregnant women, high folate level increases risk of insulin resistance and risk of obesity in children (Smith, Kim, and Refsum, 2008).

### **2.5 Vitamin B<sub>12</sub>**

Vitamin B<sub>12</sub>, also called cobalamin, is a water soluble vitamin with a key role in the normal function of the brain and nervous system, and for the formation of blood. Vitamin B<sub>12</sub> and cobalamin are used as a generic descriptor for all corrinoids that can be converted to 5'-deoxyadenosylcobalamin or methylcobalamin. Cyanocobalamin is the commercially available form of vitamin B<sub>12</sub>. This form is stable and readily converted in the body to metabolically active vitamin B<sub>12</sub> (Sauderlich, 1999).

#### **2.5.1 Food Sources of Vitamin B<sub>12</sub>**

Vitamin B<sub>12</sub> is synthesized by bacteria and other microorganisms growing in soil or water, in sewage, and the rumen and intestinal tract of animals. Hence, all plants and plant food are devoid of vitamin B<sub>12</sub> unless contaminated by

microorganisms. Vitamin B<sub>12</sub> is ubiquitous in foods of animal origin and is derived from the animal's ingestion of cobalamin-containing animal tissue or microbiologically contaminated plant material. The excellent food sources are liver, dairy products, meats, eggs, fish, and shellfish. Vitamin B<sub>12</sub> in foods exists in several forms. Meat and fish contain mostly adenosyl- and hydroxycobalamin. Dairy products contain mostly hydroxycobalamin, and cyanocobalamin was only detected in small amounts in egg white, cheeses and boiled haddock (Sauderlich, 1999; Ball, 2004; Castle and Hale, 2008).

### **2.5.2 Metabolic Functions of Vitamin B<sub>12</sub>**

Vitamin B<sub>12</sub> plays key roles in the metabolism of propionate, amino acids, and single carbon. In humans, vitamin B<sub>12</sub> is required for the functions of 3 enzymes, namely methionine synthase, methylmalonyl Coenzyme A mutase, and leucine mutase. Methylcobalamine is the coenzyme of methionine synthase, which catalyses the conversion of homocysteine to methionine and regenerates THF. 5'-adenosylcobalamin is required for the action of methylmalonyl Coenzyme A mutase, which converts methylmalonyl Coenzyme A to succinyl Coenzyme A in the degradation of propionate. The adenosylcobalamine-dependent leucine mutase is involved in the conversion of L- $\alpha$ -leucine to 3-aminoisocaproate as the first step in the synthesis or degradation of the amino acid (Basu and Dickerson, 1996; Ball, 2004; Castle and Hale, 2008).

### **2.5.3 Signs of Vitamin B<sub>12</sub> Deficiency**

Deficiency of vitamin B<sub>12</sub> can be produced by several factors. The most common causes are inadequate dietary intake, and, primarily in the veganism, malabsorption due to gastric atrophy. The other causes are intestinal disease, parasitic infections, medications, and polymorphisms (Allen, 2008). Vitamin B<sub>12</sub> (or folate)

deficiency affected the tissues with high turnover rate, such as the red blood cell and the epithelial cells of the gastrointestinal tract. The clinical signs of vitamin B<sub>12</sub> deficiency can be related to general symptoms of anemia, which include pallor of the skin and mucous membrane, accompanied by tiredness, breathlessness, palpitation, angina and anorexia. Other signs include a burning tongue, which is often red and smooth, and may show ulcers (Basu and Dickerson, 1996).

The more specific sign of deficiency is the development of macrocytic anemia either alone or in combination with characteristic lesions of the nervous system. The hematological changes due to vitamin B<sub>12</sub> deficiency are identical with folate deficiency but usually take much longer to appear. Generally, the abnormal morphological changes in the bone marrow and peripheral blood are manifested at the final stages of chronic vitamin B<sub>12</sub> deficiency. The lack of vitamin B<sub>12</sub> may cause neurological disorders, characterized by peripheral neuropathy, subacute combined degeneration of the spinal cord, and mental changes. Some of the clinical manifestations include numbness and tingling in the hands and feet, diminution of vibration sense, unsteadiness, poor muscular coordination with ataxia, and poor memory (Basu and Dickerson, 1996; Scott, 1999; Allen, 2008).

#### **2.5.4 Assessment of Vitamin B<sub>12</sub> Status**

##### **2.5.4.1 Serum Vitamin B<sub>12</sub> Concentration**

The common procedure for determining vitamin B<sub>12</sub> status has been the measurement of serum vitamin B<sub>12</sub> levels (Ball, 2004). Low body stores of vitamin are associated with low serum levels of the vitamin (Sauderlich, 1999). The lower limit is considered to be approximately 120 to 180 pmol/l for adults but varies with the analytical methods used (Ball, 2004). Vitamin B<sub>12</sub> deficiency is often accompanied by folate deficiency with clinical manifestations of macrocytic anemia



but without a sign of neurological disorder. It is important that patients with the anemia are tested for deficiencies of these two vitamins. Serum vitamin B<sub>12</sub> and serum and RBC folate are laboratory assays that could be used effectively for the differential diagnosis (Basu and Dickerson, 1996).

#### **2.5.4.2 Methylmalonic Acid Excretion**

A more reliable indicator of vitamin B<sub>12</sub> deficiency is the measurement of serum methylmalonic acid (MMA) levels in the urine. This substance is present in urine of normal individuals in very small amounts, but there is a profound increase in its excretion level in the presence of a deficiency of vitamin B<sub>12</sub>. This MMA accumulates when L-methylmalonyl Coenzyme A mutase activity is blocked by a deficiency of its coenzyme, adenosylcobalamin. Elevations of MMA are very specific to vitamin B<sub>12</sub> deficiency and are unrelated to folate deficiency (Basu and Dickerson, 1996; Ball, 2004).

#### **2.5.4.3 Schilling Test**

The schilling test measures vitamin B<sub>12</sub> absorption, not the state of stores of the vitamin. This test provides information whether the malabsorption is due to a lack of intrinsic factor or a lack of gastric acid production or enzymic secretion (Sauderlich, 1999; Ball, 2004).

#### **2.5.4.4 Deoxyuridine Suppression Test**

This method is a sensitive test which is used to assess folate and/or vitamin B<sub>12</sub> status. The dUST is an isotopic procedure that assays the ability of nonradioactive deoxyuridine to suppress the incorporation of labeled thymidine into DNA via a pathway that is impaired in folate and cobalamin deficiency. This test is not practical or reliable for widespread use (Sauderlich, 1999; Beck, 2001).

#### **2.5.4.5 Plasma of Holotranscobalamin II**

Plasma concentration of holotranscobalamin II provides an early and sensitive measurement of negative vitamin B<sub>12</sub> balance. Vitamin B<sub>12</sub> is rapidly depleted from holotranscobalamin II when vitamin B<sub>12</sub> status is low. Holotranscobalamin II concentrations of less than 30 pmol/l were considered vitamin B<sub>12</sub> deficient. Holotranscobalamin II concentrations of less than 15 pmol/l would indicate that no vitamin B<sub>12</sub> is being absorbed. Borderline low holotranscobalamin II was considered to ranges from 29.6 to 44.4 pmol/l (40 - 60 pg/ml). Hence, a serum holotranscobalamin II level of less than 45 pmol/l (more than 60 pg/ml) was considered normal (Sauderlich, 1999).

#### **2.5.5 Vitamin B<sub>12</sub> Requirements**

An average size of the saturated body pool of vitamin B<sub>12</sub> in adults is estimated to be 4 mg. The biological half-life of vitamin B<sub>12</sub> is estimated to be from 480 - 1,284 days (Basu and Dickerson, 1996). In Thailand, dietary reference intake (DRI) of vitamin B<sub>12</sub> is set at 2.4 µg/day for adults male and females, 2.6 µg/day for pregnant women, and 2.8 µg/day for lactating women. Dietary reference intake (DRI) of vitamin B<sub>12</sub> in children aged between 1 - 8 years is set as 0.9 - 1.2 µg/day and the amount of 1.8 - 2.4 µg/day is recommended for adolescent (Department of Health, Ministry of Public Health, 2003).

#### **2.5.8 Effect of High Dose of Vitamin B<sub>12</sub> Supplementation**

Vitamin B<sub>12</sub> has a very low toxicity. The administration of oral dose of 1,000 µg of cobalamin per day produces no adverse effects. High plasma levels of the vitamin are indicative of disease, rather than hypervitaminosis B<sub>12</sub> (Sauderlich, 1999; Castle and Hale, 2008). Vitamin B<sub>12</sub> is not broken down within the body. Ingested

amounts that exceed the limited binding capacity in plasma and tissues are excreted unchanged in urine and feces (Ball, 2004).

## **2.6 Metabolic Interaction between Folate and Vitamin B<sub>12</sub>**

Folate and vitamin B<sub>12</sub> are required in the methyl transfer reaction catalyzed by methionine synthase. In this reaction, vitamin B<sub>12</sub> serves as cofactor (in the form of methylcobalamine) for the recycling of homocysteine to methionine and the demethylation of 5-methyl-THF to THF (Savage and Lindenbaum, 1995). Methionine converts to S-adenosylmethionine (SAM), which plays an important role as a methyl donor required for the maintenance of genomic methylation patterns that determine gene expression and DNA conformation, and is required for the synthesis of myelin, neurotransmitters, and membrane phospholipids (Thomas and Fenech, 2008).

In metabolic interaction between folate and vitamin B<sub>12</sub>, methionine synthase contains tightly bound cob(I)alamin, and the reaction proceeds via methylation of the cofactor to the methylcob(III)alamin intermediate by 5-methylTHF. Then, 5-methylTHF transfers the methyl group from methylcob(III)alamin to homocysteine in a heterolytic cleavage to generate methionine and THF (Savage and Lindenbaum, 1995).

This reaction can be impaired by vitamin B<sub>12</sub> deficiency, known as methylfolate trap, leading to an accumulation of homocysteine and 5-methyl-THF in the cell. The accumulation of 5-methyl-THF occurs at the expense of THF, with the consequent impairment of the rate of reactions that require or depend on THF. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency can result in the impairment of thymidylate and purine synthesis. It can impair growth, as growth requires the synthesis of new nucleic acids. A decline in growth whether induced by a deficiency in folate or in vitamin B<sub>12</sub>, can

most easily be detected by examining the bone marrow (Basu and Dickerson, 1996; Brody, 1999; Sauberlich, 1999).

## **2.7 Folate and Vitamin B<sub>12</sub> in Thalassemia Patients**

Folate and vitamin B<sub>12</sub> is co-enzyme for many important biochemical reactions, especially in erythropoiesis. Ineffective erythropoiesis in thalassemia patients causes hypochromic microcytic anemia. Therefore, the body is compensated by increasing RBC formation, which can increase folate and vitamin B<sub>12</sub> requirement. The overproduction of hematopoiesis in thalassemia patients maybe cause of risk at folate and vitamin B<sub>12</sub> deficiencies. Folate and vitamin B<sub>12</sub> deficiencies are common in thalassemia patients. These problems occur due to poor absorption, low dietary intake, or increased demand from active bone marrow in the patients (Koury and Ponka, 2004).

There are many studies examined the levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> in thalassemia patients. Areekul et al. (1980) found that there was no evidence of vitamin B<sub>12</sub> deficiency in thalassemia patients. Hartman et al. (2002) revealed that thalassemia intermedia patients had normal serum folate and serum vitamin B<sub>12</sub>. However, the research in thalassemia major patients who were on regular blood transfusion without taking folic acid supplement found that 29% of the patients had severely low serum folate level (0.8 ng/ml), and 68% of the patients had folate deficiency. With folic acid supplementation (1 mg/day) for 4 weeks, the level of serum folate was increased notably (9 ng/ml) (Mojtahedzadeh et al., 2006). Claster et al. (2009) also found that the 37.5% of thalssemia patients still had folate deficiency despite of 1 mg/d intake of folic acid.

## CHAPTER III

### MATERIALS AND METHODS

#### 3.1 Research Design

This research was a cross-sectional descriptive study.

#### 3.2 Subjects

Subjects were male or female outpatients with thalassemia intermedia who did not require high transfusion at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital. All subjects received the explanation of experimental protocol, and the written informed consent was obtained before the beginning of the study. The study protocol was approved by the Ethics Committee for Researches Involving Human Subjects, Siriraj Institutional Review Board, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital (Appendix E).

The subjects who were diagnosed as thalassemia intermedia, aged between 5 - 15 years old, and had baseline Hb between 7 - 9 g/dl were recruited into this study. None of them received blood transfusion and iron chelation therapy within 3 months before enrollment. They had no history of infection either acute or chronic and surgical operation within 1 month before enrollment. In addition, the subjects did not take antibiotic medicine or stopped taking it less than 7 days before the study because the medicine could affect growth of *Lactobacillus casei*, the bacteria used in the analysis of folate in serum and RBC. The subjects who received medicines affecting growth and nutritional status such as growth hormones and glucocorticoid therapy were excluded from the study.

### **3.3 Experimental Design**

The study was conducted in the outpatients with thalassemia intermedia at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital during the period from March 2010 to September 2010. Subjects who met the selection criteria were invited to participate in the study. After the subjects and their parents received the explanation of experimental protocol, the written informed consent was obtained. Then, the subjects did the questionnaires (Appendix B) about demographic characteristics and a 24-hour dietary recall. Furthermore, the subjects were evaluated for nutritional status by subjective global assessment (SGA) and anthropometric assessment including body weight, height, triceps skinfold thickness (TSF), and mid-arm circumference (MAC). After that, the subjects received nutritional counseling and dietary guideline for thalassemia patients (Appendix C). Blood specimen was collected to examine complete blood count, reticulocyte count, albumin, total protein, serum and red blood cell (RBC) folate, and serum vitamin B<sub>12</sub>.

### **3.4 Nutritional Assessment**

#### **3.4.1 Subjective Global Assessment**

The subjective global assessment (SGA) scoring was done by the investigator using patient generated SGA (Appendix B). According to the SGA scores, patients were classified into 3 categories as followed :

- A = normal nutrition (score 1 - 14)
- B = mild-to-moderate malnutrition (score 15 – 35)
- C = severe malnutrition (score 36 – 49)

### 3.4.2 Anthropometric Assessments

In this study, body weight was measured to the nearest 0.1 kg while the subjects were wearing light clothing without shoes. Height was measured to the nearest 0.1 cm scale while the subjects were not wearing shoes and stood with their shoulders and heels touching the wall. Both body weight and height were measured by weight and height meter (402 KL Health meter<sup>®</sup> Professional, USA).

The data on weight and height of the subjects were used to calculate the percentage of weight for age (%W/A), the percentage of weight for height (%W/H), the percentage of height for age (%H/A), and body mass index (BMI). The standard of W/A, W/H, and H/A was based on the reference values for children aged 1 day - 19 years old of Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand. The percentiles of BMI for age were derived from the reference values of anthropometric reference data for children and adults, the United States. The percentages of W/A, W/H, H/A, and BMI were calculated using the following formulas :

$$\% \text{ W/A} = \frac{\text{Weight of subject} \times 100}{\text{Weight of a normal child at the same age}}$$

$$\% \text{ W/H} = \frac{\text{Weight of subject} \times 100}{\text{Weight of a normal child at the same height}}$$

$$\% \text{ H/A} = \frac{\text{Height of subject} \times 100}{\text{Height of a normal child at the same age}}$$

$$\text{BMI (kg/m}^2\text{)} = \frac{\text{Weight (kg)}}{[\text{Height (m)}]^2}$$

Triceps skinfold thickness was measured by a conventional skinfold caliper (Cambridge scientific industries<sup>®</sup>, Maryland, USA). Skinfold thickness measurements were performed three times in each patient and the values were then averaged for final calculation. Mid-arm circumference was measured by the measuring tape around the arm at the midpoint between the tips of the shoulder and elbow, and then the mid-arm muscle circumference (MAMC), arm muscle area (AMA), and arm fat area (AFA) were calculated from the equations :

$$\begin{aligned} \text{MAMC (cm)} &= \text{MAC (cm)} - (\pi \times \text{TSF (cm)}) \\ \text{AMA (cm}^2\text{)} &= \frac{[\text{MAC (cm)} - (\pi \times \text{TSF (cm)})]^2}{4\pi} \\ \text{AFA (cm}^2\text{)} &= \frac{\text{TSF (cm)} \times \text{MAC (cm)}}{2} - \frac{\pi \times (\text{TSF (cm)})^2}{4} \end{aligned}$$

The values of TSF and MAC were used to calculate %TSF and %MAC. The standard of TSF and MAC were derived from the reference values of anthropometric reference data for children and adults, United States. The percentage of triceps skinfold thickness and %MAC were calculated as followed :

$$\begin{aligned} \% \text{TSF} &= \frac{\text{Actual TSF (mm)}}{\text{Standard TSF (mm)}} \times 100 \\ \% \text{MAC} &= \frac{\text{Actual MAC (cm)}}{\text{Standard MAC (cm)}} \times 100 \end{aligned}$$

Nutritional status of the subjects was classified by the %W/A, %W/H, %H/A, %TSF, %MAC and the percentiles of BMI for age (Appendix A).



### 3.4.3 Dietary Assessment

Dietary intake of the subjects was assessed by 24-hour dietary recall. All items and portions of food consumed including name and method of preparation and cooking were recorded. The subjects estimated food portion size using standard household measuring cups and spoons. In addition, food pictures were used to help for estimation of food quantity (Appendix D). The food records were evaluated for energy and nutrient intake by the software THAI NUTRISURVEY version 2 (2008) developed for Thai food by Department of Health, Ministry of Public Health and Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand.

### 3.5 Blood Collection

Venous blood sample was drawn from each subject to determine biochemical parameters including complete blood count, reticulocyte count, serum albumin, total protein, and serum vitamin B<sub>12</sub> at laboratory unit, Department of Clinical Pathology, Siriraj Hospital. At Department of Tropical Medicine, Mahidol University, serum folate was prepared by centrifugation of blood samples at 5,000 rpm (Model HNS-II, Krosdak Enterprises, Inc., USA) for 15 minutes at room temperature. The diluted blood for determining RBC folate was done by drawing blood into the tube that contained 1% ascorbic acid, and then transferring to the tube that contained ascorbic acid in phosphate buffer pH 6.1. The supernatant serum and diluted blood was frozen at -20 °C until the day of analysis.

### 3.6 Determination of Serum and RBC Folate (Sipahi, et al., 2007)

Folate in serum and whole blood were determined by microbiological assay technique using *Lactobacillus casei* (ATCC 7469). Folic acid casei medium was used as an assay medium because it was specific for *L. casei* growth. Folate concentration

was determined by the turbidity of folic acid casei medium due to the growth of bacteria using spectrophotometer.

The process of folate analysis included making the standard curve of folate concentration, which was prepared by adding standard folic acid stock solution, deionized double distilled water and double strength media in standard tube (Appendix D). For determination of folate concentration in serum and whole blood, the *Lactobacillus casei* tube (L.C. tube) and sample tubes were prepared by adding deionized double distilled water and double strength media in tubes, and then autoclaved them at 120°C, 15 lbs/inch<sup>2</sup> for 15 minutes. After that, these tubes were cooled at room temperature. Serum and diluted blood were added in sample tubes. The one drop of *Lactobacillus casei* was added into L.C. tube and shaken well. One drop of solution from L.C. tube was added to each standard and sample tube. The solution was mixed well before incubating at 37°C for 40 to 48 hours.

After the incubation, the tubes were shaken well and measured the optical density at 655 nm by spectrophotometer. The absorbance of standard concentration assay tubes was averaged from two tubes. The folate concentrations in picograms per milliliter were plotted on the abscissa of an arithmetic graph. The sample concentration could be determined from this standard curve.

Serum folate was calculated as followed :

Serum folate conc. (ng/ml)

$$= \frac{\text{Folate conc. from standard curve} \times \text{Dilution factor} \times \text{Total volume}}{\text{Volume of sample used}}$$

$$= \frac{\text{Folate conc. from standard curve} \times 1 \times 6}{0.05} \quad (\text{pg/ml})$$

$$= \frac{\text{Folate conc. from standard curve} \times 1 \times 6}{0.05 \times 1,000} \quad (\text{ng/ml})$$

$$\text{Serum folate conc. (ng/ml)} = \text{Folate conc. from standard curve} \times 0.12$$

Red blood cell (RBC) folate was calculated using the following formula :

RBC folate conc. (ng/ml)

$$= \frac{[\text{whole blood folate conc.} - (1 - \text{Hct (L)}) \times \text{serum folate conc.}]}{\text{Hct}}$$

Whole blood folate conc. (ng/ml)

$$= \frac{\text{Folate conc. from standard curve} \times \text{Dilution factor} \times \text{Total volume}}{\text{Volume of sample used}}$$

$$= \frac{\text{Folate conc. from standard curve} \times 800 \times 6}{0.5} \quad (\text{pg/ml})$$

$$= \frac{\text{Folate conc. from standard curve} \times 800 \times 6}{0.5 \times 1,000} \quad (\text{ng/ml})$$

$$\text{Whole blood folate conc. (ng/ml)} = \text{Folate conc. from standard curve} \times 9.6$$

### 3.7 Data Analysis

Categorical data were expressed as number of subjects. Continuous data was expressed as mean  $\pm$  standard error of mean (SEM). The relations among anthropometric parameters for classifying nutritional status were evaluated by Cochran's Q test. Correlations between nutritional parameters and the levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> and other measured parameters were reported as the Pearson's correlation coefficient. The significant level was set at  $p < 0.05$ .

## CHAPTER IV

### RESULTS

#### 4.1 Subject Characteristics

During the period of March to September 2010, 30 patients who met the inclusion criteria were recruited into the study. The characteristics of the subjects are presented in Table 1. The subjects included 18 females (60%) and 12 males (40%) aged between 7 to 15 years ( $11.9 \pm 0.4$  years). The longest duration of thalassemia therapy after first diagnosis of the subjects was 12 years and the shortest duration was 3 years. Most of the subjects (73.3%) had duration of therapy between 6 - 10 years. Most of the subjects (90%) had  $\beta$ -thalassemia/Hb E, and the others had Hb AE Bart's disease (3.3%), Hb H disease (3.3%) and Hb Constant Spring (3.3%). Twenty subjects (66.7%) had no co-morbid disease. However, 8 subjects (26.7%) had adrenal insufficiency, 1 subject (3.3%) had allergic rhinitis, and the other one (3.3%) had asthma. It was found that the subjects were taking folic acid (100%), multivitamin (66.7%), vitamin E (63.3%), and curcumin (13.3%). Nineteen subjects (63.3%) received the nutrition counseling for thalassemia patients before participating in this study.

**Table 1** Characteristics of the subjects

| <b>Characteristics</b>   | <b>Number of subjects (%)</b> |
|--|-------------------------------|
| <b>Sex</b>   |                               |
| Female   | 18 (60.0)                     |
| Male   | 12 (40.0)                     |
| <b>Age (years)</b>   |                               |
| 5-10   | 8 (26.7)                      |
| 11-15  | 22 (73.3)                     |
| Mean $\pm$ SEM   | 11.9 $\pm$ 0.4                |
| <b>Duration of thalassemia therapy after first diagnosis (years)</b> |                               |
| 1-5  | 3 (10.0)                      |
| 6-10   | 22 (73.3)                     |
| 11-15  | 5 (16.7)                      |
| <b>Types of thalassemia intermedia</b>                               |                               |
| $\beta$ -thalassemia/ Hb E disease                                   | 27 (90.0)                     |
| Hb AE Bart's disease   | 1 (3.3)                       |
| Hb H disease   | 1 (3.3)                       |
| Hb H with Constant Spring disease                                    | 1 (3.3)                       |
| <b>Prevalence of co-morbid diseases</b>                              |                               |
| No   | 20 (66.7)                     |
| Adrenal insufficiency  | 8 (26.7)                      |
| Allergic rhinitis  | 1 (3.3)                       |
| Asthma   | 1 (3.3)                       |
| <b>Supplementation use</b>   |                               |
| Folic acid   | 30 (100)                      |
| Multivitamin   | 20 (66.7)                     |
| Vitamin E  | 19 (63.3)                     |
| Curcumin   | 4 (13.3)                      |
| <b>History of nutrition counseling</b>                               |                               |
| Yes  | 19 (63.3)                     |
| No   | 11 (36.7)                     |

SEM = standard error of mean

## **4.2 Nutritional Assessment**

Nutritional assessment in this study included anthropometry, laboratory measurements and dietary record. According to gender difference and reference values for children 1 day - 19 years of Department of Health, Ministry of Public Health, 1999, the data in the present study were shown separately for males and females.

### **4.2.1 Anthropometry**

The results of anthropometric measurements are shown in Table 2. The mean weight was  $30.1 \pm 1.8$  kg in males and  $36.5 \pm 2.8$  kg in females. The mean height was  $137.5 \pm 3.5$  cm in males and  $146.3 \pm 3.7$  cm in females. According to the present findings, the mean %W/A, %H/A, %TSF, and %MAC in males were lower than normal ranges, but the mean %W/H was in the normal range. In females, the mean %W/A, %TSF, %MAC were lower than normal ranges, but the mean %W/H and %H/A was in the normal range.

### **4.2.2 Laboratory Measurements**

The laboratory data of the subjects are presented in Table 3. According to the reference values of the laboratory unit at Siriraj hospital, the results showed that the mean values of Hb, Hct, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in both males and females were lower than the normal ranges, whereas platelet count, absolute neutrophils count (ANC) and reticulocyte count were higher than the normal ranges. The means of red blood cell (RBC) count, white blood cell (WBC) count, %neutrophils, %lymphocytes, %monocytes, %eosinophils, %basophils, serum total protein, and serum albumin were in the normal ranges for both genders.

**Table 2** Anthropometric measurement of the subjects<sup>a</sup>

| Parameters               | Normal range               | Males       | Females     |
|--------------------------|----------------------------|-------------|-------------|
|                          |                            | (n = 12)    | (n = 18)    |
| Weight (kg)              | -                          | 30.1 ± 1.8  | 36.5 ± 2.8  |
| Height (cm)              | -                          | 137.5 ± 3.5 | 146.3 ± 3.7 |
| % W/A                    | 90% - 110% <sup>b</sup>    | 82.3 ± 2.6  | 88.9 ± 4.6  |
| % W/H                    | More than 90% <sup>c</sup> | 95.6 ± 2.6  | 92.5 ± 3.2  |
| % H/A                    | More than 95% <sup>c</sup> | 94.2 ± 1.3  | 98.5 ± 1.2  |
| TSF (mm)                 | -                          | 9.5 ± 0.8   | 12.8 ± 1.1  |
| % TSF                    | More than 85% <sup>d</sup> | 80.8 ± 7.0  | 78.4 ± 5.8  |
| MAC (cm)                 | -                          | 18.9 ± 0.6  | 20.3 ± 0.8  |
| % MAC                    | More than 85% <sup>d</sup> | 79.6 ± 2.2  | 81.4 ± 2.2  |
| MAMC (cm)                | -                          | 15.9 ± 0.6  | 16.3 ± 0.5  |
| AMA (cm <sup>2</sup> )   | -                          | 20.4 ± 1.6  | 21.4 ± 1.3  |
| AFA (cm <sup>2</sup> )   | -                          | 8.3 ± 0.8   | 12.1 ± 1.3  |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -                          | 15.8 ± 0.4  | 16.5 ± 0.7  |

<sup>a</sup> Values are expressed as mean ± SEM.

<sup>b</sup> Normal ranges were obtained from Cogill, 2003.

<sup>c</sup> Normal ranges were obtained from Waterlow, 1972.

<sup>d</sup> Normal ranges were obtained from Ekvall et al, 2005.

%W/A = percentage of weight for age; %W/H = percentage of weight for height; %H/A = percentage of height for age; TSF = triceps skinfold thickness; %TSF = percentage of triceps skinfold thickness; MAC = mid-arm circumference; %MAC = percentage of mid-arm circumference; MAMC = mid-arm muscle circumference; AMA = arm muscle area; AFA = arm fat area; BMI = body mass index

**Table 3** Laboratory parameters of the subjects<sup>a</sup>

| <b>Parameters</b>                     | <b>Normal range<sup>b</sup></b>    | <b>Males<br/>(n = 12)</b> | <b>Females<br/>(n = 18)</b> |
|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Hb (g/dl)                             | Male > 14,<br>Female > 12          | 8.1 ± 0.2                 | 7.9 ± 0.1                   |
| Hct (%)                               | Male 42 - 52<br>Female 36 - 48     | 27.9 ± 0.6                | 27.1 ± 0.4                  |
| RBC count (x10 <sup>6</sup> /μl)      | Male 4.6 - 6.2<br>Female 3.9 - 5.6 | 4.8 ± 0.2                 | 4.1 ± 0.1                   |
| MCV (fl)                              | 80.0 - 99.0                        | 58.8 ± 1.8                | 67.4 ± 2.2                  |
| MCH (pg)                              | 27.0 - 31.0                        | 17.2 ± 0.5                | 19.5 ± 0.5                  |
| MCHC (g/dl)                           | 31.0 - 35.0                        | 29.2 ± 0.4                | 29.1 ± 0.5                  |
| WBC count (x10 <sup>3</sup> /μl)      | 4.0 - 11.0                         | 9.3 ± 0.9                 | 10.3 ± 0.5                  |
| Platelet count (x10 <sup>3</sup> /μl) | 150.0 - 440.0                      | 477.8 ± 59.0              | 593.4 ± 69.2                |
| ANC (x10 <sup>3</sup> /μl)            | 1.8 - 4.6                          | 4.7 ± 0.5                 | 5.3 ± 0.3                   |
| % Neutrophils                         | 40.0 - 74.0                        | 45.6 ± 1.6                | 48.5 ± 2.1                  |
| % Lymphocytes                         | 19.0 - 48.0                        | 41.8 ± 2.1                | 40.5 ± 1.7                  |
| % Monocytes                           | 3.4 - 9.0                          | 7.8 ± 0.6                 | 7.2 ± 0.8                   |
| % Eosinophils                         | 0 - 7.0                            | 3.5 ± 0.6                 | 2.7 ± 0.5                   |
| % Basophils                           | 0 - 1.5                            | 0.7 ± 0.1                 | 0.9 ± 0.1                   |
| Reticulocyte count (%)                | 0.5 - 2                            | 4.6 ± 0.8                 | 5.2 ± 0.6                   |
| Serum total protein (g/dl)            | 6.6 - 8.7                          | 7.5 ± 0.1                 | 8.1 ± 0.1                   |
| Serum albumin (g/dl)                  | 3.5 - 5.5                          | 4.8 ± 0.1                 | 4.7 ± 0.1                   |

<sup>a</sup> Values are expressed as mean±SEM.

<sup>b</sup> Normal ranges were obtained from laboratory manual, Siriraj hospital.

Hb = hemoglobin; Hct = hematocrit; RBC = red blood cell; MCV = mean corpuscular volume; MCH = mean corpuscular hemoglobin; MCHC = mean corpuscular hemoglobin concentration; WBC = white blood cell; ANC = absolute neutrophils count



### 4.2.3 Dietary Record

The dietary intakes of the subject were assessed by 24-hour recall. In this study, the results of average dietary nutrient intakes of the subjects are shown in Table 4. It was found that average total energy intakes in males and females were  $1,458.4 \pm 103.2$  kcal/day and  $1,307.3 \pm 136.6$  kcal/day respectively, which were lower than the dietary reference intake for Thais 2003 recommended by Bureau of Nutrition, Ministry of Public Health, Thailand. According to the results, the percentage of energy distribution obtained from carbohydrate in females ( $44.0 \pm 2.1$ ) was lower than the recommended range while that in males ( $47.3 \pm 2.3$ ) was in the range. The percentages of energy distribution from protein were  $18.2 \pm 0.7$  in males and  $16.5 \pm 1.4$  in females, which were higher than the recommended ranges. The percentage of energy distribution from fat in males ( $34.4 \pm 2.1$ ) was in the recommended range, whereas in females ( $39.5 \pm 2.2$ ) was higher than the recommendation. According to the results, protein intake in both males and females were higher than the recommendation.

**Table 4** Average dietary nutrient intakes of the subjects<sup>a</sup>

| <b>Dietary intake</b>          | <b>Recommended range<sup>b</sup></b> | <b>Males (n = 12)</b> | <b>Females (n = 18)</b> |
|--------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| <b>Energy intake</b>           |                                      |                       |                         |
| Total kcal/day                 | 1,600 - 1,700                        | 1,458.4 ± 103.2       | 1,307.3 ± 136.6         |
| kcal/kg/day                    | -                                    | 49.8 ± 4.3            | 46.9 ± 5.8              |
| <b>Energy distribution (%)</b> |                                      |                       |                         |
| Carbohydrate                   | 45 - 65                              | 47.3 ± 2.3            | 44.0 ± 2.1              |
| Protein                        | 9.4 - 12.2                           | 18.2 ± 0.7            | 16.5 ± 1.4              |
| Fat                            | 25 - 35                              | 34.4 ± 2.1            | 39.5 ± 2.2              |
| <b>Macronutrient intake</b>    |                                      |                       |                         |
| Carbohydrate                   |                                      |                       |                         |
| g/day                          | -                                    | 172.2 ± 14.0          | 161.2 ± 10.7            |
| g/kg/day                       | -                                    | 5.7 ± 0.4             | 5.0 ± 0.6               |
| Protein                        |                                      |                       |                         |
| g/day                          | 40 - 41                              | 66.3 ± 5.8            | 58.5 ± 3.6              |
| g/kg/day                       | 1.2                                  | 2.3 ± 0.2             | 1.8 ± 0.2               |
| Fat                            |                                      |                       |                         |
| g/day                          | -                                    | 56.0 ± 5.6            | 66.8 ± 5.9              |
| g/kg/day                       | -                                    | 2.0 ± 0.3             | 2.2 ± 0.3               |

<sup>a</sup> Values are expressed as mean ± SEM.

<sup>b</sup> Recommended ranges were obtained from dietary reference intake for Thais 2003, Bureau of Nutrition, Ministry of Public Health.  
SEM = standard error of mean

### **4.3 Identification of Nutritional Status**

Nutritional status of each subject was classified by subjective global assessment (SGA) and anthropometric assessments.

#### **4.3.1 Subjective Global Assessment (SGA)**

According to SGA scores, most of the subjects had scores ranging from 7 - 8. However, 2 persons had score of 14. Based on the SGA scores, the subjects appeared to have normal nutrition.

#### **4.3.2 Anthropometric Assessment**

The results of nutritional status classified by %W/A, %W/H, and %H/A are presented in Table 5. According to %W/A, 11 subjects (36.7%) were well nourished, 12 subjects (40.0%) were mildly malnourished, and 7 subjects (23.3%) were moderately malnourished. Based on %W/H, 50% of the subjects were well nourished, and mild malnutrition was found in 46.7% of the subjects. According to %H/A, 63.3% of the subjects were well nourished, 26.7% and 10.0% were classified as mild and moderate respectively. No subject was in severely malnourished state when evaluation was made by %W/A, %W/H, and %H/A.

In this study, nutritional status of subjects classified by %TSF and %MAC are presented in Table 6. According to %TSF, 40% of the subjects were in normal nutrition, but 46.7% of the subjects were classified as severe malnutrition. The remaining subjects were malnourished with different degrees. Based on %MAC, 30% of the subjects had normal nutrition whereas 26.7% of the subjects were in severely malnourished state. According to BMI for age, 50% of the subjects were underweight because the BMI was less than the 5<sup>th</sup> percentile. There were 14 subjects (46.7%) having normal BMI status. However, 1 male subject was overweight.

**Table 5** Nutritional status of the subjects classified by % W/A, % W/H, and % H/A

| Nutritional status           |          | % W/A      |             |             | % W/H      |             |             | % H/A      |             |            |
|------------------------------|----------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|
|                              |          | Males      | Females     | Total       | Males      | Females     | Total       | Males      | Females     | Total      |
| <b>Normal nutrition</b>      | mean±SEM | 93.2 ± 0.9 | 105.6 ± 5.9 | 102.2 ± 4.6 | 99.6 ± 3.0 | 104.7 ± 5.6 | 102.0 ± 3.0 | 98.3 ± 1.2 | 100.5 ± 1.0 | 99.9 ± 0.8 |
|                              | (n, %)   | (3, 25.0)  | (8, 44.4)   | (11, 36.7)  | (8, 66.7)  | (7, 38.9)   | (15, 50.0)  | (5, 41.7)  | (14, 77.8)  | (19, 63.3) |
| <b>Mild malnutrition</b>     | mean±SEM | 83.2 ± 1.0 | 79.4 ± 1.4  | 81.3 ± 0.9  | 87.4 ± 1.1 | 85.2 ± 1.0  | 85.8 ± 0.8  | 92.6 ± 0.8 | 91.9 ± 0.7  | 92.4 ± 0.5 |
|                              | (n, %)   | (6, 50.0)  | (6, 33.3)   | (12, 40.0)  | (4, 33.3)  | (10, 55.6)  | (14, 46.7)  | (5, 41.7)  | (3, 16.7)   | (8, 26.7)  |
| <b>Moderate malnutrition</b> | mean±SEM | 69.7 ± 2.9 | 69.6 ± 2.2  | 69.7 ± 1.6  | -          | 79.8 ± 0.0  | 79.8 ± 0.0) | 88.2 ± 1.8 | 89.5 ± 0    | 88.6 ± 1.1 |
|                              | (n, %)   | (3, 25.0)  | (4, 22.2)   | (7, 23.3)   |            | (1, 5.6)    | (1, 3.3)    | (2, 16.7)  | (1, 5.6)    | (3, 10.0)  |
| <b>Severe malnutrition</b>   | mean±SEM | -          | -           | -           | -          | -           | -           | -          | -           | -          |
|                              | (n, %)   |            |             |             |            |             |             |            |             |            |

SEM = standard error of mean; % W/A = percentage of weight for age; % W/H = percentage of weight for height; % H/A = percentage of height for age

**Table 6** Nutritional status of the subjects classified by %TSF and %MAC

| Nutritional status           |          | % TSF       |            |             | % MAC      |            |            |
|------------------------------|----------|-------------|------------|-------------|------------|------------|------------|
|                              |          | Males       | Females    | Total       | Males      | Females    | Total      |
| <b>Normal nutrition</b>      | mean±SEM | 108.4 ± 8.0 | 98.6 ± 5.2 | 101.9 ± 4.4 | 88.1 ± 0.3 | 93.0 ± 4.0 | 90.8 ± 2.3 |
|                              | (n, %)   | (4, 33.3)   | (8, 44.4)  | (12, 40.0)  | (4, 33.3)  | (5, 27.8)  | (9, 30.0)  |
| <b>Mild malnutrition</b>     | mean±SEM | 81.3 ± 0.0  | -          | 81.3 ± 0.0  | 82.3 ± 0.3 | 84.0 ± 0.3 | 83.3 ± 0.4 |
|                              | (n, %)   | (1, 8.3)    |            | (1, 3.3)    | (2, 16.7)  | (3, 16.7)  | (5, 16.7)  |
| <b>Moderate malnutrition</b> | mean±SEM | 78.9 ± 0.0  | 77.4 ± 0.9 | 77.9 ± 0.7  | 77.7 ± 0.0 | 76.8 ± 0.4 | 76.9 ± 0.4 |
|                              | (n, %)   | (1, 5.6)    | (2, 11.1)  | (3, 10.0)   | (1, 8.3)   | (7, 38.9)  | (8, 26.7)  |
| <b>Severe malnutrition</b>   | mean±SEM | -           | 58.3 ± 6.5 | 60.2 ± 4.1  | 72.1 ± 1.1 | 70.5 ± 1.2 | 71.5 ± 0.8 |
|                              | (n, %)   |             | (8, 44.4)  | (14, 46.7)  | (5, 41.7)  | (3, 16.7)  | (8, 26.7)  |

SEM = standard error of mean; %TSF = percentage of triceps skinfold thickness; % MAC = percentage of mid-arm circumference

**Table 7** Comparison of anthropometric parameters for classifying nutritional status

| Parameters | Nutritional status |              |
|------------|--------------------|--------------|
|            | Normal nutrition   | Malnutrition |
|            | n, %               | n, %         |
| %W/A       | 11 (36.7)          | 19 (63.3)    |
| %W/H       | 15 (50.0)          | 15 (50.0)    |
| %H/A       | 19 (63.3)          | 11 (36.7)    |
| %TSF       | 12 (40.0)          | 18 (60.0)    |
| %MAC       | 9 (30.0)           | 21 (70.0)    |

Cochran's Q test was used for comparison of different anthropometric parameters for classifying nutritional status.

$p$ -value of Cochran's Q = 0.024

#### 4.4 Comparison of Anthropometric Parameters for Classifying Nutritional Status

The results of comparison of anthropometric parameters for classifying nutritional status are presented in Table 7. Comparison of various anthropometric parameters that were used in classifying the nutritional status by Cochran's Q test found that  $p$ -value was 0.024. However, after adjusting by Bonferroni method, there was no significant difference in these anthropometric parameters for evaluation of nutritional status. Nevertheless, the results did not indicate which anthropometric methods provided the best information for evaluating nutritional status in these patients.

**Table 8** The levels of serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> of the subjects<sup>a</sup>

| <b>Parameters</b>                     | <b>Normal<br/>range</b> | <b>Males<br/>(n = 12)</b> | <b>Females<br/>(n = 18)</b> | <b>Total<br/>(n = 30)</b> |
|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Serum folate (ng/ml)                  | > 6                     | 41.2 ± 4.2                | 35.7 ± 3.5                  | 37.9 ± 2.7                |
| RBC folate (ng/ml)                    | > 160                   | 262.3 ± 32.7              | 326.0 ± 32.6                | 297.6 ± 23.6              |
| Serum vitamin B <sub>12</sub> (pg/ml) | 191 – 663               | 680.6 ± 50.1              | 679.2 ± 38.0                | 679.7 ± 29.8              |

<sup>a</sup> Values are expressed as mean±SEM.

RBC = red blood cell

#### **4.5 Serum and RBC Folate and Serum Vitamin B<sub>12</sub> of the Subjects**

The levels of serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> of the subjects are shown in Table 8. It was found that the mean of serum folate in the subjects was 37.9 ± 2.7 ng/ml. It appeared that 96.7% of the subjects had normal serum folate levels and only 1 subject had serum folate deficiency. The lowest and highest levels of folate in serum were 2.4 and 65.1 ng/ml respectively. The mean RBC folate in the subjects was 297.6 ± 23.6 ng/ml. This study found that 24 subjects (80.0%) had normal RBC folate level, and 3 subjects (10.0%) had RBC folate deficiency. Three subjects (10.0%) had marginal RBC folate level. The lowest and highest levels of folate in RBC were 105.6 and 1,856.3 ng/ml respectively. According to serum vitamin B<sub>12</sub>, the mean of serum vitamin B<sub>12</sub> in the subjects was 679.7 ± 29.8 pg/ml. The results showed that 53.3% of the subjects had normal vitamin B<sub>12</sub> levels, and 46.7% of the subjects had high vitamin B<sub>12</sub> levels. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency was not found in any subjects. The lowest and highest levels of serum vitamin B<sub>12</sub> were 445.0 and 1,029.0 pg/ml respectively.

## 4.6 Correlations of Parameters Measured in the Study

In the present study, correlation between nutritional parameters and the levels of folate, vitamin B<sub>12</sub>, hematological parameters in the subjects were evaluated.

### 4.6.1 Correlation between Anthropometric Parameters

The correlations between anthropometric parameters are presented in Table 9. It was found that anthropometric parameters measured in this study were significantly correlated with each other. The correlations between %W/A, %W/H, %H/A, %TSF and %MAC, which were used for classifying nutritional status and other anthropometric parameters are presented in Table 10. The results showed that %W/A was significantly correlated with weight ( $R = 0.755, p < 0.001$ ), height ( $R = 0.492, p = 0.006$ ), and TSF ( $R = 0.703, p < 0.001$ ). Moreover, %W/A was significantly correlated with MAC ( $R = 0.794, p < 0.001$ ), MAMC ( $R = 0.639, p < 0.001$ ), AMA ( $R = 0.657, p < 0.001$ ), AFA ( $R = 0.802, p < 0.001$ ), and BMI ( $R = 0.824, p < 0.001$ ).

This study found that %W/H was correlated with TSF ( $R = 0.500, p = 0.005$ ), MAC ( $R = 0.555, p = 0.001$ ), and MAMC ( $R = 0.461, p = 0.010$ ). The percentage of W/H was also positively correlated with AMA ( $R = 0.483, p = 0.007$ ), AFA ( $R = 0.580, p = 0.001$ ), and BMI ( $R = 0.803, p < 0.010$ ). The correlations of %H/A and weight ( $R = 0.648, p < 0.001$ ), height ( $R = 0.708, p < 0.001$ ), and TSF ( $R = 0.471, p = 0.019$ ) were observed. The percentage of H/A was also correlated with MAC ( $R = 0.481, p = 0.007$ ), MAMC ( $R = 0.376, p = 0.041$ ), AMA ( $R = 0.373, p = 0.042$ ), and AFA ( $R = 0.501, p = 0.005$ ).



**Table 9** Correlations between anthropometric parameters<sup>a</sup>

| <b>Parameters</b> | <b>Weight</b> | <b>Height</b> | <b>TSF</b> | <b>MAC</b> | <b>MAMC</b> | <b>AMA</b> | <b>AFA</b> | <b>BMI</b> |
|-------------------|---------------|---------------|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|
| Weight            | 1.000         |               |            |            |             |            |            |            |
| Height            | 0.902*        | 1.000         |            |            |             |            |            |            |
| TSF               | 0.751*        | 0.551*        | 1.000      |            |             |            |            |            |
| MAC               | 0.939*        | 0.752*        | 0.771*     | 1.000      |             |            |            |            |
| MAMC              | 0.841*        | 0.706*        | 0.445*     | 0.914*     | 1.000       |            |            |            |
| AMA               | 0.830*        | 0.681*        | 0.450*     | 0.914*     | 0.997*      | 1.000      |            |            |
| AFA               | 0.852*        | 0.620*        | 0.968*     | 0.890*     | 0.634*      | 0.640*     | 1.000      |            |
| BMI               | 0.827*        | 0.519*        | 0.769*     | 0.917*     | 0.799*      | 0.805*     | 0.881*     | 1.000      |

\* Significant correlation within nutritional parameter (Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$ )

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson correlation coefficient (R).

TSF = tricep skinfold thickness; MAC = mid-arm circumference; MAMC = mid-arm muscle circumference; AMA = arm muscle area; AFA = arm fat area; BMI = body mass index

**Table 10** Correlations between anthropometric parameters for classifying nutritional status and other anthropometric parameters<sup>a</sup>

| Parameters | %W/A   | %W/H   | %H/A   | %TSF   | %MAC   |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Weight     | 0.755* | 0.343  | 0.648* | 0.439* | 0.624* |
| Height     | 0.492* | -0.065 | 0.708* | 0.199  | 0.293  |
| TSF        | 0.703* | 0.500* | 0.471* | 0.812* | 0.684* |
| MAC        | 0.774* | 0.555* | 0.481* | 0.533* | 0.771* |
| MAMC       | 0.639* | 0.461* | 0.376* | 0.231  | 0.647* |
| AMA        | 0.657* | 0.483* | 0.373* | 0.254  | 0.673* |
| AFA        | 0.802* | 0.580* | 0.501* | 0.745* | 0.778* |
| BMI        | 0.824* | 0.803* | 0.294  | 0.611* | 0.835* |

\* Significant correlation within nutritional parameter (Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$ )

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson correlation coefficient (R).  
 %W/A = percentage of weight for age; %W/H = percentage of weight for height; %H/A = percentage of height for age; %TSF = percentage of tricep skinfold thickness; %MAC = percentage of mid-arm circumference; TSF = tricep skinfold thickness; MAC = mid-arm circumference; MAMC = mid-arm muscle circumference; AMA = arm muscle area; AFA = arm fat area; BMI = body mass index

It was found that %TSF was significantly correlated with weight ( $R = 0.439$ ,  $p = 0.015$ ), TSF ( $R = 0.812$ ,  $p < 0.001$ ), and MAC ( $R = 0.533$ ,  $p = 0.002$ ). Furthermore, it was also associated with AFA ( $R = 0.745$ ,  $p < 0.001$ ) and BMI ( $R = 0.611$ ,  $p < 0.001$ ). According to %MAC, it was correlated with weight ( $R = 0.642$ ,  $p = 0.001$ ), TSF ( $R = 0.771$ ,  $p < 0.001$ ), and MAC ( $R = 0.771$ ,  $p < 0.001$ ). In addition, %MAC was positively correlated with MAMC ( $R = 0.647$ ,  $p < 0.001$ ), AMA ( $R = 0.673$ ,  $p < 0.001$ ), AFA ( $R = 0.778$ ,  $p < 0.001$ ), and BMI ( $R = 0.835$ ,  $p < 0.001$ ).

#### **4.6.2 Correlations between Anthropometry, Laboratory Parameters, and Dietary Nutrients Intake**

The correlations of anthropometry, laboratory parameters and dietary nutrients intake are presented in Table 11. It was found that AMA was negatively correlated with fat intake ( $R = -0.380$ ,  $p = 0.039$ ). The correlations between anthropometric parameters used for classifying nutritional status (%W/A, %W/H, %H/A, %TSF and %MAC), laboratory parameters, and dietary nutrients intake are presented in Table 12. There was no significant correlation between these parameters.

**Table 11** Correlations between anthropometry, laboratory parameters, and dietary nutrients intake <sup>a</sup>

| <b>Parameters</b>   | <b>Weight</b> | <b>Height</b> | <b>TSF</b> | <b>MAC</b> | <b>MAMC</b> | <b>AMA</b> | <b>AFA</b> | <b>BMI</b> |
|---------------------|---------------|---------------|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|
| Serum total protein | 0.302         | 0.331         | 0.229      | 0.257      | 0.214       | 0.201      | 0.234      | 0.176      |
| Serum albumin       | 0.152         | 0.267         | 0.103      | 0.106      | 0.084       | 0.077      | 0.065      | -0.04      |
| Total energy intake | -0.146        | 0.001         | -0.166     | -0.200     | -0.176      | -0.195     | -0.201     | -0.300     |
| Carbohydrate intake | 0.055         | 0.105         | -0.061     | 0.084      | 0.157       | 0.151      | -0.023     | -0.001     |
| Protein intake      | -0.191        | -0.006        | -0.231     | -0.220     | -0.163      | -0.180     | -0.268     | -0.345     |
| Fat intake          | -0.212        | -0.079        | -0.130     | -0.314     | -0.358      | -0.380*    | -0.206     | -0.360     |

\* Significant correlation within nutritional parameter (Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$ )

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson correlation coefficient (R).

TSF = tricep skinfold thickness; MAC = mid-arm circumference; MAMC = mid-arm muscle circumference; AMA = arm muscle area; AFA = arm fat area; BMI = body mass index

**Table 12** Correlations between anthropometric parameters for classifying nutritional status, laboratory parameters, and dietary nutrients intake <sup>a</sup>

| Parameters          | %W/A   | %W/H   | %H/A   | %TSF   | %MAC   |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Serum total protein | 0.013  | -0.033 | 0.194  | -0.047 | 0.037  |
| Serum albumin       | -0.081 | -0.202 | 0.107  | 0.084  | -0.089 |
| Total energy intake | -0.223 | -0.312 | -0.042 | -0.218 | -0.341 |
| Carbohydrate intake | -0.022 | 0.007  | -0.097 | -0.039 | -0.087 |
| Protein intake      | -0.318 | -0.364 | -0.036 | -0.190 | -0.331 |
| Fat intake          | -0.233 | -0.388 | 0.030  | -0.256 | -0.342 |

\* Significant correlation within nutritional parameter (Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$ )

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson correlation coefficient (R).

%W/A = percentage of weight for age; %W/H = percentage of weight for height;  
 %H/A = percentage of height for age; %TSF = percentage of tricep skinfold thickness;  
 %MAC = percentage of mid-arm circumference

#### 4.6.3 Correlation between Nutritional and Hematological Parameters

It was found that several nutritional parameters were correlated with hematological parameters, and the results are presented in Table 13. The negative correlation between Hct and fat intake ( $R = -0.466$ ,  $p = 0.009$ ) was observed. Hemoglobin was positively correlated with MAMC ( $R = 0.376$ ,  $p = 0.040$ ) and AMA ( $R = 0.366$ ,  $p = 0.047$ ). Based on the results, RBC count was negatively correlated with serum total protein ( $R = -0.409$ ,  $p = 0.025$ ), but positively correlated with carbohydrate intake ( $R = 0.367$ ,  $p = 0.046$ ). Platelet count had significant correlation with serum total protein ( $R = 0.485$ ,  $p = 0.007$ ).

**Table 13** Correlations between nutritional and hematological parameters<sup>a</sup>

| Variable            | Hct     | Hb     | RBC count | WBC count | Platelet count | Reticulocyte count |
|---------------------|---------|--------|-----------|-----------|----------------|--------------------|
| Weight              | 0.073   | 0.277  | -0.084    | -0.124    | -0.002         | -0.039             |
| Height              | 0.095   | 0.282  | -0.123    | -0.279    | 0.067          | -0.063             |
| % W/A               | -0.012  | 0.107  | 0.032     | 0.018     | -0.079         | -0.023             |
| % W/H               | -0.014  | 0.113  | 0.136     | 0.053     | -0.136         | 0.014              |
| % H/A               | 0.035   | 0.048  | -0.131    | -0.081    | 0.077          | 0.045              |
| TSF                 | -0.128  | 0.062  | -0.130    | -0.033    | -0.135         | -0.007             |
| %TSF                | -0.073  | 0.030  | 0.108     | 0.072     | -0.265         | -0.074             |
| MAC                 | 0.091   | 0.296  | -0.021    | -0.110    | -0.081         | -0.122             |
| %MAC                | 0.049   | 0.106  | 0.066     | 0.145     | -0.195         | -0.091             |
| MAMC                | 0.209   | 0.376* | 0.053     | -0.132    | -0.027         | -0.167             |
| AMA                 | 0.205   | 0.366* | 0.063     | -0.131    | -0.036         | -0.174             |
| AFA                 | -0.057  | 0.146  | -0.086    | -0.029    | -0.121         | -0.041             |
| BMI                 | 0.029   | 0.214  | -0.010    | -0.014    | -0.081         | -0.014             |
| Serum total protein | -0.014  | -0.224 | -0.409*   | 0.187     | 0.485*         | 0.340              |
| Serum albumin       | -0.202  | -0.034 | -0.023    | -0.121    | -0.194         | -0.361             |
| Energy intake       | -0.282  | -0.069 | 0.020     | 0.038     | -0.019         | -0.023             |
| Carbohydrate intake | 0.010   | 0.277  | 0.367*    | -0.115    | -0.112         | -0.257             |
| Protein intake      | 0.014   | 0.041  | -0.014    | -0.080    | -0.061         | 0.095              |
| Fat intake          | -0.466* | -0.360 | -0.290    | 0.196     | 0.085          | 0.146              |

\* Significant correlation within nutritional parameter (Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$ )

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson's correlation coefficient (R).

Hb = hemoglobin; Hct = Hematocrit; RBC count = red blood cell count; WBC count = white blood cell count; %W/A = percentage of weight for age; %W/H = percentage of weight for height; %H/A = percentage of height for age; TSF = tricep skinfold thickness; %TSF = percentage of tricep skinfold thickness; MAC = mid-arm circumference; %MAC = percentage of mid-arm circumference; MAMC = mid-arm muscle circumference; AMA = arm muscle area; AFA = arm fat area; BMI = body mass index

**Table 14** Correlations between serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub><sup>a</sup>

| Parameters                    | Serum folate | RBC folate | Serum vitamin B <sub>12</sub> |
|-------------------------------|--------------|------------|-------------------------------|
| Serum folate                  | 1.000        | -0.013     | 0.344                         |
| RBC folate                    | -0.013       | 1.000      | -0.006                        |
| Serum vitamin B <sub>12</sub> | 0.344        | -0.006     | 1.000                         |

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson's correlation coefficient (R).

RBC = red blood cell

#### 4.6.4 Correlation between Serum and RBC Folate and Serum Vitamin B<sub>12</sub>

The correlation between of serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> were presented in Table 14. There was no significant correlation between these parameters.

#### 4.6.5 Correlation between Serum and RBC Folate and Serum Vitamin B<sub>12</sub> and Nutritional Parameters

In this study, the correlations between serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> and nutritional parameters are shown in Table 15. In brief, serum folate of the subjects was negatively correlated with weight ( $R = -0.480$ ,  $p = 0.007$ ), height ( $R = -0.425$ ,  $p = 0.019$ ), and MAC ( $R = -0.390$ ,  $p < 0.033$ ). Moreover, serum folate was negatively correlated with MAMC ( $R = -0.373$ ,  $p = 0.042$ ), AMA ( $R = -0.375$ ,  $p = 0.041$ ) and BMI ( $R = -0.381$ ,  $p = 0.038$ ). According to the results, serum vitamin B<sub>12</sub> was negatively correlated with height ( $R = -0.400$ ,  $p = 0.029$ ). There was no significant correlation between RBC folate and any nutritional parameters observed in this study.

**Table 15** Correlations between serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> and nutritional parameters<sup>a</sup>

| Parameters          | Serum folate | RBC folate | Serum vitamin B <sub>12</sub> |
|---------------------|--------------|------------|-------------------------------|
| Weight              | -0.480*      | -0.042     | -0.223                        |
| Height              | -0.425*      | 0.009      | -0.400*                       |
| % W/A               | -0.331       | -0.106     | 0.103                         |
| % W/H               | -0.158       | -0.109     | 0.286                         |
| % H/A               | -0.252       | -0.024     | -0.106                        |
| TSF                 | -0.274       | -0.033     | 0.097                         |
| %TSF                | -0.079       | -0.201     | 0.276                         |
| MAC                 | -0.390*      | 0.035      | -0.096                        |
| %MAC                | -0.146       | -0.054     | 0.307                         |
| MAMC                | -0.373*      | 0.065      | -0.198                        |
| AMA                 | -0.376*      | 0.075      | -0.179                        |
| AFA                 | -0.343       | -0.029     | 0.036                         |
| BMI                 | -0.381*      | -0.095     | 0.030                         |
| Serum total protein | -0.028       | -0.230     | -0.006                        |
| Serum albumin       | -0.013       | 0.280      | 0.029                         |
| Energy intake       | 0.181        | -0.084     | 0.008                         |
| Carbohydrate intake | 0.108        | 0.047      | 0.042                         |
| Protein intake      | 0.267        | -0.160     | -0.087                        |
| Fat intake          | 0.097        | -0.104     | 0.003                         |

\* Significant correlation within nutritional parameter (Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$ )

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson's correlation coefficient (R). RBC = red blood cell; %W/A = percentage of weight for age; %W/H = percentage of weight for height; %H/A = percentage of height for age; TSF = tricep skinfold thickness; %TSF = percentage of tricep skinfold thickness; MAC = mid-arm circumference; %MAC = percentage of mid-arm circumference; MAMC = mid-arm muscle circumference; AMA = arm muscle area; AFA = arm fat area; BMI = body mass index



**Table 16** Correlations between serum and RBC folate, serum vitamin B<sub>12</sub> and hematological parameters <sup>a</sup>

| <b>Parameters</b>  | <b>Serum<br/>folate</b> | <b>RBC<br/>folate</b> | <b>Serum<br/>vitamin B<sub>12</sub></b> |
|--------------------|-------------------------|-----------------------|---|
| Hct                | -0.100                  | -0.098                | -0.205                                  |
| Hb                 | -0.016                  | -0.059                | -0.157                                  |
| RBC count          | 0.053                   | -0.008                | -0.082                                  |
| WBC count          | -0.333                  | -0.074                | -0.248                                  |
| Platelet count     | -0.136                  | 0.069                 | 0.147                                   |
| Reticulocyte count | -0.100                  | -0.098                | -0.205                                  |

<sup>a</sup> Correlations are expressed as Pearson's correlation coefficient (R).  
RBC = red blood cell; Hb = Hemoglobin; Hct = hematocrit; RBC count = red blood cell count; WBC count = white blood cell count.

#### **4.6.6 Correlation between Serum and RBC Folate, Serum Vitamin B<sub>12</sub> and Hematological Parameters**

The correlations between serum and RBC folate, serum vitamin B<sub>12</sub> and hematological parameters are shown in Table 16. There were no significant correlations of serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> and hematological parameters.

# CHAPTER V

## DISCUSSION

The present study was to examine the nutritional status, the levels of folate in serum and RBC and serum vitamin B<sub>12</sub> in patient with thalassemia intermedia who were not required high transfusion at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital. The association between the levels of both vitamins and other measured parameters were also investigated.

### 5.1 Subject Characteristics and Nutritional Status

There were 30 subjects (12 males and 18 females) aged between 7 - 15 years participating in the study. According to the child development period, the average age of the subjects was in the range of middle childhood and middle adolescence (Centers for Disease Control and Prevention, 2009). In the present study, most of the subjects had  $\beta$ -thalassemia/Hb E, which is the most common  $\beta$ -thalassemia in Thailand and other countries in South-East Asia region (Viprakasit et al., 2001).

The children with thalassemia intermedia in this study appeared to have normal nutrition when evaluated by SGA. SGA is a useful tool for assessment of nutritional status in children with chronic and systemic conditions (Secker and Jeejeebhoy, 2007; Mahdavi, Safaiyan, and Ostadrhimi, 2009). Using the SGA method, the prevalence of malnutrition in hospitalized pediatric patients was about 35.9% in the study of Rojratsirikul, Sangkhathat, and Patrapinyokul (2004) and 70.7% in the study of Mahdavi et al. (2009). Undetectable malnutrition among subjects evaluated by SGA in the present study may be due to the limitation of the method. The SGA is unable to categorize mild malnutrition (Sungurtekin et al., 2004).

The subjects in this study were thalassemia intermedia who did not required blood transfusion. All of them were taking folic acid for increased erythropoiesis (Borgna-Pignatti, 2007), and most of them experienced nutritional counseling. Therefore, the degree of malnutrition in these patients may not be high. In addition, Mahdavi et al. (2009) found that SGA did not correlate with the objective nutritional assessment. Thus, this method should be used together with anthropometric assessment.

Anthropometric parameters have been used to assess nutritional status in children with thalassemia. The measurements included %W/A (Tienboon et al., 1996; Saxena, 2003; Asadi-pooya, Karimi, and Immanieh, 2004), %W/H (Tienboon et al., 1996), %H/A (Tienboon et al., 1996; Viprakasit et al., 2001; Karamifar et al., 2002; Saxena, 2003; Asadi-pooya et al., 2004), %TSF (Tanphaichitr et al., 1995), %MAC (Tanphaichitr et al., 1995; Arijanty et al., 2006), and BMI for age (Viprakasit et al., 2001; Saxena, 2003; Asadi-pooya and Karamifar, 2004; Fung et al., 2010). However, there were no studies indicating which parameters provided the best information for evaluating nutritional status in these patients. Hence, it is probably necessary to use combination of various parameters to determine nutritional status in thalassemia patients.

The thalassemia intermedia patients in this study had malnutrition when the nutritional status was evaluated by %W/A, %W/H, %H/A, %TSF, %MAC and the percentiles of BMI for age. The nutritional status classified by %W/A showed that 63.3% of subjects were underweight, arising from gaining insufficient weight relative to age. The percentage of W/A is often used to categorize overweight or underweight and used to assess the current nutritional status (Zemel et al., 1997). With this measurement, Tanphaichitr et al. (1995) found that 74.5% of thalassemia children were underweight. Tienboon et al. (1996) also found that 64% and 78% of male and

female thalassemia children respectively were moderately to severely underweight when evaluated by %W/A. In the case of unknown age, present nutritional status can be assessed by W/H (Waterlow, 1972). The results of this study showed that 50% of the subjects evaluated by %W/H were malnourished. They were thin or wasted. This agreed with previous study that thalassemia patients had an evidence of acute wasting when nutritional status was assessed by %W/H (Tanphaichitr et al., 1995). Evaluation of nutritional status by both %W/A and %W/H in this study showed similar results that most of the children with thalassemia intermedia were currently underweight.

The past nutrition or chronic malnutrition is able to evaluate by %H/A. When a child is exposed to inadequate nutrition for a long period of time, growth is impaired resulting in stunting. It was found that 36.7% of children with thalassemia intermedia from this study had delayed linear growth. This result was consistent with the previous study that 72.3% of thalassemia children were stunted (Tanphaichitr et al., 1995) and 69.8% of patients with thalassemia major had short stature (Najafipour et al., 2008). The etiology of impaired growth in thalassemia patients might be attributed to the chronic undernutrition. Long-term poor dietary intake may be one of the causes of short stature of patients in this study.

From this study, the nutritional status classified by %TSF, %MAC and the percentile of BMI for age showed that 60%, 70% and 50% of the subjects respectively were malnourished. The results were similar to the previous study of Tanphaichitr et al. (1995) that 53.7% and 75.6% of thalassemia children evaluated by %TSF and %MAC respectively had malnutrition. Moreover, the previous studies on BMI found that underweight is a common finding in children with thalassemia (Asadi-pooya and Karamifar 2004; Fung et al., 2010). The percentage of TSF is a parameter for

assessing the total body fat reserves, and %MAC is used to evaluate the status of muscle wasting (Zemel et al., 1997; Gibson, 2005). Body mass index is an indicator for the chronic protein and energy status of the individual, and it also correlates better with body fat than body weight (Gibson, 2005). The results of %TSF, %MAC and the percentiles of BMI for age indicated that the subjects in this study had low body fat and muscle compared with standard. These findings may be due to the combination of low energy reserves and mildly hypercatabolic state in thalassemia patients (Vaisman et al., 1995) that makes body muscle degradation leading to wasting condition. Overall, the results of anthropometry measurements demonstrated that children with thalassemia intermedia were both wasting and stunting.

Biochemical parameters provide information about nutrient availability in biological fluid and tissue (Lee and Nieman, 2003). In this study, serum total protein and albumin were measured to evaluate nutritional status of the subjects. It was found that the levels of both parameters were in the normal ranges. The results were similar to those in children with thalassemia major (Fuches et al., 1996). Total protein is an index of visceral protein status (Sauberlich, 1999) while serum albumin concentrations reflect changes occurring within the intravascular space. Both parameters are influenced by dietary protein (Gibson, 2005). It is possible that serum total protein and albumin levels were in normal ranges because the amount of protein intake of the patients in this study was higher than the recommendation (Ministry of Public Health, Department of Health, 2003).

Dietary intake plays a role in optimal nutrition status. It was reported that thalassemia patients required higher amount of nutrients to support the normal body function (Tienboon et al., 1996; Soliman et al., 2004; Al-Saqladi et al., 2008; Fung, 2010). However, Tanphaichitr et al. (1995) found that thalassemia children had

low energy intake (65% of the mean recommended energy intake). Similarly, the subjects in this study also had total energy intake lower than the DRI recommended by Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand (Ministry of Public Health, Department of Health, 2003). The energy distribution from carbohydrate of the female subjects was lower than the recommended range while energy from carbohydrate of male subjects was at the minimum end of recommendation. With considering on energy intake, low total energy intake, especially in females, in this study may be the results from low amount of food intake and low caloric distribution from carbohydrate, which is the major energy providing nutrient. It appeared that the percentage of energy distribution from protein of the subjects in this study was higher than the recommended range. The results were similar to those of Zemel et al. (2007) who studied in children with sickle cell disease and found that these children consumed protein more than recommended range. Although the study showed that the protein intake was high, thalassemia patients still had problem with malnutrition. Therefore, nutritional counseling should be included in the treatment process of these patients in order to meet the dietary recommendation and improve nutritional status.

## **5.2 Serum and RBC Folate and Serum Vitamin B<sub>12</sub> of the Subjects**

It was found that most of the patients with thalassemia intermedia in this study had serum and RBC folate in the normal ranges, and only one subject had folate deficiency. The levels of serum vitamin B<sub>12</sub> in these patients were slightly higher than normal range. Castaldi et al. (1983) found that patients with thalassemia minor had a significant decrease in both plasma and RBC folate levels, compared with normal subjects. However, in thalassemia minor patients, the level of plasma folate was in the normal range while RBC folate level was higher than the normal range. Kumar et al. (1985) studied the levels of serum folate, RBC folate, and serum vitamin B<sub>12</sub> in

homozygous  $\beta$ -thalassemia patients, and they found that the patients had lower serum folate and higher RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> than the normal subjects. They also found that 4.3% of thalassemia patients had folate deficiency.

Folate and vitamin B<sub>12</sub> have crucial roles in erythropoiesis. Erythrocytes employ those vitamins for proliferation during differentiation (Koury and Ponka, 2004). Serum folate levels reflect circulating folate, while RBC folate represents intracellular folate status. Therefore, RBC folate is a better indicator of body stores and nutritional status (Sipahi et al., 2007). As folate utilization increased from increased erythropoiesis, daily folic acid supplementation is advised for patients with thalassemia (Borgna-Pignatti, 2007). Previous studies reported that the mean level of serum folate in patients with  $\beta$ -thalassemia major who took 1 mg/day of folic acid supplement ranged from  $8.8 \pm 1.9$  to  $11.8 \pm 7.7$  ng/ml (Mojtahedzadeh et al., 2006; Claster et al., 2009) The level was less than that in this study ( $37.9 \pm 2.7$  ng/ml). The difference may be due to the dose of supplementation. It appeared that the subjects in the present study took folic acid at the dose of 5 mg/day. Furthermore, folate levels of the subjects in this study may also attribute to their diets as the diets they consumed included fresh vegetables and fruits, which were the good sources of folate.

Folate is essential for erythropoiesis. The hematological values of the patients in this study were still not in the normal ranges even though folic acid was supplemented. Moreover, serum and RBC folate levels were not significant correlated with hematological parameters. Although folic acid supplementation in this study (5 mg/day) did not improve hematological parameters, it is still essential for the formation of RBC due to ineffective erythropoiesis in the bone marrow (Lo and Singer, 2002; Howard and Hamilton, 2008). Therefore, the recommendation of routine folic acid supplementation may be necessary in thalassemia patients.

The level of serum vitamin B<sub>12</sub> in the subjects in this study was higher than the normal range, and no vitamin B<sub>12</sub> deficiency was found. This was similar to the result in patients with thalassemia major that showed normal levels of vitamin B<sub>12</sub> (Cluster et al., 2009). It is possible that the store of vitamin B<sub>12</sub> is depleted very slowly as the biological half-life in the liver is estimated to be over 400 days. The long biological half-life provides protection against deprivation for more than a year (Basu and Dickerson, 1996). Normal levels of vitamin B<sub>12</sub> in this patients indicated that vitamin B<sub>12</sub> supplementation may not be necessary in thalassemia intermedia patients.

### **5.3 Correlation of Parameters Measured in the Study**

In the present study, the significant interrelationships between the various parameters were found. The percentages of W/A, W/H, and H/A were found to have relationships with weight, body fat and muscle. From the previous study, the correlation of %H/A and AMA indicated that height may be an indicator of muscle store in the children with thalassemia (Zemel et al., 2007). The percentage of TSF is a parameter indicating the total body fat reserves. According to the results, %TSF was correlated with BMI, which is obtained from weight and height and is related with body fat (Gibson, 2005). These demonstrated that anthropometric parameters used to evaluate nutritional status in this study (%W/A, %W/H, %H/A, %TSF, %MAC, the percentiles of BMI for age) could reflect the storage of body fat and muscle. Improvement of these anthropometric parameters is necessary for promoting nutritional status, and this can be accomplished by nutritional counseling.

For the correlation between anthropometric and hematological parameters in this study, Hb was positively correlated with MAMC and AMA. The finding was similar to that found by Fung et al. (2010) that Hb level in thalassemia patients was positively correlated with lean mass by increasing of every 1 g/dL Hb level, lean body



mass increased by 0.9 kg. Although there was no significant correlation between Hb and height in this study, the previous study reported that Hb was significant associated with height (Tienboon et al., 1996; Saxena, 2003). However, there was no significant correlation of reticulocyte count and nutritional parameters. The result was in agreement with the previous study (Zemel et al., 2007) which reported in children with sickle cell disease that reticulocyte count was no association with dietary intake.

In this study, there was no significant correlation between serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub>. However, several correlations between anthropometric parameters and those vitamin levels were found. The results showed that serum folate was inversely correlated with weight, height, BMI, MAC, MAMC and AMA. Serum vitamin B<sub>12</sub> was negatively correlated with height. Although the correlations between the levels of folate and vitamin B<sub>12</sub> and several anthropometric parameters were found, it was still difficult to interpret these results because the levels of folate in the patients were influenced by folic acid supplement.

Folate and vitamin B<sub>12</sub> serves as coenzymes in erythropoiesis. There was no significant correlation between serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> with hematological parameters in this study. Arsenault et al. (2009) studied in normal children found that Hb was not associated with vitamin B<sub>12</sub> levels but inversely associated with serum and RBC folate. However, the mechanisms to explain an inversely relation between folate and Hb concentration in the absence of folate deficiency are still unclear. Moreover, the degree of anemia in thalassemia patients was not influenced by folate body store (Castaldi et al., 1983). Al-saqladi et al. (2008) studied in children patients with homozygous sickle cell disease and found that folate supplementation did not affect the change in hematological and growth parameters.

This suggested that improving folate status of the subjects in this study did not affect nutritional status and hematological parameters.

## CHAPTER VI

### CONCLUSION

The present study was to examine the nutritional status, the levels of folate in serum and RBC and serum vitamin B<sub>12</sub> in thalassemia intermedia patients who were not required high transfusion at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital. Correlations between the levels of both vitamins and other measured parameters were also observed. There were 30 subjects (12 males and 18 females) aged between 7 - 15 years enrolled in this study. The result from SGA showed that no subjects had malnutrition. However, when nutritional status was classified by %W/A, %W/H, %H/A, %TSF, and %MAC, the prevalence of malnutrition were 63.3%, 50.0%, 36.7%, 60.0% and 70.0% respectively. According to the percentile of BMI for age, 50% of the subjects were underweight. Daily total energy intake of the subjects was lower than the recommendation. The levels of serum and RBC folate of the most subjects were in the normal ranges after folic acid supplementation. Most of the subjects had normal serum vitamin B<sub>12</sub> level. The percentages of W/A, W/H, H/A, TSF, and MAC and BMI were related with weight, body fat and muscle. MAC and AMA were found to be correlated with Hb. There was no significant correlation between levels of serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub>.

In conclusion, it appeared that the children with thalassemia intermedia had malnutrition. Several methods should be used in combination to evaluate nutrition status of thalassemia patients. Although folate and vitamin B<sub>12</sub> deficiency was not found among most of the subjects, both vitamins are still required for rapid RBC formation in thalassemia patients.

**Recommendations for Further Research**

The sample size should be increased in further study for better explanation of some factors that are related to the nutritional status. Comparison of nutritional status and level of serum and RBC folate and vitamin B<sub>12</sub> between patients with different types of thalassemia and healthy subjects may be necessary.

## REFERENCES

- Abdulrazzaq, Y.M., Ibrahim, A., Al-Khayat, A.I., and Dawson, K. 2005.  $\beta$ -thalassemia major and its effect on amino acid metabolism and growth in patients in the United Arab Emirates. Clinica Clinica Acta 352: 183-190.
- Allen, L.H. 2008. Causes of vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency. FNB 29(2): S20-S34.
- Al-saqladi, A.W.M., Cipolotti, R., Fijnvadraat, K., and Brabin, B.J. 2008. Growth and nutritional status of children with homozygous sickle cell disease. Ann Trop Paediatr 28:165-189.
- Arcot, J., and Shrestha, A. 2005. Folate: methods of analysis. Trends Food Sci Technol 16: 253-266.
- Areekul, S., Panatampon, P., Vatanavicharn, S., Hathirat, P. 1980. Serum vitamin B<sub>12</sub> and vitamin B<sub>12</sub> binding proteins in thalassemia. Siriraj Hosp Gaz 32(11): 663-666.
- Arijanty, L., Nasar, S.S., Madiyono, B., and Gatot, D. 2006. Relationships between plasma zinc and ferritin with nutritional status in thalassemic children. Paediatrica Indonesiana 46: 220-224.
- Arsenault, J.E., et al. 2009. Hemoglobin concentration is inversely associated with erythrocyte folate concentrations in Colombian school-age children, especially among children with low vitamin B<sub>12</sub> status. Eur J Clin Nutr 63: 842-849.
- Asadi-Pooya, A.A., and Karamifar, H. 2004. Body mass index in children with beta-thalassemia major. Turk J Haematol 21(4): 177-180.
- Asadi-Pooya, A.A., Karimi M., and Immanieh, M.H. 2004. Growth retardation in children with thalassemia major. Haema 7(4): 493-496.

- Baer, M.T., and Harris, A.B. 1996. Pediatric nutritional assessment: Identifying children at risk. J Am Diet Assoc 16(2): 7-14.
- Ball, G.F.M . 2004. Vitamins: their role in the human body. pp. 348-366. Oxford, UK : Blackwell Professional Pub.
- Basu, T.K., and Dickerson, J.W.T. 1996. Vitamins in human health and disease, pp. 86-103. UK: Biddes.
- Beck, W.S. 2001. Cobalamin (Vitamin B<sub>12</sub>). In R.B. Rucker; W. Suttie; B.D. McCormick; L.J. Machlin (eds.), 3<sup>rd</sup> ed Handbook of vitamins, pp. 463-497. USA: Marcel Dekker.
- Borgna-Pignatti, C. 2007. Modern treatment of thalassemia intermedia. GJH 138: 291-304.
- Brody, T. 1999. Nutritional biochemistry. 2<sup>nd</sup> ed. pp. 486-497. USA: Academic press.
- Brody, M., and Shane, B. 2001. Folic acid. In R.B. Rucker; W. Suttie; B.D. McCormick; L.J.Machlin (eds), 3<sup>rd</sup> ed. Handbook of vitamins, USA: Marcel Dekker, Inc.
- Carmel, R. 2006. Folic acid. In M.E. Shils (ed), Modern nutrition in health and disease, pp. 470-481. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Castaldi, G., et al. 1983. Folic acid deficiency in  $\beta$ -thalassaemia heterozygotes. Scand J Haematol 30: 125-129.
- Castle, W.B., and Hale, T.H. 2008. Vitamin B<sub>12</sub>. In G.F. Combs (ed), 3<sup>rd</sup> ed. The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health, pp. 381-397. USA: Elsevier.

- Centers for Disease Control and Prevention. 2009. Child development. [Online]. Available from: <http://www.cdc.gov/ncbddd/child/default.htm> [2010, January 23]
- Centers for Disease Control and Prevention. 2010. About BMI for Children and Teens. [Online]. Available from: [http://www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi/childrens\\_bmi/about\\_childrens\\_bmi.html#interpreted%20the%20same%20way](http://www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi/childrens_bmi/about_childrens_bmi.html#interpreted%20the%20same%20way) [2010, January 23]
- Claster, S., et al. 2009. Nutritional deficiencies in iron overloaded patients with hemoglobinopathies. Am J Hematol 84: 344-348.
- Cogill B. 2003. Anthropometric indicators measurement guide. Food and nutrition technical assistance project, Academy for Educational Development, Washington, D.C.
- Damapong, N. 2007. Food based dietary guidelines and nutrition flag. [Online]. Health Promotion Center 8 (Nakhon Sawan), Department of Health, Ministry of Public Health. Available from: <http://www.nsw.moph.go.th/it/jun50/FBDG&NUTRITION%20FLAG.ppt> [2010, January 5]
- Davis, M. 2005. Nutritional screening and assessment in cancer-associated malnutrition. EJON 9: S64-S73.
- Eitenmiller, R.R., and Landen, W.O. 1998. Vitamin analysis for the health and food sciences. pp. 467-478. USA: CRC Press LLC.
- Ekvall, S.W., Ekvall, V.K., Walberg-Wolfe, J., and Nehring, W. 2005. Nutritional assessment-all levels and ages. In S.W. Ekvall; V.K. Ekvall; (eds), Pediatric nutrition in chronic diseases and developmental disorders : prevention, assessment, and treatment, pp 35-60. USA: Oxford University Press, Inc.

- Fucharoen, S., Fucharoen, G., Sae-ung, N., and Sanchaisuriya, K. 2007. Thalassemia intermedia associated with the Hb Constant Spring EE Bart's disease in pregnancy: A molecular and hematological analysis. Blood Cell Mol Dis 39: 195-198.
- Fuchs, G.J., et al. 1996. Nutritional factors and thalssemia major. Arch Dis Child 74: 224-227.
- Fung, E.B., et al 2010. Relationship between chronic transfusion therapy and body composition in subjects with thalassemia. J Pediatr 154(4): 641-647.
- Garza, C., and De-Onis, M. 2007. An overview of growth standards and indicators and their interpretation. In S.S. Baker; R.D. Baker; A.M. Davis (eds), Pediatric nutrition support, pp. 1-13. USA: Jones and Bartlett Publishers.
- Gibson, R. 2002. Determining nutritional status. In J. Mann; A.S. Truswell (eds), 2<sup>nd</sup> ed Essentials of Human nutrition, pp. 467-488. Great Britain: Biddles.
- Gibson, R. 2005. Principles of nutritional assessment, 2<sup>nd</sup> ed. pp. 233-272. USA: Oxford University Press.
- Hammond, K. 2008. Assessment: Dietary and clinical data In L.K. Mahan; S. Escott-Stump (eds), Krause's food & nutrition therapy, 12<sup>th</sup> ed. pp. 383-387. Canada: Elsevier.
- Hartman, C., et al. 2002. Hypocholesterolemia in children and adolescents with  $\beta$ -thalassemia intermedia. J Pediatr 141: 543-547.
- Hendricks, K. 2007. Anthropometric Evaluation. In S.S. Baker; R.D. Baker; A.M. Davis (eds), Pediatric nutrition support, pp. 57-64. USA: Jones and Bartlett Publishers.
- Howard, M.R., and Hamilton, P. J. 2008. Haematology: an illustrated colour text. 3<sup>rd</sup> ed. pp. 32-33. China: Elsevier.



- Karamifar, H., Shahriari, M., and Amirhakimi, G.H. 2002. Linear growth deficiency in  $\beta$ -thalassemia patients: Is it growth hormone dependent? IJMS 22(2): 47-50.
- Karamifar, H., Shahriari, M., and Amirhakimi, G.H. 2005. Failure of puberty and linear growth in beta-thalassemia major. Turk J Haematol 22(2): 65-69.
- Khatib, L.A., et al. 2006. Folate deficiency is associated with nutritional anaemia in Labanese women of childbearing age. Public Health Nutr 9(7): 921-927.
- Kida, K., et al. 1999. Estimation of body composition by bioelectrical impedance and anthropometric technique in Japanese children. Nutr Res 19(6): 861-868.
- Koury, M.J., and Ponka, P. 2004. New insights into erythropoiesis: The roles of folate, vitamin B<sub>12</sub>, and iron. Annu Rev Nutr 24: 105-131.
- Kroft, S.H., and Monaghan, S.A. 2007. Red blood cell/ hemoglobin disorder. In E.D. His; J.R. Goldblum (eds), Hematopathology, pp. 27-32. China: Elsevier.
- Kuczmarshi, R.J., et al. 2002. 2000 CDC growth charts for the United States: methods and development. Vital Health Stat 11(246).
- Kumar, R., et al. 1985. Vitamin B<sub>12</sub>, folate, and iron studies in homozygous beta thalassemia. Am J Clin Pathol 84(5): 668-671.
- Lee, R.D., and Nieman, D.C. 2003. Nutritional assessment. 3<sup>rd</sup> ed. New York: McGraw-Hill.
- Lenders, C.M., and Willett, W.C. 2003. Nutritional Epidemiology. In C. Duggan; J.B. Watkins; W.A. Walker (eds), Nutrition in pediatrics: basic science and clinical applications. pp 167-177. India: Internation Print-O-Pac.

- Lindenbaum, J., and Allen, R.H. 1995. Clinical spectrum and diagnosis of folate deficiency. In L.B. Bailey (ed), Folate in health and disease, pp. 43-67. USA: Marcel Dekker.
- Lo, L., and Singer, S.T. 2002. Thalassemia: current approach to an old disease. Pediatr Clin North Am (49): 1165-1191.
- Mahdavi, A.M., Safaiyan, A., and Ostadrahimi, A. 2009. Subjective vs objective nutritional assessment study in children: a cross-sectional study in the northwest of Iran. Nutr Res (29): 269-274.
- Mahidol University, Faculty of Medicine Siriraj Hospital. Department of Clinical Pathology. 2008. Laboratory manual. [Online]. Available from: <http://www.si.mahidol.ac.th/th/manual/Project/page1-00.htm> [2010, January 23]
- McDowell, M.A., Fryar, C.D., Ogden, C.L., and Flegal, K.M. 2008. Anthropometric reference data for children and adults: United States, 2003-2006. Natl Health Stat Report 10: 1-45.
- Mitchell, H.K., Snell, E.S., and Williams, R.J. 2008. Folate. In Combs, G.F. 3<sup>rd</sup> (ed.), The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health, pp. 347-377. USA: Elsevier Inc.
- Mojtahedzadeh, F., Kosaryan, M., Mahdavi, M., and Akbari, J. 2006. The effect of folic acid supplementation in beta-thalassemia major: a randomized placebo-controlled clinical trial. Arch Iranian Med 9(3): 266-268.
- Morris, M.S., Jacques, P.F., Rosenberg, I.H., and Selhub, J. 2007. Folate and vitamin B<sub>12</sub> status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. Am J Clin Nutr 85: 193-200.

- Mosby, T.T., Barr, R.D., and Pencharz, P.B. 2009. Nutritional assessment of children with cancer. J Pediatr Oncol Nurs 26(4): 186-197.
- Najafipour, F., et al. 2008. Evaluation of glucose metabolism, thyroid function, growth and development pattern and calcium status in patients with thalassemia major. Res J Biol Sci 3(8): 867-873.
- Rojratsirikul, C., Sangkhathat, S., and Patrapinyokul, S. 2004. Application of subjective global assessment as a screening tool for malnutrition in pediatric surgical patients. J Med Assoc Thai 87(8): 934-946.
- Rolfes, S.R., Pinna, K., and Whitney, E. 2009. Understanding normal and clinical nutrition. 8<sup>th</sup> ed. pp. 695-704. Canada: Wadsworth.
- Rund, D., and Rachmilewitz, E. 2005.  $\beta$ -Thalassemia. N Engl J Med 353(11): 1135-1146.
- Sarden, V.M. 2003. Introduction to clinical nutrition. 2<sup>nd</sup> ed. USA: Marcel Dekker.
- Sauberlich, H.E. 1999. Laboratory tests for the assessment of nutritional status. 2<sup>nd</sup> ed. USA: CRC Press LLC.
- Saxena, A. 2003. Growth retardation in thalassemia major patients. Int J Hum Genet 3(4): 237-246.
- Savage, D.G., and Lindenbaum, J. 1995. Folate - cobalamin interaction. In L.B. Bailey (ed), Folate in health and disease, pp. 237-267. USA: Marcel Dekker.
- Scott, J.M. 1999. Folate and vitamin B<sub>12</sub>. Proc Nutr Soc 58: 441-448.
- Secker, D.J., and Jeejeebhoy, K.N. 2007. Subjective Global Nutritional Assessment for children. Am J Clin Nutr 85: 1083-1089.
- Shane, B. 1995. Folate chemistry and metabolism. In L.B. Bailey (ed), Folate in health and disease, pp. 1-16. USA: Marcel Dekker, Inc.

- Sipahi, H., Baydar, T., Ozalp, M., and Sahin, G. 2007. A modified microbiological method of determination of folate levels in erythrocyte and plasma. Pteridines 18: 106-113.
- Sizer, F.S., and Whitney, E. 2008. Nutritional concepts and controversies. 11<sup>th</sup> ed. pp. 545. USA: Thomson Wadsworth.
- Smith, A.D., Kim, Y., and Refsum, H. 2008. Is folic acid good for everyone? Am J Clin Nutr 87: 517-533.
- Snow, C.F. 1999. Laboratory diagnosis of vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency. Arch Intern Med 159: 1289-1298.
- Soliman, A.T., Elzabany, M., Amer, E., and Ansari.M. 1999. Growth and pubertal development in transfusion-dependent children and adolescents with thalassemia major and sickle cell disease: A comparative study. J Trop Pediatr 44: 23-30.
- Soliman, A.T., et al. 2004. The effect of high-calorie diet on nutritional parameters of children with  $\beta$ -thalassaemia major. Clin Nutr 23: 1153-1158.
- Sungurtekin H., Sungurtekin, U., Hanci V., and Erdem E. 2004. Comparison of two nutritional assessment techniques in hospitalized patients. Nutrition 20: 428-432.
- Tanphaichitr, V., Visuthi, B., and Tanphaichitr. V., 1995. Causes of inadequate protein-energy status in thalassaemic children. Asia Pacific J Clin Nutr 4(1): 133-135.
- Thavorncharoensap, M., et al. 2010. Factors affecting health-related quality of life in Thai children with thalassemia. BMC Blood disorders 10(1): 1-10.
- Thomas, P., and Fenech, M. 2008. Methylenetetrahydrofolate reductase, common polymorphisms, and relation to disease. Vitam Horm 79:375-392.

- Tienboon, P., Sanguansermisri, T., and Fuchs, G.J. 1996. Malnutrition and growth abnormalities in children with beta thalassemia major. Southeast Asian J Trop Med Public Health 27(2): 356-361.
- Tienboon, P. 2003. Effect of nutritional support on immunity in paediatric patients with beta-thalassaemia major. Asia Pacific J Cli Nutr 12(1): 61-65.
- Tsagris, V., and Liapi-Adamidou, G. 2005. Serum carnitine levels in patients with homozygous beta thalassemia: a possible new role for carnitine?. Eur J Pediatr 164: 131-134.
- Vaisman, N., Alivis, A., Stoecker, D., Barak, Y., Matitau, A., and Woloch, B. 1995. Resting energy expenditure in patients with thalassemia major. Am J Clin Nutr 61: 582-584.
- Viprakasit, V., et al. 2001. Linear Growth in homozygous  $\beta$ -thalassemia and  $\beta$ -thalassemia/hemoglobin E patients under different treatment regimens. J Med Assoc Thai 84: 929-941.
- Waterlow, J.C. 1972. Classification and definition of protein-calorie malnutrition. BMJ 3: 566-569.
- Waterlow, J.C. 1973. Note on the assessment and classification of PEM in children. Lancet 1: 87-89.
- Working group for Thai reference growth data. 2000. Reference: weight, height, and nutritional status index for Thai people, aged 1 day – 19 years. Nonthaburi : Ministry of Public Health.
- Working group on food-based dietary guidelines for Thai people. 2003. Dietary reference intake for Thais 2003. Nonthaburi: Ministry of Public Health.
- Zafeiriou, D.I., Economou, M., and Althanasiou-Metaxa, M. 2006. Neurological complications in  $\beta$ -thalassemia. Brain Dev 28: 477-481.

Zemel, B.S., Kawchak, D.A., Ohene-frempong, K., Schall, J.I., and Stallings, V.A.

2007. Effects of delayed pubertal development, nutritional status, and disease severity on longitudinal patterns of growth failure in children with sickle cell disease. Pediatr Res 61(5):607-613.

Zemel, B.S., Riley, E.M., and Stallings, V.A. 1997. Evaluation of methodology for

nutritional assessment in children: anthropometry, body composition, and energy expenditure. Annu Rev Nutr 17: 211-235.

## **APPENDICES**

## **Appendix A**

### **Standard Reference Data for Classification of Nutritional Status**



**Table A-1** Gomez's classification of nutritional status (Cogill, 2003)

| <b>Degree of nutritional status</b>    | <b>% weight for age</b> |
|--|-------------------------|
| <b>Grade 0: normal</b>                 | 90 - 110%               |
| <b>Grade I: mild malnutrition</b>      | 75 - 89%                |
| <b>Grade II: moderate malnutrition</b> | 60 - 74%                |
| <b>Grade III: severe malnutrition</b>  | Less than 60%           |

**Table A-2** Waterlow's classification of nutritional status (Waterlow, 1972; Waterlow 1973)

| <b>Degree of nutritional status</b>    | <b>%Weight for Height</b> | <b>%Height for Age</b> |
|--|---------------------------|------------------------|
| <b>Grade 0: normal</b>                 | More than 90%             | More than 95%          |
| <b>Grade I: mild malnutrition</b>      | 80 - 90                   | 90 - 95%               |
| <b>Grade II: moderate malnutrition</b> | 70 - 80                   | 85 - 90%               |
| <b>Grade III: severe malnutrition</b>  | Less than 70%             | Less than 85%          |

**Table A-3** Standard categories of percentage of standard triceps skinfold thickness (Ekvall et al., 2005)

| <b>Degree of nutritional status</b>    | <b>%TSF</b>   |
|--|---------------|
| <b>Grade 0: normal</b>                 | More than 85% |
| <b>Grade I: mild malnutrition</b>      | 80.0 - 85.0   |
| <b>Grade II: moderate malnutrition</b> | 75.0 - 79.9   |
| <b>Grade III: severe malnutrition</b>  | Less than 75% |

**Table A-4** Standard categories of percentage of standard mid-arm circumference  
(Ekvall et al., 2005)

| <b>Degree of nutritional status</b>    | <b>%MAC</b>   |
|--|---------------|
| <b>Grade 0: normal</b>                 | More than 85% |
| <b>Grade I: mild malnutrition</b>      | 80.0 - 85.0   |
| <b>Grade II: moderate malnutrition</b> | 75.0 - 79.9   |
| <b>Grade III: severe malnutrition</b>  | Less than 75% |

**Table A-5** Standard categories of BMI for age (Centers for Disease Control and  
Prevention, 2010).

| <b>Weight Status Category</b> | <b>Percentile Range</b>   |
|-------------------------------|---|
| <b>Obese</b>                  | Equal to or greater than the 95 <sup>th</sup> percentile                |
| <b>Overweight</b>             | 85 <sup>th</sup> to less than the 95 <sup>th</sup> percentile           |
| <b>Healthy weight</b>         | 5 <sup>th</sup> percentile to less than the 85 <sup>th</sup> percentile |
| <b>Underweight</b>            | Less than the 5 <sup>th</sup> percentile                                |

BMI = body mass index

**Table A-6** Triceps skinfold thickness in millimeters for children and adolescents aged 2 months -19 years by sex and age, by mean, standard error of mean, and selected percentiles: United States 2003-2006 (McDowell et al., 2008)

| Sex and age <sup>1</sup> | Number examined | Mean | Standard error | Percentile |      |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------------|-----------------|------|----------------|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                          |                 |      |                | 5th        | 10th | 15th | 25th | 50th | 75th | 85th | 90th | 95th |
| Male                     |                 |      |                |            |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Millimeters              |                 |      |                |            |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 2 months                 | 11              | *    | *              | *          | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    |
| 3-5 months               | 128             | 11.0 | 0.25           | *          | 8.4  | 8.7  | 9.0  | 10.5 | 12.0 | 13.9 | 14.5 | *    |
| 6-8 months               | 128             | 10.6 | 0.26           | *          | 7.3  | 8.0  | 8.9  | 10.1 | 12.3 | 13.0 | 13.4 | *    |
| 9-11 months              | 122             | 10.2 | 0.30           | *          | *    | 7.7  | 8.1  | 9.7  | 11.9 | 12.9 | *    | *    |
| 1 year                   | 336             | 9.8  | 0.19           | 6.4        | 7.2  | 7.4  | 8.0  | 9.4  | 11.0 | 12.0 | 12.5 | 14.3 |
| 2 years                  | 260             | 9.6  | 0.13           | 6.3        | 6.8  | 7.2  | 8.0  | 9.5  | 11.1 | 12.0 | 12.7 | 13.2 |
| 3 years                  | 195             | 9.3  | 0.21           | *          | 6.4  | 6.9  | 7.3  | 9.0  | 10.7 | 11.4 | 12.0 | *    |
| 4 years                  | 199             | 9.1  | 0.26           | *          | 6.2  | 6.5  | 7.0  | 8.3  | 10.4 | 11.5 | 12.3 | *    |
| 5 years                  | 197             | 10.0 | 0.32           | *          | 6.1  | 6.5  | 7.2  | 8.7  | 11.0 | 12.9 | 15.8 | *    |
| 6 years                  | 173             | 9.8  | 0.25           | *          | 6.0  | 6.3  | 7.1  | 8.9  | 11.9 | 13.0 | 14.6 | *    |
| 7 years                  | 176             | 10.5 | 0.53           | *          | 6.2  | 6.6  | 7.4  | 8.9  | 12.1 | 13.7 | 15.4 | *    |
| 8 years                  | 146             | 11.7 | 0.69           | *          | 6.2  | 6.4  | 7.2  | 10.0 | 14.5 | 17.7 | 20.6 | *    |
| 9 years                  | 173             | 12.6 | 0.51           | *          | 6.4  | 6.9  | 7.6  | 11.4 | 16.2 | 19.3 | 20.3 | *    |
| 10 years                 | 169             | 14.4 | 0.54           | *          | 7.4  | 8.1  | 8.8  | 12.2 | 18.9 | 21.2 | 24.1 | *    |
| 11 years                 | 147             | 15.3 | 0.93           | *          | 7.6  | 8.0  | 9.3  | 13.1 | 19.3 | 24.2 | 26.6 | *    |
| 12 years                 | 265             | 15.4 | 0.56           | 6.1        | 7.4  | 8.4  | 9.5  | 12.9 | 20.4 | 23.4 | 26.5 | 28.9 |
| 13 years                 | 277             | 14.6 | 0.58           | 6.3        | 6.8  | 7.4  | 8.2  | 12.3 | 18.7 | 23.9 | 26.2 | 28.7 |
| 14 years                 | 253             | 13.4 | 0.62           | *          | 6.4  | 6.8  | 7.8  | 10.4 | 17.7 | 22.6 | 24.9 | *    |
| 15 years                 | 263             | 12.6 | 0.45           | 6.4        | 6.7  | 7.3  | 8.0  | 9.9  | 15.4 | 19.2 | 22.4 | 26.4 |
| 16 years                 | 290             | 13.6 | 0.47           | 5.8        | 6.2  | 6.8  | 7.4  | 9.9  | 19.1 | 24.5 | 26.3 | 29.1 |
| 17 years                 | 259             | 12.7 | 0.56           | 5.2        | 6.0  | 6.5  | 7.3  | 10.1 | 17.2 | 19.8 | 22.4 | 26.4 |
| 18 years                 | 266             | 13.1 | 0.88           | 5.4        | 6.2  | 6.5  | 7.2  | 9.9  | 17.8 | 20.8 | 24.7 | 28.7 |
| 19 years                 | 254             | 13.6 | 0.72           | *          | 5.9  | 6.9  | 7.9  | 11.0 | 16.2 | 22.9 | 26.6 | *    |
| Female                   |                 |      |                |            |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 2 months                 | 9               | *    | *              | *          | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    |
| 3-5 months               | 91              | 10.8 | 0.31           | *          | *    | 8.0  | 8.9  | 10.6 | 11.9 | 13.4 | *    | *    |
| 6-8 months               | 120             | 11.1 | 0.30           | *          | *    | 7.6  | 8.8  | 11.3 | 12.8 | 13.9 | *    | *    |
| 9-11 months              | 118             | 10.8 | 0.24           | *          | *    | 8.0  | 8.9  | 10.9 | 12.3 | 12.9 | *    | *    |
| 1 year                   | 316             | 10.1 | 0.19           | 6.5        | 7.2  | 7.5  | 8.3  | 9.7  | 11.4 | 12.7 | 13.2 | 14.6 |
| 2 years                  | 299             | 10.5 | 0.21           | 6.3        | 7.0  | 7.7  | 8.4  | 10.1 | 12.4 | 13.2 | 14.2 | 15.3 |
| 3 years                  | 174             | 10.2 | 0.28           | *          | 6.7  | 7.0  | 7.6  | 9.4  | 11.9 | 13.2 | 14.8 | *    |
| 4 years                  | 220             | 10.6 | 0.23           | *          | 7.1  | 7.4  | 8.2  | 10.3 | 12.1 | 13.2 | 14.2 | *    |
| 5 years                  | 194             | 10.7 | 0.32           | *          | 7.2  | 7.6  | 8.4  | 9.9  | 12.1 | 13.3 | 14.9 | *    |
| 6 years                  | 188             | 10.8 | 0.30           | *          | 6.2  | 6.9  | 8.0  | 10.0 | 12.9 | 14.7 | 15.1 | *    |
| 7 years                  | 153             | 12.7 | 0.38           | *          | 7.7  | 8.0  | 8.8  | 11.0 | 15.0 | 18.4 | 19.8 | *    |
| 8 years                  | 176             | 12.6 | 0.48           | *          | 7.4  | 7.8  | 8.7  | 11.0 | 15.3 | 17.7 | 20.1 | *    |
| 9 years                  | 182             | 15.5 | 0.59           | *          | 8.4  | 9.2  | 10.7 | 14.1 | 18.4 | 22.2 | 24.6 | *    |
| 10 years                 | 176             | 16.4 | 0.60           | *          | 8.3  | 9.6  | 11.3 | 15.1 | 19.9 | 22.8 | 26.6 | *    |
| 11 years                 | 167             | 17.6 | 0.72           | *          | 8.8  | 9.3  | 11.2 | 16.0 | 22.9 | 26.0 | 28.5 | *    |
| 12 years                 | 231             | 16.0 | 0.52           | *          | 8.9  | 9.2  | 11.1 | 14.6 | 19.8 | 22.8 | 25.5 | *    |
| 13 years                 | 274             | 18.8 | 0.49           | 9.2        | 10.2 | 10.8 | 12.9 | 18.3 | 23.2 | 26.0 | 29.2 | 32.1 |
| 14 years                 | 252             | 18.3 | 0.84           | *          | 10.1 | 11.1 | 12.9 | 16.2 | 23.9 | 26.4 | 27.6 | *    |
| 15 years                 | 226             | 19.7 | 0.65           | *          | 11.0 | 11.9 | 13.8 | 18.5 | 23.8 | 26.4 | 30.0 | *    |
| 16 years                 | 236             | 18.8 | 0.72           | *          | 10.5 | 11.2 | 13.2 | 17.1 | 23.3 | 27.0 | 29.3 | *    |
| 17 years                 | 227             | 20.3 | 0.56           | *          | 11.3 | 13.1 | 14.6 | 18.7 | 25.1 | 28.0 | 29.7 | *    |
| 18 years                 | 246             | 21.0 | 0.76           | *          | 11.1 | 12.8 | 14.8 | 20.1 | 26.2 | 29.9 | 33.2 | *    |
| 19 years                 | 208             | 20.5 | 0.80           | *          | 11.2 | 12.3 | 14.2 | 19.9 | 25.2 | 27.1 | 29.5 | *    |

\* Figure does not meet standards of reliability or precision.

<sup>1</sup>Age shown is age at time of examination.

NOTE: Pregnant females were excluded.

**Table A-7** Mid-arm circumference in centimeters for children and adolescents aged 2 months -19 years by sex and age, by mean, standard error of mean, and selected percentiles: United States 2003-2006 (McDowell et al., 2008)

| Sex and age <sup>1</sup> | Number examined | Mean | Standard error | Percentile |      |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------------|-----------------|------|----------------|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                          |                 |      |                | 5th        | 10th | 15th | 25th | 50th | 75th | 85th | 90th | 95th |
| Male                     |                 |      |                |            |      |      |      |      |      |      |      |      |
| Centimeters              |                 |      |                |            |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 2 months                 | 13              | *    | *              | *          | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    |
| 3-5 months               | 133             | 14.1 | 0.07           | *          | 12.9 | 13.2 | 13.5 | 14.1 | 14.7 | 15.0 | 15.2 | *    |
| 6-8 months               | 129             | 14.7 | 0.13           | *          | 13.2 | 13.6 | 13.9 | 14.6 | 15.5 | 15.9 | 16.3 | *    |
| 9-11 months              | 123             | 15.3 | 0.12           | *          | *    | 14.2 | 14.7 | 15.2 | 15.9 | 16.4 | *    | *    |
| 1 year                   | 341             | 15.6 | 0.09           | 13.7       | 14.0 | 14.2 | 14.7 | 15.6 | 16.4 | 16.9 | 17.3 | 17.5 |
| 2 years                  | 270             | 16.1 | 0.09           | 14.3       | 14.5 | 14.9 | 15.3 | 16.0 | 16.9 | 17.3 | 17.5 | 18.1 |
| 3 years                  | 199             | 16.6 | 0.11           | *          | 14.7 | 15.1 | 15.4 | 16.3 | 17.3 | 18.0 | 18.4 | *    |
| 4 years                  | 200             | 17.3 | 0.18           | *          | 15.2 | 15.5 | 16.0 | 17.1 | 18.1 | 18.8 | 19.5 | *    |
| 5 years                  | 200             | 18.4 | 0.24           | *          | 15.9 | 16.2 | 16.6 | 17.9 | 19.1 | 20.1 | 21.2 | *    |
| 6 years                  | 174             | 18.9 | 0.15           | *          | 16.4 | 16.9 | 17.4 | 18.5 | 20.2 | 21.4 | 21.7 | *    |
| 7 years                  | 177             | 19.7 | 0.24           | *          | 16.9 | 17.4 | 17.9 | 19.1 | 20.6 | 21.8 | 23.1 | *    |
| 8 years                  | 146             | 20.9 | 0.31           | *          | 17.8 | 18.1 | 18.4 | 20.3 | 22.2 | 23.6 | 24.4 | *    |
| 9 years                  | 173             | 21.7 | 0.32           | *          | 17.6 | 18.2 | 19.1 | 21.3 | 23.6 | 24.8 | 25.8 | *    |
| 10 years                 | 170             | 23.4 | 0.31           | *          | 19.1 | 19.7 | 20.5 | 22.2 | 26.1 | 28.1 | 29.4 | *    |
| 11 years                 | 154             | 24.6 | 0.55           | *          | 19.5 | 20.3 | 21.3 | 23.3 | 27.6 | 29.7 | 31.3 | *    |
| 12 years                 | 271             | 25.4 | 0.42           | 19.4       | 20.3 | 20.9 | 22.0 | 24.2 | 28.2 | 30.0 | 32.6 | 34.3 |
| 13 years                 | 282             | 26.8 | 0.38           | 20.3       | 21.5 | 22.4 | 23.5 | 26.1 | 29.5 | 31.8 | 32.6 | 34.3 |
| 14 years                 | 257             | 27.7 | 0.40           | 21.1       | 22.9 | 23.2 | 24.2 | 27.2 | 30.0 | 31.8 | 33.7 | 36.1 |
| 15 years                 | 267             | 29.3 | 0.33           | 24.0       | 24.6 | 25.1 | 26.3 | 28.3 | 32.2 | 33.4 | 34.5 | 36.2 |
| 16 years                 | 302             | 30.8 | 0.37           | 24.5       | 25.6 | 26.0 | 26.8 | 29.8 | 33.6 | 36.8 | 38.3 | 39.7 |
| 17 years                 | 273             | 30.7 | 0.36           | 24.9       | 26.1 | 26.6 | 27.3 | 29.6 | 33.1 | 35.0 | 37.1 | 38.8 |
| 18 years                 | 278             | 31.5 | 0.42           | 24.7       | 26.2 | 27.0 | 28.3 | 30.2 | 34.4 | 36.2 | 37.8 | 39.8 |
| 19 years                 | 266             | 32.4 | 0.41           | 25.6       | 26.9 | 27.5 | 29.0 | 31.9 | 35.3 | 38.2 | 38.8 | 40.6 |
| Female                   |                 |      |                |            |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 2 months                 | 10              | *    | *              | *          | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    | *    |
| 3-5 months               | 93              | 13.8 | 0.11           | *          | *    | *    | 13.1 | 13.6 | 14.2 | *    | *    | *    |
| 6-8 months               | 120             | 14.6 | 0.11           | *          | *    | 13.4 | 13.7 | 14.4 | 15.4 | 15.9 | *    | *    |
| 9-11 months              | 122             | 15.0 | 0.13           | *          | *    | 13.7 | 14.2 | 14.9 | 15.9 | 16.3 | *    | *    |
| 1 year                   | 319             | 15.4 | 0.09           | 13.1       | 13.7 | 14.0 | 14.5 | 15.4 | 16.1 | 16.6 | 17.0 | 17.5 |
| 2 years                  | 305             | 16.1 | 0.09           | 14.1       | 14.4 | 14.7 | 15.1 | 16.0 | 17.0 | 17.6 | 17.9 | 18.4 |
| 3 years                  | 176             | 16.8 | 0.12           | *          | 15.2 | 15.4 | 15.8 | 16.6 | 17.3 | 18.1 | 18.5 | *    |
| 4 years                  | 223             | 17.4 | 0.12           | *          | 15.6 | 15.9 | 16.2 | 17.1 | 18.3 | 18.9 | 19.2 | *    |
| 5 years                  | 195             | 17.9 | 0.18           | *          | 15.8 | 16.1 | 16.6 | 17.4 | 19.1 | 20.0 | 20.6 | *    |
| 6 years                  | 187             | 18.8 | 0.19           | *          | 16.3 | 16.9 | 17.3 | 18.3 | 19.7 | 20.7 | 22.0 | *    |
| 7 years                  | 155             | 20.1 | 0.25           | *          | 17.0 | 17.3 | 18.1 | 19.4 | 21.5 | 23.3 | 24.0 | *    |
| 8 years                  | 181             | 20.9 | 0.42           | *          | 17.1 | 17.8 | 18.5 | 20.1 | 22.4 | 24.8 | 25.6 | *    |
| 9 years                  | 183             | 22.5 | 0.38           | *          | 18.6 | 19.0 | 19.8 | 22.1 | 25.2 | 26.4 | 27.2 | *    |
| 10 years                 | 183             | 23.9 | 0.37           | *          | 18.9 | 19.8 | 20.8 | 23.3 | 26.2 | 28.3 | 30.0 | *    |
| 11 years                 | 174             | 25.3 | 0.41           | *          | 20.1 | 20.7 | 21.7 | 24.8 | 28.1 | 29.6 | 30.8 | *    |
| 12 years                 | 243             | 25.5 | 0.44           | *          | 20.8 | 21.5 | 22.6 | 24.5 | 27.2 | 29.9 | 32.0 | *    |
| 13 years                 | 289             | 26.9 | 0.32           | 19.9       | 21.6 | 22.5 | 23.8 | 25.7 | 29.5 | 31.7 | 32.7 | 35.8 |
| 14 years                 | 264             | 27.0 | 0.52           | *          | 22.2 | 22.6 | 23.4 | 26.1 | 29.4 | 32.0 | 33.2 | *    |
| 15 years                 | 240             | 27.7 | 0.27           | *          | 22.9 | 23.6 | 24.7 | 26.7 | 30.5 | 32.1 | 33.2 | *    |
| 16 years                 | 248             | 27.8 | 0.34           | *          | 23.3 | 23.9 | 24.9 | 26.8 | 29.5 | 32.0 | 33.4 | *    |
| 17 years                 | 247             | 29.0 | 0.46           | *          | 23.4 | 24.4 | 25.3 | 28.1 | 31.4 | 33.0 | 35.5 | *    |
| 18 years                 | 272             | 29.3 | 0.58           | *          | 23.3 | 24.1 | 25.6 | 28.3 | 32.1 | 34.6 | 36.5 | *    |
| 19 years                 | 235             | 29.4 | 0.51           | *          | 24.6 | 25.0 | 25.9 | 28.0 | 31.1 | 34.2 | 36.9 | *    |

\* Figure does not meet standards of reliability or precision.

<sup>1</sup>Age shown is age at time of examination.

NOTE: Pregnant females were excluded.

**Table A-8** Body mass index values for children and adolescents aged 2-19 years by sex and age, by mean, standard error of mean, and selected percentiles: United States 2003-2006 (McDowell, Fryar, and Ogden et al., 2008)

| Sex and age <sup>1</sup> | Number examined | Mean | Standard error | Percentile      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------------|-----------------|------|----------------|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                          |                 |      |                | 5th             | 10th | 15th | 25th | 50th | 75th | 85th | 90th | 95th |
| Male                     |                 |      |                | Body mass index |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 2 years                  | 258             | 16.8 | 0.10           | 15.1            | 15.3 | 15.6 | 15.8 | 16.6 | 17.6 | 18.1 | 18.3 | 19.2 |
| 3 years                  | 209             | 16.2 | 0.11           | *               | 14.5 | 14.8 | 15.3 | 16.2 | 16.9 | 17.2 | 17.6 | *    |
| 4 years                  | 206             | 16.2 | 0.14           | *               | 14.1 | 14.3 | 14.8 | 16.0 | 16.9 | 17.7 | 18.4 | *    |
| 5 years                  | 202             | 16.8 | 0.25           | *               | 14.2 | 14.5 | 14.9 | 16.0 | 17.5 | 18.5 | 19.5 | *    |
| 6 years                  | 176             | 16.5 | 0.15           | *               | 14.2 | 14.7 | 15.0 | 16.1 | 17.4 | 18.7 | 19.1 | *    |
| 7 years                  | 181             | 16.9 | 0.24           | *               | 14.3 | 14.7 | 15.1 | 16.2 | 17.6 | 19.3 | 20.0 | *    |
| 8 years                  | 151             | 18.1 | 0.35           | *               | 14.6 | 15.0 | 15.5 | 17.2 | 19.1 | 20.8 | 22.5 | *    |
| 9 years                  | 176             | 18.4 | 0.34           | *               | 14.7 | 15.1 | 15.7 | 17.3 | 20.3 | 21.6 | 22.7 | *    |
| 10 years                 | 171             | 19.6 | 0.33           | *               | 15.5 | 15.7 | 16.5 | 18.0 | 21.8 | 24.4 | 26.0 | *    |
| 11 years                 | 158             | 20.5 | 0.54           | *               | 15.9 | 16.5 | 16.9 | 18.3 | 22.8 | 26.6 | 27.4 | *    |
| 12 years                 | 275             | 21.0 | 0.44           | 15.2            | 16.0 | 16.6 | 17.3 | 19.7 | 23.2 | 25.8 | 28.1 | 31.8 |
| 13 years                 | 284             | 21.8 | 0.40           | 15.7            | 16.8 | 17.3 | 17.8 | 20.8 | 24.0 | 25.9 | 28.5 | 31.5 |
| 14 years                 | 260             | 22.0 | 0.51           | 16.4            | 17.2 | 17.5 | 18.5 | 20.9 | 23.8 | 26.4 | 29.1 | 32.4 |
| 15 years                 | 270             | 23.2 | 0.36           | 17.7            | 17.9 | 18.7 | 19.7 | 21.9 | 25.0 | 27.7 | 30.5 | 31.6 |
| 16 years                 | 308             | 24.5 | 0.43           | 17.5            | 18.9 | 19.4 | 20.3 | 22.6 | 27.7 | 30.6 | 32.7 | 35.5 |
| 17 years                 | 278             | 24.0 | 0.45           | 18.3            | 18.8 | 19.0 | 20.0 | 22.4 | 26.7 | 29.4 | 31.3 | 34.0 |
| 18 years                 | 283             | 24.6 | 0.54           | 17.7            | 19.0 | 19.6 | 20.9 | 23.1 | 27.5 | 30.2 | 31.7 | 36.3 |
| 19 years                 | 271             | 25.6 | 0.53           | 18.4            | 19.3 | 20.1 | 21.6 | 24.2 | 28.6 | 31.7 | 34.0 | 36.4 |
| Female                   |                 |      |                |                 |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 2 years                  | 285             | 16.6 | 0.11           | *               | 14.7 | 15.1 | 15.4 | 16.3 | 17.4 | 18.3 | 18.7 | *    |
| 3 years                  | 187             | 16.3 | 0.18           | *               | 14.5 | 14.8 | 15.1 | 15.9 | 16.9 | 18.0 | 19.0 | *    |
| 4 years                  | 224             | 16.1 | 0.14           | *               | 14.3 | 14.6 | 15.0 | 15.8 | 16.7 | 17.1 | 18.0 | *    |
| 5 years                  | 199             | 16.2 | 0.19           | *               | 14.3 | 14.5 | 14.9 | 15.5 | 16.9 | 18.1 | 18.9 | *    |
| 6 years                  | 193             | 16.4 | 0.21           | *               | 14.1 | 14.5 | 14.8 | 15.9 | 17.3 | 18.4 | 19.4 | *    |
| 7 years                  | 157             | 17.1 | 0.26           | *               | 14.4 | 14.8 | 15.2 | 16.4 | 18.2 | 19.6 | 20.5 | *    |
| 8 years                  | 184             | 17.6 | 0.42           | *               | 14.2 | 14.6 | 15.1 | 16.6 | 18.7 | 21.5 | 22.8 | *    |
| 9 years                  | 185             | 18.9 | 0.36           | *               | 15.1 | 15.5 | 15.9 | 18.1 | 21.1 | 22.6 | 24.4 | *    |
| 10 years                 | 189             | 20.2 | 0.40           | *               | 15.3 | 15.7 | 16.5 | 19.3 | 22.4 | 25.7 | 26.9 | *    |
| 11 years                 | 174             | 21.3 | 0.47           | *               | 15.9 | 16.3 | 17.6 | 20.6 | 23.9 | 26.1 | 28.4 | *    |
| 12 years                 | 249             | 21.4 | 0.45           | *               | 15.5 | 16.9 | 18.0 | 20.0 | 23.1 | 27.5 | 29.0 | *    |
| 13 years                 | 292             | 22.7 | 0.35           | *               | 17.0 | 17.8 | 18.9 | 21.4 | 25.8 | 28.1 | 30.1 | *    |
| 14 years                 | 269             | 22.8 | 0.62           | *               | 17.7 | 18.1 | 18.6 | 21.2 | 25.2 | 28.9 | 31.0 | *    |
| 15 years                 | 247             | 23.2 | 0.28           | *               | 18.3 | 18.7 | 19.7 | 22.1 | 25.8 | 27.3 | 29.4 | *    |
| 16 years                 | 253             | 23.2 | 0.39           | *               | 18.5 | 19.1 | 20.1 | 21.5 | 25.0 | 27.4 | 30.1 | *    |
| 17 years                 | 252             | 25.0 | 0.60           | *               | 19.1 | 19.5 | 20.7 | 22.9 | 27.4 | 30.8 | 32.7 | *    |
| 18 years                 | 271             | 25.4 | 0.80           | *               | 18.5 | 19.1 | 20.7 | 23.5 | 28.2 | 33.1 | 34.7 | *    |
| 19 years                 | 238             | 25.3 | 0.64           | *               | 19.6 | 20.1 | 21.1 | 23.6 | 27.4 | 31.1 | 33.7 | *    |

\* Figure does not meet standards of reliability or precision.

<sup>1</sup>Age shown is age at time of examination.

NOTE: Pregnant females were excluded. Body mass index (BMI) is calculated as follows: BMI = weight(kilograms)/height(meters<sup>2</sup>).

## **Appendix B**

### **The Using Form in this Study**

## แบบสอบถามและบันทึกข้อมูลสำหรับการวิจัย

รหัสผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย .....

### โครงการวิจัยเรื่อง

“ภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลตและวิตามินบี 12 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช”

วันที่ตอบแบบสอบถาม (วัน/ เดือน/ ปี) ...../...../.....

ชื่อ.....สกุล.....HN.....

อยู่บ้านเลขที่.....หมู่.....ซอย .....ถนน .....

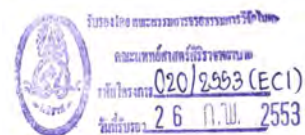
แขวง/ตำบล.....เขต/อำเภอ.....จังหวัด .....

รหัสไปรษณีย์.....เบอร์โทรศัพท์ที่ติดต่อได้.....

ผู้ที่สามารถติดต่อได้เมื่อมีเหตุฉุกเฉิน.....เกี่ยวข้องเป็น.....

เบอร์โทรศัพท์ที่ติดต่อได้.....

หมายเหตุ แยกเก็บข้อมูลนี้จากข้อมูลส่วนอื่น









รหัส.....

## ผลทางห้องปฏิบัติการ

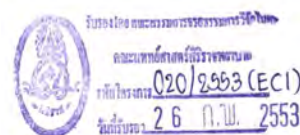
| รายการ                              | ค่าปกติ                   | ข้อมูลของผู้เข้าร่วมการวิจัย |
|-------------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| วันนัดตรวจ (วัน/เดือน/ปี)           |                           |                              |
| ความดันโลหิต (mmHg)                 | <130/80                   |                              |
| Albumin (g/dl)                      | 3.5-5.5                   |                              |
| Total protein (g/dl)                | 6.6-8.7                   |                              |
| Hb (g/dl)                           | ชาย > 14, หญิง > 12       |                              |
| Hct (%)                             | ชาย 42-52, หญิง 36-48     |                              |
| RBC count ( $\times 10^6$ /ul)      | ชาย 4.6-6.2, หญิง 3.9-5.6 |                              |
| MCV (fl)                            | 80-99                     |                              |
| MCH (pg)                            | 27-31                     |                              |
| MCHC (g/dl)                         | 31-35                     |                              |
| WBC count ( $\times 10^3$ /ul)      | 4-11                      |                              |
| Platelet count ( $\times 10^3$ /uL) | 150-440                   |                              |
| % Neutrophils                       | 40-74                     |                              |
| % Lymphocytes                       | 19-48                     |                              |
| % Monocytes                         | 3.4-9                     |                              |
| % Eosinophils                       | 0-7                       |                              |
| % Basophils                         | 0-1.5                     |                              |
| Reticulocyte count (%)              | 0.5-2                     |                              |
| Serum folate (ng/ml)                | 3-6                       |                              |
| RBC folate (ng/ml)                  | 140-160                   |                              |
| Vitamin B12 (pg/ml)                 | 191-663                   |                              |

(ส่วนที่ 2)

รหัส.....

## แบบประเมินภาวะโภชนาการโดยการวัดสัดส่วนของร่างกาย

| รายการ  | ค่าที่วัดได้ |
|---|--------------|
| <p>1. ค่าดัชนีมวลกาย (body mass index; BMI) [น้ำหนัก (กก.)/ความสูง(ม.)<sup>2</sup>]</p> <p>ภาวะโภชนาการอยู่ในเกณฑ์</p> <p>&lt; 18.5 = ผอมเกินไป      18.5 - 22.9 = น้ำหนักปกติ</p> <p>23 - 24.9 = น้ำหนักตัวเกิน      &gt; 25 = โรคอ้วน</p>   |              |
| <p>2. น้ำหนักตามเกณฑ์อายุ</p> <p>อยู่เหนือเส้น + 2 S.D. = น้ำหนักมากเกินเกณฑ์</p> <p>อยู่เหนือเส้น + 1.5 S.D. = น้ำหนักค่อนข้างมาก</p> <p>อยู่ระหว่างเส้น - 1.5 S.D. ถึง + 1.5 S.D. = น้ำหนักตามเกณฑ์</p> <p>อยู่ต่ำกว่าเส้น - 1.5 S.D. ถึง -2 S.D. = น้ำหนักค่อนข้างน้อย</p> <p>อยู่ต่ำกว่าเส้น -2 S.D. = น้ำหนักน้อยกว่าเกณฑ์</p>         |              |
| <p>3. ส่วนสูงตามเกณฑ์อายุ</p> <p>อยู่เหนือเส้น + 2 S.D. = สูง</p> <p>อยู่เหนือเส้น + 1.5 S.D. = ค่อนข้างสูง</p> <p>อยู่ระหว่างเส้น - 1.5 S.D. ถึง + 1.5 S.D. = ส่วนสูงตามเกณฑ์</p> <p>อยู่ต่ำกว่าเส้น - 1.5 S.D. ถึง -2 S.D. = ค่อนข้างเตี้ย</p> <p>อยู่ต่ำกว่าเส้น -2 S.D. = เตี้ย</p>   |              |
| <p>4. น้ำหนักตามเกณฑ์ส่วนสูง</p> <p>อยู่เหนือเส้น + 3 S.D. = อ้วน</p> <p>อยู่เหนือเส้น + 2 S.D. ถึง + 3 S.D. = เริ่มอ้วน</p> <p>อยู่เหนือเส้น + 1.5 S.D. ถึง + 2 S.D. = ท้วม</p> <p>อยู่ระหว่างเส้น - 1.5 S.D. ถึง + 1.5 S.D. = สมส่วน</p> <p>อยู่ต่ำกว่าเส้น - 1.5 S.D. ถึง -2 S.D. = ค่อนข้างผอม</p> <p>อยู่ต่ำกว่าเส้น -2 S.D. = ผอม</p> |              |
| <p>5. การประเมินไขมันเก็บสะสม (fat reserve)</p> <p>ความหนาที่ชั้นไขมันต้นแขนด้านหลัง (triceps skin fold) (mm.)</p> <p>ค่าเปอร์เซ็นต์ Body fat</p>   |              |
| <p>6. การประเมิน somatic protein</p> <p>Mid- arm circumference; MAC (cm.)</p> <p>Arm muscle circumference (MAMC) (cm.) = (MAC) - (0.314 x triceps skin fold)</p>  |              |



(ส่วนที่ 3)

รหัส.....

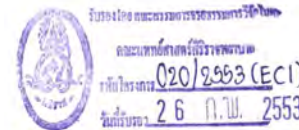
## แบบคัดกรองภาวะโภชนาการ

งานโภชนศาสตร์คลินิก โรงพยาบาลศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โทร. 02-419-7740-1

## ข้อมูลผู้ป่วย

วันที่ประเมิน.....

น้ำหนักปัจจุบัน .....กก. ส่วนสูง ..... ซม.

น้ำหนักเดิม .....กก. เมื่อ  เดือน  สัปดาห์ ที่ผ่านมาประเมินน้ำหนักโดย  ชั่ง  ชักตม  ประมาณผู้ประเมิน .....  แพทย์  เภสัชกร  พยาบาล

| 7 – point Subjective Global Assessment   |                                     | วันที่ประเมิน |
|--|-------------------------------------|---------------|
| <b>1. ประวัติน้ำหนักตัวเปลี่ยนแปลง (2 สัปดาห์ ถึง 6 เดือนที่ผ่านมา)</b><br>- น้ำหนักเพิ่ม คงที่ หรือลดลงเล็กน้อย (> 0.5 กก. แต่ < 1 กก.)<br>- น้ำหนักลดปานกลาง ( $\geq$ 1 กก. แต่ < 5%)<br>- น้ำหนักลดมาก ( $\geq$ 5%)                               | score 1-2<br>score 3-5<br>score 6-7 |               |
| <b>2. การรับประทานอาหารที่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติ</b><br>- ไม่เปลี่ยนแปลง หรือลดลงเล็กน้อยในช่วงสั้นๆ<br>- ปริมาณการรับประทานอาหารก้ำกึ่ง และปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงหลัง<br>- ปริมาณการรับประทานอาหารก้ำกึ่ง หรือปริมาณลดลงในช่วงหลังหรือกินน้อย          | score 1-2<br>score 3-5<br>score 6-7 |               |
| <b>3. อาการทางระบบทางเดินอาหารที่ผิดปกติ (คลื่นไส้, อาเจียน, ท้องเสีย, เบื่ออาหาร)</b><br>- ไม่มีอาการ หรือมีอาการเล็กน้อย เป็นๆ หายๆ<br>- มีอาการบ้าง มากกว่า 2 สัปดาห์ หรืออาการมากแต่เริ่มดีขึ้น<br>- มีอาการทุกวันหรือบ่อยมานานมากกว่า 2 สัปดาห์ | score 1-2<br>score 3-5<br>score 6-7 |               |
| <b>4. ความสามารถในการประกอบกิจวัตรประจำวัน</b><br>- ปกติ หรือลดลงเล็กน้อย แต่เริ่มดีขึ้น<br>- กิจวัตรประจำวันลดลงเล็กน้อย หรือลดลงมากแต่เริ่มดีขึ้น<br>- กิจวัตรประจำวันลดลงมากหรือต้องนอนบนเตียงตลอด  | score 1-2<br>score 3-5<br>score 6-7 |               |
| <b>5. Wasting of subcutaneous fat (ผอมซุบ ดูจากไขมันบริเวณแขน/ขา หน้าอก)</b><br>- ไม่มีหรือมีเพียงเล็กน้อย<br>- ปานกลางทั่วๆ ทั่วบริเวณ<br>- มากหรือรุนแรงในบางบริเวณหรือส่วนใหญ่  | score 1-2<br>score 3-5<br>score 6-7 |               |
| <b>6. Wasting of muscle (กล้ามเนื้อลีบเล็ก)</b><br>- ไม่มีหรือมีเพียงเล็กน้อย<br>- ปานกลางทั่วๆ ทั่วบริเวณ<br>- มากหรือรุนแรงในบางบริเวณหรือส่วนใหญ่   | score 1-2<br>score 3-5<br>score 6-7 |               |
| <b>7. Edema (บวมบริเวณขา เท้า ก้นกบ)</b><br>- ไม่มีหรือมีเพียงเล็กน้อย<br>- ปานกลาง<br>- มากหรือรุนแรง   | score 1-2<br>score 3-5<br>score 6-7 |               |
| <b>รวมคะแนน</b>  |                                     |               |

**ผลการประเมิน:** 1-14 คะแนน ปกติ, ติดตามประเมินสัปดาห์ละครั้ง  
 15-35 คะแนน ขาดอาหารเล็กน้อยถึงปานกลาง, ติดตามประเมินภายใน 3 วัน  
 36-49 คะแนน ขาดอาหารรุนแรง, ให้โภชนบำบัดทันที

### Weight loss score

| น้ำหนัก<br>ก่อน<br>ที่ลดลง<br>(กก.) | น้ำหนักที่<br>ลดลง<br>(กก.) | น้ำหนักที่<br>ลดลง<br>(กก.) | น้ำหนักที่<br>ลดลง<br>(กก.) |
|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                     | น้ำหนัก<br>ลดลง<br>< 5%     | น้ำหนัก<br>ลดลง<br>5-10 %   | น้ำหนัก<br>ลดลง<br>>10 %    |
| 34 kg                               | <1.70                       | 1.70-3.40                   | >3.40                       |
| 36 kg                               | <1.80                       | 1.80-3.60                   | >3.60                       |
| 38 kg                               | <1.90                       | 1.90-3.80                   | >3.80                       |
| 40 kg                               | <2.00                       | 2.00-4.00                   | >4.00                       |
| 42 kg                               | <2.10                       | 2.10-4.20                   | >4.20                       |
| 44 kg                               | <2.20                       | 2.20-4.40                   | >4.40                       |
| 46 kg                               | <2.30                       | 2.30-4.60                   | >4.60                       |
| 48 kg                               | <2.40                       | 2.40-4.80                   | >4.80                       |
| 50 kg                               | <2.50                       | 2.50-5.00                   | >5.00                       |
| 52 kg                               | <2.60                       | 2.60-5.20                   | >5.20                       |
| 54 kg                               | <2.70                       | 2.70-5.40                   | >5.40                       |
| 56 kg                               | <2.80                       | 2.80-5.60                   | >5.60                       |
| 58 kg                               | <2.90                       | 2.90-5.80                   | >5.80                       |
| 60 kg                               | <3.00                       | 3.00-6.00                   | >6.00                       |
| 62 kg                               | <3.10                       | 3.10-6.20                   | >6.20                       |
| 64 kg                               | <3.20                       | 3.20-6.40                   | >6.40                       |
| 66 kg                               | <3.30                       | 3.30-6.60                   | >6.60                       |
| 68 kg                               | <3.40                       | 3.40-6.80                   | >6.80                       |
| 70 kg                               | <3.50                       | 3.50-7.00                   | >7.00                       |
| 72 kg                               | <3.60                       | 3.60-7.20                   | >7.20                       |
| 74 kg                               | <3.70                       | 3.70-7.40                   | >7.40                       |
| 76 kg                               | <3.80                       | 3.80-7.60                   | >7.60                       |
| 78 kg                               | <3.90                       | 3.90-7.80                   | >7.80                       |
| 80 kg                               | <4.00                       | 4.00-8.00                   | >8.00                       |

| น้ำหนัก<br>ก่อน<br>ที่ลดลง<br>(กก.) | น้ำหนักที่<br>ลดลง<br>(กก.) | น้ำหนักที่<br>ลดลง<br>(กก.) | น้ำหนักที่<br>ลดลง<br>(กก.) |
|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                     | น้ำหนัก<br>ลดลง<br>< 5%     | น้ำหนัก<br>ลดลง<br>5-10 %   | น้ำหนัก<br>ลดลง<br>>10 %    |
| 82 kg                               | <4.10                       | 4.10-8.20                   | >8.20                       |
| 84 kg                               | <4.20                       | 4.20-8.40                   | >8.40                       |
| 86 kg                               | <4.30                       | 4.30-8.60                   | >8.60                       |
| 88 kg                               | <4.40                       | 4.40-8.80                   | >8.80                       |
| 90 kg                               | <4.50                       | 4.50-9.00                   | >9.00                       |
| 92 kg                               | <4.60                       | 4.60-9.20                   | >9.20                       |
| 94 kg                               | <4.70                       | 4.70-9.40                   | >9.40                       |
| 96 kg                               | <4.80                       | 4.80-9.60                   | >9.60                       |
| 98 kg                               | <4.90                       | 4.90-9.80                   | >9.80                       |
| 100 kg                              | <5.00                       | 5.00-10.00                  | >10.00                      |
| 102 kg                              | <5.10                       | 5.10-10.20                  | >10.20                      |
| 104 kg                              | <5.20                       | 5.20-10.40                  | >10.40                      |
| 106 kg                              | <5.30                       | 5.30-10.60                  | >10.60                      |
| 108 kg                              | <5.40                       | 5.40-10.80                  | >10.80                      |
| 110 kg                              | <5.50                       | 5.50-11.00                  | >11.00                      |
| 112 kg                              | <5.60                       | 5.60-11.20                  | >11.20                      |
| 114 kg                              | <5.70                       | 5.70-11.40                  | >11.40                      |
| 116 kg                              | <5.80                       | 5.80-11.60                  | >11.60                      |
| 118 kg                              | <5.90                       | 5.90-11.80                  | >11.80                      |
| 120 kg                              | <6.00                       | 6.00-12.00                  | >12.00                      |
| 122 kg                              | <6.10                       | 6.10-12.20                  | >12.20                      |
| 124 kg                              | <6.20                       | 6.20-12.40                  | >12.40                      |
| 126 kg                              | <6.30                       | 6.30-12.60                  | >12.60                      |
|                                     |                             |                             |                             |

(ส่วนที่ 4)

รหัส.....

## แบบบันทึกการบริโภคอาหารย้อนหลัง 24 ชั่วโมง

| มื้ออาหาร              | รายการอาหาร              | ส่วนประกอบ<br>(คร่าวๆ)                     | ปริมาณที่<br>รับประทาน                       |
|------------------------|--------------------------|--|--|
| ตัวอย่าง<br>มื้อเที่ยง | ข้าวกะเพราะไก่<br>ไข่ดาว | ข้าวสวย<br>เนื้อไก่<br>ใบกระเพรา<br>ไข่ไก่ | 2 ทัพพี<br>3 ช้อนโต๊ะ<br>2 ช้อนโต๊ะ<br>1 ฟอง |
| เช้า                   |                          |  |  |
| กลางวัน                |                          |  |  |
| เย็น                   |                          |  |  |
| ค้ำ หรืออาหารว่าง      |                          |  |  |

ภาพตัวอย่างเพื่อใช้กะประมาณปริมาณอาหารที่รับประทาน  
สำหรับบันทึกการบริโภคอาหารย้อนหลัง 24 ชั่วโมง

(ระบุเป็นหน่วยที่ใช้ในครัวเรือน เช่น ถ้วย ทัพพี ช้อนโต๊ะ ช้อนชา แก้ว มิลลิลิตร ช้อน ลูก ผล ฯลฯ)



กลุ่มข้าว-แป้ง เช่น ข้าวสวย 1 ทัพพี = 5 ช้อนกินข้าว



กลุ่มเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อสัตว์ 1 ช้อนกินข้าว = ปลาทู 1/2 ตัว = ไข่ 1/2 ฟอง = ตับ 1 ช้อนกินข้าว = ลูกชิ้น 2 ลูก เป็นต้น



กลุ่มผัก เช่น ผัก 1 ทัพพี



กลุ่มผลไม้ ผลไม้ 1 ส่วน = ผลไม้ขนาดเล็ก 6-8 ผล (เช่น ลำไย องุ่น) = ผลไม้ขนาดกลาง 1-2 ผล (เช่น ชมพู่ ส้ม) = ผลไม้ขนาดใหญ่ 6-8 ชิ้น (เช่น มะม่วง มะละกอ แดงโม สับปะรด)



กลุ่มนม เช่น นม 1 กล่อง



กลุ่มเครื่องดื่ม เช่น เบียร์ 1 แก้ว



กลุ่มขนมกินเล่น เช่น ปาท่องโก๋ 1 ตัว

## แบบสอบถามสำหรับการวิจัย

ประกอบด้วย

ส่วนที่ 1 แบบสอบถามข้อมูลทั่วไป

ส่วนที่ 2 แบบสอบถามข้อมูลการเกี่ยวกับภาวะโภชนาการ

รหัสผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย .....

### โครงการวิจัยเรื่อง

“ภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลตและวิตามินบี 12 ในผู้ป่วยชาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช”

วันที่ตอบแบบสอบถาม (วัน/เดือน/ปี) ...../...../.....

ชื่อ.....สกุล.....HN.....

อยู่บ้านเลขที่.....หมู่.....ซอย.....ถนน.....

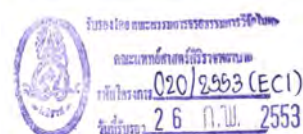
แขวง/ตำบล.....เขต/อำเภอ.....จังหวัด.....

รหัสไปรษณีย์.....เบอร์โทรศัพท์ที่ติดต่อได้.....

ผู้ที่สามารถติดต่อได้เมื่อมีเหตุฉุกเฉิน.....เกี่ยวข้องเป็น.....

เบอร์โทรศัพท์ที่ติดต่อได้.....

หมายเหตุ แยกเก็บข้อมูลนี้จากข้อมูลส่วนอื่น





(ส่วนที่ 1)

รหัส.....

## แบบสอบถามข้อมูลทั่วไป

สำหรับผู้วิจัย

1. เพศ  1. ชาย  2. หญิง
2. นับถือศาสนา  1. พุทธ  2. คริสต์  3. อิสลาม  4. อื่น ๆ (ระบุ).....
3. อายุ  1. 5 -10 ปี  2. 11 – 15 ปี  3. มากกว่า 15 ปีขึ้นไป
4. ปัจจุบันอาศัยอยู่กับ  1. บิดา/ มารดา  2.ญาติ/ ผู้ปกครอง   
 3. หอพัก/ บ้านเช่า  4. อื่น ๆ(ระบุ).....
5. ระดับการศึกษาของบิดา  1. ไม่ได้เรียนหนังสือ  2. ประถมศึกษา   
 3. มัธยมศึกษา  4. ปวช./ ปวส./ อนุปริญญา   
 5.ปริญญาตรี/ สูงกว่าปริญญาตรี
6. ระดับการศึกษาของมารดา  1. ไม่ได้เรียนหนังสือ  2. ประถมศึกษา   
 3. มัธยมศึกษา  4. ปวช./ ปวส./ อนุปริญญา   
 5.ปริญญาตรี/ สูงกว่าปริญญาตรี
7. อาชีพของบิดา  1. ไม่ได้ประกอบอาชีพ  2. รับราชการ   
 3. พนักงานรัฐวิสาหกิจ  4. ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว   
 5. อื่นๆ โปรดระบุ.....
8. อาชีพของมารดา  1. ไม่ได้ประกอบอาชีพ  2. รับราชการ   
 3. พนักงานรัฐวิสาหกิจ  4. ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว   
 5. อื่นๆ โปรดระบุ.....
9. รายได้เฉลี่ยของครอบครัว  1. ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5,000 บาท  2. 5,001 – 10,000 บาท   
 3. 10,001 – 20,000 บาท  4. 20,001 – 30,000 บาท   
 5. มากกว่า 30,000 บาท

10. สิทธิการรักษา □□  
 1. ชำระเงินเอง  2. เบิกต้นสังกัด/ โครงการเบิกจ่ายตรง  
 3. โครงการหลักประกันสุขภาพถ้วนหน้า  4. อื่นๆ โปรดระบุ.....
11. ท่านเคยได้รับความรู้เกี่ยวกับคำแนะนำทางโภชนาการหรือไม่ □□  
 1. เคย  2. ไม่เคย
12. ท่านรับประทานยา หรืออาหารเสริม หรือวิตามินอะไรเป็นประจำหรือไม่ □□  
 1. ไม่มี  2. มี (ระบุ).....

เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย  
(Participant Information Sheet)

เอกสารหมายเลข 3ก

ในเอกสารนี้อาจมีข้อความที่ท่านอ่านแล้วยังไม่เข้าใจ โปรดสอบถามหัวหน้าโครงการวิจัยหรือผู้แทนให้ช่วยอธิบายจนกว่าจะเข้าใจดี ท่านอาจจะขอเอกสารนี้กลับไปอ่านที่บ้านเพื่อปรึกษาหารือกับญาติพี่น้อง เพื่อนสนิท แพทย์ประจำตัวของท่าน หรือแพทย์ท่านอื่น เพื่อช่วยในการตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัย

**ชื่อโครงการวิจัย** ภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลต และวิตามินบี 12 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย**

เภสัชกรหญิงภุจิรา ทองกิจปรีชา นิสิตระดับปริญญาโท ชั้นปีที่ 2 สาขาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**แพทย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย** อ.นพ.บุญชู พงศ์ธนากุล แพทย์ประจำสาขาวิชาโรคโลหิตวิทยาและอองโคโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โทร. 0-2419-5688

**สถานที่วิจัย** หน่วยตรวจรักษาผู้ป่วยนอก สาขาวิชาโรคโลหิตวิทยาและอองโคโลยี  
ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

**สถานที่ทำงานและหมายเลขโทรศัพท์ของหัวหน้าโครงการวิจัยที่ติดต่อได้ทั้งในและนอกเวลา**  
ราชการ

ฝ่ายเภสัชกรรม โรงพยาบาลศิริราช โทรศัพท์ติดต่อ 08-5513-3312

**ผู้สนับสนุนทุนวิจัย** บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ระยะเวลาในการวิจัย** 1 ตุลาคม 2552 ถึง 30 ธันวาคม 2553 (15 เดือน)

**โครงการวิจัยนี้ทำขึ้นเพื่อ**

1. ประเมินภาวะโภชนาการของผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง
2. ศึกษาระดับโฟเลตในซีรัมและเม็ดเลือดแดง และวิตามินบี 12 ในซีรัมของผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง
3. ประเมินความสัมพันธ์ระหว่างภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลต และวิตามินบี 12 และค่าทางโลหิตวิทยาของผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง



## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

ทราบข้อมูลเกี่ยวกับภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลตในซีรัมและเม็ดเลือดแดง และวิตามินบี 12 ในซีรัม ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลต และวิตามินบี 12 และค่าทางโลหิตวิทยาของผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นแนวทางให้คำแนะนำในการบริโภคที่เหมาะสมของกลุ่มผู้ป่วย

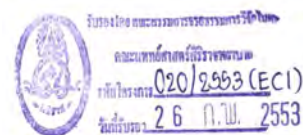
## ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมการวิจัยนี้เพราะ

1. ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง
2. เป็นเพศชายหรือหญิง อายุระหว่าง 5-15 ปี
3. มีระดับฮีโมโกลบินระหว่าง 7-10 กรัมต่อเดซิลิตร
4. ไม่มีภาวะติดเชื้อทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังหรือได้รับการผ่าตัดในช่วง 1 เดือนก่อนเข้าร่วมวิจัย
5. ไม่ได้รับยาปฏิชีวนะหรือหยุดยามาแล้วไม่น้อยกว่า 7 วัน เนื่องจากยาีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโฟเลต
6. ยินยอมเข้าร่วมการวิจัยด้วยความสมัครใจ ได้รับความยินยอมจากผู้ปกครอง และลงนามเป็นลายลักษณ์อักษรในหนังสือยินยอม

จะมีผู้เข้าร่วมการวิจัยนี้จำนวน 60 คน

หากท่านตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัยแล้ว จะมีขั้นตอนการวิจัย ซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 1 ชั่วโมงดังต่อไปนี้

1. ได้รับการชี้แจงข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัย ได้รับความยินยอมจากผู้ปกครอง และลงนามเป็นลายลักษณ์อักษรในหนังสือยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย
2. ทำแบบสอบถามข้อมูลทั่วไป ประวัติผู้ป่วย แบบแผนการบริโภคอาหาร และบันทึกการบริโภคอาหารย้อนหลัง 24 ชั่วโมง
3. ได้รับการประเมินภาวะโภชนาการโดยการวัดสัดส่วนของร่างกาย ได้แก่ ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง และประเมินโดยใช้แบบคัดกรองภาวะโภชนาการ
4. ได้รับคำแนะนำเกี่ยวกับโภชนาบำบัดพร้อมรับคู่มือแนะนำด้านโภชนาการสำหรับผู้ป่วยธาลัสซีเมีย
5. ได้รับการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำประมาณ 2 ซ้อนชา โดยห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลศิริราช เพื่อตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา ระดับโปรตีนในเลือด ระดับโฟเลตในซีรัมและเม็ดเลือดแดง และระดับวิตามินบี 12 ในซีรัม



### ความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อเข้าร่วมการวิจัย

ไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายใดๆ จากการเข้าร่วมโครงการวิจัยครั้งนี้ ท่านอาจเกิดรอยช้ำ เล็กน้อยบริเวณที่ได้รับการเจาะเลือดและบริเวณที่วัดความหนาของชั้นไขมัน และการตอบแบบสอบถาม จะใช้เวลาประมาณ 15 นาที

หากท่านไม่เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านก็จะได้รับการตรวจเพื่อการวินิจฉัยและรักษาโรคของท่านตามวิธีการที่เป็นมาตรฐานคือ เจาะเลือดเพื่อตรวจวัดความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด และพบแพทย์เพื่อรับการรักษา

หากมีข้อข้องใจที่จะสอบถามเกี่ยวข้องกับการวิจัย หรือหากเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการวิจัย ท่านสามารถติดต่อ เกสซ์กรหญิงภูริดา ทองกิจปรีชา โทรศัพท์ติดต่อ 08-5513-3312

ค่าใช้จ่ายที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะต้องรับผิดชอบเอง ค่ายาที่ท่านได้รับตามปกติ และค่าตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา สำหรับค่าใช้จ่ายในการตรวจเลือด เพื่อวิเคราะห์หาระดับโปรตีนในเลือด ระดับโฟเลตในซีรัมและเม็ดเลือดแดง และระดับวิตามินบี 12 ในซีรัม ผู้เข้าร่วมการวิจัยไม่ต้องรับผิดชอบ

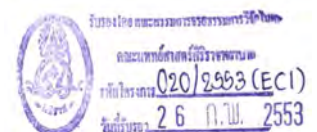
หากมีข้อมูลเพิ่มเติมทั้งด้านประโยชน์และโทษที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะแจ้งให้ทราบโดยรวดเร็วและไม่ปิดบัง

ข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัย จะถูกเก็บรักษาไว้โดยไม่เปิดเผยต่อสาธารณะเป็นรายบุคคล แต่จะรายงานผลการวิจัยเป็นข้อมูลส่วนรวมโดยไม่สามารถระบุข้อมูลรายบุคคลได้ ข้อมูลของผู้เข้าร่วมการวิจัยเป็นรายบุคคลอาจมีคณะบุคคลบางกลุ่มเข้ามาตรวจสอบได้ เช่น ผู้ให้ทุนวิจัย สถาบัน หรือองค์กรของรัฐที่มีหน้าที่ตรวจสอบ รวมถึงคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน เป็นต้น

ผู้เข้าร่วมการวิจัยมีสิทธิถอนตัวออกจากโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่ต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า และการไม่เข้าร่วมการวิจัยหรือถอนตัวออกจากโครงการวิจัยนี้ จะไม่มีผลกระทบต่อการบริการและการรักษาที่สมควรจะได้รับตามมาตรฐานแต่ประการใด

หากท่านได้รับการปฏิบัติที่ไม่ตรงตามที่ได้ระบุไว้ในเอกสารชี้แจงนี้ ท่านสามารถแจ้งให้ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนทราบได้ที่ สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน ตึกอดุลยเดชวิกรม ชั้น 6 ร.พ.ศิริราช โทร. (02) 419-6405-6 โทรสาร (02) 419-6405

ลงชื่อ..... ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย / วันที่.....  
(.....)



หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย  
สำหรับผู้ป่วย/ผู้แทนโดยชอบธรรม  
(Informed Consent Form)

เอกสารหมายเลข 3ข

วันที่..... เดือน..... พ.ศ.....

ข้าพเจ้า ชื่อ..... อายุ  
..... ปี

อาศัยอยู่บ้านเลขที่..... ถนน..... แขวง/ตำบล

.....เขต/อำเภอ.....จังหวัด

.....รหัสไปรษณีย์.....โทรศัพท์.....

ขอแสดงเจตนายินยอมให้เด็กในปกครองของข้าพเจ้า ชื่อ.....  
เข้าร่วมโครงการวิจัยเรื่อง ภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลต และวิตามินบี 12 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิด  
รุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

โดยข้าพเจ้าและเด็กในปกครองของข้าพเจ้า ได้รับทราบรายละเอียดเกี่ยวกับที่มาและ  
จุดมุ่งหมายในการทำวิจัย รายละเอียดขั้นตอนต่างๆ ที่ต้องปฏิบัติหรือได้รับการปฏิบัติ  
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับของการวิจัย และความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมการวิจัย  
รวมทั้งแนวทางป้องกันและแก้ไขหากเกิดอันตรายขึ้น ค่าใช้จ่ายที่เด็กในปกครองของข้าพเจ้า  
จะต้องรับผิดชอบจ่ายเอง โดยได้อ่านข้อความที่มีรายละเอียดอยู่ในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการ  
วิจัยโดยตลอด อีกทั้งยังได้รับคำอธิบายและตอบข้อสงสัยจากหัวหน้าโครงการวิจัยเป็นที่  
เรียบร้อยแล้ว

เด็กในปกครองของข้าพเจ้าจึงสมัครใจเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้

หากข้าพเจ้าและเด็กในปกครองของข้าพเจ้า มีข้อข้องใจเกี่ยวกับขั้นตอนของการวิจัย  
หรือหากเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการวิจัยขึ้นกับเด็กในปกครองของข้าพเจ้า  
ข้าพเจ้าจะสามารถติดต่อกับ

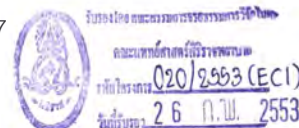
หัวหน้าโครงการวิจัย

เภสัชกรหญิงกฤษิตา ทองกิจปรีชา นิสิตระดับปริญญาโท ชั้นปีที่ 2 สาขาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทาง  
การแพทย์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่อยู่ 32/2 หมู่ 9 แขวงบางด้วน เขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ 10160 โทรศัพท์ติดต่อ 08-5513-3312

สถานที่ทำงาน ฝ่ายเภสัชกรรม โรงพยาบาลศิริราช โทรศัพท์ติดต่อ 02-419-7807

แพทย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย



อ.นพ.บุญชู พงศ์ธนากุล แพทย์ประจำสาขาวิชาโรคโลหิตวิทยาและอองโคโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โทร. 0-2419-5688

หากเด็กในปกครองของข้าพเจ้า ได้รับการปฏิบัติไม่ตรงตามที่ระบุไว้ในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย ข้าพเจ้าสามารถติดต่อกับประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนได้ที่ สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน ดิโกดูลยเดชวิกรม ชั้น 6 ร.พ.ศิริราช โทร. (02) 419-6405-6 โทรสาร (02) 419-6405

ข้าพเจ้าได้ทราบถึงสิทธิที่เด็กในปกครองของข้าพเจ้า จะได้รับข้อมูลเพิ่มเติมทั้งทางด้านประโยชน์และโทษจากการเข้าร่วมการวิจัย และสามารถถอนตัวหรืองดเข้าร่วมการวิจัยได้ทุกเมื่อโดยไม่ต้องแจ้งล่วงหน้าหรือระบุเหตุผล โดยจะไม่มีผลกระทบต่อค่าบริการและการรักษาพยาบาลที่และเด็กในปกครองของข้าพเจ้าจะได้รับต่อไปในอนาคต และยินยอมให้ผู้วิจัยใช้ข้อมูลส่วนตัวของและเด็กในปกครองของข้าพเจ้าที่ได้รับจากการวิจัย แต่จะไม่เผยแพร่ต่อสาธารณะเป็นรายบุคคล โดยจะนำเสนอเป็นข้อมูลโดยรวมจากการวิจัยเท่านั้น

ข้าพเจ้าได้เข้าใจข้อความในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย และหนังสือแสดงเจตนายินยอมนี้โดยตลอดแล้ว จึงลงลายมือชื่อไว้

ลงชื่อ.....ผู้ปกครอง/ผู้แทนโดยชอบธรรม/วันที่.....  
(.....)

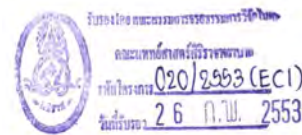
ลงชื่อ.....ผู้ให้ข้อมูลและขอความยินยอม/หัวหน้าโครงการวิจัย/วันที่.....  
(เภสัชกรหญิงภูริตา ทองกิจปรีชา)

ในกรณีผู้เข้าร่วมการวิจัยอ่านหนังสือไม่ออก ผู้ที่อ่านข้อความทั้งหมดแทนผู้เข้าร่วมการวิจัยคือ  
.....

จึงได้ลงลายมือชื่อไว้เป็นพยาน

ลงชื่อ.....พยาน/วันที่.....  
(.....)

เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย  
และหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย  
(สำหรับเด็ก)



**ชื่อโครงการ** ภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลตและวิตามินบี 12 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

การศึกษาวิจัยคือ โครงการที่วางแผนอย่างละเอียด เพื่อตอบคำถามเกี่ยวกับสุขภาพเพื่อช่วยเหลือผู้อื่นต่อไป

ธาลัสซีเมียเป็นโรคทางพันธุกรรม ผู้ที่เป็นอาจมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะทุพโภชนาการ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโต และการสร้างเม็ดเลือด โดยอาจมีระดับโฟเลตและวิตามินบี 12 ต่ำกว่าปกติ หนูได้รับเชิญเข้าร่วมโครงการนี้ เนื่องจากภาวะทุพโภชนาการสามารถพบได้ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ซึ่งหนูมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะนี้ได้ และการตรวจหาภาวะทุพโภชนาการที่เกิดขึ้น ทำได้โดยการประเมินภาวะโภชนาการด้วยการวัดสัดส่วนของร่างกาย และค่าทางห้องปฏิบัติการ

สิ่งที่หมอจะทำกับหนูโดยใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงคือ

- ชี้แจงข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัย ได้รับความยินยอมจากผู้ปกครอง และลงนามเป็นลายลักษณ์อักษรในหนังสือยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย
- สอบถามข้อมูลทั่วไป ประวัติ อุปนิสัยในการบริโภคอาหาร และสอบถามการบริโภคอาหารย้อนหลัง 24 ชั่วโมง
- ประเมินภาวะโภชนาการโดยชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง ความหนาชั้นไขมันใต้ผิวหนัง และประเมินโดยใช้แบบคัดกรองภาวะโภชนาการ
- ให้คำแนะนำเกี่ยวกับโภชนาบำบัด และคู่มือแนะนำด้านโภชนาการแก่ผู้ป่วยธาลัสซีเมีย
- เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำประมาณ 2 ซ้อนชา โดยห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลศิริราช เพื่อตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา ระดับโปรตีนในเลือด ระดับโฟเลตและวิตามินบี 12 ในเลือด

ประโยชน์ที่หนูจะได้รับจากโครงการนี้คือ

1. หนูจะรู้ว่ามีความเสี่ยงภาวะโภชนาการ ระดับโฟเลตและวิตามินบี 12 อยู่ในเกณฑ์ปกติหรือไม่
2. ถ้าหนูมีภาวะทุพโภชนาการ และระดับโฟเลตและวิตามินบี 12 ในร่างกายต่ำกว่าปกติ หนูจะได้รับคำแนะนำเกี่ยวกับโภชนาการที่เหมาะสม
3. โครงการนี้จะเป็นประโยชน์กับเด็กอื่นๆ เพื่อให้คำแนะนำเกี่ยวกับโภชนาการที่เหมาะสม

โปรดอ่านข้อมูลนี้อย่างละเอียดหรือขอให้ผู้อื่นอ่านข้อมูลนี้ให้หนูฟัง และขอให้หนูใช้เวลาทบทวนข้อมูลเหล่านี้กับคุณพ่อคุณแม่ ถ้ามีข้อสงสัยเกี่ยวกับโครงการนี้ หนูสามารถโทรติดต่อ เกษัชกรหญิงภุริตา ทองกิจปรีชา ได้ที่เบอร์ 085-513-3312 หรือ 02-419-7807

หนูไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการถ้าหนูไม่ต้องการ จะไม่มีใครบังคับหนูขึ้นอยู่กับหนูโดยสิ้นเชิง หนูจะมีเวลาอย่างเหลือเฟือในการถามคำถาม การที่หนูสามารถเข้าใจคำตอบได้เป็นสิ่งสำคัญ ถ้าหนูตกลงเข้า



ร่วมโครงการ เราจะขอให้หนูลงลายมือชื่อในหนังสือแสดงความสมัครใจฉบับนี้ จะมีการขอให้บิดา มารดา ผู้ปกครอง หรือผู้แทนตามกฎหมายของหนูลงลายมือชื่อในแบบฟอร์มเพื่อให้อนุญาตด้วยเฉพาะ ในกรณีที่หนูสบายใจเกี่ยวกับโครงการวิจัยนี้เท่านั้น

หนูสามารถหยุดการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ได้ทุกเมื่อ ก่อนหรือหลังจากที่โครงการวิจัยนี้ได้เริ่มขึ้นแล้ว หนูไม่จำเป็นต้องให้เหตุผล และถ้าหนูตอบปฏิเสธจะไม่มีใครโกรธ ผลการตรวจของหนูจะถูกเก็บเป็น ความลับ และจะแจ้งผลให้หนูกับคุณพ่อคุณแม่ทราบเท่านั้น

งานวิจัยนี้มีผู้ตรวจสอบว่างานวิจัยดีพอที่จะทำได้คือ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะ แพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ตรวจสอบการศึกษาวิจัยอย่างละเอียดแล้ว พวกเขาได้อ่านทุกอย่างที่เกี่ยวกับการศึกษาวิจัย และได้อนุญาตให้ดำเนินโครงการวิจัยได้

โครงการวิจัยนี้จะมีเด็กจำนวน 60 คน เข้าร่วมโครงการวิจัย ซึ่งมีอายุตั้งแต่ 5-15 ปี

หนู ชื่อ ..... อายุ .....  
 อยู่บ้านเลขที่ .....

หมอได้อธิบายข้อมูลและขั้นตอนต่างๆ ในการตรวจข้างต้นให้ฟังแล้ว และหนูทราบว่าจะยินดีเข้าร่วม โครงการหรือไม่ก็ได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อการศึกษาพยาบาลของหนู

หนูเข้าใจโครงการนี้และโดยความเห็นชอบของผู้ปกครองของหนูจึงได้ตกลงเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| .....                       | .....                                   |
| (.....)                     | (เภสัชกรหญิงกฤษิตา ทองกิจปรีชา)         |
| เด็กที่เข้าร่วมโครงการวิจัย | ผู้ชี้แจงและเชิญให้เข้าร่วมโครงการวิจัย |
| วันที่ .....                | วันที่ .....                            |

.....  
 (.....)

พยาน

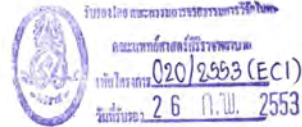
หมายเหตุ 1. พยานจะต้องมี เฉพาะในกรณีที่ผู้อ่านเอกสารชี้แจงนี้ให้เด็กฟังเท่านั้น

2. บิดา หรือมารดา หรือผู้ปกครองของเด็กต้องลงนามยินยอมใน Consent form ต่างหาก



## **Appendix C**

### **The Dietary Guideline for Thalassemia Patients**



## คู่มือแนะนำโภชนาการ สำหรับผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

จัดทำโดย

ภญ. กุริตา ทองกิจปรีชา และ ภญ. ดวงกมล งามภัทรางกูร

นิสิตปริญญาโท สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์

ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาวะโภชนาการที่ดี จะทำให้ร่างกายมีความแข็งแรง มีการเจริญเติบโต และ พัฒนาการที่เหมาะสมตามวัย เด็กที่เป็นโรคธาลัสซีเมียจะมีน้ำหนักและส่วนสูงต่ำกว่าค่ามาตรฐานเมื่อเปรียบเทียบกับเด็กในวัยเดียวกัน มีรูปร่างผอม แขนขาลีบ และเจริญเติบโตไม่สมวัย ดังนั้นผู้ป่วยควรรับประทานอาหารอย่างเพียงพอที่มีสารอาหาร วิตามิน และแร่ธาตุครบถ้วน



ผู้ป่วยธาลัสซีเมียจะมีระดับวิตามินและแร่ธาตุ เช่น โฟเลต วิตามินบี 12 วิตามินดี แคลเซียม ทองแดง สังกะสี ซีลีเนียม รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินอี และวิตามินซี ในปริมาณน้อยกว่าปกติ แต่สำหรับผู้ที่ได้รับเลือดเป็นประจำจะมีธาตุเหล็กในร่างกายเกิน ภาวะการขาดและเกินที่เกิดขึ้นจึงส่งผลกระทบต่อภาวะโภชนาการของผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้

การได้รับสารอาหารที่จำเป็น เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามินและ



แร่ธาตุอย่างครบถ้วนและเหมาะสม จะช่วยให้ผู้ป่วยมีภาวะโภชนาการที่ดี มีการเจริญเติบโต และพัฒนาการที่ดีขึ้น อาหารที่รับประทานจะมีมากมายหลายชนิด ดังนั้นผู้ป่วยควรเลือกรับประทานอาหารหลักให้ครบ 5 หมู่



## อาหารหลัก 5 หมู่

หมู่ที่ 1 นม ไข่ เนื้อสัตว์ต่าง ๆ ถั่วเมล็ดแห้ง และอาหารหมู่นี้เป็นแหล่งโปรตีนซึ่งช่วยให้ร่างกายเจริญเติบโต แข็งแรง และช่วยซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ



หมู่ที่ 2 ข้าว แป้ง เผือกมัน น้ำตาล อาหารหมู่นี้จะให้พลังงานแก่ร่างกาย



หมู่ที่ 3 น้ำมัน และไขมันจากพืช และสัตว์ เป็นอาหารที่ให้พลังงานและกรดไขมันจำเป็นแก่ร่างกาย



หมู่ที่ 4 พืชผักต่างๆ จะให้วิตามินและเกลือแร่ ทำให้ร่างกายแข็งแรง ต้านทานเชื้อโรค และทำให้อวัยวะต่างๆ ทำงานได้อย่างเป็นปกติ

หมู่ที่ 5 ผลไม้ต่างๆ จะให้วิตามินและเกลือแร่ และมีกากอาหาร ช่วยทำให้การขับถ่ายของลำไส้เป็นปกติ



การบริโภคใน 1 วัน ควรรับประทานอาหารให้มีความหลากหลายได้สัดส่วนในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อให้ได้พลังงานและสารอาหารเพียงพอสำหรับร่างกาย โดยรับประทานตามหลัก ธงโภชนาการ ของกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข



## โภชนาการและธาตุซีเมีย

อาหารในหมู่ต่าง ๆ จะให้สารอาหารที่จำเป็นต่อการทำงานตามปกติของร่างกาย อาหารเหล่านี้ประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในเด็กที่เป็นโรคธาลัสซีเมีย

### โปรตีน

โปรตีนเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อร่างกาย แหล่งของโปรตีนจากอาหารได้มาจากทั้งพืชและสัตว์ ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อสัตว์ ไข่ นม และธัญพืช ปริมาณโปรตีนที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับเด็กอายุ 6-8 ปี คือประมาณวันละ 28 กรัมต่อวัน และเด็กอายุ 9-15 ปี ประมาณวันละ 40-63 กรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ คือ 1 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม



### คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งอาหารสำคัญที่ให้พลังงาน สำหรับผู้ที่มีอายุมากกว่า 6 ปีขึ้นไป ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่แนะนำให้บริโภคต่อวันคิดเป็นร้อยละ 60 ของพลังงานทั้งหมดที่ได้รับต่อวัน (2,000 กิโลแคลอรี) หรือประมาณ 300 กรัมต่อวัน



## ไขมัน



ไขมันให้พลังงาน ช่วยในการดูดซึมและขนส่งวิตามินที่ละลายในไขมันไปยังอวัยวะต่างๆ อีกทั้งยังให้กรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย แหล่งที่พบ ได้แก่ น้ำมันจากพืชและสัตว์ เช่น น้ำมันถั่วเหลือง กะทิ น้ำมันปลา เนย และไข่แดง เป็นต้น ปริมาณไขมันที่แนะนำต่อวันคิดเป็นร้อยละ 30 ของพลังงานทั้งหมดที่ได้รับต่อวัน (2,000 กิโลแคลอรี)

### วิตามินและแร่ธาตุ

#### เหล็ก



ผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียที่ได้รับเลือดเป็นประจำจะมีธาตุเหล็กในร่างกายเกิน ดังนั้นควรหลีกเลี่ยงอาหารที่มีธาตุเหล็กสูงในกลุ่มเนื้อสัตว์ และไม่รับประทานอาหารที่มีธาตุเหล็กสูงในพืชผักร่วมกับอาหารที่เพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็กแต่สามารถกินแยกกันได้ และควรรับประทานอาหารที่ลดการดูดซึมธาตุเหล็ก

#### ความต้องการธาตุเหล็กใน 1 วัน (กองโภชนาการ กรมอนามัย)

| อายุ (ปี) | เพศ        | ความต้องการธาตุเหล็กใน 1 วัน |
|-----------|------------|------------------------------|
| 4-9       | ชายและหญิง | วันละ 10 มิลลิกรัม           |
| 10-15     | ชาย        | วันละ 12 มิลลิกรัม           |
| 10-15     | หญิง       | วันละ 15 มิลลิกรัม           |





| อาหารที่มีธาตุเหล็กสูง   | ตัวอย่างอาหาร  |
|--|--|
| <b>กลุ่มเนื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์</b><br> | เครื่องในสัตว์ เช่น หัวใจ ตับ ไข่ ปอด<br>เลือดสัตว์ต่างๆ ไช้กึ่ง ปลากระบอก ปลิงทะเล<br>หอยนางรม หอยแครง หอยกะพง หอยขม<br>หอยตลับ หอยแมลงภู่ หอยลาย หอยเสียบ<br>หอยหลอด ไช้แดง ลูกชิ้นเนื้อวัว หมูหยอง<br>กุ้งแห้ง กะปิ |
| <b>กลุ่มข้าวและธัญพืช</b><br>             | กลอย งา ฟองเต้าหู้ ถั่วแดงหลวง ถั่วดำ เมล็ด<br>พักทอง เมล็ดบัว (แห้ง) มันเทศ เผือก   |
| <b>กลุ่มพืชผัก</b><br>                  | ใบชะพลู หน่อไม้ฝรั่ง ผักกาดเขียว ผักกาดดอง<br>ผักกูด ผักชีฝรั่ง มะเขือพวง เห็ดหูหนู สาหร่าย<br>ทะเล ดอกโสน ต้นหอม  |
| <b>กลุ่มผลิตภัณฑ์ผลไม้แปรรูป</b>   | สมอจีน (แห้ง) เปลือกส้มจีน (แห้ง)  |



| อาหารที่เพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็ก   |  |
|---|--|
|  | เซอร์รี แคนตาลูป สตรอเบอร์รี่<br>มะปราง มะไฟ มะม่วงหิมพานต์<br>บร็อคโคลี่ มะเขือเทศ<br>พริกไทย ไวน์ขาว |

| อาหารที่ลดการดูดซึมของธาตุเหล็ก   |  |
|---|--|
|  | ไวน์แดง ชา กาแฟ มันฝรั่ง<br>ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง เช่น นํ้านม<br>ถั่วเหลือง เต้าหู้ |

### ตัวอย่างรายการอาหารที่มีธาตุเหล็กสูง

- ✘ แกงจืดเลือดหมู
- ✘ ผัดถั่วงอกกับเลือดหมูและตับหมู
- ✘ ผัดเปรี้ยวหวานตับ
- ✘ ก๋วยจั๊บเครื่องใน



- ✘ แกงคั่วสับปะรดกับหอยแมลงภู่แห้ง
- ✘ ต้มซี่โครงหมู
- ✘ ตับหวาน
- ✘ ก๋วยเตี๋ยวน้ำตก
- ✘ ก๋วยเตี๋ยวใส่เครื่องใน
- ✘ ผัดเผ็ดหอยลาย
- ✘ ผัดกะเพราเครื่องใน
- ✘ ปลิงทะเลน้ำแดง
- ✘ ผัดหน่อไม้ฝรั่ง
- ✘ ยำผักกาดดอง
- ✘ ยำกุ้งแห้ง
- ✘ แกงจืดสาหร่ายทะเล
- ✘ กลอยทอด



## โฟเลต

ผู้ที่เป็นโรคธาลัสซีเมีย เม็ดเลือดแดงจะมีอายุสั้นกว่าปกติ ทำให้ต้องการใช้โฟเลตในการสร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ปริมาณโฟเลตอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับเด็กอายุ 1-8 ปี คือ 150-200 ไมโครกรัมต่อวัน อายุ 9-12 ปี เท่ากับ 300 ไมโครกรัมต่อวัน อายุ 13 ปีขึ้นไปเท่ากับ 400 ไมโครกรัมต่อวัน

หากขาดจะทำให้เกิดความผิดปกติ ได้แก่ การเจริญเติบโตของเซลล์สร้างเม็ดเลือดแดงในไขกระดูกหยุดชะงัก การสร้างเม็ดเลือดแดงผิดปกติ เบื่ออาหาร ติดเชื้อง่าย

อาหารที่อุดมไปด้วยโฟเลต ได้แก่ ผักใบเขียวหน่อไม้ฝรั่ง ข้าว ถั่วเขียว อย่างไรก็ตามอาหารที่มีโฟเลตสูงบางชนิดมีเหล็กในปริมาณที่สูงด้วย จึงต้องระมัดระวังในการเลือกชนิดของอาหารให้เหมาะสม



## วิตามินบี 12



เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ และกระบวนการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโน และกรดไขมัน ถ้าขาดจะทำให้เกิดความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง และระบบประสาท แหล่งอาหาร ได้แก่ เนื้อสัตว์ ไข่ นม ไม่พบในพืช ปริมาณที่แนะนำแต่ละวันในเด็กอายุ 4-8 ปี ได้แก่ 1.2 ไมโครกรัม เด็กอายุ 9-18 ปี เท่ากับ 2.4 ไมโครกรัม



## วิตามินซี

วิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เกี่ยวข้องกับการสร้างคอลลาเจนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของกระดูก และฟัน

เด็กอายุ 1-8 ปี ต้องการวิตามินซีวันละ 40 มิลลิกรัม  
 อายุ 9-12 ปี ต้องการวันละ 45 มิลลิกรัม วัยรุ่นชายอายุ 13-15 ปี ต้องการวันละ 75 มิลลิกรัม ขณะที่วัยรุ่นหญิง ต้องการวันละ 65 มิลลิกรัม เมื่อมีอายุ 16 ปีขึ้นไป ผู้ชาย ต้องการวันละ 90 มิลลิกรัม และผู้หญิงต้องการวันละ 75 มิลลิกรัม



อาหารที่มีวิตามินซีเป็นจำนวนมาก ได้แก่ มะขามป้อม มะนาว ส้ม ฝรั่ง มะเขือเทศ สตรอเบอรี่ บร็อคโคลี่ การขาดวิตามินซีจะทำให้เป็นโรคเลือดออกตามไรฟัน

## วิตามินอี

วิตามินอีมีบทบาทเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ถ้าร่างกายขาดจะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ง่าย เกิดภาวะโลหิตจาง ระบบประสาทผิดปกติ ร่างกายมีความต้องการ 15 มิลลิกรัมต่อวัน

อาหารที่อุดมด้วยวิตามินอี ได้แก่ น้ำมันจากพืช และสัตว์ อัลมอนต์ เมล็ดดอกทานตะวัน เนยถั่ว



## แร่ธาตุสำหรับผู้ป่วยโรคไต

| แร่ธาตุ   | ประโยชน์   | อาการขาด   | แหล่งอาหาร   |
|---|--|--|--|
| <b>แคลเซียม</b><br>    | มีบทบาทต่อกระดูก ฟัน และระบบอื่นๆ                        | โรคกระดูกอ่อน หงุดหงิดง่าย มือเท้าชา เป็นตะคริวบ่อย      | นม โยเกิร์ต ปลากรอบที่กินได้ทั้งกระดูก ปูม้า ปูทะเล ไบยอ ผักโขม สะระแหน่ ผักหวาน ตำลึง ผักกวางตุ้ง |
| <b>สังกะสี</b><br>     | สารต้านอนุมูลอิสระ เกี่ยวข้องกับกระบวนการเผาผลาญสารอาหาร | การเจริญเติบโตช้า ผิวหนังอักเสบ ภูมิคุ้มกันต่ำ แผลหายช้า | หอยนางรม เนื้อแดง อาหารทะเล ธัญพืช และถั่วต่างๆ  |
| <b>แมกนีเซียม</b><br> | การทำงานของเส้นประสาท การยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ           | ชัก กล้ามเนื้ออ่อนแรง ความดันโลหิตต่ำ และหมดสติ          | ถั่ว ธัญพืชไม่ขัดสี ผักใบเขียว ผลไม้   |
| <b>ซิลิเนียม</b><br> | สารต่อต้านอนุมูลอิสระ                                    | กล้ามเนื้อหัวใจผิดปกติ กล้ามเนื้ออ่อนแรง                 | ธัญพืชไม่ขัดสี อาหารทะเล ปลาทูน่า  |



## สรุปข้อควรปฏิบัติ

♥ รับประทานอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วนในปริมาณที่เหมาะสม เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ นม ผักสด และผลไม้ต่างๆ

♥ หลีกเลี่ยงอาหารที่มีธาตุเหล็กสูง เช่น เลือดสัตว์ต่าง ๆ และเครื่องในสัตว์ เป็นต้น



♥ เครื่องดื่มประเภท ชา นมถั่วเหลือง สามารถช่วยลดการดูดซึมธาตุเหล็กได้

♥ ห้ามรับประทานยาบำรุงเลือดที่มีธาตุเหล็กทุกชนิด เพราะจะทำให้มีธาตุเหล็กสะสมในร่างกายมากและเร็วกว่าที่ควร

♥ รักษาสุขภาพอนามัยในช่องปาก โดยทำความสะอาดปากและฟันหลังอาหารทุกมื้อ และควรตรวจฟันทุก 6 เดือน เนื่องจากฟันจะผุง่าย



♥ หลีกเลี่ยงการทำงานหนัก หรือการเล่นกีฬาที่รุนแรง

♥ ไม่ควรซื้อผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร วิตามินและแร่ธาตุมารับประทานเองโดยไม่ปรึกษาแพทย์หรือเภสัชกร เพราะอาจมีส่วนประกอบของเหล็กประกอบอยู่



## ตัวอย่างอาหาร

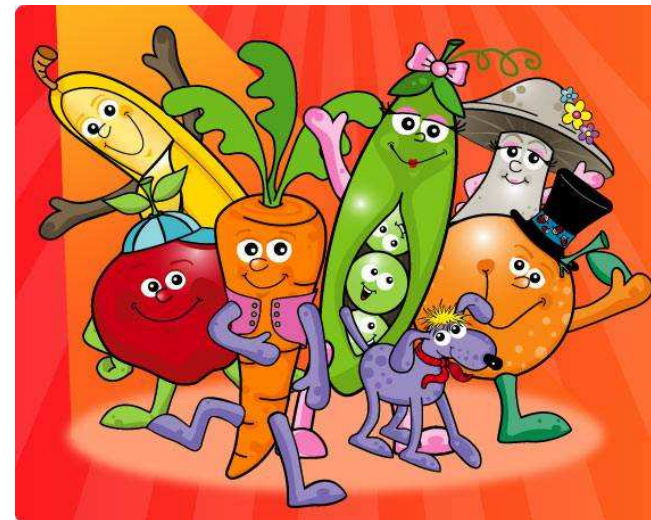
| มือเช้า   | มือกลางวัน  | มือเย็น   |
|---|---|---|
| <p>วันที่ 1</p> <p>ข้าวต้มข้าวกล้อง<br/>ผัดผักบุ้งไฟแดง<br/>ปลาเนื้อขาวเห็ดหอม<br/>ชมพู</p>  | <p>ก๋วยเตี๋ยวราดหน้าปลา<br/>ฝรั่ง</p>                                    | <p>ข้าวกล้อง<br/>ผัดผักรวมใส่ไก่ (กะหล่ำปลี<br/>แครอท เห็ดหอม)<br/>แคนตาลูป</p>  |
| <p>วันที่ 2</p> <p>นมไขมันต่ำ<br/>โจ๊กหมูสับ<br/>แก้วมังกร</p>                              | <p>ข้าวผัดสามสีใส่กุ้ง<br/>(แครอท ถั่วลันเตา<br/>สับปะรด)<br/>ชมพู</p>  | <p>ข้าวกล้อง<br/>แกงส้มมะละกอ<br/>ไข่เจียวหอมใหญ่<br/>แตงโม</p>                 |
| <p>วันที่ 3</p> <p>ข้าวต้มปลากะพง<br/>โอวัลติน<br/>แคนตาลูป</p>                            | <p>ก๋วยเตี๋ยวเส้นหมี่น้ำ<br/>ส้ม</p>                                   | <p>ข้าวกล้อง<br/>ต้มจืดผักกาดขาวเต้าหู้ไข่<br/>ปลานิลทอด<br/>สับปะรด</p>       |

### เอกสารอ้างอิง

1. บุญชู พงศ์ธนากุล, กุลวรา เมฆสุวรรณค์. โภชนาการในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย. กรุงเทพฯ: หจก. มีเดียแมท.
2. ประสงค์ เทียนบุญ. 2549. การเสริมวิตามิน - แร่ธาตุ และ CRN ในปรีกำเนิด. วารสารโภชนบำบัด 17 (2): 73-85.
3. คณะกรรมการจัดทำข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันสำหรับ คนไทย กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2546. ปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย พ.ศ. 2546 ปรับปรุงครั้งที่ 3. [Online]. Available from : <http://nutrition.anamai.moph.go.th/dri/1.pdf> [2009, October 31]
4. สุพิชชา อิศราสวัสดิ์, กนกนันท์ ศรีจันทร์ และธัญชัช สุระ. 2005. กินอย่างไร... เมื่อท่านเป็นธาลัสซีเมีย. จุลสารชมรมโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย 14(1): 11-12.
5. อูมาพร สุทัศน์วรวิมล. 2542. วิตามินและแร่ธาตุ : บทบาทในร่างกายและแนวทางการเลือกใช้. ใน โภชนบำบัด 2000. อรอนงค์ กังสดาลอำไพ (บรรณาธิการ). หน้า 121-130. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดมาดลองคุณ.



**โรธาลัสซีเมียนั้นเป็นโรธเรื้อรัง  
การเลือกรับประทานที่เหมาะสม  
จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้ผู้ป่วยอยู่  
กับโรธนี้อย่างมีความสุข**



## **Appendix D**

**Method for Preparing Reagent for**

**Determination of Folate Level**

## **Preparation of Reagents for Determination of Folate Level at Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University**

### **1. Micro Inoculum Broth (Maintenance medium)**

Maintenance medium was prepared by dissolving 18.5 g of micro inoculum broth in distilled water and adjusted volume to 500 ml, stirred and filtered through filter paper No. 1. Then, 10 ml of this medium was dispensed into each 16 x 125 mm screw-capped tube. These tubes were autoclaved at 15 lbs/inch<sup>2</sup> for 15 minutes and left until cool at room temperature. One of these tubes was incubated at 37 °C overnight for sterility checking then stored this broth set at 4°C until used.

### **2. Stock Culture of *Lactobacillus casei* (ATCC 7469)**

*Lactobacillus casei* (ATCC 7469) was maintained in the maintenance medium (M.M.) containing tube and stored at 4°C. It must be subcultured every 2 weeks by adding aseptically one drop of pipette from the last stock culture to the fresh M.M. containing tube. This tube was incubated at 37°C for 18 hours and used in the next subculture for the preparation of inoculums. Occasionally, the stock of *L. casei* was checked for the purity by plating on the blood agar medium and incubated at 4°C.

### **3. Inoculum**

One drop of Stock culture of *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) that incubated at 37°C for 18 hours was transferred to the containing maintenance medium and incubate at 37°C for 6 hours.

### **4. Folic Acid Casei Medium (Double strength media)**

The ready-synthetic assay medium was stored at 4°C to avoid deterioration. The medium 9.4 g was dissolved in 100 ml distilled water. This solution was warmed until the medium was completely dissolved. Then 0.05 g of ascorbic acid was dissolved in this solution and filtered through a filter paper.

## 5. Phosphate Buffer pH 6.1

Stock solution A, 0.2 M acid solution, was prepared by dissolving sodium dihydrogen phosphate dihydrate (( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 31.2 g in deionized double distilled water and adjusted volume to 1000 ml.

Stock solution B, 0.2 M base solution, was prepared by dissolving disodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 28.2 g in deionized double distilled water and adjusted volume to 1000 ml.

Stock solution A 215.5 ml was mixed with 37.5 ml of Stock solution B and adjusted volume by deionized double distilled water to 1000 ml. The pH of solution was adjusted to pH 6.1. This solution stored at room temperature and used within 1 month.

## 6. Phosphate-ascorbate Buffer

Dissolved 150 mg of ascorbic acid in 100 ml of phosphate buffer pH 6.1. This solution was immediately prepared before use because the ascorbic acid is unstable for long periods at this pH.

## 7. Standard Folic Acid Stock Solution $1.0 \times 10^{-5}$ g/ml

One hundred milligrams of standard folic acid powder were dissolved in 20 ml of deionized double distilled water. The 0.1 N sodium hydroxide was slowly added until the solution became clear yellow. It was made up to 100 ml with distilled water. The concentration of this solution was  $1.0 \times 10^{-3}$  g/ml. Then one milliliter of this solution was further diluted to  $1.0 \times 10^{-5}$  g/ml with 20% ethyl alcohol. Two milliliter of this concentration was transferred to each tube as a stock solution which was kept at  $-80^\circ\text{C}$ . This stock solution must be used within one month.

**8. Standard Folic Acid Stock Solution  $1.0 \times 10^{-9}$  g/ml**

One milliliter of the standard folic acid stock solution  $1.0 \times 10^{-5}$  g/ml was diluted with 100 ml of deionized double distilled water to  $1.0 \times 10^{-7}$  g/ml. Then one milliliter of this solution was further diluted to  $1.0 \times 10^{-9}$  g/ml with deionized double distilled water.

**9. Standard Folic Acid Stock Solution  $1.0 \times 10^{-10}$  g/ml**

Ten milliliters of the standard folic acid stock solution  $1.0 \times 10^{-9}$  g/ml was diluted with 100 ml of deionized double distilled water to  $1.0 \times 10^{-10}$  g/ml.

**Table D-1** Protocol for preparation of standard curve

| No.     | Final folate<br>concentration<br>(pg/ml) | Standard folic acid stock<br>solution |                           | Deionized<br>double<br>distilled<br>water<br>(ml) | Double<br>strength<br>media<br>(ml) | Total<br>volume<br>(ml) |
|---------|--|---------------------------------------|---------------------------|---|-------------------------------------|-------------------------|
|         |  | $1.0 \times 10^{-10}$ g/ml            | $1.0 \times 10^{-9}$ g/ml |   |                                     |                         |
|         |  | (ml)                                  | (ml)                      |   |                                     |                         |
| control | 0  | -                                     | -                         | 3.00  | 3.00                                | 6.00                    |
| 0       | 0  | -                                     | -                         | 3.00  | 3.00                                | 6.00                    |
| 1       | 5  | 0.30                                  | -                         | 2.70  | 3.00                                | 6.00                    |
| 2       | 10                                       | 0.60                                  | -                         | 2.40  | 3.00                                | 6.00                    |
| 3       | 20                                       | 1.20                                  | -                         | 1.80  | 3.00                                | 6.00                    |
| 4       | 40                                       | 2.40                                  | -                         | 0.60  | 3.00                                | 6.00                    |
| 5       | 70                                       | 0.20                                  | 0.40                      | 2.40  | 3.00                                | 6.00                    |
| 6       | 100                                      | -                                     | 0.60                      | 2.40  | 3.00                                | 6.00                    |
| 7       | 150                                      | -                                     | 0.90                      | 2.10  | 3.00                                | 6.00                    |
| 8       | 200                                      | -                                     | 1.20                      | 1.80  | 3.00                                | 6.00                    |
| 9       | 300                                      | -                                     | 1.80                      | 1.20  | 3.00                                | 6.00                    |

## **Appendix E**

**Approval of Certificate from Ethics Committee  
for Researches Involving Human Subjects,  
Siriraj Institutional Review Board**



2 PRANNOK Rd. BANGKOKNOI  
BANGKOK 10700



Tel. (662) 4196405-6  
FAX (662) 4196405

MAHIDOL UNIVERSITY  
Since 1888

**Siriraj Institutional Review Board**

**Certificate of Approval**

COA no.Si 124/2010

**Protocol Title** : NUTRITIONAL STATUS AND THE LEVELS OF FOLATE AND VITAMIN B12 IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL

**Protocol number** : 020/2553(EC1)

**Principal Investigator/Affiliation** : Miss Phurita Thongkijpreecha  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University

**Research site** : Faculty of Medicine Siriraj Hospital

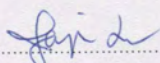
**Approval includes :**

1. SIRB Submission Form
2. Proposal
3. Participant Information Sheet
4. Informed Consent Form for parent
5. Participant Information Sheet and Informed Consent Form (for child)
6. Case Record Form
7. Questionnaire
8. Participant invitation
9. Guideline for Participant
10. Investigator's curriculum vitae

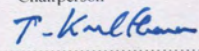
**Approval date** : February 26, 2010

**Expired date** : February 25, 2011

This is to certify that Siriraj Institutional Review Board is in full Compliance with International Guidelines For Human Research Protection such as the Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines and the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP).

  
.....  
(Prof. Jariya Lertakyamane, M.D.)

Chairperson

  
.....  
(Clin. Prof. Teerawat Kulthanan, M.D.)

Dean of Faculty of Medicine Siriraj Hospital

March 4, 2010

date

March 8, 2010

date

Page 1 of 2

2 ถนนพหลโยธิน บางกอกน้อย  
กรุงเทพฯ 10700



โทร (662) 4196405-6  
โทรสาร (662) 4196405

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

หมายเลข SI 124/2010

ชื่อโครงการภาษาไทย : ภาวะโภชนาการ ระดับโพลีและวิตามินบี 12 ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ  
โรงพยาบาลศิริราช

รหัสโครงการ : 020/2553(EC1)

หัวหน้าโครงการ / หน่วยงานที่สังกัด : นางสาวกฤษณา ทองกิจปรีชา  
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ทำวิจัย : คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

เอกสารที่รับรอง :

1. แบบเสนอโครงการวิจัยเพื่อขอรับการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
2. โครงร่างการวิจัย
3. เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย
4. หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย สำหรับผู้ปกครอง/ผู้แทนโดยชอบธรรม
5. เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย และหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย (สำหรับเด็ก)
6. แบบบันทึกข้อมูล
7. แบบสอบถาม
8. ขั้นตอนการเชิญชวนผู้ป่วยเข้าร่วมงานวิจัย
9. คู่มือแนะนำโภชนาการสำหรับผู้ป่วยธาลัสซีเมีย
10. ประวัติผู้ป่วย

วันที่รับรอง : 26 กุมภาพันธ์ 2553

วันหมดอายุ : 25 กุมภาพันธ์ 2554

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines และ the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP).

ลงนาม .....  
(ศาสตราจารย์แพทย์หญิงจรรยา เลิศอรรมขมณี)  
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

4 มีนาคม 2553

วันที่

ลงนาม .....  
(ศาสตราจารย์คลินิกนายแพทย์ธีรวัฒน์ กุลทนันทน์)  
คณบดี คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

8 มีนาคม 2553

วันที่

## **Appendix F**

### **Statistic Analysis**

### Normal Distribution Test

One-sample Shapiro-Wilk test was used to investigate whether the variables were normally distributed. The data showed that  $p$ -value of some tested variables were more than 0.05 (**Table F-1**). However,  $p$ -value of some tested variables were less than 0.05, they were tested by Skewness or Kurtosis test. If the value of Skewness's statistic (or Kurtosis' statistic)  $\pm 1.96$  (standard error of Skewness or Kurtosis) cross zero, the variables were normally distributed (**Table F-2**). If the variables were not accepted by Skewness or Kurtosis test, the outliers were cut and the data were tested normal distribution again by Shapiro-Wilk test (**Table F-3**). However,  $p$ -value of some tested variables were less than 0.05, they were tested by Skewness or Kurtosis test again. If the value of Skewness's statistic (or Kurtosis' statistic)  $\pm 1.96$  (standard error of Skewness or Kurtosis) cross zero, the variables were normally distributed (**Table F-4**). It suggested that parametric statistics could be used to compare mean of variables in this study.

**Table F-1** Shapiro-Wilk's test of parameter

| <b>Variables</b>                      | <b>Shapiro-Wilk's Value</b> | <b>df</b> | <b><i>p-value</i></b> |
|---------------------------------------|-----------------------------|-----------|-----------------------|
| Age (years)                           | 0.912                       | 30        | 0.016*                |
| Weight (kg)                           | 0.963                       | 30        | 0.371                 |
| Height (cm)                           | 0.963                       | 30        | 0.359                 |
| TSF (mm)                              | 0.973                       | 30        | 0.627                 |
| %TSF                                  | 0.979                       | 30        | 0.786                 |
| MAC (cm)                              | 0.963                       | 30        | 0.376                 |
| %MAC                                  | 0.905                       | 30        | 0.011*                |
| MAMC (cm)                             | 0.977                       | 30        | 0.732                 |
| AMA (cm <sup>2</sup> )                | 0.960                       | 30        | 0.317                 |
| AFA (cm <sup>2</sup> )                | 0.939                       | 30        | 0.086                 |
| %H/A                                  | 0.981                       | 30        | 0.851                 |
| %W/A                                  | 0.888                       | 30        | 0.004*                |
| %W/H                                  | 0.854                       | 30        | 0.001*                |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )              | 0.912                       | 30        | 0.017*                |
| Energy intake (kcal/day)              | 0.980                       | 30        | 0.812                 |
| Carbohydrate intake (g/day)           | 0.950                       | 30        | 0.169                 |
| Protein intake (g/day)                | 0.907                       | 30        | 0.012*                |
| Fat intake (g/day)                    | 0.967                       | 30        | 0.467                 |
| Hb (g/dl)                             | 0.964                       | 30        | 0.397                 |
| Hct (%)                               | 0.954                       | 30        | 0.219                 |
| RBC count (x10 <sup>6</sup> /μl)      | 0.960                       | 30        | 0.319                 |
| MCV (fl)                              | 0.941                       | 30        | 0.099                 |
| MCH (pg)                              | 0.970                       | 30        | 0.552                 |
| MCHC (g/dl)                           | 0.955                       | 30        | 0.228                 |
| WBC (x10 <sup>3</sup> /μl)            | 0.446                       | 30        | 0.000*                |
| Platelet count (x10 <sup>3</sup> /μl) | 0.854                       | 30        | 0.001*                |
| ANC (x10 <sup>3</sup> /μl)            | 0.936                       | 30        | 0.071*                |
| %Neutrophils                          | 0.964                       | 30        | 0.395                 |
| %Lymphocytes                          | 0.975                       | 30        | 0.679                 |

\* data were not normally distributed ( $p < 0.05$ )



**Table F-1** Shapiro-Wilk's test of parameter (continued)

| <b>Variables</b>                | <b>Shapiro-Wilk's Value</b> | <b>df</b> | <b><i>p</i>-value</b> |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------|-----------------------|
| % Monocytes                     | 0.943                       | 30        | 0.112                 |
| % Eosinophils                   | 0.918                       | 30        | 0.024*                |
| % Basophils                     | 0.890                       | 30        | 0.005*                |
| Reticulocyte count (%)          | 0.934                       | 30        | 0.064                 |
| Albumin (g/dl)                  | 0.947                       | 30        | 0.137                 |
| Total protein (g/dl)            | 0.945                       | 30        | 0.126                 |
| Serum folate (ng/ml)            | 0.971                       | 30        | 0.563                 |
| RBC folate (ng/ml)              | 0.652                       | 30        | 0.000*                |
| Vitamin B <sub>12</sub> (pg/ml) | 0.935                       | 30        | 0.069                 |

\* data were not normally distributed ( $p < 0.05$ )

**Table F-2** The Skewness and Kurtosis test

| <b>Variables</b>                      | <b>Skewness value</b> | <b>Kurtosis value</b> |
|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Age (years)                           | (-2.653) - (1.267)    | (-2.335) - (1.585)    |
| %MAC                                  | (-0.899) - (3.021)    | (0.308) - (4.228)*    |
| %W/A                                  | (-0.412) - (3.508)    | (1.873) - (5.793)*    |
| %W/H                                  | (-0.227) - (3.693)    | (2.205) - (6.125)*    |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )              | (-0.649) - (3.280)    | (1.892) - (5.812)*    |
| Protein intake (g/day)                | (-0.997) - (2.923)    | (1.742) - (5.662)*    |
| WBC (x10 <sup>3</sup> /μl)            | (1.793) - (5.713)*    | (13.338) - (17.258)*  |
| Platelet count (x10 <sup>3</sup> /μl) | (-0.767) - (3.156)    | (-1.458) - (2.462)    |
| ANC (x10 <sup>3</sup> /μl)            | (-0.107) - (2.843)    | (-0.496) - (3.424)    |
| %Eosinophils                          | (-1.221) - (2.699)    | (-1.857) - (2.063)    |
| %Basophils                            | (-1.233) - (2.687)    | (-0.968) - (2.952)    |
| RBC folate (ng/ml)                    | (1.072) - (4.992)*    | (8.86) - (12.78)*     |

\* data were not normally distributed

**Table F-3** Normality test of clinical outcome data after excluding the outlier

| <b>Variables</b>                  | <b>Shapiro-Wilk's Value</b> | <b>df</b> | <b><i>p-value</i></b> |
|-----------------------------------|-----------------------------|-----------|-----------------------|
| WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) | 0.850                       | 24        | 0.002*                |
| RBC folate (ng/ml)                | 0.955                       | 27        | 0.280                 |

\* Data were not normally distributed ( $p < 0.05$ )

**Table F-4** The Skewness and Kurtosis test after excluding the outlier

| <b>Variables</b>                  | <b>Skewness value</b> | <b>Kurtosis value</b> |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ) | (-0.448) - (3.472)    | (1.681) - (5.601)*    |

\* Data were not normally distributed ( $p < 0.05$ )

## **Appendix G**

### **The Levels of Serum and RBC Folate and Serum Vitamin B<sub>12</sub> of Subjects**



**Table G-1** The levels of serum and RBC folate and serum vitamin B<sub>12</sub> of subjects

| <b>Patient</b> | <b>Serum folate (ng/ml)</b> | <b>Red cell folate (ng/ml)</b> | <b>Vitamin B12 (pg/ml)</b> |
|----------------|-----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| 1              | 63.91                       | 158.67                         | 1,029.00                   |
| 2              | 31.30                       | 342.30                         | 578.00                     |
| 3              | 31.30                       | 894.48                         | 503.00                     |
| 4              | 48.19                       | 364.43                         | 639.00                     |
| 5              | 30.06                       | 437.44                         | 681.00                     |
| 6              | 27.71                       | 451.98                         | 956.00                     |
| 7              | 27.71                       | 460.34                         | 664.00                     |
| 8              | 27.77                       | 202.95                         | 967.00                     |
| 9              | 34.36                       | 414.49                         | 482.00                     |
| 10             | 45.70                       | 1,856.27                       | 808.00                     |
| 11             | 65.13                       | 351.86                         | 754.00                     |
| 12             | 49.25                       | 292.00                         | 619.00                     |
| 13             | 44.69                       | 279.58                         | 738.00                     |
| 14             | 41.05                       | 595.78                         | 469.00                     |
| 15             | 47.64                       | 132.98                         | 644.00                     |
| 16             | 40.07                       | 320.63                         | 736.00                     |
| 17             | 43.56                       | 412.56                         | 883.00                     |
| 18             | 64.88                       | 1,080.39                       | 1,003.00                   |
| 19             | 34.06                       | 197.59                         | 566.00                     |
| 20             | 30.87                       | 338.03                         | 792.00                     |
| 21             | 21.59                       | 306.33                         | 550.00                     |
| 22             | 35.54                       | 148.97                         | 550.00                     |
| 23             | 35.54                       | 105.59                         | 579.00                     |
| 24             | 54.35                       | 199.77                         | 751.00                     |
| 25             | 47.17                       | 210.49                         | 445.00                     |
| 26             | 12.16                       | 217.28                         | 481.00                     |
| 27             | 13.48                       | 211.60                         | 679.00                     |
| 28             | 42.14                       | 195.21                         | 554.00                     |
| 29             | 2.44                        | 236.57                         | 649.00                     |
| 30             | 43.25                       | 451.34                         | 643.00                     |

ng/ml = nanogram per milliliter; pg/ml = picogram per millilite

**BIOGRAPHY**

|                              |   |
|------------------------------|---|
| <b>NAME</b>                  | Miss Phurita Thongkijpreecha  |
| <b>DATE OF BIRTH</b>         | February 19, 1980   |
| <b>PLACE OF BIRTH</b>        | Bangkok, Thailand   |
| <b>INSTITUTIONS ATTENDED</b> | Silpakorn University, 1999-2003;<br>Bachelor of Pharmacy<br>Chulalongkorn University, 2008-2010;<br>Master of Science in Pharmacy<br>(Food Chemistry and Medical Nutrition) |
| <b>OCCUPATIONS</b>           | Pharmacist at Siriraj Hospital,<br>Bangkok, 2004-present  |