

การศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยปิดทั้งสองข้าง ผลของการได้รับวิตามินดีเสริมใน
ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไขมันในเลือด
ที่เกี่ยวข้องเนื่องจากการเพิ่มพั่งผิดในตับ



นางสาวศยามล กิมตระกูล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A RANDOMIZED DOUBLE BLIND PLACEBO CONTROL STUDY: EFFECT OF VITAMIN D
SUPPLEMENT IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS ON SERUM CYTOKINES
ASSOCIATED WITH HEPATIC FIBROSIS

Miss Sayamon Kimtrakool



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2014
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยปิดทั้งสองข้าง ผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มพังผืดในตับ
โดย	นางสาวศยามล กิมตระกูล
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ แพทย์หญิงเกศรินทร์ ถานะภิรมย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์โสภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ แพทย์หญิงเกศรินทร์ ถานะภิรมย์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์กมล แก้วกิติณรงค์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ทวิศักดิ์ แทนวันดี)

ศยามล กิมตระกูล : การศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยปิดทั้งสองข้าง ผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มพังผืดในตับ (A RANDOMIZED DOUBLE BLIND PLACEBO CONTROL STUDY: EFFECT OF VITAMIN D SUPPLEMENT IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS ON SERUM CYTOKINES ASSOCIATED WITH HEPATIC FIBROSIS.) อ.ที่ปริกษาวิทยาลัยพยาบาล : ผศ. ดร. นพ.ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์, อ.ที่ปริกษาวิทยาลัยพยาบาล : อ. พญ.เกศรินทร์ ถานะภิรมย์, 58 หน้า.

ความสำคัญและที่มาของปัญหาทางวิจัย การให้วิตามินดีเสริมพบว่าสามารถลดการสร้างไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบลงได้ อีกทั้งยังสามารถลดการเกิดพังผืดภายในเนื้อตับได้เช่นกัน ซึ่งมีหลักฐานการศึกษาจากหลายๆการศึกษาทั้งในห้องทดลองปฏิบัติการและในสัตว์ทดลองสนับสนุนข้อมูลดังกล่าวของวิตามินดี ซึ่งอธิบายผ่านการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ hepatic stellate cells (HSCs) ซึ่งที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาใดที่ศึกษาเรื่องการให้วิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังที่มีภาวะขาดวิตามินดีว่าจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มพังผืดในตับมาก่อน

วัตถุประสงค์ เพื่อจะศึกษาถึงผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรังที่มีภาวะขาดวิตามินดีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 เมื่อรับประทานต่อเนื่อง 6 สัปดาห์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยวิธีการวัดระดับ TGF- β_1 ในซีรัม

ระเบียบวิธีการวิจัย ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรังที่มีภาวะขาดวิตามินดีจำนวนทั้งสิ้น 54 ราย ทำการแบ่งเป็นสองกลุ่มด้วยวิธีแบบสุ่ม กลุ่มแรกได้รับวิตามินดีเสริมจำนวน 27 รายตามแนวทางการให้วิตามินดีที่กำหนดไว้ กลุ่มที่สองได้รับยาหลอก 27 ราย ทำการวัดระดับ 25 (OH) vitamin D และ TGF- β_1 ในเลือดที่เริ่มต้นก่อนการศึกษาและที่ 6 สัปดาห์ที่สิ้นสุดการศึกษา

ผลการวิจัย ที่เริ่มต้นของการศึกษา ระดับ 25 (OH) vitamin D มีค่าใกล้เคียงกันทั้งสองกลุ่มและไม่มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (19.5 ± 5.3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 18.2 ± 5.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร, $p = 0.36$ ตามลำดับ) เช่นเดียวกับระดับ TGF- β_1 ที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทั้งสองกลุ่ม เมื่อประเมินที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมระดับ 25 (OH) vitamin D กลับมาอยู่ในเกณฑ์ที่ปกติคือเท่ากับ 45.6 ± 13.2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แต่กลับไม่พบความเปลี่ยนแปลงของระดับ 25 (OH) vitamin D ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 18.6 ± 5.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ระดับความแตกต่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลัง (mean difference) ของ TGF- β_1 ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมมีค่าที่ลดลงจากก่อนการรักษาเท่ากับ -29.1 ± 22.3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอกที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 57.1 ± 107.5 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.012$)

สรุป การให้วิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังให้มีระดับ 25 (OH) vitamin D กลับมาอยู่ในเกณฑ์ที่ปกติอาจช่วยชะลอการเกิดพังผืดภายในตับได้ผ่านกลไกที่ทำให้เกิดความสมดุลของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพังผืด ผลจากการศึกษานี้ช่วยสนับสนุนสมมติฐานและหลักฐานจากห้องทดลองปฏิบัติการและสัตว์ทดลองก่อนหน้านี้ว่าการให้วิตามินดีเสริมสามารถลดการสร้างพังผืดในตับลงได้

ภาควิชา อายุรศาสตร์

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ปีการศึกษา 2557

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาร่วม

5674076930 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: CHRONIC HEPATITIS C / VITAMIN D SUPPLEMENT / TGF- β 1 / LIVER FIBROSIS

SAYAMON KIMTRAKOOL: A RANDOMIZED DOUBLE BLIND PLACEBO CONTROL STUDY: EFFECT OF VITAMIN D SUPPLEMENT IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS ON SERUM CYTOKINES ASSOCIATED WITH HEPATIC FIBROSIS.. ADVISOR: ASST. PROF. PIYAWAT KOMOLMIT, M.D., Ph.D., CO-ADVISOR: KESSARIN THANAPIROM, M.D., 58 pp.

Background Vitamin D supplement decreased serum inflammatory cytokines and hepatic fibrogenesis in several *in vitro* and animal models by inhibiting hepatic stellate cells (HSCs) proliferation. This result has not been studied before in clinical model.

Objective To determine the effect of vitamin D supplement on serum fibrotic markers in chronic hepatitis C (CHC) patients.

Methods Fifty four CHC patients with vitamin D deficiency were randomized into two groups. Twenty seven patients received vitamin D supplement as a protocol and twenty seven patients received placebo. Serum 25 (OH) vitamin D and TGF- β ₁ levels were measured at baseline and at the end of 6-week study period.

Results At baseline, mean serum 25 (OH) vitamin D levels at baseline were similar in both groups (19.5 ± 5.3 ng/mL vs. 18.2 ± 5.5 ng/mL, $p=0.36$). Serum TGF- β ₁ levels were also not difference in between groups. At 6 weeks, mean serum 25 (OH) vitamin D levels were normalized in supplement group (45.6 ± 13.2 ng/mL), but not increased in placebo group (18.6 ± 5.1 ng/mL, $p<0.001$). Mean difference of serum TGF- β ₁ levels were decreased in vitamin D supplement group and significantly difference as compared to the level in placebo group which trended to be increased (-29.1 ± 22.3 pg/mL vs. 51.6 ± 21.7 pg/mL, $p=0.012$). The correlation between post-treatment 25(OH) vitamin D level with mean difference of serum TGF- β ₁ levels were also significantly correlation ($r = -0.54$; $p=0.003$).

Conclusions Correction of vitamin D deficiency in CHC patients suppressed serum fibrogenesis markers, TGF- β ₁. The results from this study, conducted in CHC patients, added on and supported previous *in vitro* and animal scientific evidences of vitamin D supplement decreased hepatic fibrogenesis.

Department: Medicine

Field of Study: Medicine

Academic Year: 2014

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
ดร.นายแพทย์ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์ ที่ให้ปรึกษา และข้อเสนอแนะในการทำวิจัย
ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ยง ภู่วรวรรณ อาจารย์ประจำศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะ
ทางด้านไวรัสวิทยาคลินิก ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำวิจัย
ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จินตนา จิระถาวร อาจารย์ประจำภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการทำวิจัย
และแพทย์หญิงคณิดา ฉัตรโรโสภณ แพทย์ประจำหน่วยโรคทางเดินอาหารและตับ
โรงพยาบาลตากสิน
ขอขอบคุณ คุณ ศิรินพร สุขสวัสดิ์อำนวย คุณพนารัตน์ ไทยใหม่ เจ้าหน้าที่หน่วยปฏิบัติการ
วิจัยโรคตับ ที่ช่วยเหลือดำเนินการวิจัยเป็นอย่างดี
ขอขอบคุณ สมาคมโรคระบบทางเดินอาหารและตับแห่งประเทศไทย และกองทุนวิจัย
รัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุน
เงินทุนสำหรับงานศึกษาวิจัย
ขอขอบคุณ อาสาสมัครทุกท่านที่ให้ความร่วมมืออย่างดี
สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่สาว ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 คำถามการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.4 สมมุติฐาน	2
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ	3
1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	4
1.8 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย	5
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	6
กลไกการเกิดพังพืดภายในตับ (Hepatic fibrogenesis).....	7
หน้าที่และกลไกการทำงานของ TGF- β	11
ความสัมพันธ์ของการเกิดพังพืดภายในตับในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีกับ TGF- β 1	14
การสังเคราะห์วิตามินดีและเมทาบอลิซึม ²⁷	15
กลไกของวิตามินดีที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Immuno-modulation).....	17

กลไกของวิตามินดีที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ	19
ความสำคัญทางคลินิกของการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี.....	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน	22
3.1 รูปแบบการวิจัย	22
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	22
3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย.....	22
3.4 การรวบรวมข้อมูล.....	26
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล	26
3.6 ปัญหาทางจริยธรรม.....	26
3.7 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	27
3.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	27
3.9 อุปสรรคที่ผู้วิจัยคาดว่าจะเกิดขึ้นและมาตรการในการแก้ไข	28
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	29
บทที่ 5 อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	42
รายการอ้างอิง	46
ภาคผนวก.....	51
ภาคผนวก ก.....	52
ภาคผนวก ข	55
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	58

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แนวทางการให้วิตามินดีตามระดับวิตามินดีในเลือด	4
ตารางที่ 2 แสดงแหล่งที่มาของวิตามินดี.....	15
ตารางที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของชุดทดสอบ TGF- β_1 ELISA.....	25
ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังระหว่างกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมกับยาหลอก	32
ตารางที่ 5 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ 25 (OH) vitamin D เปรียบเทียบก่อนและหลังการศึกษาในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมและกลุ่มที่ได้รับยาหลอก	34
ตารางที่ 6 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 เปรียบเทียบก่อนและหลังในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมและกลุ่มที่ได้รับยาหลอก	37

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพที่ 1 กลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี	7
รูปภาพที่ 2 การกระตุ้น HSCs และการสร้างไซโตไคน์หลายชนิดที่นำไปสู่ขบวนการเกิดพังผืดในตับ.....	9
รูปภาพที่ 3 กระบวนการย่อยสลายพังผืดในตับในภาวะปกติ.....	10
รูปภาพที่ 4 แสดงรูปแบบต่างๆของ TGF- β ในร่างกาย.....	12
รูปภาพที่ 5 แสดงกลไกการทำงานของ TGF- β ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ.....	13
รูปภาพที่ 6 แสดงขบวนการสังเคราะห์วิตามินดี	17
รูปภาพที่ 7 กลไกของวิตามินดีที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Immuno-modulation).....	19

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย	3
แผนภูมิที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ 25 (OH) vitamin D ที่เริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์ของ การศึกษาในผู้ป่วยทุกรายทั้งกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริม (ก) และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก (ข).....	35
แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ 25(OH) vitamin D ก่อนและหลังจากได้รับวิตามินดีเสริม หรือยาหลอกที่ระยะเวลาเริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์.....	36
แผนภูมิที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับของ TGF- β_1 ที่เริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์ของ การศึกษา	38
แผนภูมิที่ 5 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 ก่อนและหลังจากได้รับวิตามินดีเสริมหรือยา หลอกที่	39
แผนภูมิที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 หลังจากได้รับวิตามินดีเสริมหรือ ยาหลอกที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์.....	40
แผนภูมิที่ 7 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ 25 OH vitamin D ที่ 6 สัปดาห์ของ การศึกษา	41

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเป็นสาเหตุที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะโรคตับเรื้อรังนำไปสู่การเกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับได้ในที่สุด^{1, 2} ซึ่งเมื่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีดำเนินสู่ภาวะเรื้อรังก็จะกระตุ้นการเกิดพังผืดในตับเพิ่มมากขึ้น กลไกประการหนึ่งเกิดจากเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันมีการสร้างและหลั่งไซโตไคน์หลายชนิดไปกระตุ้นการทำงานของ hepatic stellate cells (HSCs) ซึ่งเป็นเซลล์หลักในการสร้างพังผืดภายในตับ โดยเมื่อ HSCs ถูกกระตุ้น จะทำให้มีการหลั่งไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพังผืดที่เพิ่มขึ้น (fibrogenic cytokines) เช่น transforming growth factor (TGF- β) , platelet derived growth factor (PDGF) , connective tissue growth factor (CTGF) เกิดขบวนการสร้างพังผืดอย่างต่อเนื่องทำให้มีการสะสมของ extracellular matrix proteins ในปริมาณที่มากขึ้นภายในตับ³ ถ้ากระบวนการดังกล่าวยังคงดำเนินต่อไปก็จะส่งผลให้เกิดภาวะตับแข็งได้ที่สุด

วิตามินดี แต่เดิมนั้นมีความเข้าใจว่า เป็นสารที่มีหน้าที่สำคัญในการควบคุมการทำงานของกระดูกและระดับแคลเซียมในร่างกาย แต่ในปัจจุบันพบว่า นอกเหนือจากหน้าที่สำคัญดังกล่าวแล้ว วิตามินดียังมีผลต่อการควบคุมและการปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้งชนิดไม่เฉพาะเจาะจง และ แบบเฉพาะเจาะจง (innate and adaptive immunity) ร่วมด้วย โดยกลไกของวิตามินดีที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกันจะเกี่ยวข้องกับการควบคุมความสมดุลในการสร้างไซโตไคน์ของทีและบีเซลล์⁴

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าระดับวิตามินดีที่ลดลงในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีชนิดเรื้อรังสัมพันธ์กับการทำงานของตับที่แย่ลงและมีความรุนแรงของโรคที่มากขึ้น⁵⁻⁷ การได้รับวิตามินดีสามารถลดการสร้างไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการอักเสบลงได้ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี และการได้รับวิตามินดีเสริมร่วมกับการรักษามาตรฐานในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีพบว่าสามารถเพิ่มโอกาสการหายของโรค [sustained virological response (SVR)] ได้อย่างชัดเจน^{8, 9} และจากการศึกษาล่าสุด

พบว่า การให้วิตามินดีมีผลลดการแบ่งตัวของ HSCs และลดการสร้างพังผืดภายในตับจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ^{10, 11}

ผู้วิจัยตั้งสมมุติฐานว่า การที่ วิตามินดี มีส่วนในการลดการเกิดพังผืดในตับได้นั้น ส่วนหนึ่ง น่าจะมีกลไกจากการควบคุมการปรับสมดุลของการสร้างไซโตไคน์และเอ็นไซม์ ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ ดังนั้นการให้วิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มพังผืดในตับหรือไม่

1.2 คำถามการวิจัย

คำถามหลัก (Primary research question)

การให้วิตามินดีเสริมในระยะเวลา 6 สัปดาห์ แก่ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่มีภาวะขาดวิตามินดี จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 ในซีรัมหรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

Primary endpoint: เพื่อจะศึกษาถึงผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่มีภาวะขาดวิตามินดีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 เมื่อรับประทานต่อเนื่อง 6 สัปดาห์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยวิธีการวัดระดับ TGF- β_1 ในซีรัม

1.4 สมมุติฐาน

ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่ได้รับวิตามินดีเสริมต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์จะมีระดับ TGF- β_1 ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการได้รับวิตามินดีและเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก

25 (OH) vitamin D (ดังตารางที่ 1) อีกกลุ่มได้รับยาหลอกที่มีลักษณะเหมือนกันยกเว้นตัวยาเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ และเก็บซีรัมเพื่อตรวจวัดระดับ TGF- β_1 อีกครั้งที่ 6 สัปดาห์ โดยวิธี quantitative analysis (ELISA)

ตารางที่ 1 แนวทางการให้วิตามินดีตามระดับวิตามินดีในเลือด

การวินิจฉัย	ระดับ 25 (OH)Vitamin D levels (ng /mL)	ปริมาณการให้ทั้งหมด (IU) / week	Ergocalciferol (D2) 20,000 IU/ tab	ระยะเวลา
ระดับที่เหมาะสม	> 30	-	-	-
ระดับที่ขาดเล็กน้อย	20 – 30	60,000	2 เม็ดวันจันทร์ และ 1 เม็ดวันศุกร์	6 สัปดาห์
ระดับที่ขาดปานกลาง	10 – 20	80,000	2 เม็ดวันจันทร์ และ 2 เม็ดวันศุกร์	6 สัปดาห์
ระดับที่ขาดรุนแรง	< 10	100,000	3 เม็ดวันจันทร์ และ 2 เม็ดวันศุกร์	6 สัปดาห์

1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. เนื่องจากไม่มีหลักฐานที่ชัดเจนเกี่ยวกับระดับ TGF- β_1 และการเปลี่ยนแปลงระหว่างวัน นอกจากนี้การเลือกเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยไม่สะดวกในการเดินทางมาโรงพยาบาลได้ ดังนั้นการเก็บตัวอย่างเลือดในแต่ละช่วงเวลาที่แตกต่างกันอาจทำให้มีผลต่อระดับ TGF- β_1

2. งานวิจัยนี้ต้องให้ยาผู้ป่วยกลับไปรับประทานเองที่บ้าน ทำให้ไม่สามารถทราบว่าคุณป่วยจะรับประทานยาสม่ำเสมอหรือไม่ การแนะนำพูดคุยทำความเข้าใจกับผู้ป่วยโดยละเอียด การติดตามผลเป็นระยะและการเช็คปริมาณยาที่เหลือว่าใช้ในปริมาณตามที่กำหนดอาจช่วยแก้ปัญหาจุดนี้ได้

1.8 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของการได้รับวิตามินดีว่าจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 หรือไม่ เพื่อช่วยสนับสนุนและสามารถอธิบายกลไกการทำงานของวิตามินดีที่มีผลในการลดการเกิดขบวนการอักเสบ และส่งผลให้เกิดการสร้างพังผืดในตับที่ลดลงได้ อีกทั้งยังส่งผลต่ออัตราการหายจากไวรัสตับอักเสบบีเพิ่มมากขึ้น

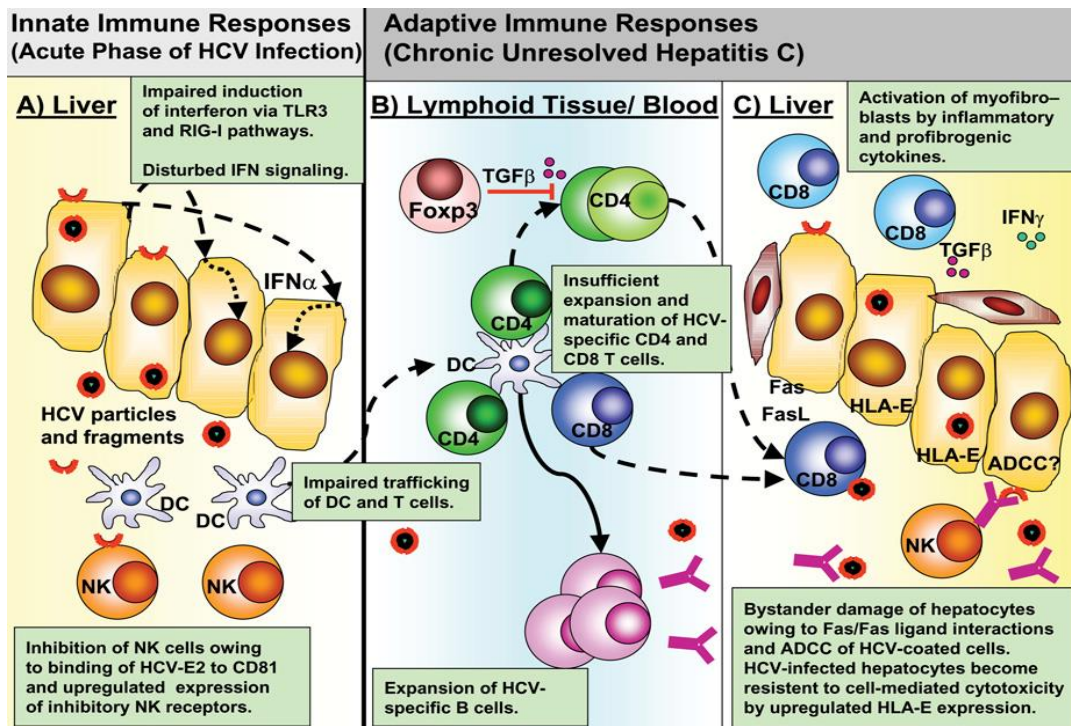


บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเป็นสาเหตุที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะโรคตับอักเสบรวมถึงนำไปสู่การเกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับ ในระยะแรกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีชนิดเฉียบพลัน ระบบภูมิคุ้มกันชนิดโดยกำเนิด (innate immune responses) จะเข้ามาทำหน้าที่ในการกำจัดเชื้อที่อยู่ในบริเวณเซลล์ตับซึ่งได้แก่ Natural Killer (NK cell), NK T cell, plasmacytoid Dendritic cells (pDC) และ monocytes แต่เมื่อใดก็ตามที่ร่างกายไม่สามารถกำจัดเชื้อได้สำเร็จในระยะเฉียบพลันจะทำให้ร่างกายมีการตอบสนองโดยการปรับระบบภูมิคุ้มกันซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นบีและทีเซลล์ (adaptive immune responses: B and T cells) เกิดภาวะตับอักเสบรวมถึงตามมา¹ ในระยะการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันดังกล่าวจะมีการสร้างและการหลั่งไซโตไคน์ (cytokines) โดยเฉพาะทีเซลล์ลิมโฟไซต์ ชนิดซีดี 8 (CD 8, cytotoxic T cells) มีผลให้เกิดการกระตุ้นขบวนการการอักเสบอย่างต่อเนื่องส่งผลโดยตรงต่อตับทำให้เกิดการทำลายตับ¹² และเกิดตับอักเสบรวมถึงและมีผลให้เกิดพังผืดสะสมในเนื้อเยื่อตับ เกิดตับแข็งได้ในที่สุด ดังแสดงในรูปภาพที่ 1

รูปภาพที่ 1 กลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี¹



กลไกการเกิดพังพืดภายในตับ (Hepatic fibrogenesis)

การเกิดพังพืดภายในตับเกิดจากภาวะใด ๆ ก็ตามที่ทำให้เกิดการอักเสบภายในตับแบบเรื้อรัง และต่อเนื่อง เช่น การดื่มสุรา การได้รับยาหรือสารพิษที่มีผลต่อตับ การเกิดตับอักเสบจากโรคอโตอิมมูนเรื้อรัง (autoimmune liver disease) การเกิดไขมันคั่งในตับเรื้อรัง การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดบีหรือซีชนิดเรื้อรัง ปัจจัยเหล่านี้ดังกล่าวข้างต้นทำให้มีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดที่เซลล์ลิมโฟไซต์อย่างต่อเนื่อง ทำให้มีการสร้างและหลั่งไซโตไคน์หลายชนิดไปทำให้เกิดตับอักเสบ เมื่อใดก็ตามที่การอักเสบเป็นไปอย่างต่อเนื่องจะทำให้มีการสะสมพังพืดที่เพิ่มมากขึ้นภายในตับจากการที่ไซโตไคน์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบจะไปกระตุ้นการทำงานของ hepatic stellate cells (HSCs)^{13, 14} ซึ่งเป็นเซลล์เริ่มต้นและเป็นเซลล์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดพังพืดในตับ

ในภาวะปกติ HSCs จะอยู่ในภาวะสงบ (Quiescent state) มีหน้าที่ในการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 4 (type IV collagen) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของบริเวณฐานเยื่อหุ้มเซลล์ที่ปกติ (basement membrane) เมื่ออยู่ในภาวะที่ถูกกระตุ้นจะทำให้มีการกระตุ้นการสร้างพังพืดที่เพิ่มมากขึ้น ประกอบไปด้วย 2 ระยะ¹⁵ (ดังแสดงในรูปภาพที่ 2) กล่าวคือ

1. ระยะเริ่มต้น (initiation stage)

เป็นระยะที่ HSCs เริ่มมีการถูกกระตุ้นโดยหลากหลายปัจจัยดังกล่าวข้างต้นทำให้เซลล์ตับ (hepatocyte) ถูกทำลาย เกิด oxidative stress เกิด apoptotic bodies ภายในเซลล์ตับ ทำให้เซลล์ตับ, Kupffer cells และ sinusoidal endothelium มีการเปลี่ยนแปลงสมดุลไปเป็นผลให้ HSCs ที่อยู่ในภาวะสงบเกิดการกระตุ้นเกิดขึ้นและเกิดกระบวนการสร้างพังผืดต่อไป

แต่ถ้าเมื่อใดก็ตามที่ปัจจัยกระตุ้นที่เริ่มต้นได้ถูกกำจัดไป HSCs จะสามารถเปลี่ยนจากภาวะกระตุ้นกลับมาสู่ภาวะสงบได้ เซลล์ที่ได้รับบาดเจ็บหรือตายจะเกิดกระบวนการ apoptosis และจะเกิดกระบวนการย่อยสลายพังผืดตามมา

2. ระยะต่อเนื่อง (perpetuation stage)

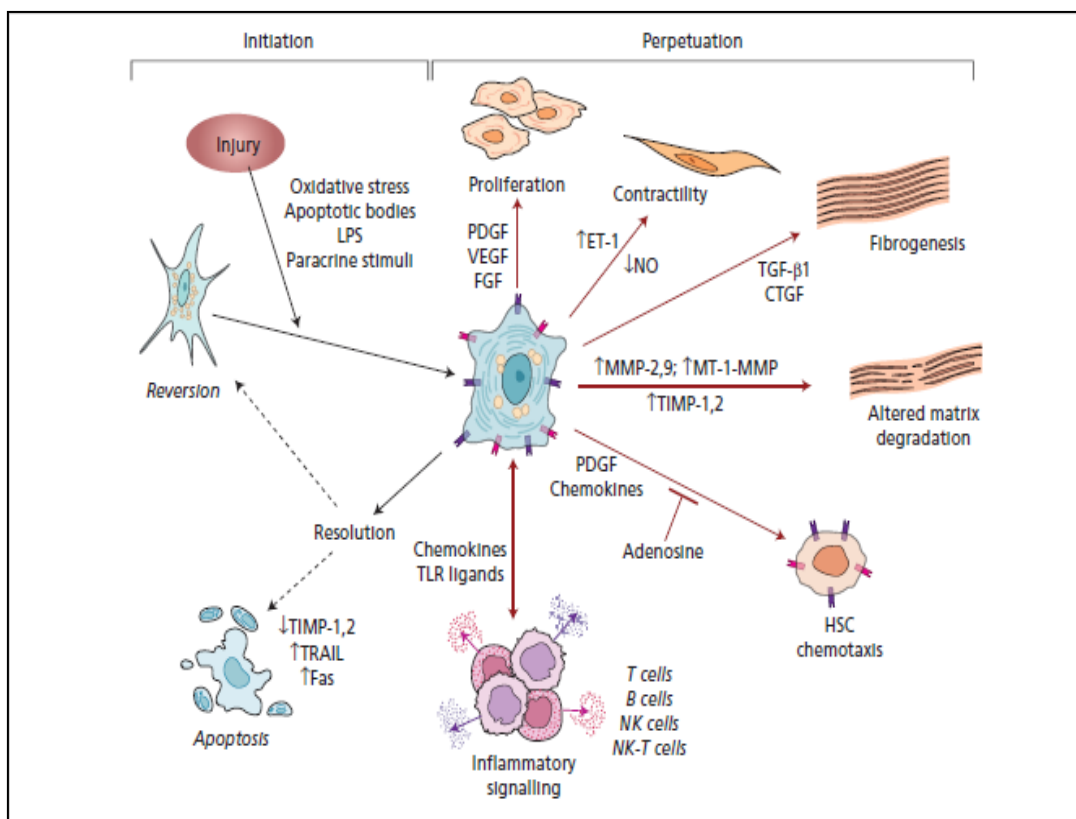
เป็นระยะที่เมื่อมีการกระตุ้นให้ตับเกิดการอักเสบอย่างต่อเนื่องทำให้มีการเพิ่มจำนวนการกระตุ้น HSCs ผ่านไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องให้มีการแสดงออกและมีการตอบสนองที่เพิ่มมากขึ้น และเกิดพังผืดตามมาได้ในที่สุด ประกอบด้วยขั้นตอนย่อยๆอีกหลายขั้นตอน กล่าวคือ

2.1. การเพิ่มจำนวนของ HSCs อย่างรวดเร็ว (Proliferation): เมื่อ HSCs ถูกกระตุ้นจะทำให้มีการเพิ่มจำนวนของ HSCs อย่างรวดเร็วจากการทำงานของไซโตไคน์หลายชนิด¹⁵ ได้แก่ platelet derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) เป็นต้น

2.2. การเปลี่ยนแปลงลักษณะของ HSCs ทำให้เกิดการแสดงออกของ alpha smooth muscle actin และ ไมโอซินมากขึ้น¹⁵

2.3. การสะสมพังผืด (fibrogenesis): เมื่อมีการกระตุ้น HSCs จะทำให้มีการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 (type I collagen) เพิ่มมากขึ้นซึ่งเป็นคอลลาเจนที่เกิดสะสมในภาวะตับแข็งมากที่สุด โดยไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องและที่สำคัญที่สุดคือ TGF- β_1 สร้างมาจาก sinusoidal endothelial cell, Kupffer cells และ HSCs จึงเป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้เกิดการสะสมพังผืดที่มากขึ้น¹⁵

รูปภาพที่ 2 การกระตุ้น HSCs และการสร้างไซโตไคน์หลายชนิดที่นำไปสู่กระบวนการเกิดพังผืดในตับ¹⁵

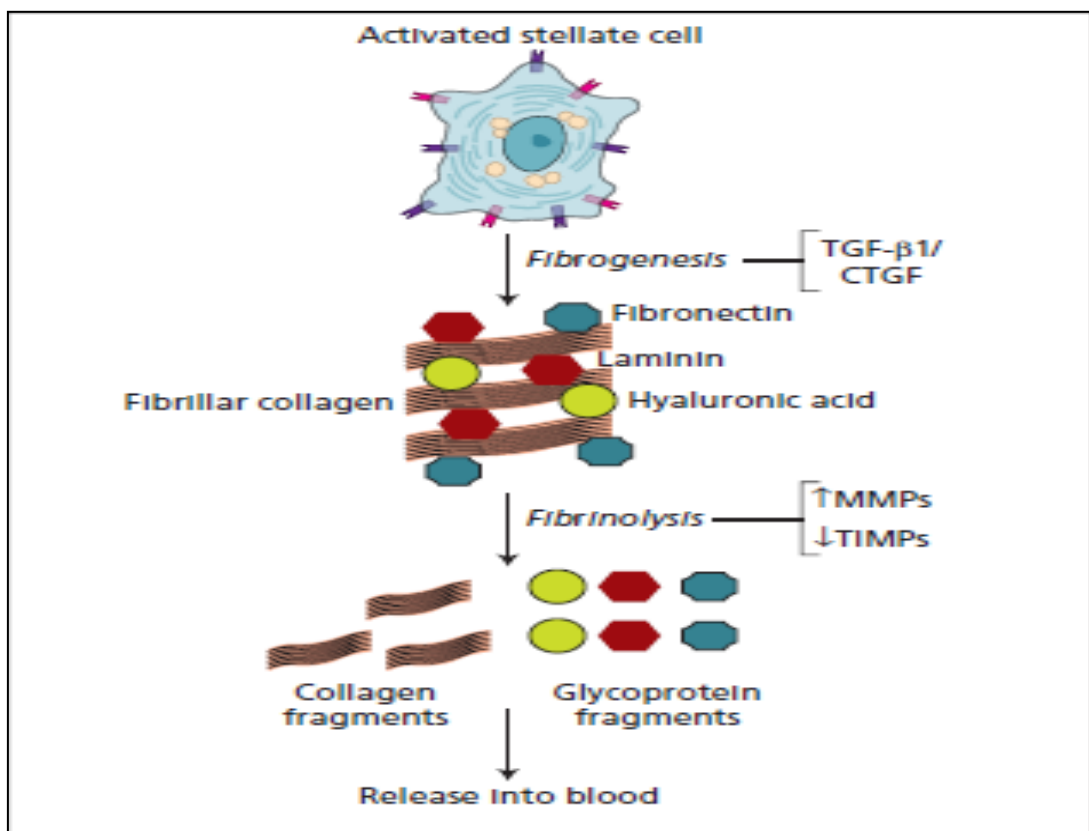


2.4. HSCs มีการเคลื่อนย้ายไปสู่ตำแหน่งที่มีการอักเสบ (HSCs chemotaxis): เป็นขั้นตอนที่ HSCs จะถูกเหนี่ยวนำให้มีการเคลื่อนย้ายไปสู่ตำแหน่งที่มีการอักเสบผ่านทางสารหลังไซโตไคน์ เช่น PDGF, monocyte chemotactic protein - 1 (MCP - 1), CXCR3 ligands เป็นต้น ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้เกิดการปฏิกริยาต่อระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย

2.5. เกิดการส่งสัญญาณการอักเสบ (inflammatory signalling): HSCs จะมีการสร้างและหลั่งไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบให้เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบให้เป็นไปอย่างต่อเนื่อง จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า HSCs สามารถทำหน้าที่เป็น antigen presenting cells (APC) โดยมีการแสดงออกต่อ MHC-I และ MHC-II ที่จำเพาะต่อทีเซลล์ ทำให้เกิดการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์

2.6. การเปลี่ยนแปลงสมดุลของการสลายพังพืด (Matrix degradation): เมื่อมีการสร้างพังพืดเกิดขึ้นบริเวณรอบนอกของเซลล์ (extracellular matrix: ECM) จะประกอบไปด้วย fibrillar collagens และ matrix glycoproteins เช่น fibronectin, laminin และ hyaluronic acid เป็นต้น ดังแสดงในรูปภาพที่ 3

รูปภาพที่ 3 กระบวนการย่อยสลายพังพืดในตับในภาวะปกติ¹⁵



ในระหว่างที่มีการสร้างพังพืดที่มากขึ้นที่บริเวณ ECM เซลล์ตับจะมีการสร้างเอนไซม์คือ matrix metalloproteinases (MMPs) ลดลงซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการย่อยสลายคอลลาเจนชนิดที่ 1 ซึ่งเป็นคอลลาเจนที่เกิดการสะสมในภาวะตับแข็งมากที่สุดดังกล่าวข้างต้น และเพิ่มการสร้าง tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMPs) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ MMPs ส่งผลให้มีการสะสมคอลลาเจนเพิ่มขึ้นนำไปสู่การเกิดพังพืดในตับที่มากขึ้น แต่ถ้การอักเสบที่เกิดขึ้นได้ถูกกำจัดไป MMPs จะมีการสร้างที่เพิ่มขึ้นและลดการสร้าง TIMP-1 ผล

ดังกล่าวจะทำให้มีการย่อยสลายพังผืดที่บริเวณ ECM มากขึ้นและเกิดการทำลาย HSCs ต่อไป ส่งผลให้ลดการเกิดพังผืดในตับลงได้

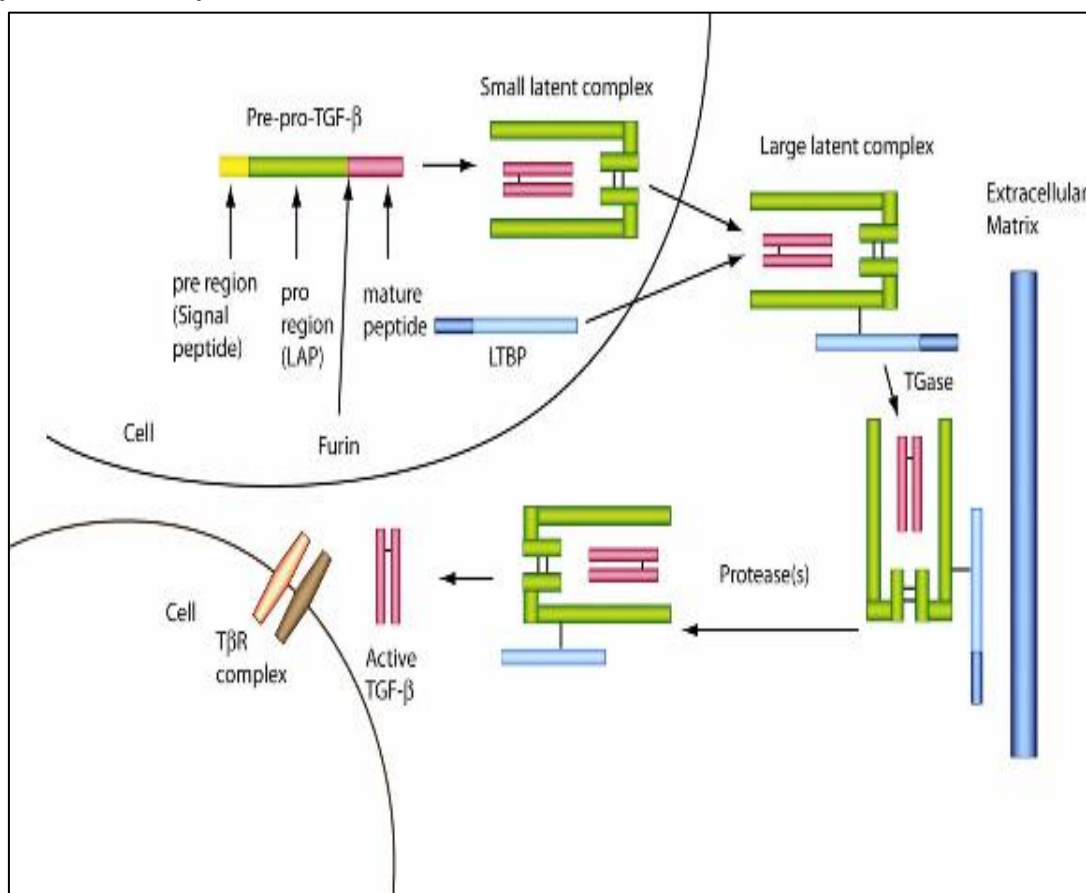
โดยสรุปเมื่อมีการอักเสบที่เป็นไปอย่างต่อเนื่องและเรื้อรังทำให้เกิดความไม่สมดุลกันระหว่าง เอนไซม์ทั้งสองชนิด ทั้ง MMPs และ TIMPs ทำให้มีการย่อยสลายของพังผืดภายในตับลดลง เกิดการสะสมคอลลาเจนภายในตับที่มากขึ้นและเกิดภาวะตับแข็งในที่สุด^{13, 15}

หน้าที่และกลไกการทำงานของ TGF- β

TGF- β เป็นไซโตไคน์ที่ถูกสร้างขึ้นได้จากหลายภาวะและหลายกลุ่มโรค¹⁴ มีหน้าที่ในการควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ การสร้างพังผืดบริเวณรอบนอกของเซลล์ (extracellular matrix: ECM) เป็นต้น¹⁶ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมมี TGF- β ทั้งหมด 3 ชนิด คือ TGF- β_1 , TGF- β_2 และ TGF- β_3 แต่ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดมากที่สุดคือ TGF- β_1

TGF- β ถูกสังเคราะห์จากเซลล์และหลั่งออกมาอยู่ในรูปแบบของโปรตีนที่ไม่พร้อมทำงาน เรียกว่า latent TGF- β_1 ซึ่งมีขนาดเล็ก ประกอบไปด้วย TGF- β dimer กับ latency-associated peptide (LAP) ซึ่ง latent TGF- β_1 ขนาดเล็กนี้จะจับกับ latent TGF- β binding proteins (LTBP) กลายเป็น latent TGF- β_1 ขนาดใหญ่ ซึ่งจะยึดติดและอยู่ใน ECM¹⁶ และเมื่อมีปัจจัยต่างๆที่กระตุ้นให้เอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนเพิ่มขึ้นหรือภาวะความเป็นกรดที่เปลี่ยนแปลงไป จะทำให้มีการย่อยสลายโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของ latent TGF- β_1 ขนาดใหญ่ออกไป กลายเป็นรูปแบบที่พร้อมทำงาน¹⁶ เรียกว่า active TGF- β_1 ซึ่งเป็นรูปแบบที่กระตุ้นให้เกิดขบวนการสร้างพังผืดที่สำคัญในร่างกาย ดังแสดงในรูปภาพที่ 4

รูปภาพที่ 4 แสดงรูปแบบต่างๆของ TGF- β ในร่างกาย¹⁶

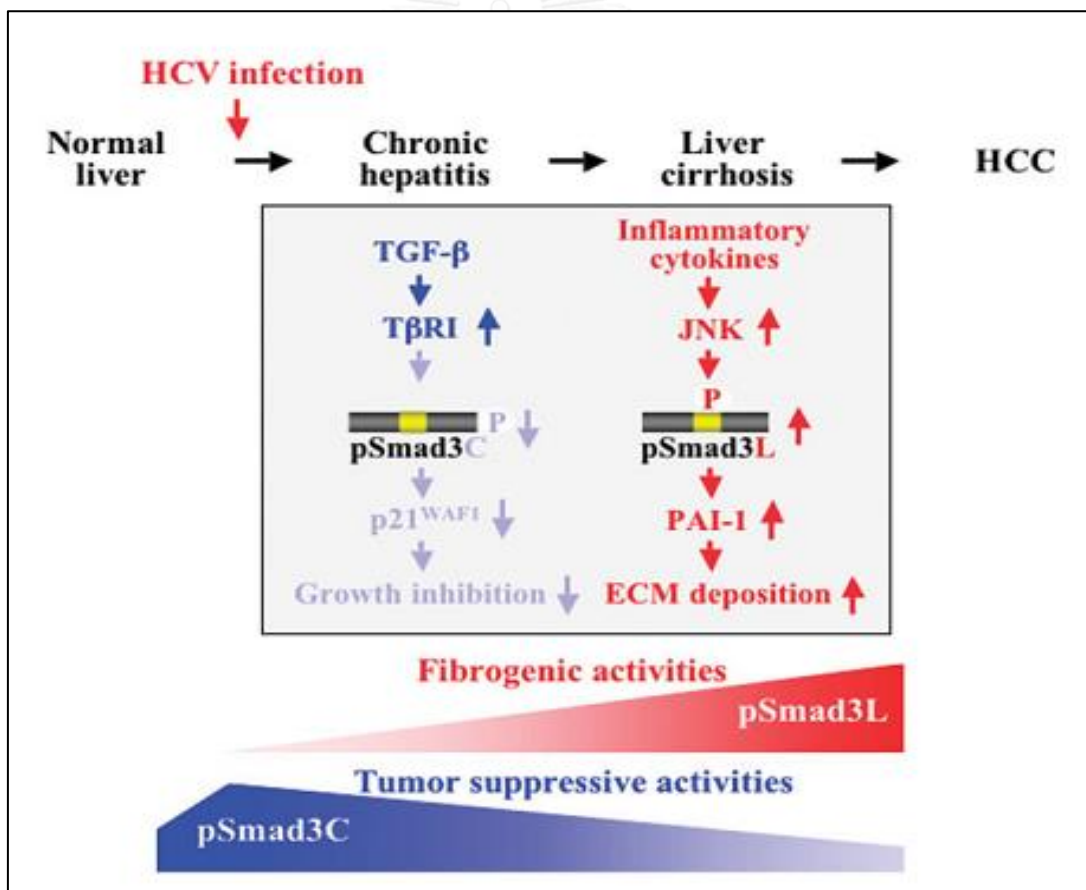


การวัดระดับในเลือดของ TGF- β_1 สามารถวัดได้ 2 แบบ คือ TGF- β_1 ที่พร้อมทำงาน (active) และ TGF- β_1 ทั้งหมด (Total) ซึ่งประกอบไปด้วย TGF- β_1 ที่พร้อมทำงานกับ TGF- β_1 ที่ไม่พร้อมทำงาน (Total = active + latent)¹⁶ รูปแบบที่พร้อมทำงาน (active form) มีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 2 นาที และรูปแบบที่ไม่พร้อมทำงาน (latent form) มีค่าครึ่งชีวิต 90 นาที โดยพบว่าระดับของรูปแบบที่ไม่พร้อมทำงาน (latent form) มีค่าสูงมากกว่ารูปแบบที่พร้อมทำงาน (active form) ประมาณ 65 เท่า¹⁶ ในการศึกษาโดยทั่วไปใช้การวัดระดับในเลือดของ TGF- β_1 ในรูปแบบที่พร้อมทำงาน (active form) มากที่สุด เนื่องจากเป็นรูปแบบที่กระตุ้นให้เกิดขบวนการสร้างพังผืดที่สำคัญในร่างกาย

ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังทำให้มีการกระตุ้นการทำงานของ TGF- β เกี่ยวข้องกับวิถี Smad (Smad pathway) โดยรูปแบบที่พร้อมทำงานของ TGF- β_1 (active TGF- β_1) จะจับกับตัวรับ TGF-

β แล้วไปกระตุ้นวิถีของ Smad ผ่านทาง pSmad3C ซึ่งโดยปกติวิถีของ pSmad3C จะเกี่ยวข้องกับ การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ตับแต่เมื่อมีการกระตุ้นผ่านทาง TGF- β จะทำให้วิถีของ pSmad3C ทำงานได้ลดลง ทำให้เกิดการสูญเสียของสมดุลการเจริญเติบโตของเซลล์ตับเกิดการเพิ่ม จำนวนมากขึ้น ในขณะเดียวกันรูปแบบที่พร้อมทำงานของ TGF- β_1 (active TGF- β_1) ไปกระตุ้น c-Jun N-terminal kinase (JNK) ซึ่งจะไปกระตุ้นวิถีของ pSmad3L ให้มีการทำงานที่เพิ่มมากขึ้น กระตุ้น HSCs ให้มีการสะสมของพังผืดที่รอบนอกเซลล์มากขึ้น (ECM) ซึ่งสุดท้ายจะทำให้เกิดตับแข็ง และมะเร็งตับได้ในที่สุด¹⁷ ดังแสดงในรูปภาพที่ 5

รูปภาพที่ 5 แสดงกลไกการทำงานของ TGF- β ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ¹⁷



ความสัมพันธ์ของการเกิดพังผืดภายในตับในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีกับ TGF- β_1

โดยการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับโรคตับพบว่า TGF- β สัมพันธ์กับการสร้างและการสะสมของพังผืดและคอลลาเจน (collagen) ภายในตับและถูกสร้างโดย HSCs เป็นส่วนใหญ่ โดยมีการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ใช้สารเคมี (CCl₄) กระตุ้นให้เกิดพังผืดในตับพบว่า การสะสมของคอลลาเจนที่เพิ่มขึ้นภายในตับสัมพันธ์ไปกับการตรวจพบ TGF- β ในเนื้อเยื่อตับ (TGF- β expression)¹⁸

มีการศึกษาเพื่อหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับ TGF- β_1 ในเนื้อเยื่อตับของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีชนิดเรื้อรังกับระดับ TGF- β_1 ในเลือด ทำการศึกษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี 58 ราย พบว่าระดับ TGF- β_1 ในเนื้อเยื่อตับมีค่าความสัมพันธ์ (r) เป็นอย่างดึกกับระดับ TGF- β_1 ในเลือดซึ่งเท่ากับ 0.65 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)¹⁹

นอกจากนี้มีการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ของระดับ TGF- β_1 ในเลือดของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังกับการเกิดพังผืดตับ ซึ่งมีผู้ป่วยทั้งสิ้น 87 ราย พบว่าผู้ป่วยที่เป็นไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีระดับของ TGF- β_1 ที่สูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและไม่มีความแตกต่างกันทั้งในวิธีการวัดทั้งสองรูปแบบ นอกจากนี้ทั้งอายุ เพศ ระยะเวลาที่ติดเชื้อ ระดับเอนไซม์ตับ ระดับไวรัสตับอักเสบบีในเลือดหรือชนิดของสายพันธุ์ ไม่สัมพันธ์ไปกับระดับของ TGF- β_1 แต่พบว่ามีค่าความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระยะพังผืดตับกับระดับ TGF- β_1 ($p = 0.04$)¹⁷ โดยระดับของ TGF- β ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีชนิดเรื้อรังยังสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของพังผืดในตับ (degree of fibrosis) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)^{20, 21} โดยมีค่าความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.495²¹ เช่นเดียวกัน และมีการศึกษาเปรียบเทียบระดับ TGF- β_1 ก่อนและหลังการได้รับการรักษาด้วยอินเตอร์เฟอรอนแอลฟา (Interferon- α) พบว่าระดับ TGF- β_1 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังได้รับการรักษาด้วยยาดังกล่าว²⁰⁻²² และพบว่าระดับของพังผืดในตับจากการตรวจชิ้นเนื้อตับก็ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยเช่นเดียวกัน²⁰

ดังนั้นจากข้อมูลที่ผ่านมาในปัจจุบันจึงได้เริ่มมีการนำตัววัดพังผืดของตับในซีรัมโดยเฉพาะ TGF- β_1 มาใช้ช่วยในการวินิจฉัยระยะของพังผืดตับ (Stage of fibrosis) เพิ่มมากขึ้น^{23, 24} ซึ่งพบว่า TGF- β_1 สามารถใช้เป็นตัววัดระดับพังผืดและสามารถวินิจฉัยระยะที่มีนัยสำคัญของพังผืดตับ (Metavir score \geq F2) ที่ดีได้ซึ่งให้ค่า AUROC เท่ากับ 0.835²⁵ และระดับของ TGF- β_1 ที่มากกว่า

115 ng/ml จะมีความเสี่ยงสูงต่ออัตราการเกิดพังพืดตับที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (rapid progression)²⁶

การสังเคราะห์วิตามินดีและเมทาบอลิซึม²⁷

การสังเคราะห์วิตามินดีในร่างกายเกิดขึ้นผ่านขั้นตอนดังต่อไปนี้ ดังแสดงในรูปภาพที่ 6

1. ขั้นตอนที่ 1: การได้รับแสงแดดและการรับประทานอาหาร

การสังเคราะห์วิตามินดีในร่างกายส่วนใหญ่ได้รับมาจากแสงอัลตราไวโอเลตบี (ultraviolet B) ผ่านทางผิวหนังซึ่งมีคลื่นความยาวอยู่ที่ 290-315 นาโนเมตร โดยเปลี่ยนแปลง 7-dehydrocholesterol ที่ได้ชั้นผิวหนังไปเป็น previtamin D3 และมีเพียงส่วนน้อยที่ได้รับจากแหล่งอาหาร (ดังแสดงในตารางที่ 2) ซึ่งจะได้รับในรูปแบบ vitamins D2 (ergocalciferol) and D3 (cholecalciferol) และถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็ก โดยวิตามินดีที่ได้รับจากแสงแดดและจากอาหารจะสามารถเก็บสะสมไว้ที่เซลล์ไขมัน (adepocytes) หรือเข้าสู่ขบวนการ 25-hydroxylation ภายในตับต่อไป

ตารางที่ 2 แสดงแหล่งที่มาของวิตามินดี

ชนิดของวิตามินดี	แหล่งที่มาของวิตามินดี
vitamins D2 (ergocalciferol)	<ul style="list-style-type: none"> - UV-irradiated mushrooms - Oral supplements - Artificially fortified foods (e.g. milk, cereals, bread, margarine)
vitamins D3 (cholecalciferol)	<ul style="list-style-type: none"> - Ultraviolet B light (290-315 nm): the major source of vitamin D3 - Fatty fish: Salmon, Mackerel, Tuna, Sardines - Cod liver oil - Eggs - Oral supplements - Artificially fortified foods (e.g. milk, cereals, bread, margarine)

2. ขั้นตอนที่ 2: ขบวนการ 25-hydroxylation

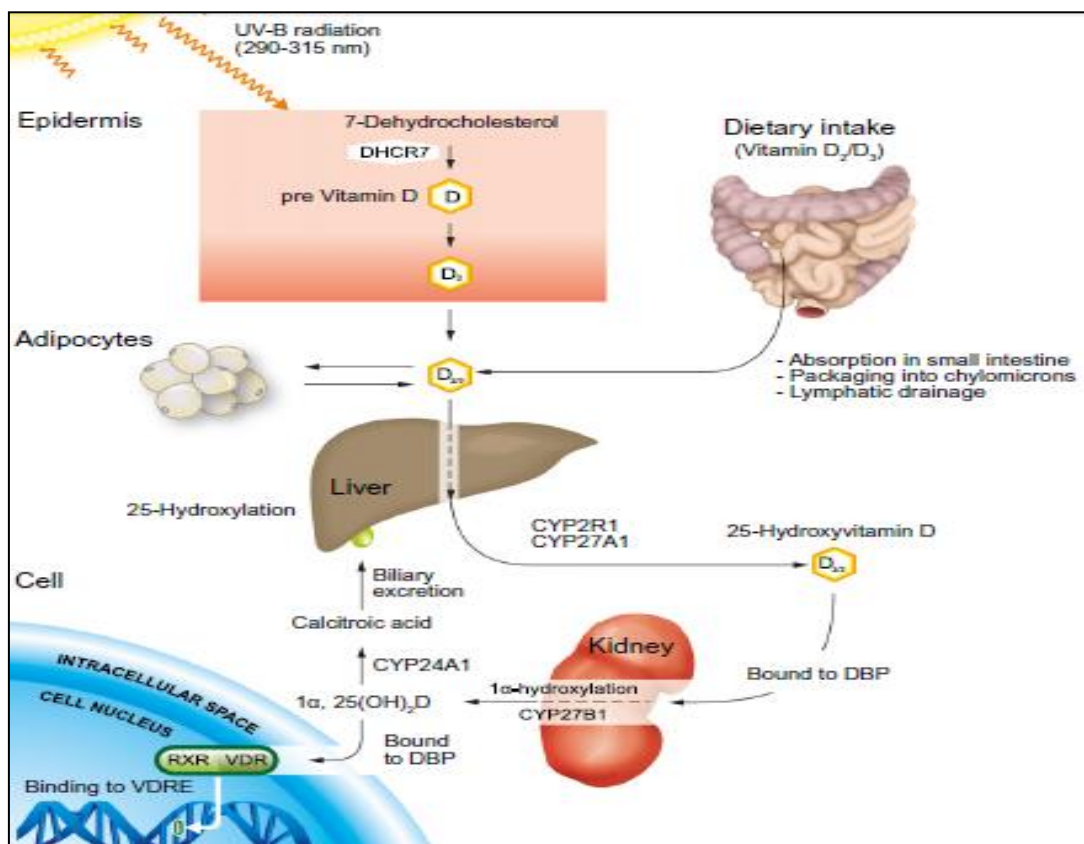
วิตามินดีที่ได้รับจากแสงแดดและจากอาหารเมื่อเข้าสู่ภายในตับจะเกิดขบวนการ 25-hydroxylation เกิดขึ้น ผ่านการทำงานของ cytochrome P450 ทำให้ได้วิตามินดีในรูปของ 25 (OH) vitamin D (ดังแสดงในรูปที่ 4) หรือ calcidiol ซึ่งมีค่าครึ่งชีวิตนาน 2-3 สัปดาห์และมักใช้รูปแบบนี้ในการวัดระดับวิตามินดี

25 (OH) vitamin D ส่วนใหญ่เกินร้อยละ 80 จะจับอยู่กับ vitamin D binding proteins (DBP) ซึ่งโดยปกติ DBP มีหน้าที่เป็นตัวพา (carrier) วิตามินดีไปที่ไต แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า DBP ยังมีหน้าที่ยับยั้งขบวนการการอักเสบ (anti-inflammation) และเกี่ยวข้องกับการปรับระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (immunomodulation) อีกด้วย²⁷ โดย DBP มีหน้าที่ในการพา 25 (OH) vitamin D ไปที่ไตเพื่อเข้าสู่ขบวนการ 1 alpha hydroxylation ต่อไป

3. ขั้นตอนที่ 3: ขบวนการ 1 alpha hydroxylation

เมื่อ 25 (OH) vitamin D ไปที่ไตเพื่อจะเข้าสู่ขบวนการ 1 alpha hydroxylation ทำให้เกิดวิตามินดีในรูป 1 alpha -25(OH)₂ D ซึ่งถือเป็นรูปที่พร้อมทำงาน (active) มีค่าครึ่งชีวิตเพียง 4 ชั่วโมง จากนั้น 1 alpha -25(OH)₂ D จะจับกับตัวรับวิตามินดี (Vitamin D Receptor: VDR) ซึ่งมีการแสดงออกในหลายๆเนื้อเยื่อของคน เช่น ตับ ตับอ่อน และ อิมมูนเซลล์ (ได้แก่ ทีลิมโฟไซต์, บีลิมโฟไซต์, monocytes, macrophages, NK cell และ dendritic cells) ซึ่งเซลล์เหล่านี้พบมากในเซลล์ของทางเดินอาหาร VDR มีหน้าที่ในการควบคุมยีนมากกว่า 200 ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และการปรับระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย

รูปภาพที่ 6 แสดงขบวนการสังเคราะห์วิตามินดี²⁷



กลไกของวิตามินดีที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Immuno-modulation)

วิตามินดีมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมการทำงานของแคลเซียมและกระดูก แต่ในปัจจุบันมีข้อมูลของวิตามินดีที่เพิ่มมากขึ้นนอกเหนือจากการควบคุมการทำงานของโครงร่างและกระดูก เช่น การควบคุมและการปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าอุบัติการณ์ของการเกิดโรค multiple sclerosis (MS) ลดลงสัมพันธ์ไปกับระดับของ 25 (OH) vitamin D ที่เพิ่มสูงขึ้น²⁸ และการให้วิตามินดีลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค MS ในผู้หญิง²⁹ และผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ในเด็กลงได้ประมาณร้อยละ 80³⁰ ดังนั้นวิตามินดีจึงน่าจะมีหน้าที่ที่สำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันทั้งชนิด innate และ adaptive (immunomodulation)²⁷ ดังจะกล่าวต่อไป คือ

1. Innate immunity

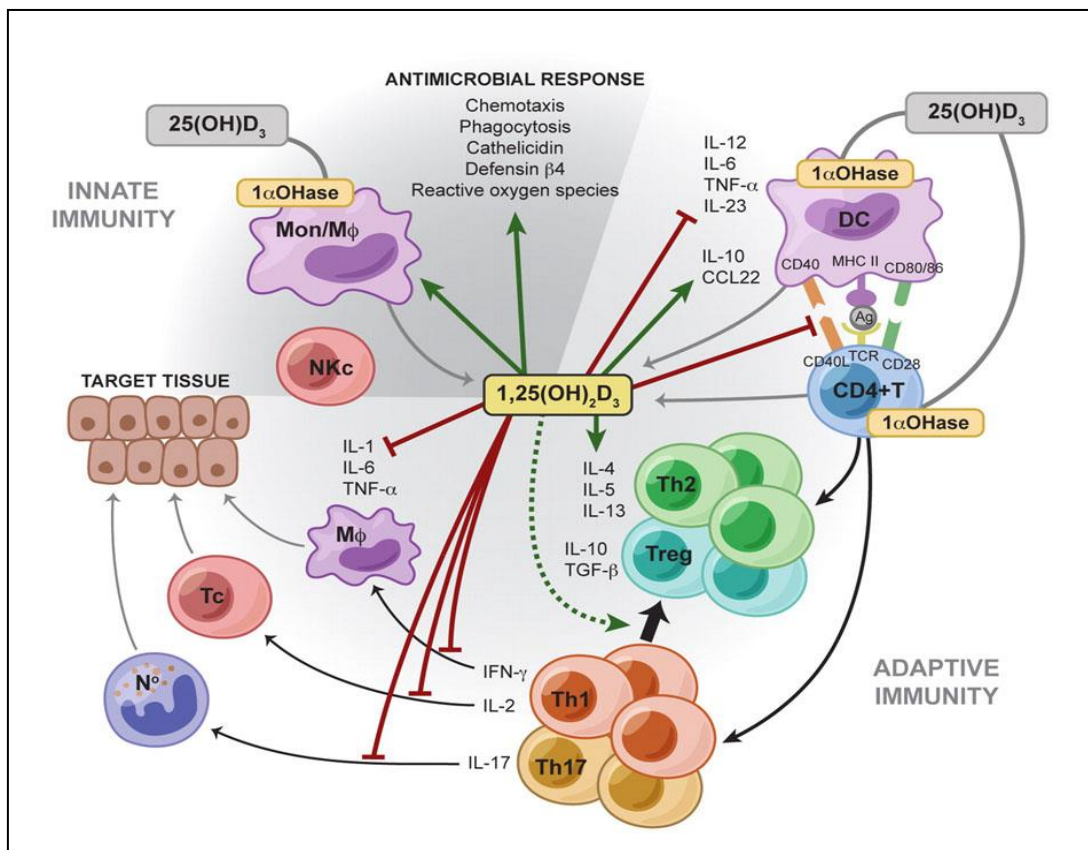
ผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบเรื้อรังจะพบว่าการเพิ่มขึ้นของ lipopolysaccharide (LPS) ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากแบคทีเรียโดย มีปัจจัยหลายชนิดเกี่ยวข้อง ได้แก่ การดื่มสุรา การซึมผ่านของสาร

ต่างๆที่บริเวณลำไส้เพิ่มมากขึ้น LPS จะเข้าสู่ตับผ่านทางหลอดเลือดพอร์ทอล จากนั้น Kuffer cells ที่อยู่ที่ตับจะมีการแสดงออกของ toll like receptor (TLR) หลายชนิดมากขึ้นในการตอบสนองต่อการกำจัด LPS ทำให้เกิดการกระตุ้นให้เกิดการสร้างพังผืดที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งพบว่ายิ่งระดับของวิตามินดีต่ำลงจะสัมพันธ์กับการแสดงออกของ TLR มากยิ่งขึ้น และการให้วิตามินดีเสริมพบว่าสามารถลดการแสดงออกของ TLR ได้เช่น มีการศึกษาในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังพบว่าการอักเสบที่เพิ่มมากขึ้นภายในเนื้อตับสัมพันธ์ไปกับการแสดงออกของ TLR ในเนื้อเยื่อตับที่เพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน นอกจากนี้พบว่าการให้วิตามินดียังสามารถลดการทำงานของ NK cells และ DC ด้วยเช่นเดียวกัน

2. Adaptive immunity

วิตามินดีมีหน้าที่สำคัญในการกระตุ้นทีเซลล์ให้มีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เพิ่มมากขึ้น โดยพบว่าเมื่อมีการกระตุ้นทีเซลล์จะทำให้มีการแสดงออกของตัวรับวิตามินดี (VDR) มากขึ้นทำให้มีการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนทีเซลล์เพิ่มขึ้น วิตามินดีเกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลในการสร้างไซโตไคน์ของทีเซลล์^{15, 31} โดยยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ T helper 1 ลิมโฟไซต์ ทำให้ลดการสร้าง interleukine 2 (IL-2), interferon gamma (IFN- γ) และ macrophages และเพิ่มจำนวนของ T helper 2 ให้เพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการสร้างไซโตไคน์ IL-4, IL-5 และ IL-10 มากขึ้น เพิ่มการสร้าง T reg cell มากขึ้น ผลโดยรวมทั้งหมดจะทำให้วิตามินดีสามารถลดการสร้าง cytotoxic T cells และช่วยปกป้องเซลล์หรืออวัยวะเป้าหมายไม่ให้ถูกทำลายลงได้⁴ ดังแสดงในรูปภาพที่ 7

รูปภาพที่ 7 กลไกของวิตามินดีที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Immuno-modulation)²⁷



กลไกของวิตามินดีที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ

ตัวรับวิตามินดี (Vitamin D receptor: VDR) มีการแสดงออกที่อวัยวะหรือเนื้อเยื่อหลายชนิดในร่างกาย เช่น ปอด ไต ตับอ่อน เป็นต้น ซึ่งรวมถึงที่ตับด้วยเช่นกัน โดยมีการแสดงออกอยู่บน HSCs โดยการแสดงออกของตัวรับวิตามินดีจะเพิ่มขึ้นจากการได้รับวิตามินดี²⁷ การให้วิตามินดีมีผลลดการแบ่งตัวของ HSCs และลดการสร้างพังผืดภายในเนื้อเยื่อตับในห้องปฏิบัติการทดลอง^{10, 11} โดยกลไกเชื่อว่า วิตามินดียับยั้งการแสดงออกของ cyclin D 1 ลดการเพิ่มจำนวนของ HSCs ยับยั้งการทำงานของคอลลาเจนแอลฟาชนิดที่ 1 (collagen Iα₁) เพิ่มการทำงานของเอนไซม์ MMP-9 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพังผืดในตับและยับยั้งการทำงานของ TIMP-1 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ยับยั้งการทำงานของ MMP นอกจากนี้มีการศึกษาในสัตว์ทดลองยืนยันว่าการให้วิตามินดีเสริมสามารถป้องกันและลดการเกิดพังผืดในตับในสัตว์ทดลองได้จากการลดการแสดงออกของ alpha smooth muscle actin และระดับคอลลาเจน²⁷

ความสำคัญทางคลินิกของการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี

การขาดวิตามินดีในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับเรื้อรังส่วนหนึ่งอธิบายได้จากการที่ตับสูญเสียความสามารถในการสังเคราะห์วิตามินดีจากการทำงานของตับที่ลดลง แต่ในบางการศึกษากลับพบว่าระดับของวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังระยะสุดท้ายยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ²⁶ ดังนั้นจึงเชื่อว่ายังมีปัจจัยอื่นๆที่อาจมีผลต่อการขาดวิตามินดีได้เช่นกัน เช่น การได้รับแสงแดดที่ไม่เพียงพอ การขาดสารอาหาร (malnutrition) หรืออาจจะเป็นผลของไวรัสตับอักเสบซีต่อการทำงานของวิตามินดี³¹

ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีพบอุบัติการณ์การขาดวิตามินดีที่รุนแรง [25(OH) vitamin D3 < 10 ng/mL] เพิ่มขึ้นทั้งในผู้ป่วยที่มีระดับพังพืดในตับที่รุนแรง (Metavir score \geq F2) และในผู้ป่วยที่ไม่มีพังพืดในตับหรือมีในระดับที่น้อยมาก (Metavir score F0-F1) เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ (healthy subjects) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ³¹ ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังที่มีระดับพังพืดอยู่เพียงแคใน ระยะเริ่มต้น (Metavir score = F0-F2) และมีระดับวิตามินดีที่ลดลง ยังสัมพันธ์กับอัตราการเกิดพังพืดตับที่เร็วเพิ่มขึ้น (rapid fibrosis progression) เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีระดับวิตามินดีที่ปกติจะมีอัตราการเกิดพังพืดตับที่ช้ากว่า³²

จากการศึกษาในห้องทดลองปฏิบัติการ (*in vitro*) ที่ผ่านมาผลของการได้รับวิตามินดีเสริมต่อไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรังพบว่า วิตามินดีสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของไวรัสตับอักเสบซีได้²⁷ การได้รับวิตามินดีเสริมสามารถลดการสร้างไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการอักเสบลงได้ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี³³

ผู้ป่วยที่มีการขาดวิตามินดีที่รุนแรงมีอัตราการหายจากโรคไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรัง (Sustained Virological Response: SVR) น้อยกว่าผู้ป่วยที่มีการขาดวิตามินดีที่ไม่รุนแรง (ร้อยละ 50 และ 81 ตามลำดับ) เช่นเดียวกัน³¹ ระดับของวิตามินดีที่ลดลงในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังชนิดที่ 1 สัมพันธ์กับระยะของการเกิดพังพืดในตับที่สูงขึ้น (stage of fibrosis) และยังสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการอักเสบภายในตับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ^{6, 7} นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของวิตามินดีที่ยิ่งต่ำลงมีความเสี่ยงสัมพัทธ์ (relative risk) เท่ากับ 6.37 ต่อการเกิดการดำเนินงานของตับที่แย่ง (hepatic decompensation) และเท่ากับ 4.31 ต่ออัตราการตายในผู้ป่วยที่เกิดตับวาย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ³⁴ โดยพบว่าระดับ 25 (OH) vitamin ที่น้อยกว่า 20 นาโนกรัมต่อมิลลิตรพบว่าสัมพันธ์กับอัตราการเกิดพังพืดตับที่เร็วเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง³²

ผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยที่ขาดวิตามินดีในผู้ป่วยทั่วไป จากการการเก็บรวบรวมข้อมูลทั้งหมด 18 การศึกษาที่เป็นแบบสุ่มเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมกับกลุ่มควบคุม พบว่าในผู้ป่วยที่ขาดวิตามินดีและได้รับวิตามินดีเสริมสามารถลดอัตราการตายจากทุกสาเหตุลงได้ ร้อยละ 7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ³⁵

นอกจากนี้ได้มีการศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวิตามินดีเสริม ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 1 ที่ไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาก่อน พบว่าในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมสามารถเพิ่มอัตราการหายจากโรค (SVR) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งยังพบว่าระดับไวรัสตับอักเสบบีในเลือด (HCV viral load) การมีระยะของพังผืดในตับที่สูง (advanced fibrosis) และการได้รับวิตามินดีเสริมเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออัตราการหายจากโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง⁸ เช่นเดียวกันกับในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังชนิดสายพันธุ์ที่ 2 หรือ 3 ที่ไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาก่อน ได้มีการศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวิตามินดีเสริม พบว่าในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมสามารถเพิ่มอัตราการหายจากโรค (SVR) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องคือระดับ 25 (OH) vitamin D < 15 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราเสี่ยงต่อการไม่หายจากโรค (no SVR) เพิ่มขึ้น 2.2 เท่า⁹ (OR = 2.2)

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดจะเห็นได้ว่าระดับของวิตามินดีที่ลดลงเกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับที่สูงขึ้น วิตามินดีมีผลต่อการช่วยส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ช่วยให้การรักษาไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังดีขึ้น ผู้วิจัยตั้งสมมุติฐานว่า การที่วิตามินดีมีส่วนในการลดการเกิดพังผืดในตับได้นั้น ส่วนหนึ่งน่าจะมิกลไกจากการควบคุมการปรับสมดุลของการสร้างไซโตไคน์ และเอ็นไซม์ ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ

ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งว่าการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังกลุ่มนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงของระดับตัววัดพังผืดของตับในซีรัมให้เปลี่ยนแปลงลดลงได้หรือไม่ จึงเป็นที่มาของการศึกษางานวิจัยนี้ที่ต้องการทราบถึงผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังว่าจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับตัววัดพังผืดของตับในซีรัม

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 รูปแบบการวิจัย

Randomized double-blinded placebo-controlled Study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

Target population (ประชากรเป้าหมาย): ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรัง ที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ตอินเตอร์เฟียรอนและโรบาวิริน หรือเคยได้รับการรักษาด้วยยาดังกล่าวแล้วแต่ไม่หายและหยุดยามาแล้วอย่างน้อย 6 เดือน

Study population (ประชากรที่ใช้ในการศึกษา): ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรัง ที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ตอินเตอร์เฟียรอนและโรบาวิริน หรือเคยได้รับการรักษาด้วยยาดังกล่าวแล้วแต่ไม่หายและหยุดยามาแล้วอย่างน้อย 6 เดือน ที่เข้ารับการรักษา ณ แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จังหวัดกรุงเทพมหานครโดยผู้ป่วยยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย

3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

Cytokine คือ โปรตีน ที่มีขนาดเล็ก (น้อยกว่า 30 kDa) ซึ่งสร้างจากเซลล์ต่างๆ ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดขาว เพื่อไปควบคุมหรือกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์ชนิดต่างๆ

TGF- β 1 คือ ไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม โดยชนิดเบต้า 1 เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในร่างกาย

การได้รับวิตามินดีเสริม คือ ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าขาดวิตามินดี แล้วได้รับวิตามินดีเสริม (Ergocalciferol) ตามระดับความรุนแรงที่ขาด ดังตารางที่ 2

ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง คือ ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจยืนยันว่าพบไวรัสซีในเลือด (HCV RNA เป็นบวก) และตรวจพบระดับไวรัสในเลือด

Liver fibrosis คือ การสะสมของพังผืดตับในปริมาณที่มาก เป็นผลจากความไม่สมดุลกันระหว่างการสร้างพังผืดที่เพิ่มขึ้นกับการย่อยสลายพังผืดที่ลดลงภายในตับ โดยภาวะใดๆก็ตามที่ทำให้เกิดการอักเสบภายในตับแบบเรื้อรังและต่อเนื่อง

เกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง หรือผู้ป่วยตับแข็งจากไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังระยะเริ่มต้น (Child-Pugh score A) ที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาก่อนหรือเคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาแล้วแต่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ในช่วงระยะเวลามากกว่า 6 เดือนก่อนการคัดเลือกเข้ามศึกษา
2. อายุระหว่าง 18-70 ปี
3. ระดับ 25-OH vitamin D < 30 ng/ml
4. ยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

เกณฑ์การคัดเลือกรอกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ผู้ป่วยโรคอโตอิมมูน ผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือด ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหอบหืดเรื้อรังหรือโรคปอดอุดกั้นทางเดินหายใจ (Asthma or chronic obstructive pulmonary disease) ผู้ป่วยเบาหวานและผู้ป่วยโรคมะเร็งทุกชนิด
2. ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคตับอักเสบบีเรื้อรังหรือตับแข็งจากสาเหตุอื่น เช่น การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (chronic viral hepatitis B), autoimmune hepatitis, nonalcoholic fatty liver disease (วินิจฉัยจากอัลตราซาวด์), alcoholic liver disease (ปริมาณสุราที่ดื่มมากกว่า 60 กรัมต่อวันเป็นระยะเวลามากกว่าหรือเท่ากับ 10 ปี)
3. ผู้ป่วยที่กำลังตั้งครรภ์และ/หรือให้นมบุตร
4. ผู้ป่วยที่กำลังเจ็บป่วยติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรีย (active viral or bacterial infection)
5. ผู้ป่วยที่เคยได้รับสเตียรอยด์หรือยากดภูมิคุ้มกันมาก่อนในช่วง 6 เดือนก่อนการคัดเลือกเข้าการศึกษา
6. ผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษาด้วยอินเตอร์เฟียรอนหรือได้รับยาที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันมาก่อนในช่วง 6 เดือนก่อนการคัดเลือกเข้าการศึกษา
7. ผู้ป่วยที่ยังมีปริมาณสุรามากกว่า 20 กรัมต่อวันในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา ก่อนการคัดเลือกเข้าการศึกษา
8. ผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรังที่อัตราการกรองของไต (Glomerular Filtration Rate: GFR) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 60 มิลลิลิตรต่อนาที

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

$$N/\text{group} = \frac{2 (Z\alpha_{/2} + Z\beta)^2 \sigma^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

กำหนด $\alpha = 0.05 \rightarrow Z\alpha_{/2} = 1.96$

$\beta = 0.05 \rightarrow Z\beta = 1.64$

จากการศึกษาของ Marek³⁶

มีค่าความแปรปรวน $\sigma^2 = 42.75$

จากสูตร
$$\sigma^2 = \frac{(n_1-1)SD_1^2 + (n_2-1)SD_2^2}{n_1+n_2-2}$$

มีค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย $(X_1 - X_2)^2 = 47.47$

จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 24 คน ดังนั้นจำนวนตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 48 คน

กำหนด อัตรา dropout เท่ากับร้อยละ 10

ดังนั้น จำนวนตัวอย่างแต่ละกลุ่มเท่ากับ $24/0.9 \sim 27$ คน

ดังนั้น **จำนวนตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 54 คน**

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ชี้แจงวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการวิจัย ประโยชน์ที่ผู้ป่วยจะได้รับ รวมถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น
2. ชักประวัติ ตรวจร่างกายตามแบบบันทึกข้อมูล และเก็บข้อมูลตามแบบสอบถาม
3. วัดระดับ serum 25 (OH) Vitamin D, TGF- β_1 ที่เริ่มต้นก่อนการได้รับวิตามินดีหรือยา หลอก โดยอาสาสมัครที่จะเข้าเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะพร่อง (ขาด) วิตามินดี คือต้องมีระดับ 25 (OH) vitamin D น้อยกว่า 30 นาโนกรัมต่อซีซี

4. แบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่ม โดยเทคนิค stratification block randomization กลุ่มหนึ่งได้รับวิตามินดีตาม ระดับ serum 25 (OH) vitamin D (ดังตารางที่ 1) อีกกลุ่มได้รับยาหลอกที่มีลักษณะเหมือนกันยกเว้นตัวยา เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์
5. วัดระดับ serum 25 (OH) Vitamin D, TGF- β_1 ที่ 6 สัปดาห์หลังการได้รับวิตามินดีหรือยาหลอก
6. วัดผลโดยใช้แบบบันทึกข้อมูลและตรวจด้วยวิธี TGF- β_1 quantitative analysis (ELISA), ระดับ 25 (OH) vitamin D และทำการวิเคราะห์ทางสถิติ

การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อส่งตรวจ TGF- β_1

1. เก็บตัวอย่างเลือดใส่ clotted tube และตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
2. นำตัวอย่างเลือดมาปั่น 15 นาที
3. เก็บแยกซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ ≤ -70 °c (ทุกขั้นตอนทำทันทีที่เก็บตัวอย่างเลือดได้และไม่เกิน 24 ชั่วโมง)
4. ตรวจวัดระดับของ TGF- β_1 ด้วยวิธี ELISA (R&D Systems) โดยวิธีที่ใช้ตรวจมีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนภายในชุดทดสอบ (Intra assay) ร้อยละ 1.9 - 2.9 และมีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนระหว่างชุดทดสอบ (Inter assay) ร้อยละ 6.4-9.3 ดังตารางที่ 3 และมีค่าเฉลี่ยความไว (ค่าเฉลี่ยที่น้อยที่สุดที่ตรวจได้) เท่ากับ 4.61 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร
5. ขั้นตอนการวัดระดับ TGF- β_1 ทุกขั้นตอนทำตามคำแนะนำของบริษัท R&D Systems

ตารางที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของชุดทดสอบ TGF- β_1 ELISA

	ความแม่นยำภายในชุดทดสอบ (Intra assay precision)			ความแม่นยำระหว่างชุดทดสอบ (Intra assay precision)		
	1	2	3	1	2	3
ตัวอย่าง (sample)	1	2	3	1	2	3
จำนวน (n)	20	20	20	28	37	30
ค่าเฉลี่ย (mean: pg/ml)	78	180	695	79	185	730
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	2.3	3.4	17.3	7.2	17.2	46.8
ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (% CV)	2.9	1.9	2.5	9.1	9.3	6.4

การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อส่งตรวจระดับ 25 (OH) vitamin D

1. เก็บตัวอย่างเลือดใส่ clotted tube
2. ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ด้วยวิธี

Immunochemiluminescence

3.4 การรวบรวมข้อมูล

เก็บข้อมูลพื้นฐานต่างๆของผู้ป่วย ได้แก่ อายุ เพศ โรคประจำตัว ประวัติการดื่มเหล้า ระดับไวรัส ชนิดของไวรัส ระดับวิตามินดีก่อนและหลังการให้ยา ผลค่าการทำงานของตับ ผลการนับจำนวนเม็ดเลือดและเกร็ดเลือด บันทึกข้อมูลชนิดของยาที่ใช้รักษา บันทึกผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น ระหว่างรักษา ซึ่งข้อมูลทั้งหมดบันทึกลงในแบบบันทึกข้อมูล (Case record form) และคอมพิวเตอร์

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลเชิงปริมาณ วิธีการทางสถิติที่ใช้ทดสอบสมมุติฐานเปรียบเทียบข้อมูลเชิงปริมาณ 2 กลุ่มที่ไม่เป็นอิสระต่อกัน (ก่อนและหลังการได้รับวิตามินดี) ทดสอบโดย paired t-test หรือ Wilcoxon signed-rank test ตามลักษณะการกระจายของข้อมูล และข้อมูล 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน (กลุ่มที่ได้รับวิตามินดีกับกลุ่มควบคุม) ทดสอบโดย unpaired t-test หรือ Mann-Whitney U-test ตามลักษณะการกระจายของข้อมูล นำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย (mean) ค่ามัธยฐาน (median) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD)

ข้อมูลเชิงคุณภาพ นำเสนอเป็นจำนวน (Frequency), ร้อยละ (Percentage) และวิธีการทางสถิติที่ใช้วิเคราะห์โดย Chi-square test หรือ Fisher's exact test ตามความเหมาะสมเมื่อต้องการเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างสองกลุ่ม

3.6 ปัญหาทางจริยธรรม

เป็นไปตามหลักจริยธรรมพื้นฐาน 3 ข้อของ The Belmont Report อันประกอบด้วย หลักการเคารพในบุคคล หลักผลประโยชน์ และหลักยุติธรรม) ดังนี้คือ

หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person)

ผู้วิจัยจะเก็บความลับของอาสาสมัครโดยไม่มี การระบุถึงตัวตนของอาสาสมัครในแบบบันทึก

ข้อมูล ผู้ที่จะสามารถเข้าถึงข้อมูลผู้ป่วยมีเฉพาะผู้วิจัยหลักเท่านั้น และอาสาสมัครทุกรายจะได้รับข้อมูลเกี่ยวกับรายละเอียดงานวิจัย วัตถุประสงค์ ประโยชน์และผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นได้อย่างครบถ้วน และได้รับความยินยอมจากผู้ป่วย

หลักการให้ประโยชน์ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficial/Non-maleficence)

การศึกษานี้มีประโยชน์กับอาสาสมัครในการให้วิตามินดีเสริมในผู้ที่ขาดวิตามินดีและอาจช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพในการรักษาไวรัสตับอักเสบซีได้ในอนาคต ช่วยสนับสนุนและอธิบายกลไกการทำงานของวิตามินดีที่มีผลในการลดการเกิดขบวนการอักเสบและส่งผลให้เกิดพังผืดในตับที่ลดลงได้ อาจได้รับความเสี่ยงจากการเจาะเลือดแต่จะแก้ไขด้วยการให้เจ้าหน้าที่ผู้ชำนาญในการเจาะเลือดเป็นผู้ดำเนินการเจาะเลือดให้

หลักความยุติธรรม (Justice)

การศึกษานี้มีเกณฑ์การคัดเลือกและคัดออกอย่างชัดเจน และเป็นการศึกษาแบบสุ่ม มีการกระจายความเสี่ยงและผลประโยชน์อย่างเท่าเทียมกันในอาสาสมัครทุกราย

3.7 ข้อจำกัดในการวิจัย

1. เนื่องจากไม่มีหลักฐานที่ชัดเจนเกี่ยวกับระดับ $TGF-\beta_1$ และการเปลี่ยนแปลงระหว่างวัน นอกจากนี้การเลือกเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยไม่สะดวกในการเดินทางมาโรงพยาบาลได้ ดังนั้นการเก็บตัวอย่างเลือดในแต่ละช่วงเวลาที่แตกต่างกันอาจทำให้มีผลต่อระดับ $TGF-\beta_1$

2. งานวิจัยนี้ต้องให้ยาผู้ป่วยกลับไปปรับปรุประทานเองที่บ้าน ทำให้ไม่สามารถทราบผู้ป่วยจะรับประทานยาสม่ำเสมอหรือไม่ การแนะนำพูดคุยทำความเข้าใจกับผู้ป่วยโดยละเอียด การติดตามผลเป็นระยะและการเช็คปริมาณยาที่เหลือว่าใช้ในปริมาณตามที่กำหนดอาจช่วยแก้ปัญหาจุดนี้ได้

3.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของการได้รับวิตามินดีว่าจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ $TGF-\beta_1$ หรือไม่ เพื่อช่วยสนับสนุนและสามารถอธิบายกลไกการทำงานของวิตามินดี ที่มีผลในการลดการเกิดขบวนการอักเสบและส่งผลให้เกิดการสร้างพังผืดในตับที่ลดลงได้ อีกทั้งยังส่งผลต่ออัตราการหายจากไวรัสตับอักเสบซีเพิ่มมากขึ้น

3.9 อุปสรรคที่ผู้วิจัยคาดว่าจะเกิดขึ้นและมาตรการในการแก้ไข

เนื่องจากงานวิจัยนี้ใช้ผู้ป่วยค่อนข้างมาก อาจทำให้ไม่สามารถหาผู้ป่วยได้ตามจำนวนที่ต้องการ และอาจมีผู้ป่วยสูญหายระหว่างการรักษา การแก้ไขคือต้องมีการแนะนำและประชาสัมพันธ์ที่ดี สร้างแรงจูงใจให้กับผู้ป่วย มีการตรวจติดตามและโทรศัพท์สอบถามต่อเนื่อง



บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ศึกษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง หรือผู้ป่วยตับแข็งจากไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังระยะเริ่มต้น (Child-Pugh score A) ที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาก่อนหรือเคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาแล้วแต่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา และหยุดยามากกว่า 6 เดือน ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ช่วงเวลาดังตั้งแต่วันที่ 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557 ถึง 15 พฤศจิกายน พ.ศ. 2557

มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาตามเกณฑ์การคัดเลือกและคัดออกทั้งสิ้น 54 ราย ซึ่งได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังจากการตรวจ anti-HCV มีค่าเป็นบวกและตรวจพบระดับไวรัสในเลือด (HCV RNA) หลังจากนั้นผู้ป่วยจะถูกแบ่งเป็นสองกลุ่มด้วยวิธีสุ่มแบบ block of 4 คือกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมจำนวน 27 ราย และกลุ่มที่ได้รับยาหลอกจำนวน 27 ราย

ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยในการศึกษามีดังนี้ กล่าวคือ ผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ย 50.24 ± 10.6 ปี มีอายุน้อยที่สุดที่เข้าร่วมการศึกษาคือ 26 ปีและอายุมากที่สุดคือ 70 ปี มีผู้ป่วยเพศชาย 35 ราย คิดเป็นร้อยละ 64.8 และเพศหญิง 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 35.2 ค่าเฉลี่ยของดัชนีมวลกาย (Body mass index หรือ BMI) เท่ากับ 24.8 ± 3.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีผู้ป่วยที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาก่อน 45 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.3 และเคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็ดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาแล้วแต่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา 9 ราย คิดเป็นร้อยละ 16.7 จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยตับแข็งจากไวรัสตับอักเสบซี 21 ราย คิดเป็นร้อยละ 38.9 จำนวนผู้ป่วยที่มีระดับนัยสำคัญของพังผืดในตับตามระบบ metavir ($\geq F2$) เท่ากับ 44 ราย คิดเป็นร้อยละ 81.5 และ ระดับของพังผืดในตับที่ไม่มีนัยสำคัญ ($< F2$) เท่ากับ 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 18.5 จำนวนผู้ป่วยที่ไม่มีโรคประจำตัว เท่ากับ 47 ราย คิดเป็นร้อยละ 87 มีโรคประจำตัวเป็นความดันโลหิตสูง 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 11 และเป็นโรคไขมันในเลือดสูง 1 ราย คิดเป็น ร้อยละ 2

ผลทางห้องปฏิบัติการก่อนการรักษา มีระดับค่าเฉลี่ยของไวรัสตับอักเสบซีและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD) เท่ากับ $1,100,046 \pm 1,399,981.9$ IU/ml เป็นไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 จำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 46.3 ไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์อื่นนอกเหนือ

สายพันธุ์ชนิดที่ 1 จำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 46.3 และจำนวนของผู้ป่วยที่ไม่ทราบสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบบี เท่ากับ 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.4 ระดับค่าเฉลี่ยของ SGOT เท่ากับ 101.6 ± 94.8 U/L และ SGPT เท่ากับ 107.6 ± 95.0 U/L ระดับค่าเฉลี่ยของ Total bilirubin (TB) เท่ากับ 1.1 ± 0.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ระดับค่าเฉลี่ยของ 25 OH vitamin D เท่ากับ 18.8 ± 5.4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 เท่ากับ 634.9 ± 248.4 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มพบว่า

- อายุเฉลี่ยในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 50 ± 11.7 ปี ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 50.4 ± 9.5 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.9$)
- เพศชายในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมมีจำนวน 21 ราย คิดเป็นร้อยละ 77.8 ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกมีจำนวนเพศชาย 14 ราย คิดเป็นร้อยละ 51.8 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.04$)
- ค่าดัชนีมวลกายในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 24.8 ± 3.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 24.6 ± 3.0 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.54$)
- จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยตับแข็งในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 11 ราย คิดเป็นร้อยละ 40.7 ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 37 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.78$)
- ระดับค่าเฉลี่ยของพังผืดตับซึ่งวัดด้วยวิธี Fibroscan ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 16.5 ± 11.1 กิโลปาสคาล ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 15.1 ± 7.7 กิโลปาสคาลซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.61$)
- จำนวนผู้ป่วยที่มีระดับพังผืดที่มีนัยสำคัญ ($\geq F2$) ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 21 ราย คิดเป็นร้อยละ 77.8 ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 23 ราย คิดเป็นร้อยละ 85.2 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.48$)
- จำนวนผู้ป่วยที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเต็อดินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาก่อนในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 24 ราย คิดเป็นร้อยละ 88.9 ใน

กลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 21 ราย คิดเป็นร้อยละ 77.8 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.27$)

- จำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีสายพันธุ์ที่ 1 ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 11 ราย คิดเป็นร้อยละ 40.7 ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 14 ราย คิดเป็นร้อยละ 51.8 ซึ่ง
- จำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีนอกเหนือสายพันธุ์ที่ 1 ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 13 ราย คิดเป็นร้อยละ 48.1 ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 12 ราย คิดเป็นร้อยละ 44.4
- จำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ไม่ทราบชนิดสายพันธุ์ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 11.1 ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.8 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.58$)
- จำนวนผู้ป่วยที่ไม่มีโรคประจำตัวในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 23 ราย คิดเป็นร้อยละ 85.2 ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 24 ราย คิดเป็นร้อยละ 88.9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.41$)
- ไม่มีผู้ป่วยรายใดที่ได้รับยาที่เกี่ยวข้องต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินดี

เมื่อเปรียบเทียบผลตรวจทางห้องปฏิบัติการของทั้งสองกลุ่มพบว่า

- ระดับค่าเฉลี่ยของไวรัสตับอักเสบบีในเลือดในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ $1,161,801 \pm 1,385,121$ IU/mL ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ $1,038,292 \pm 1,439,375$ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.75$)
- ระดับ SGPT ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 126.1 ± 109.6 U/L ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 89.9 ± 72.1 U/L ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.16$)
- ระดับค่าเฉลี่ยน้ำตาลในเลือด ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริม เท่ากับ 110.2 ± 20.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 109.7 ± 19.1 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.6$)

- ระดับเฉลี่ยของ 25 OH vitamin D ที่ก่อนการรักษาในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริม เท่ากับ 19.5 ± 5.3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 18.2 ± 5.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.36$)
- ระดับเฉลี่ยของ TGF- β_1 ที่ก่อนการรักษาเท่ากับ 655.9 ± 219.4 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกเท่ากับ 624.8 ± 279.2 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.65$)

โดยสรุปการวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับวิตามินดีเสริมและยาหลอกพบว่ามีเพียงเพศที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จำนวนผู้ป่วยที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาด้วยเพ็กกิเลตเตดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิรินมาก่อน หรือเคยได้รับการรักษาด้วยยาดังกล่าวมาแล้วแต่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ค่าเฉลี่ยของดัชนีมวลกาย จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยตับแข็ง จำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีสายพันธุ์ที่ 1 และสายพันธุ์อื่นๆ ระดับของไวรัสตับอักเสบบีในเลือด ระดับ SGOT ระดับ SGPT ระดับ 25 OH vitamin D และระดับ TGF- β_1 ที่เริ่มต้นก่อนการรักษาไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มนี้ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังระหว่างกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมกับยาหลอก

	กลุ่มที่ได้รับวิตามินดี (n=27)	กลุ่มยาหลอก (n=27)	p - value
อายุ (ปี) Mean \pm SD	50 \pm 11.7	50.4 \pm 9.5	0.9
เพศ ชาย, จำนวนคน (ร้อยละ)	21 (77.8)	14 (51.8)	0.04
ค่าดัชนีมวลกาย (kg/m^2) Mean \pm SD	24.8 \pm 3.8	24.6 \pm 3.0	0.54
ภาวะตับแข็ง, จำนวนคน (ร้อยละ)	11 (40.7)	10 (37.0)	0.78

	กลุ่มที่ได้รับวิตามินดี (n=27)	กลุ่มยาหลอก (n=27)	p - value
ผู้ป่วยที่ยังไม่เคยได้รับการรักษาไวรัส ตับอักเสบบี, จำนวนคน (ร้อยละ)	24 (88.9)	21 (77.8)	0.27
ค่าเฉลี่ยของ Fibroscan (kPa)	16.5 ± 11.1	15.1 ± 7.7	0.61
ระดับพังผืดที่มีนัยสำคัญ (≥ F2), จำนวนคน (ร้อยละ)	21 (77.78)	23 (85.18)	0.48
โรคประจำตัว, จำนวนคน (ร้อยละ)			0.41
- ไม่มี	23 (85.2)	24 (88.9)	
- ความดันโลหิตสูง	4 (14.8)	2 (7.4)	
- ไขมันในเลือดสูง	0	1 (3.7)	
ระดับไวรัสตับอักเสบบีในเลือดก่อน การรักษา (IU/mL) Mean ± SD	1,161,801 ± 1,385,121	1,038,292 ± 1,439,375	0.75
ระดับไวรัสตับอักเสบบีในเลือด - ≥ log 7 IU/mL, จำนวนคน (ร้อยละ)	16 (59.3)	19 (70.4)	0.48
ชนิดของสายพันธุ์ไวรัสตับอักเสบบี, จำนวนคน (ร้อยละ)			0.58
- สายพันธุ์ 1	11 (40.7)	14 (51.8)	
- ไม่ใช่สายพันธุ์ 1	13 (48.1)	12 (44.4)	
- ไม่ทราบชนิด	3 (11.1)	1 (3.8)	
SGOT (U/L)	123.6 ± 119.7	80.3 ± 56.9	0.97
SGPT (U/L)	126.1 ± 109.6	89.9 ± 72.1	0.16
ระดับ Fasting plasma glucose (mg/dL)	110.2 ± 20.2	109.7 ± 19.1	0.69

	กลุ่มที่ได้รับวิตามินดี (n=27)	กลุ่มยาหลอก (n=27)	p - value
ระดับ 25(OH) vitamin D ที่เริ่มต้น (ng/mL) Mean \pm SD	19.5 \pm 5.3	18.2 \pm 5.5	0.36
ระดับ TGF- β_1 ที่เริ่มต้น (pg/mL) Mean \pm SD	650.5 \pm 221.9	613.1 \pm 277.8	0.59

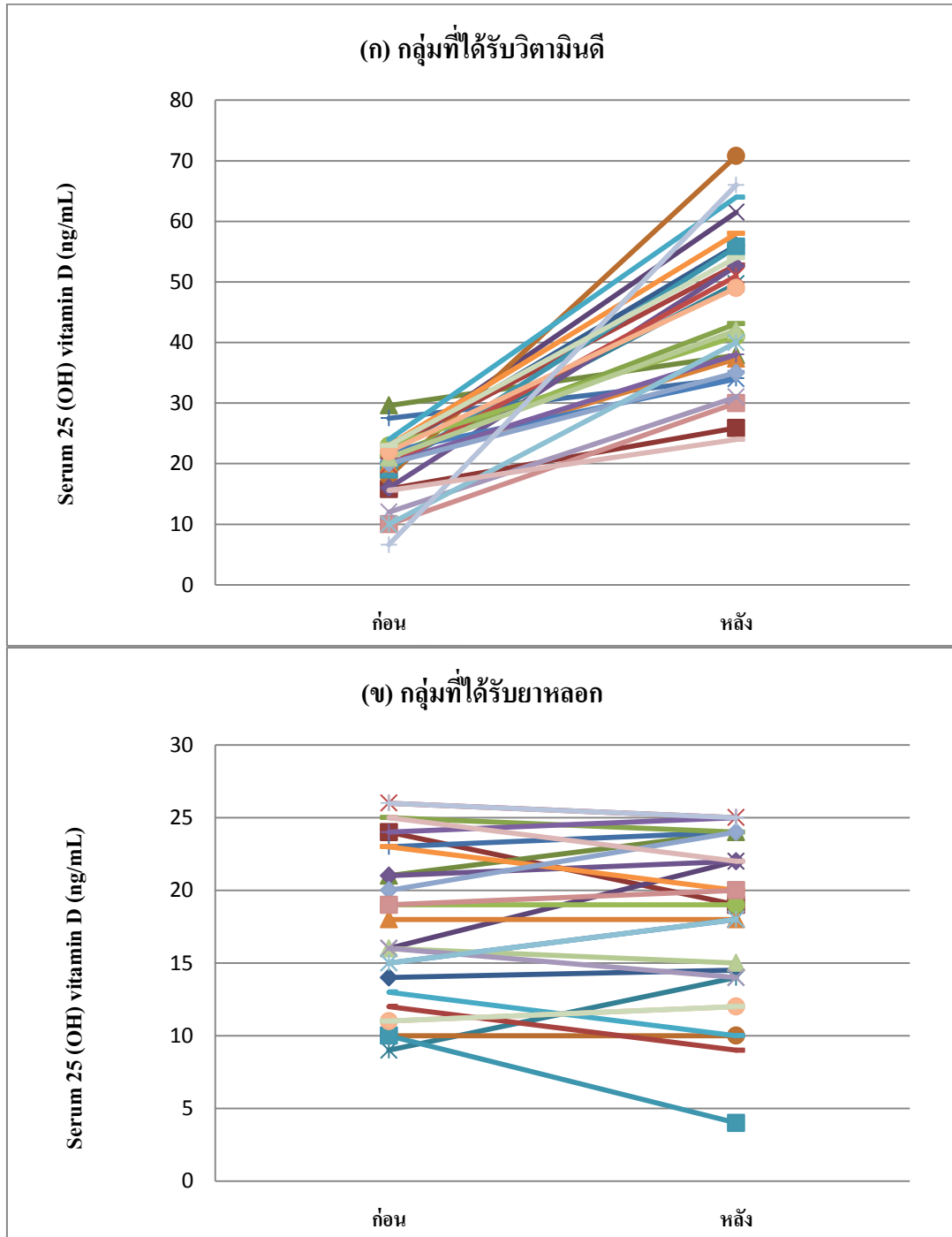
ที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษาพบว่าระดับค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD) ของระดับ 25 (OH) vitamin D เท่ากับ 32.1 ± 16.8 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมระดับค่าเฉลี่ยของ 25 (OH) vitamin D เท่ากับ 45.6 ± 13.2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งสูงขึ้นจนอยู่ในเกณฑ์ที่ปกติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการรักษาซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ส่วนในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกระดับค่าเฉลี่ยของ 25 (OH) vitamin D เท่ากับ 18.6 ± 5.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการรักษา ($p = 0.3$) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ 25 (OH) vitamin D เปรียบเทียบก่อนและหลังการศึกษาในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมและกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

	กลุ่มที่ได้รับวิตามินดี			กลุ่มที่ได้รับยาหลอก		
	ก่อน	หลัง	p-value	ก่อน	หลัง	p-value
ระดับ 25 (OH) vitamin D (ng/mL), Mean \pm SD	19.5 \pm 5.3	45.6 \pm 13.2	< 0.001	18.2 \pm 5.5	18.6 \pm 5.1	0.3

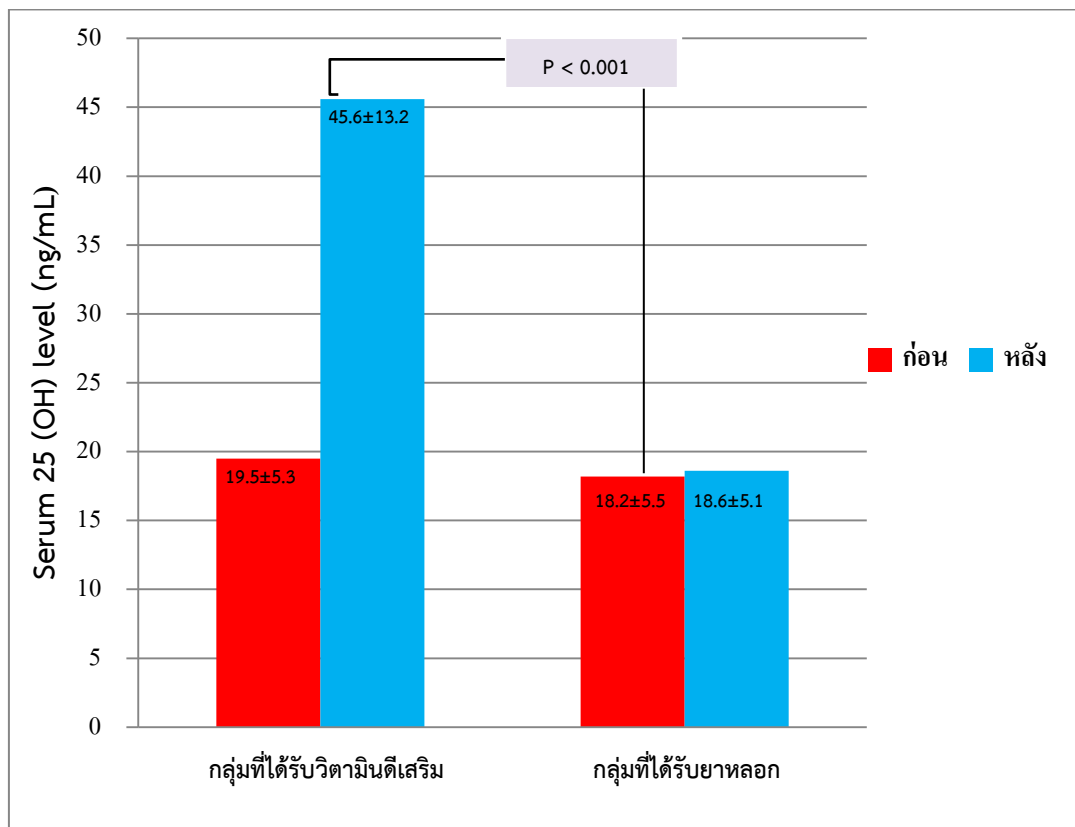
เมื่อเปรียบเทียบระดับของ 25 (OH) vitamin D ที่เริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษาในผู้ป่วยทุกราย พบว่าในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมมีระดับของ 25 (OH) vitamin D สูงขึ้นทุกราย แต่ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกผู้ป่วยโดยส่วนใหญ่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับของ 25 (OH) vitamin D ดังแสดงในแผนภูมิที่ 2

แผนภูมิที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ 25 (OH) vitamin D ที่เริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษาในผู้ป่วยทุกรายทั้งกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริม (ก) และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก (ข)



จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ 25 (OH) vitamin D หลังการรักษาในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมมีการเปลี่ยนแปลงที่ **สูงขึ้น** จากก่อนการรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก ($p < 0.001$) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3

แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ 25(OH) vitamin D ก่อนและหลังจากได้รับวิตามินดีเสริมหรือยาหลอกที่ระยะเวลาเริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์



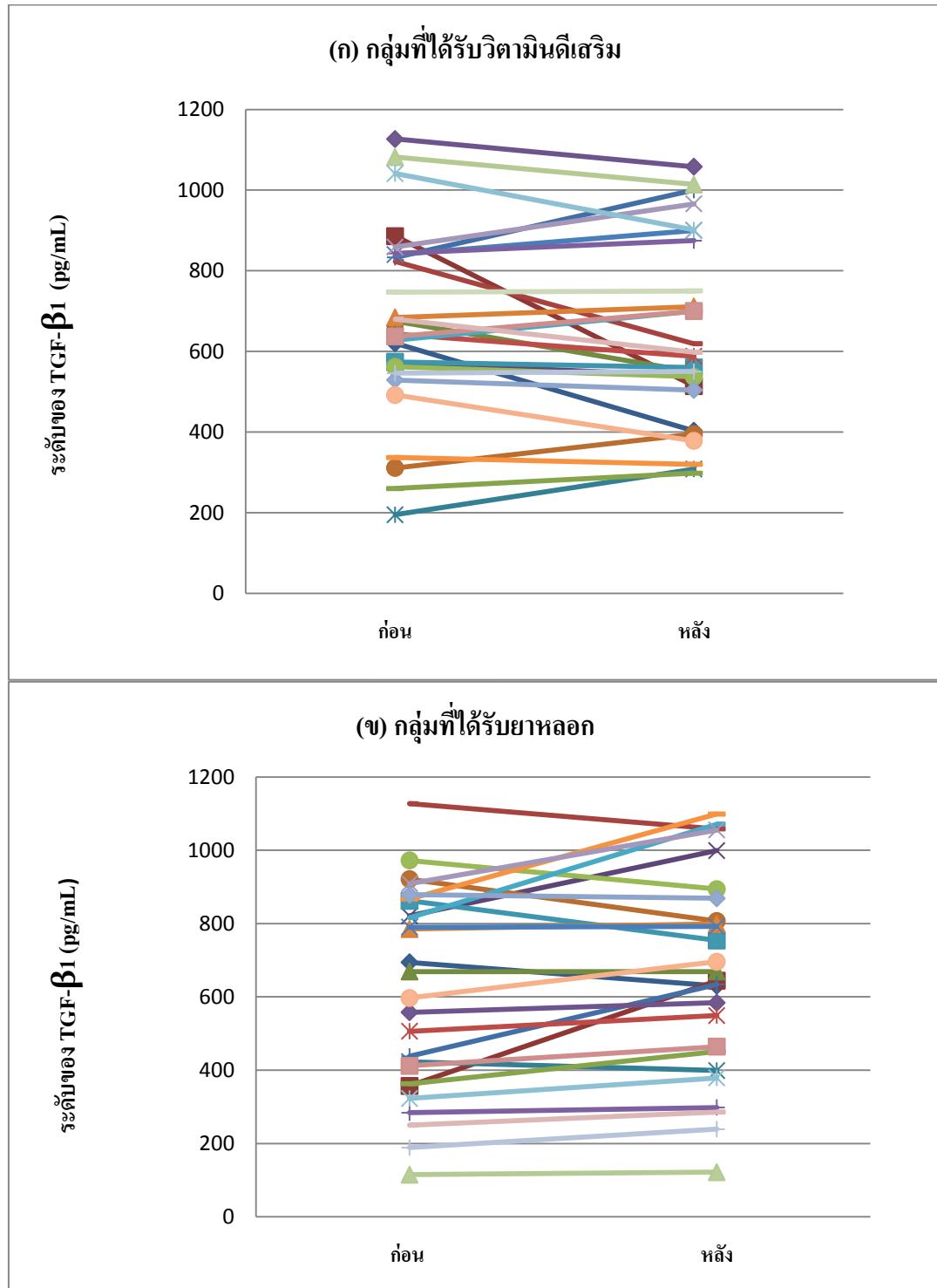
ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเมื่อเปรียบเทียบระดับค่าเฉลี่ยของ $\text{TGF-}\beta_1$ ที่เริ่มต้นของการศึกษาเท่ากับ 650.5 ± 221.9 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร และลดลงที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษาเท่ากับ 622.72 ± 217.4 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.25$) กลุ่มที่ได้รับยาหลอกเมื่อเปรียบเทียบระดับค่าเฉลี่ยของ $\text{TGF-}\beta_1$ ที่เริ่มต้นของการศึกษาเท่ากับ 613.1 ± 277.8 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร และเพิ่มขึ้นที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษาเท่ากับ 664.7 ± 278.7 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.025$) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 เปรียบเทียบก่อนและหลังในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริม และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

	กลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริม			กลุ่มที่ได้รับยาหลอก		
	ก่อน	หลัง	p-value	ก่อน	หลัง	p-value
ระดับ TGF- β_1 (pg/mL) Mean \pm SD	650.5 \pm 221.9	622.72 \pm 217.4	0.25	613.1 \pm 277.8	664.7 \pm 278.7	0.025

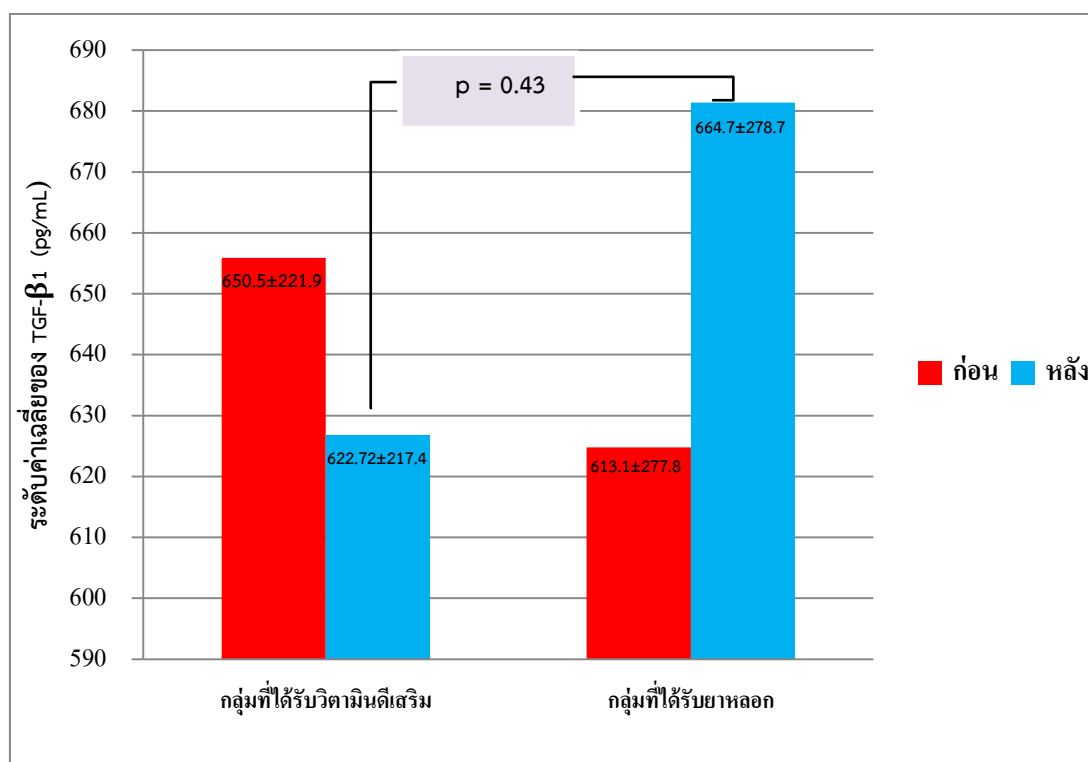
เมื่อเปรียบเทียบระดับของ TGF- β_1 ที่เริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษา ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับวิตามินดีเสริมพบว่าระดับของ TGF- β_1 ส่วนใหญ่มีค่าการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงและมีเพียงผู้ป่วยบางรายที่มีการเปลี่ยนแปลงที่สูงขึ้นเล็กน้อย ส่วนในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกพบว่าผู้ป่วยโดยส่วนใหญ่ มีการเปลี่ยนแปลงของระดับของ TGF- β_1 ที่เพิ่มขึ้นและมีเพียงบางรายที่มีค่าการเปลี่ยนแปลงที่ลดลง ดังแสดงในแผนภูมิที่ 4

แผนภูมิที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับของ TGF- β_1 ที่เริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษา ในผู้ป่วยทุกรายทั้งกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริม (ก) และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก (ข)



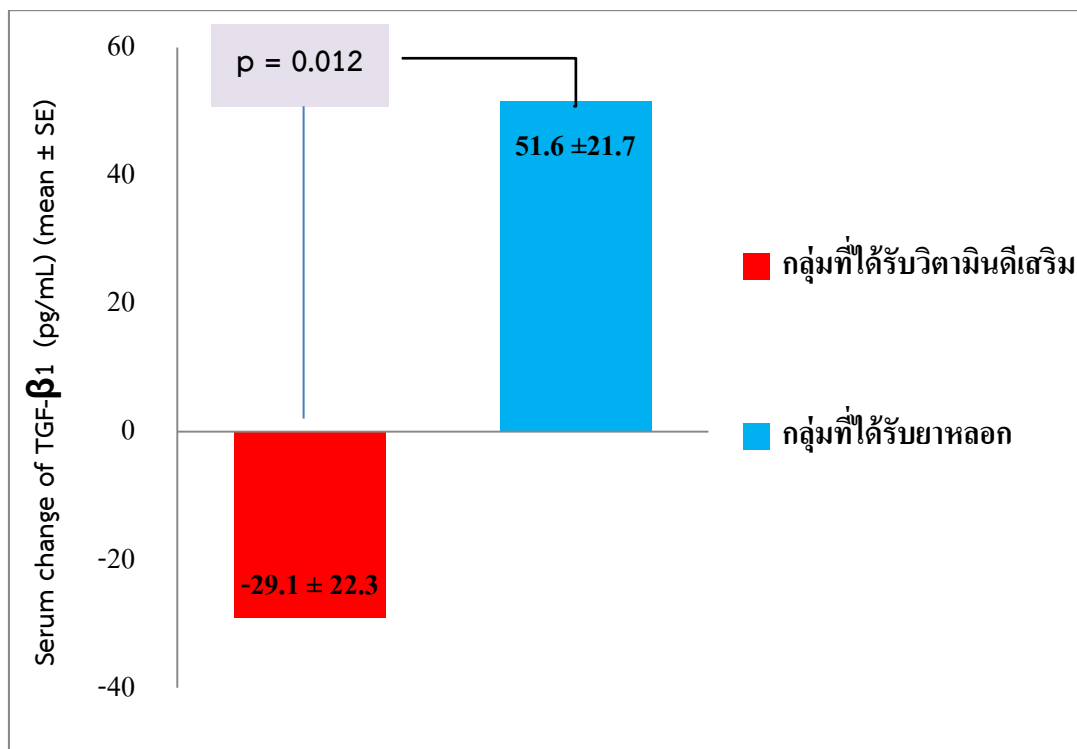
ระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเท่ากับ 622.72 ± 217.4 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอกซึ่งเท่ากับ 664.7 ± 278.7 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.43$) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 5

แผนภูมิที่ 5 แสดงระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 ก่อนและหลังจากได้รับวิตามินดีเสริมหรือยาหลอกที่ระยะเวลาเริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์



แต่เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าระดับความแตกต่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลัง \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการวัด (Mean difference \pm SE) ของ TGF- β_1 ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมมีการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงจากก่อนการรักษาเท่ากับ -29.1 ± 22.3 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอกที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 51.6 ± 21.7 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.012$) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 6

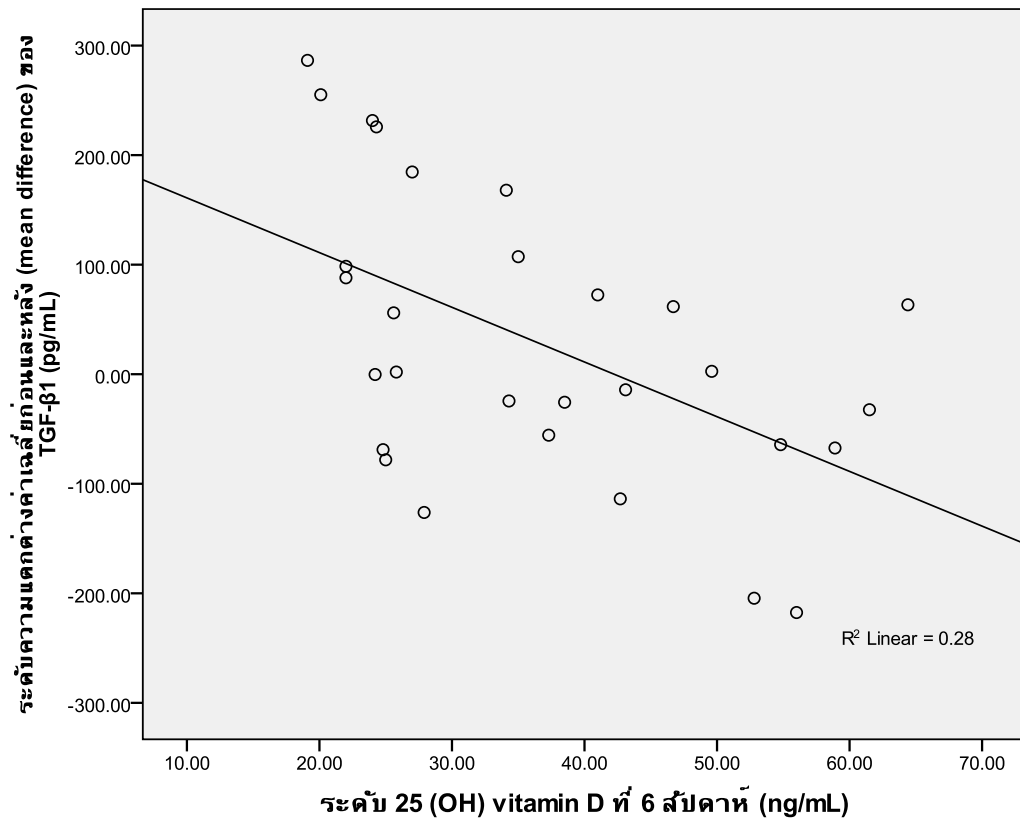
แผนภูมิที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 หลังจากได้รับวิตามินดีเสริมหรือยาหลอกที่ระยะเวลา 6 สัปดาห์



จากการวิเคราะห์หาค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ 25 OH vitamin D กับระดับความแตกต่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลัง (mean difference) ของ TGF- β_1 พบว่าระดับของ 25 OH vitamin D ที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษามีค่าความสัมพันธ์ที่ดีและแปรผันไปกับระดับความแตกต่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลัง (Mean difference) ของ TGF- β_1 ที่ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r = -0.54$; $p=0.003$) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 7

:

แผนภูมิที่ 7 แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ 25 OH vitamin D ที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษา กับระดับความแตกต่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลัง (mean difference) ของ TGF- β_1



นอกจากนี้ในการศึกษาผลข้างเคียงจากการได้รับวิตามินดีเสริมพบว่าไม่พบมีผู้ป่วยรายใดได้รับผลข้างเคียงจากการได้รับวิตามินดีเสริม

บทที่ 5

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่มีภาวะขาดวิตามินดีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 เมื่อรับประทานต่อเนื่อง 6 สัปดาห์ เป็นการศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากผลการศึกษาพบว่าข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยในทั้งสองกลุ่มมีความใกล้เคียงกันซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นเรื่องเพศซึ่งพบว่าในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมมีจำนวนเพศชายที่มากกว่าและมีจำนวนเพศหญิงที่น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก ซึ่งแม้จะมีความแตกต่างกันในระหว่างสองกลุ่มของการศึกษานี้ แต่จากข้อมูลที่ผ่านมาที่ทำการวัดระดับวิตามินดีที่ทำในประเทศไทย จำนวนทั้งสิ้น 211 ราย อายุตั้งแต่ 23 - 63 ปี ซึ่งมีจำนวนเพศชาย 81 รายและเพศหญิง 124 ราย โดยพบว่ามีอาสาสมัคร 77 ราย (ร้อยละ 36.5) ที่มีภาวะขาดวิตามินดี โดยพบว่าระดับของวิตามินดีไม่สัมพันธ์กับ เพศ อายุ ระยะเวลาในการออกแดด (sunlight exposure) และชนิดของการเลือกใส่เสื้อผ้า ดังนั้นแม้ในการศึกษานี้จะพบว่าจำนวนของเพศมีความแตกต่างกันในทั้งสองกลุ่มแต่ก็ไม่ใช่ว่าปัจจัยสำคัญที่จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินดีและเกิดอคติ (bias) ในการศึกษานี้³⁷ นอกจากนี้ปัจจัยทางด้านเพศก็ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 เช่นเดียวกัน¹⁷

การให้วิตามินดีเสริมตามแนวทางการให้ ดังตารางที่ 1 ในการศึกษานี้เป็นไปอย่างเหมาะสมสามารถทำให้ผู้ป่วยที่มีภาวะการขาดวิตามินดีที่มีระดับ 25 (OH) vitamin D ต่ำกว่า 30 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร กลับมาสู่อินเทอร์เน็ตที่ปกติได้ภายใน 6 สัปดาห์ ซึ่งแนวทางการให้วิตามินดีดังกล่าวได้รับการยอมรับและเคยใช้ในการศึกษาก่อนหน้านี้ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่มีภาวะขาดวิตามินดี³⁸ และพบว่าสามารถทำให้ระดับ 25 (OH) vitamin D กลับมาสู่อินเทอร์เน็ตที่ปกติได้เช่นเดียวกัน

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยเพียง 2 รายในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมที่ไม่สามารถทำให้ระดับ 25 (OH) vitamin D กลับมาสู่อินเทอร์เน็ตที่ปกติได้แม้จะได้รับประทานยาตามที่กำหนด อาจจะเกี่ยวข้องกับความแตกต่างของพันธุกรรม จากการศึกษาที่ผ่านมาเพื่อดูความสัมพันธ์ของความแตกต่างของพันธุกรรมในวิถีของยีนที่เกี่ยวข้องกับวิตามินดีกับการตอบสนองต่อการให้วิตามินดีเสริม³⁹ พบว่าความแตกต่างของ

พันธุกรรมในยีน CYP2R1, CYP24A1 และ VDR (vitamin D receptor) มีผลต่อการตอบสนองและการเปลี่ยนแปลงของระดับ 25 (OH) vitamin D ในการให้วิตามินดีเสริม ดังนั้นการที่ผู้ป่วยแต่ละรายมีการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ 25 (OH) vitamin D ที่มีความแตกต่างกัน หลังการให้วิตามินดีเสริมนั้น สมมติฐานส่วนหนึ่งอาจเกิดจากการที่มีความแตกต่างของพันธุกรรมในวิถีของยีนที่เกี่ยวข้องกับวิตามินดี ดังกล่าวข้างต้น

ระดับ TGF- β_1 ที่เริ่มต้นและที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษาทั้งในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมและกลุ่มที่ได้รับยาหลอกมีความแตกต่างกัน กล่าวคือ ในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมเมื่อเปรียบเทียบกับระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 ที่เริ่มต้นของการศึกษาและที่ 6 สัปดาห์ พบว่าระดับค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 ลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.25$) ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอกที่พบว่ามีค่าการเปลี่ยนแปลงที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.025$) จากการศึกษาถึงปัจจัยทางความแตกต่างทางยีน (genetics polymorphism) กับการดำเนินไปสู่การเกิดพังผืดที่เพิ่มขึ้น พบว่าความแตกต่างทางยีนหลายชนิดมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีและแตกต่างกันตามเชื้อชาติ^{40, 41} ได้แก่ ยีน TGF- β_1 , TNF-alpha, IL-10, renin-angiotensin และ ยีนที่เกี่ยวข้องในวิถีวิตามินดี เป็นต้น โดยเฉพาะความแตกต่างของยีน TGF- β_1 พบว่าผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังรายใดที่มีความแตกต่างของยีนดังกล่าวจะมีปัจจัยเสี่ยงต่อการเพิ่มระดับของรูปแบบที่พร้อมทำงานของ TGF- β_1 (active TGF- β_1) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดพังผืดที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง⁴⁰ ดังนั้นการที่ผู้ป่วยแต่ละรายในการศึกษานี้มีการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 หลังจากได้รับการรักษาด้วยวิตามินดีเสริมแตกต่างกันนั้น ส่วนหนึ่งอธิบายได้จากความแตกต่างทางยีนดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกพบค่าเฉลี่ยของ TGF- β_1 มีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆเมื่อเปรียบเทียบกับที่เริ่มต้นกับที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษา ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าระดับ TGF- β_1 ค่อนข้างคงที่ในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการให้การรักษาด้วยเพ็กกิลิเลตเตดอินเตอร์เฟียรอนและไรบาวิริน³⁶ ก็อธิบายได้จากความแตกต่างทางยีน TGF- β_1 ในผู้ป่วยแต่ละรายดังกล่าวข้างต้นเช่นเดียวกัน รวมถึงเชื้อชาติที่ทำการศึกษาก่อนหน้านี้ก็การศึกษาที่มีความแตกต่างกันซึ่งสอดคล้องไปกับการศึกษาที่พบว่าเชื้อชาติจีน (Chinese

population) กับคอเคเซียนก็มีความแตกต่างกันของยีน TGF- β_1 ที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินไปสู่การเกิดพังผืดตัวอย่างรวดเร็วได้

การได้รับวิตามินดีเสริมมีผลต่อการยับยั้งการเกิดพังผืดในตับจากกลไกทางภูมิคุ้มกันของวิตามินดีที่มีผลต่อพังผืดในตับ²⁷ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ระบบไซโตไคน์หลายชนิดในร่างกายโดยเฉพาะ TGF- β_1 , PDGF, VEGF, MMP และ TIMP เป็นต้น ส่งผลให้มีการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ HSCs และเพิ่มการย่อยสลายคอลลาเจนที่อยู่ภายในตับ³ ซึ่งสอดคล้องไปกับการศึกษาที่พบว่า ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับวิตามินดีเสริมสามารถลดการสร้างระดับ TGF- β_1 ในเลือดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาหลอกที่มีแนวโน้มสูงขึ้น ซึ่ง TGF- β_1 เป็นไซโตไคน์ที่สัมพันธ์กับการสร้างและการสะสมของพังผืดและคอลลาเจน ภายในตับและถูกสร้างโดย HSCs เป็นส่วนใหญ่¹⁷ นอกจากนี้ยังสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของพังผืดในตับ¹⁸ ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และพบว่าระดับ TGF- β_1 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังได้รับการรักษาด้วยยาอินเตอร์เฟียร์รอนแอลฟา^{21, 22} ซึ่งสอดคล้องไปกับระดับของพังผืดภายในตับที่ลดลง²⁰ จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับ TGF- β_1 ในเลือดเป็นตัววัดที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงที่ดีขึ้นของพังผืดภายในตับในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง นอกจากนี้การศึกษาในห้องปฏิบัติการทดลองก่อนหน้านี้พบว่าการให้วิตามินดีเสริมสามารถลดการแบ่งตัวของ HSCs ลงได้^{10, 11} ดังนั้นการศึกษานี้จึงช่วยสนับสนุนสมมติฐานจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการทดลองก่อนหน้านี้ว่าการที่ได้รับวิตามินดีเสริมสามารถลดระดับ TGF- β_1 ในเลือดลงได้และอาจจะมีผลต่อการลดการเกิดพังผืดภายในตับ

ระดับ 25 (OH) vitamin D ที่ 6 สัปดาห์ของการศึกษามีความสัมพันธ์เป็นไปอย่างดีกับการลดลงของระดับ TGF- β_1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการให้วิตามินดีเสริมแล้วทำให้ระดับ 25 (OH) vitamin D กลับมาอยู่ในเกณฑ์ที่ปกติที่มากกว่า 30 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมสามารถลดระดับ TGF- β_1 ลงได้และยิ่งระดับของ 25 (OH) vitamin D ที่ยิ่งสูงขึ้นก็จะสามารถลดระดับ TGF- β_1 ลงได้มากขึ้นเช่นเดียวกัน ซึ่งผลดังกล่าวก็ยิ่งช่วยสนับสนุนว่าการให้วิตามินดีเสริมจนสามารถทำให้ระดับ 25 (OH) vitamin D กลับมาสู่เกณฑ์ปกติได้จะยิ่งช่วยลดการสร้างพังผืดตับได้เนื่องจากระดับของ TGF- β_1 ที่ลดลงสัมพันธ์ไปกับระดับพังผืดตับที่ลดลงเช่นเดียวกัน²⁰

ในการศึกษานี้มีข้อจำกัดหลายประการ อันดับแรกการเก็บข้อมูลทำเฉพาะในผู้ป่วยที่เป็นไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังซึ่งผลที่ได้อาจมีความแตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยตับอักเสบเรื้อรังที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆได้ อันดับที่สองการศึกษานี้ทำการศึกษาระยะสั้นๆเพียงแค่ 6 สัปดาห์ ดังนั้นไม่สามารถให้ข้อมูลได้ว่าการให้การรักษาที่นานกว่าระยะเวลา 6 สัปดาห์ อาจจะทำให้ผลการรักษา ผลข้างเคียงจากวิตามินดี มีความแตกต่างจากการศึกษาในปัจจุบันได้ อันดับที่สามารถศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเพื่อดูถึงค่าการเปลี่ยนแปลงของตัววัดพังผืดในเลือด ซึ่งไม่สามารถบอกได้ถึงถึงการเปลี่ยนแปลงพังผืดภายในเนื้อตับว่าจะเหมือนหรือแตกต่างจากตัววัดพังผืดในเลือด ซึ่งคงต้องการการศึกษานี้ต่อไปในอนาคต

กล่าวโดยสรุป การให้วิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังให้มีระดับ 25 (OH) vitamin D กลับมาอยู่ในเกณฑ์ที่ปกติอาจช่วยชะลอการเกิดพังผืดภายในตับได้ผ่านกลไกที่ทำให้เกิดความสมดุลของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพังผืด ผลจากการศึกษานี้ช่วยสนับสนุนสมมติฐานและหลักฐานจากในห้องทดลองและในสัตว์ทดลอง ก่อนหน้านี้ว่าการให้วิตามินดีเสริมสามารถลดการสร้างพังผืดในตับลงได้ ดังนั้นในอนาคตจึงต้องการการศึกษาเพื่อยืนยันเรื่องของการให้วิตามินดีเสริมและผลต่อการยับยั้งการสร้างพังผืดภายในตับในคนต่อไป

รายการอ้างอิง

1. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001;345:41-52.
2. Shiffman ML. Natural history and risk factors for progression of hepatitis C virus disease and development of hepatocellular cancer before liver transplantation. *Liver Transpl* 2003;9:S14-20.
3. Dooley J, Lok A, Burroughs K, Heathcote EJ. *Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary System*. 12TH Edition ed, 2011.
4. Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D3: a helpful immuno-modulator. *Immunology* 2011;134:123-39.
5. Rahman AH, Branch AD. Vitamin D for your patients with chronic hepatitis C? *J Hepatol* 2013;58:184-9.
6. Petta S, Camma C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, Cabibi D, Licata G, Porcasi R, Marchesini G, Craxi A. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010;51:1158-67.
7. Terrier B, Carrat F, Geri G, Pol S, Piroth L, Halfon P, Poynard T, Souberbielle JC, Cacoub P. Low 25-OH vitamin D serum levels correlate with severe fibrosis in HIV-HCV co-infected patients with chronic hepatitis. *J Hepatol* 2011;55:756-61.
8. Abu-Mouch S, Fireman Z, Jarchofsky J, Zeina AR, Assy N. Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naive patients. *World J Gastroenterol* 2011;17:5184-90.
9. Nimer A, Mouch A. Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2-3 naive patients. *World J Gastroenterol* 2012;18:800-5.
10. Abramovitch S, Dahan-Bachar L, Sharvit E, Weisman Y, Ben Tov A, Brazowski E, Reif S. Vitamin D inhibits proliferation and profibrotic marker expression in hepatic stellate cells and decreases thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Gut* 2011;60:1728-37.

11. Potter JJ, Liu X, Koteish A, Mezey E. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and its nuclear receptor repress human alpha1 (I) collagen expression and type I collagen formation. *Liver Int* 2013;33:677-86.
12. Spengler U, Nattermann J. Immunopathogenesis in hepatitis C virus cirrhosis. *Clin Sci (Lond)* 2007;112:141-55.
13. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005;115:209-18.
14. Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* 2000;342:1350-8.
15. Bansal MB FS. *Sherlock's Disease of the Liver and Biliary System. Hepatic Fibrogenesis*. Twelfth ed, 2011:94-102.
16. Khan SA, Joyce J, Tsuda T. Quantification of active and total transforming growth factor-beta levels in serum and solid organ tissues by bioassay. *BMC Res Notes* 2012;5:636.
17. Matsuzaki K, Murata M, Yoshida K, Sekimoto G, Uemura Y, Sakaida N, Kaibori M, Kamiyama Y, Nishizawa M, Fujisawa J, Okazaki K, Seki T. Chronic inflammation associated with hepatitis C virus infection perturbs hepatic transforming growth factor beta signaling, promoting cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007;46:48-57.
18. Kanzler S, Baumann M, Schirmacher P, Dries V, Bayer E, Gerken G, Dienes HP, Lohse AW. Prediction of progressive liver fibrosis in hepatitis C infection by serum and tissue levels of transforming growth factor-beta. *J Viral Hepat* 2001;8:430-7.
19. Abbass S, Hendawy G, Taher S, Younis F, Ali S, Zalam S, Moustafa H. Role of hepatic transforming growth factor-beta 1 and serum hyaluronic acid in the pathogenesis of liver fibrosis in chronic HCV patients *AAMJ* 2011;9:1-12.
20. Tsushima H, Kawata S, Tamura S, Ito N, Shirai Y, Kiso S, Doi Y, Yamada A, Oshikawa O, Matsuzawa Y. Reduced plasma transforming growth factor-beta1 levels

in patients with chronic hepatitis C after interferon-alpha therapy: association with regression of hepatic fibrosis. *J Hepatol* 1999;30:1-7.

21. Flisiak R, Jaroszewics J, Lapinski T, Flisiak I, Prokopowiczi D. Effect of pegylated interferon alpha 2b plus ribavirin treatment on plasma transforming growth factor-b1, metalloproteinase-1, and tissue metalloproteinase inhibitor-1 in patients with chronic hepatitis C. *WJG* 2005;11:6833-6838.

22. Janczewska-Kazek E, Marek B, Kajdaniuk D, Borgiel-Marek H. Effect of interferon alpha and ribavirin treatment on serum levels of transforming growth factor-beta1, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006;12:961-5.

23. Liu T, Wang X, Karsdal MA, Leeming DJ, Genovese F. Molecular serum markers of liver fibrosis. *Biomark Insights* 2012;7:105-17.

24. Martinez SM, Crespo G, Navasa M, Forns X. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology* 2011;53:325-35.

25. Valva P, Casciato P, Diaz Carrasco JM, Gadano A, Galdame O, Galoppo MC, Mullen E, De Matteo E, Preciado MV. The role of serum biomarkers in predicting fibrosis progression in pediatric and adult hepatitis C virus chronic infection. *PLoS One*;6:e23218.

26. Cholongitas E, Theocharidou E, Goulis J, Tsochatzis E, Akriviadis E, Burroughs K. Review article: the extra-skeletal effects of vitamin D in chronic hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35:634-46.

27. Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol* 2012;57:897-909.

28. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006;296:2832-8.

29. Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, Hernan MA, Olek MJ, Willett WC, Ascherio A. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004;62:60-5.

30. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001;358:1500-3.
31. Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, von Wagner M, Hassler A, Vermehren J, Herrmann E, Badenhoop K, Zeuzem S, Sarrazin C. Vitamin D deficiency and a CYP27B1-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to interferon-alfa based therapy. *J Hepatol* 2011;54:887-93.
32. Baur K, Mertens JC, Schmitt J, Iwata R, Stieger B, Eloranta JJ, Frei P, Stickel F, Dill MT, Seifert B, Ferrari HA, von Eckardstein A, Bochud PY, Mullhaupt B, Geier A. Combined effect of 25-OH vitamin D plasma levels and genetic vitamin D receptor (NR 111) variants on fibrosis progression rate in HCV patients. *Liver Int* 2012;32:635-43.
33. Beinhardt S, Aberle JH, Strasser M, Dulic-Lakovic E, Maieron A, Kreil A, Rutter K, Staettermayer AF, Datz C, Scherzer TM, Strassl R, Bischof M, Stauber R, Bodlaj G, Laferl H, Holzmann H, Steindl-Munda P, Ferenci P, Hofer H. Serum level of IP-10 increases predictive value of IL28B polymorphisms for spontaneous clearance of acute HCV infection. *Gastroenterology* 2012;142:78-85 e2.
34. Putz-Bankuti C, Pilz S, Stojakovic T, Scharnagl H, Pieber TR, Trauner M, Obermayer-Pietsch B, Stauber RE. Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease. *Liver Int* 2012;32:845-51.
35. Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2007;167:1730-7.
36. Marek B, Kajdaniuk D, Mazurek U, Janczewska-Kazek E, Kos-Kudla B, Strzalka B, Fila A, Niedziolka D, Beniowski M, Ostrowska Z, Borgiel-Marek H, Kajdaniuk J, Sieminska L, Nowak M, Wilczok T, Pakula D, Filipczyk P. TGF-beta1 mRNA expression in liver biopsy specimens and TGF-beta1 serum levels in patients with chronic hepatitis C before and after antiviral therapy. *J Clin Pharm Ther* 2005;30:271-7.
37. Chaiyodsilp S, Pureekul T, Srisuk Y, Euathanikkanon C. A Cross Section Study of Vitamin D levels in Thai Office Workers. *The Bangkok Medical Journal* 2015;9:8-11.

38. Charoensuk K, Chirathaworn C, Thaima P, Suksawatamnuay S, Thanapirom K, Poovorawan K, Kullavanijaya P, Komolmit P. Correction of Vitamin D Deficiency in Patients With Chronic Hepatitis C Facilitated Suppression of Interferon-Gamma-Inducible Protein 10 (IP-10): A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Study. *Gastroenterology* 2013;144:S-960.
39. Barry EL, Rees JR, Peacock JL, Mott LA, Amos CI, Bostick RM, Figueiredo JC, Ahnen DJ, Bresalier RS, Burke CA, Baron JA. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D3 supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E2133-7.
40. Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, Clouston AD, Crawford DH, Shorthouse C, Purdie DM, Jonsson JR. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;31:828-33.
41. Bataller R, North KE, Brenner DA. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. *Hepatology* 2003;37:493-503.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

ใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย

การวิจัยเรื่อง การศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยปิดทั้งสองข้าง ผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีชนิดเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มพังผืดในตับ

วันที่ให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....ที่
อยู่.....ได้อ่านรายละเอียด
จากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และ
ข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม
และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอม
ให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำ
วิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะ
เกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอใน
การซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่
ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการ
การรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล
และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับ
ต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อ
ได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการ
พิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามา
ตรวจและประมวลผลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความ

ถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิ์ในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม
(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง
วันที่เดือน.....พ.ศ.....

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพ

มีและขอเก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

ข้าพเจ้า ยินยอม ไม่ยินยอม

ให้เก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม
(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง
วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย อย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

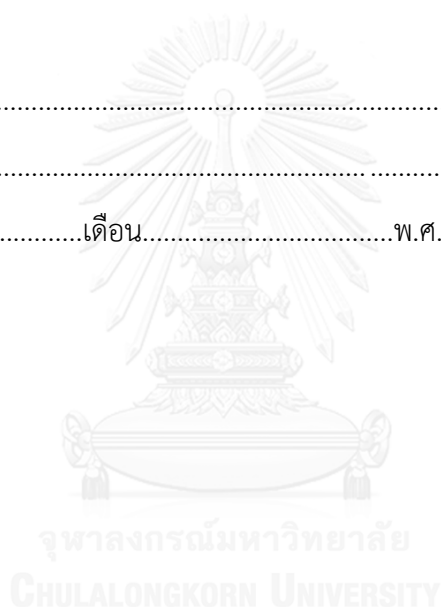
(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....



ภาคผนวก ข

Case number.....	Case Record Form
Date/...../..... (DD/MM/YY)	แบบฟอร์มบันทึกข้อมูลผู้ป่วยโครงการวิจัย
<p>การศึกษาแบบสุ่มเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยปิดทั้งสองข้าง ผลของการได้รับวิตามินดีเสริมในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องเนื่องจากการเพิ่มพังผืดในตับ</p> <p>A Randomized Double-Blind Placebo Control Study Effect of Vitamin D Supplement in Chronic Hepatitis C Patients on serum cytokines associated with hepatic fibrosis</p>	
<p>Baseline Characteristics</p> <p>Age..... years</p> <p>Sex <input type="checkbox"/> Male <input type="checkbox"/> Female</p> <p>Weight.....kgs. Height.....cms.</p> <p>BMI.....kgs./m²</p> <p>Liver Biopsy Metavir Score.....</p> <p>Ishak Score.....</p> <p>Fibroscan.....kpa</p> <p>Underlying disease</p> <p><input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes, specify.....</p>	<p>Date of start treatment</p> <p>...../...../.....</p> <p>(DD/MM/YYYY)</p> <p>Baseline 25(OH) Vitamin D level (ng/dL.)</p> <p><input type="checkbox"/> < 10 ng/dl</p> <p><input type="checkbox"/> 10 -20 ng/dl</p> <p><input type="checkbox"/> 20-30 ng/dl</p> <p><input type="checkbox"/> > 30 ng/dl</p> <p>After treatment Vitamin D level</p> <p>..... ng/dl</p>
<p>Current medications</p> <p><input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes, specify.....</p>	<p>Serology profile</p> <p>Anti HCV.....HBsAg.....</p> <p>Anti-HBs.....Anti HIV.....</p>

<p>HCV diagnosis: Duration of HCV diagnosismonths HCV risk factor(s)</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Heterosexual ● Homosexual ● IVDU ● Blood transfusion ● Tattoo ● Unknown ● Other please define..... 	<p>Baseline HCV genotype before treatment..... Baseline VL before treatmentcopies/ml</p>
<p>Complete Blood Count Hct.....Hb.....MCV..... Wbc..... % PMN..... % Lymph..... % Mono..... % Eos..... Platelet Count..... PT.....INR.....PTT.....</p>	<p>TGF-β1 level Baseline.....ng/ml After treatment.....ng/ml Vitamin D 25(OH)D Baseline.....ng/dl After treatment.....ng/dl</p>
<p>Blood chemistry BUN..... Cr..... Electrolyte Na.....K..... Cl.....CO₂..... Ca..... Phosphate..... Others.....</p>	<p>Liver Function Test TB..... DB..... Albumin..... Globulin..... SGOT..... SGPT..... ALP.....</p>
<p>Laboratory Follow up Date (DD/MM/YYYY)..... Hct..... Hb..... MCV..... Wbc..... % PMN..... % Lymph..... ANC..... Platelet Count..... PT..... INR..... PTT..... BUN..... Cr.....TB..... DB..... Albumin..... Globulin..... SGOT..... SGPT..... ALP..... HCV viral loads.....</p>	

Date (DD/MM/YYYY)..... Hct..... Hb..... MCV..... Wbc..... % PMN..... % Lymph..... ANC..... Platelet Count..... PT..... INR..... PTT..... BUN..... Cr..... TB..... DB..... Albumin..... Globulin..... SGOT..... SGPT..... ALP..... HCV viral loads.....
Treatment <input type="checkbox"/> OPD <input type="checkbox"/> IPD, ward..... <input type="checkbox"/> Vitamin D2 dose.....IU/wk Duration.....weeks <input type="checkbox"/> Vitamin D3 dose.....IU/wk Duration.....weeks <input type="checkbox"/> Pegylated interferon 2a dose..... μ g/kg/day Duration.....weeks <input type="checkbox"/> Pegylated interferon 2b dose..... μ g/kg/day Duration.....weeks <input type="checkbox"/> Ribavarin dose.....mg/day Duration.....weeks <input type="checkbox"/> Adjusted dose drugs <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes, specify..... Date of dose adjustment..... Reason.....

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นางสาวศยามล กิมตระกูล

วันเดือนปีเกิด 15 พฤษภาคม พ.ศ.2525 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

พ.ศ. 2543-2549 นิสิตคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2549-2550 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลเลย

พ.ศ. 2550-2551 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลภูกระดึง

พ.ศ. 2551-2552 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลกำแพงแสน

พ.ศ. 2552-2555 แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลราชวิถี โรงพยาบาลเลิดสิน

พ.ศ. 2555-2556 แพทย์ประจำโรงพยาบาลเลิดสิน

ปริญญาและประกาศนียบัตร

พ.ศ. 2549 แพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ2) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2555 วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย

สมาชิกสมาคมทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย

สมาชิกแพทยสภา

