การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์อินเตอร์ลิวคิน17ในน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้

นาย สวัสดิ์ บุญปิยทัศน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARISON OF CYTOKINES INTERLEUKIN-17 LEVEL IN EXHALE BREATH CONDENSATE BETWEEN ALLERGIC ASTHMA PATIENTS AND NON-ALLERGIC ASTHMA PATIENTS

Mr. Sawad Boonpiathad

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์อินเตอร์ลิวคิน17ในน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้
โดย	นาย สวัสดิ์ บุญปิยทัศน์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เจตทะนง แกล้วสงคราม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ประภาพร พรสุริยศักดิ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อดิศร ภัทราดูลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธนินทร์ อัศววิเชียรจินดา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เจตทะนง แกล้วสงคราม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ประภาพร พรสุริยศักดิ์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุพจน์ ศรีมหาโชตะ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(พันเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ อธิก แสงอาสภวิริยะ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลวัลดิ์ บุญปิยทัศน์: การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์อินเตอร์ลิวคิน17ในน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ (COMPARISON OF CYTOKINES INTERLEUKIN-17 LEVEL IN EXHALE BREATH CONDENSATE BETWEEN ALLERGIC ASTHMA PATIENTS AND NON-ALLERGIC ASTHMA PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.นพ. เจตทะนง แกล้วสงคราม, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ.พญ. ประภาพร พรสุริยศักดิ์, 115 หน้า.

ความสำคัญและที่มา : โรคหืดเป็นโรคที่มีความชุกสูงในประเทศไทย เป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบเรื้อรังของหลอดลม โดยมีเซลล์และสารที่เกิดจากเซลล์เข้ามามีส่วนร่วมทำให้เกิดโรค โรคหืดส่วนใหญ่เป็นโรคหืดที่เกิดจากภูมิแพ้ แต่ยังมีโรคหืดที่ไม่ได้เกิดจากภูมิแพ้ จะมีอาการของโรครุนแรงกว่า รักษายากกว่าและพยาธิสภาพการเกิดโรคไม่ชัดเจน

วัตถุประสงค์ : เพื่อหาความแตกต่างของไซโตไคน์ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ด้วยวิธีตรวจน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออกโดยใช้เครื่องมือ exhaled breath condensate เพื่อที่จะได้ความรู้ใหม่เกี่ยวกับพยาธิสภาพของโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้

วิธีการศึกษา : ศึกษาในอาสาสมัครที่เข้ามารักษาตัวที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์จำนวน 50 คนเป็น ผู้ป่วยโรคหืดจำนวน 40 คนและคนปกติ 10 คน ทำการซักประวัติและตรวจร่างกายประเมินความรุนแรงของโรคหืดตาม ตรวจสมรรถภาพปอดเพื่อหาค่า FEV1, ทำการทดสอบภูมิแพ้ผิวหนังเพื่อดูว่าผู้ป่วยเป็นภูมิแพ้หรือไม่ จากนั้นนั่งหายใจทางปากผ่านเครื่อง exhale breath condensate เป็นระยะเวลา 30 นาที แบ่งน้ำที่ได้ไปตรวจหาปริมาณ total amylase เพื่อดูว่ามีน้ำลายปนหรือไม่ จากนั้นนำไปตรวจหาไซโตไคน์ IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, IFN-γ,TNF-α และ TNF-β ด้วยวิธี Multiplex flow cytomix

ผลการศึกษา : สามารถตรวจสิ่งส่งตรวจได้ 38 รายเนื่องจาก ปริมาณไม่ถึง 2 ml จำนวน 9 คน ตรวจพบว่ามี total amylase เจอ 3 คน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ 16 คนผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้จำนวน 13 คน คนปกติ 9 คน พบว่าไม่สามารถตรวจหาปริมาณ IFN-γ,IL-4, IL-5, IL-6, IL-17Aได้ ไซโตไคน์ตัวอื่น IL-1β,IL-8, IL-12p70, TNF-α และ TNF-β ตัวเจอจาก sample ได้แต่จำนวนของ sample ที่ตรวจได้ไม่มากพอที่จะนำมาวิเคราะห์ได้ สามารถตรวจปริมาณของ IL-2 และ IL-10 ได้ พบว่าระดับเฉลี่ยของ IL-10 ในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ 0.19 pg/ml สูงกว่าโรคหืดภูมิแพ้ 0.12 pg/ml และคนปกติ 0.07 pg/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p = 0.05 และ p = 0.006 ตามลำดับ พบว่า IL-2/IL-10 มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืด (r=0.68, p = 0.01) และ FEV1(r=-0.72, p = 0.005) ในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ระดับ IL-2 สัมพันธ์กับระดับความรุนแรงโรคหืด(r=0.43, p=0.03) และค่า FEV1 (r=-0.508, p=0.01) ในผู้ป่วยโรคหืด

สรุปผลการศึกษา : ในการศึกษานี้ไม่สามรถตรวจไซโตไคน์ IL-17 โดยการตรวจด้วยวิธี Multiplex flow cytomix โดยใช้เครื่องมือ exhale breath condensate ในการเก็บสิ่งส่งตรวจ พบว่าไซโตไคน์ IL-10 ที่แตกต่างกันจากการศึกษานี้อาจเป็นพยาธิสภาพที่ทำให้โรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้แตกต่างจากโรคหืดภูมิแพ้ พบว่า IL-2/IL-10 มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดแพ้และค่า FEV1 ในกลุ่มโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ และพบว่า IL-2 สัมพันธ์กับระดับความรุนแรงโรคหืดและค่า FEV1 ในผู้ป่วยโรคหืด

ภาควิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต	
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	
ปีการศึกษา	2552	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	

5174840530 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : AILLERGIC ASTHMA / NON-ALLERGIC ASTHMA / EXHALED BREATH CONDENSATE / CYTOKINE / MULTIPLEX FLOW CYTOMIX

SAWAD BOONPIYATHAD : COMPARISON OF CYTOKINES INTERLEUKIN-17 LEVEL IN EXHALE BREATH CONDENSATE BETWEEN ALLERGIC ASTHMA PATIENTS AND NON-ALLERGIC ASTHMA PATIENTS.THESIS ADVISOR : ASST. PROF. JETTANONG KLAEWSONGKRAM, M.D.,THESIS CO-ADVISOR : ASST. PROF. PAPRAPORN PORNSURIYASAK, M.D., 115 pp.

Background & objective: Asthma has become a major public health concern worldwide including Thailand. Allergic asthma counts for over 50% of cause in asthmatic patients, but non-allergic asthma has also contributed to clinically severe and difficult-to-treat patients, partly from lack of sufficient understanding of the mechanisms underlying non-allergic asthma. We study to find difference cytokines level, between allergic asthma and non-allergic asthma and we used non-invasive method, exhaled breath condensate to assess airway inflammation. We study to find difference cytokines level, between allergic asthma and non-allergic asthma. We used non-invasive method, exhale breath condensate to assess airway inflammation.

Methods : Asthmatic subjects were screened with a skin prick test and classified as either allergic asthma and non-allergic asthma. Exhale breath condensate from these patients were collected and various cytokines (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, IFN-γ, TNF-α and TNF-β) were assayed and compared with those of healthy subjects using a multiplex flow cytomix.

Results : Of the 50 subjects recruited, 12 subjects were excluded from the study. Data from the remaining 38 subjects which includes allergic asthmatic subjects (n=16), non allergic asthmatic subjects (n=13), and healthy subjects (n=9), IL-2 and IL-10, but not IL-17A were measurable from exhale samples. IL-10 levels in non-allergic asthmatic subjects (0.19 pg/ml) were found to be significantly higher than those in allergic asthmatic subjects (0.12 pg/ml) and healthy subjects (0.07 pg/ml), $p = 0.05$ and $p = 0.006$. IL-2/IL-10 ratio correlated with asthma severity and FEV1 ($r=0.68$, $p = 0.01$) and FEV1($r=-0.72$, $p = 0.005$) of non-allergic asthma subjects. IL-2 level correlated with asthma severity ($r=0.43$, $p=0.03$) and FEV1 ($r=-0.508$, $p=0.01$) of asthma subjects.

Conclusion : Non-allergic asthmatic patients have a significant increase in IL-10 levels in exhaled breath condensates than allergic asthmatics, showing that IL-10 may have an important role in the pathogenesis of non-allergic asthma and IL-2/IL-10 ratio correlated with asthma severity and FEV1 of non-allergic asthma subjects. IL-2 level correlated with asthma severity and FEV1 of asthma subjects.

Department : Medicine	Student's Signature
Field of Study : Medicine	Advisor's Signature
Academic Year : 2009	Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความอนุเคราะห์เป็นอย่างดียิ่งของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เจตทะนง แกล้วสงคราม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงประภาพร พรสุริยศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาแนะนำแนวทาง ข้อคิดเห็นในการทำวิจัย การวิเคราะห์ ประมวลผล และนำเสนอข้อมูล

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ฮิโรชิ จันทาภากุล ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำ ข้อคิดเห็นและข้อมูลต่างๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณละอองดาว บริสุทธิ์ และ คุณปาริดา การโสรสเจ้าหน้าที่และพยาบาลผู้ช่วยงานวิจัยหน่วยโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันวิทยาโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณสุปราณี บูรณประดิษฐ์กุล และนายภัทรวรรจ์ ตันติวรสิทธิ์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ แพทย์หญิง ภัทรวรรณ ภูติวรนาถ นายแพทย์ พงษ์ศักดิ์ วังรัตนโสภณ นายแพทย์ ธัชชัย คำพิทักษ์ นายแพทย์ บุญธร ตันวรเศรษฐี นายแพทย์ สุรฤษดิ์ ขาวละออ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณบิดา มารดา และพี่น้องอันเป็นที่รักยิ่ง ที่เป็นกำลังใจมาโดยตลอด

ขอขอบคุณผู้ป่วยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการทำวิจัยด้วยความเต็มใจ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ญ

สารบัญแผนภูมิ..... ฏ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย..... 1

1.2 คำถามของการวิจัย..... 2

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย..... 3

1.5 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย..... 4

1.6 รูปแบบการวิจัย..... 4

1.7 ปัญหาทางจริยธรรม..... 4

1.8 ข้อจำกัดในการวิจัย..... 5

1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 5

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... 6

2.1. โรคหืด..... 7

2.2. โรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้..... 52

2.3. การตรวจน้ำจากลมหายใจออก..... 55

2.4. ไซโตไคน์..... 61

2.5. ปริทรรศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... 67

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 68

3.1 ระเบียบวิธีการวิจัย..... 68

3.2 ขั้นตอนการทำวิจัย..... 69

3.3 การสังเกตและการวัด..... 74
3.4 การรวบรวมข้อมูล..... 74
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล..... 74
3.6 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข..... 75
บทที่ 4 ผลการวิจัย..... 76
4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย..... 76
4.2 ข้อมูลปริมาณไซโตไคน์..... 78
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 87
5.1 การอภิปรายข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วย..... 87
5.2 การอภิปรายข้อมูลปริมาณไซโตไคน์..... 87
5.3 ข้อจำกัดในการวิจัย..... 90
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย..... 91
รายการอ้างอิง..... 94
ภาคผนวก..... 109
ภาคผนวก ก รายละเอียดการศึกษาวิจัย..... 110
ภาคผนวก ข เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย..... 113
ภาคผนวก ค แบบบันทึกข้อมูล..... 114
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 115

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ระดับความรุนแรงของโรคหืด แบ่งตาม GINA guideline……..	4
2	ปัจจัยเสี่ยงทำให้เกิดโรคหืด……	12
3	สารก่อภูมิแพ้ภายในบ้าน……	18
4	สารก่อภูมิแพ้ภายนอกบ้าน……	21
5	สารก่อภูมิแพ้ที่เกิดจากการทำงานและประเภทงานที่เกี่ยวข้อง……	22
6	สารที่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจทำให้เกิดโรคหืด……..	23
7	กลไกลการดื้อยา corticosteroid ในผู้ป่วยโรคหืดร่วมกับสูบบุหรี่……..	26
8	มลภาวะทางอากาศที่เป็นสาเหตุของโรคหืด……..	27
9	ปัจจัยเสี่ยงโรคหืดโดยดูจากจำนวนไข้และการได้รับยาปฏิชีวนะ……...	29
10	โรคที่ต้องวินิจฉัยแยกจากโรคหืด……	45
11	การจำแนกความรุนแรงของโรคหืดโดยอาศัยอาการ การตรวจสมรรถภาพปอด (FEV1 หรือ PEFR) ค่าความผันผวนของPEFR……..	47
12	เปรียบเทียบความรุนแรงของการอักเสบในโรคหืดกับถุงลมโป่งพอง……..	55
13	รายชื่อเครื่องมือ EBC ที่มีขายและใช้ในงานวิจัย ชื่อบริษัท ข้อดีและข้อเสีย….	58
14	เปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์ที่จาก EBC กับน้ำลาย……	60
15	หน้าที่ของไซโตไคน์แบ่งตามหน้าที่การทำงาน……	62
16	IL-10 superfamily……..	66
17	ค่า sensitivityของ ไซโตไคน์ด้วยวิธี Flow cytomix……	72
18	ข้อมูลพื้นฐานอาสาสมัครแยกตามกลุ่มโรค……	77
19	ข้อมูลอาสาสมัครแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบกัน……..	78
20	ปริมาณไซโตไคน์ IL-2,IL10 , IL-1β, IL-12p70 และ TNF-β……..	79
21	ปริมาณไซโตไคน์ IL-17 ที่ตรวจได้จาก 3 sample……..	85

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	เครื่องมือ exhale breath Condensate……	2
2	ความสัมพันธ์ระหว่างการอักเสบและอาการโรคหืด……..	7
3	แผนที่โลกแสดงอุบัติการณ์ และแนวโน้มการเกิดโรคหืดในช่วงปี พ.ศ. 2543 - 2551……	10
4	Susceptibility genes ในโรคหืด……	14
5	ภาวะอ้วนมีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบระบบทางเดินหายใจ……..	16
6	สารก่อภูมิแพ้ทางอากาศที่พบบ่อย..……	17
7	ผลระหว่างบุหรี่กับโรคหืด……	24
8	ชิ้นเนื้อจาก Bronchial mucosa……	31
9	Creola body……..	32
10	เซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในโรคหืด…….	33
11	การเกิด Th1, Th2 และ Th17 จาก naïve T cell……	36
12	ความสัมพันธ์ระหว่าง Th1 และ Th2 ในโรคหืด……..	37
13	Th17 cell และการอักเสบของทางเดินหายใจ……	38
14	การพัฒนาของ Treg และกลไกการการควบคุมภูมิคุ้มกัน……	39
15	iNKT cell และการเกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ……..	40
16	ปัจจัยที่ทำให้เกิดหลอดลมอุดตันในภาวะฉับพลันและเรื้อรังของโรคหืด……	42
17	กลไกการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้……..	43
18	แนวทางการกษาโรคหืดตาม GINA/NHLBI……..	52
19	การเกิดการอักเสบจาก neutrophil ในโรคหืด……	53
20	เครื่องมือในการเปลี่ยนก๊าสให้เป็นของเหลว……..	57
21	ผลของ TNF-α กับทางเดินหายใจในผู้ป่วยโรคหืด……	63
22	ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์กับไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบภูมิแพ้……	64
23	การทำงานของ IL-2 มีผลต่อ Treg และ effector T cell……	65
24	ผู้ป่วยทำspirometry……	69
25	ทดสอบภูมิแพ้ผิวหนัง……..	70

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่		หน้า
26	อุปกรณ์ EBC.....	70
27	เครื่องทำ lyophilization.....	71
28	หลักการของ Flow cytomix.....	73

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่		หน้า
1	อุบัติการณ์ของโรคหืดและอัตราการเสียชีวิตจาก……	8
2	แนวโน้มอุบัติการณ์ของโรคหืดจาก WHO……	9
3	ความชุกของโรคหืดในประเทศสหรัฐอเมริกาโดย NCHC……	11
4	การเปลี่ยนแปลง FEV1 เปรียบเทียบในผู้ป่วยโรคหืดสูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่…..	25
5	มีงานวิจัยออกมามากขึ้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมาเกี่ยวกับ EBC……..	56
6	ปริมาณ IL-2 ในอาสาสมัคร 3 กลุ่ม……..	80
7	ปริมาณ IL-10 ในอาสาสมัคร 3 กลุ่ม……	81
8	อัตตราส่วน IL-2/IL-10 ในอาสาสมัคร 3 กลุ่ม……..	82
9	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า IL-2/IL-10 กับระดับความรุนแรงในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้.....	83
10	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า IL-2/IL-10 กับ FEV1 ในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้….	84
11	ความสัมพันธ์ระหว่าง IL-2 กับ ระดับความรุนแรงโรคหืด กลุ่มที่1 intermittent และ mild persistent กลุ่มที่2 moderate persistent และ severe persistent..	85
12	ความสัมพันธ์ระหว่าง IL-2 กับ FEV1 ในผู้ป่วยโรคหืด.....	86

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

EBC	Exhaled Breath Condensate
IL	Interleukin
NO	Nitric Oxide
CO	Carbon Monoxide
BAL	Bronchoalveolar Larvage
TNF	Tumor Necrosis Factor
IFN	Interferon
TGF	Tumor Growth Factor
GINA	Global Initiative for Asthma
WHO	World Health Organization
AHR	Airway Hyperresponsiveness
CI	Confidence Interval
dL	Deciliter
IgE	Immunoglobulin E
Ag	Antigen
Ab	Antibody
kg	Kilogram
mg	Milligram
mL	Milliliter
SPT	Skin Prick Test
μg	Microgram
μl	Microlite

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

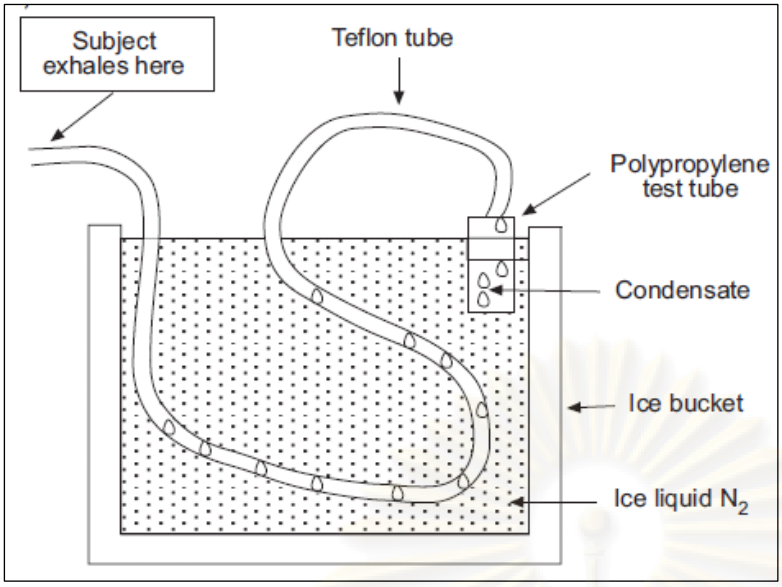
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

โรคหืดจัดเป็นโรคที่มีความชุกสูงและเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย โดยเห็นได้จากโรคหืดมักพบเป็นสาเหตุสำคัญของการเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลของผู้ป่วย ในปี พ.ศ.2545 มีผู้ป่วยต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลด้วยอาการหอบรุนแรงถึง 102,245 ราย และผู้ป่วยไม่ต่ำกว่า 1,000,000 รายต้องเข้ารับการรักษาที่แผนกฉุกเฉินด้วยอาการหอบหืดเฉียบพลัน ซึ่งส่งผลกระทบต่อกิจวัตรประจำวันและคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย[1]

โรคหืดสามารถแบ่งได้ตามตัวกระตุ้น (trigger) ทำให้เกิดอาการหอบหืดแบ่งได้เป็น โรคหืดภูมิแพ้ (Allergic asthma or Atopic asthma or Extrinsic asthma), โรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ (Non-allergic asthma or Non-atopic asthma, Intrinsic asthma), โรคหืดจากการออกกำลังกาย (Exercise-induced asthma), โรคหืดเวลากลางคืน (Nocturnal asthma), โรคหืดในหญิงตั้งครรภ์ (Asthma in pregnancy) และ โรคหืดที่เกี่ยวกับการทำงาน (Occupational asthma) ในผู้ใหญ่พบผู้ป่วยที่เป็นหืดที่ไม่เป็นภูมิแพ้ได้ร้อยละ 40 – 45 ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะเริ่มเป็นหอบหืดครั้งแรกตอนอายุมาก อาการของโรครุนแรงกว่า และ รักษายากกว่าผู้ป่วยโรคหอบหืดภูมิแพ้[2-4]

โรคหืดเป็นโรคของ chronic airway inflammation ในปัจจุบันมีการค้นหาวิธีเพื่อที่จะตรวจหา airway inflammation หลายวิธีเช่น bronchial lavage, sputum induction, exhale nitric oxide และการตรวจวัดสารจากลมหายใจออก (exhaled breath condensate, EBC) ซึ่งตรวจได้ทั้งสารระเหยเช่น NO, CO, ethane และ penthane และสารไม่ระเหย เช่น ion, adrenosine, hydrogenperoxide และ cytokines[5-7] การใช้วิธี exhaled breath condensate คือการตรวจสารจากลมหายใจออกซึ่งเป็นแก๊ส มาผ่านความเย็นแล้วกลั่นตัวเป็นหยดน้ำ น้ำที่ได้เป็นน้ำที่กลั่นตัวออกมาจากทางเดินหายใจส่วนล่างของผู้ป่วย วิธีนี้เป็นวิธีที่ทำให้ผู้ป่วยสบาย (noninvasive) ในการที่จะเก็บสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ ดีกว่าเมื่อเทียบกับวิธี bronchial lavage และ sputum induction ซึ่ง แพง ทำให้ผู้ป่วยไม่สบายเวลาตรวจ[8-10]



<u>รูปที่1</u> เครื่องมือ exhaled breath Condensate [11]

Cytokines เป็น extracellular signaling protein ขนาดจะน้อยกว่า 80 kD สร้างออกมาจากหลายเซลล์ที่แตกต่างกัน ในผนังหลอดลมของผู้ป่วยโรคหืดพบมี T lymphocyte, eosinophil, macrophage, monocyte และ mast cell ในบางครั้งจะพบ neutrophil ได้ด้วย ทำให้ในหลอดลมของผู้ป่วยโรคหืดมีสาร cytokines หลั่งออกมาและสามารถตรวจได้หลายชนิด แบ่งชนิดของ cytokines ดังนี้คือ lymphokines (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5,IL-13, IL-15, IL-16, IL-17), pro-inflammatory cytokins (IL-1, TNF,IL-6, IL-11, GM-CSF, SCF), anti-inflammatory cytokines (IL-10, IL-1ra, IFN-γ, IL-12, IL-18), chemotactic cytokines (RANTES, MCP-1, MCP-2, MCP-3,MCP-4, MCP-5, MIP-1α, eotaxin, IL-8) และ growth factor (PDGF, TGF-β, FGF,EGF, IGF) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาพยาธิสภาพของโรคหืดภูมิแพ้กับโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ว่าแตกต่างกันอย่างไร โดยหาความแตกต่างกันของสาร cytokines คือ IL-17 ด้วยวิธีตรวจน้ำที่กลั่นจากลมหายใจออก ซึ่งเครื่องมือนี้ยังไม่เคยมีการนำมาใช้ศึกษาในประเทศไทยมาก่อน การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่ใช้เครื่อง exhaled breath condensate แบบประกอบเองในประเทศไทย

1.2 **คำถามของการวิจัย** (Research questions)

คำถามหลัก (Primary research question)

การวัดปริมาณ cytokine IL-17 จากน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออกด้วยวิธีexhaled breath condensateในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ มีปริมาณ แตกต่างกับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้หรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

ปริมาณ cytokine IL-17 ที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดหรือไม่ และปริมาณ cytokine ตัวอื่นๆ IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, IFN-γ, TNF-α และ TNF-β สามารถบอกความแตกต่างระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ แตกต่างกับ ผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ได้หรือไม่ และถ้าบอกได้ สัมพันธ์ กับระดับความรุนแรงของโรคหรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

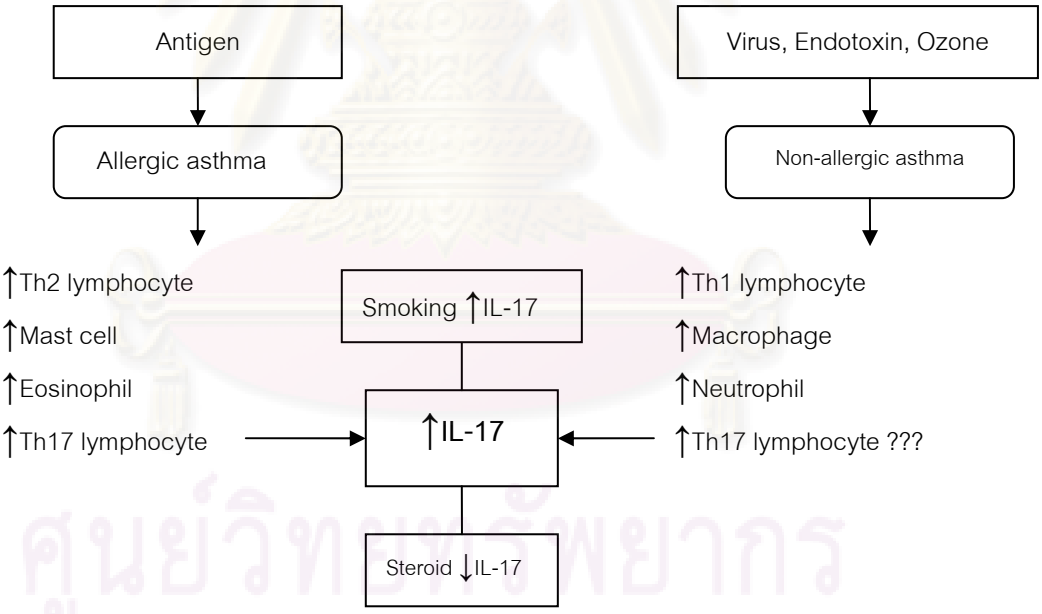
วัตถุประสงค์ทั่วไป (General objective)

เพื่อหาความแตกต่างของ cytokines IL-17 ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ด้วยวิธีตรวจน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออกโดยใช้เครื่องมือ exhaled breath condensate เพื่อที่จะได้ความรู้ใหม่เกี่ยวกับพยาธิสภาพของโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ เนื่องจากการศึกษาแบบนี้ยังไม่เคยมีคนศึกษามาก่อน การศึกษานี้จะเป็นการศึกษาแรกโดยใช้วิธี exhaled breath condensate มาศึกษาเปรียบเทียบถึงความแตกต่างในผู้ป่วยสองกลุ่ม

วัตถุประสงค์เฉพาะ (Specific objective)

เพื่อหาความแตกต่างของ cytokines IL-17 ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ด้วยวิธีตรวจน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออกโดยใช้เครื่องมือ exhaled breath condensate

1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



1.5 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational definitions)

- ผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ (Allergic asthma) หมายถึง ผู้ป่วยมีอาการโรคหืดที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นหืดโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ มีการตรวจสมรรถภาพปอด (spirometry) มีการเปลี่ยนแปลงค่า FEV1 ≥ ร้อยละ 12 หรือ ≥ 200 มิลลิลิตร หลังได้ยาขยายหลอดลม ทำทดสอบสาร

ภูมิแพ้ทางผิวหนัง (skin prick test) ต่อ common allergen ผล positive อย่างน้อยหนึ่งตัว (skin prick test positive เกิด wheal > 3 มิลลิเมตร) หรือพบ IgE กับสารก่อภูมิแพ้

- ผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ (Non-allergic asthma) หมายถึง ผู้ป่วยมีอาการโรคหืดที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหืดโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ มีการตรวจสมรรถภาพปอด (spirometry) มีการเปลี่ยนแปลงค่า FEV1 ≥ ร้อยละ 12 หรือ ≥ 200 มิลลิลิตร หลังได้ยาขยายหลอดลม ทำทดสอบสารภูมิแพ้ทางผิวหนัง (skin prick test) ต่อ common allergen ผล negative
- ความรุนแรงผู้ป่วยหอบหืดตามอาการหอบ และ ค่าการตรวจสมรรถภาพปอด ระดับความรุนแรงตามระดับที่มากที่สุดของผู้ป่วย จากอาการหืดกำเริบกลางวัน หืดกำเริบกลางคืน ค่า Force expiratory volume in 1 second

ตารางที่ 1 ระดับความรุนแรงของโรคหืด แบ่งตาม GINA guideline [12]

	Intermittent	Mild persistent	Moderate persistent	Sever persistent
Day symptom	<1ครั้งต่อสัปดาห์	≥1ครั้งต่อสัปดาห์	≥1ครั้งต่อวัน	มีอาการต่อเนื่อง
Night symptom	≤2ครั้งต่อเดือน	>2ครั้งต่อเดือน	>1ครั้งต่อสัปดาห์	หอบหลายครั้งต่อสัปดาห์
FEV1	≥80% predicted	≥80% predicted	60-80% predicted	≤60% predicted

1.6 รูปแบบการวิจัย (Research design)

Crossectional Analytic study

1.7 ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical considerations)

เนื่องจากการวิจัยนี้อาสาสมัครต้องทำการทดสอบภูมิแพ้ผิวหนังมีโอกาสเกิดการแพ้อย่างรุนแรงได้ (anaphylaxis) แต่โอกาสเกิดน้อยมากๆ (0.001%) ได้มีการเตรียมอุปกรณ์ช่วยชีวิต ยา adrenalin โดยผู้ทำการทดสอบจะต้องอยู่กับอาสาสมัครตลอดเวลาระหว่างที่ทำการทดสอบ ส่วนเครื่องมือ exhaled breath condensate อาสาสมัครจะไม่ได้รับความเจ็บปวดจากวิธีการตรวจ มีเพียงเสียเวลาที่ต้องหายใจผ่านทางเครื่องเป็นเวลา 30 นาทีเท่านั้น ซึ่งก่อนทำการศึกษาอาสาสมัครจะได้รับการชี้แจงขั้นตอนการศึกษา และภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นอย่างละเอียด และแพทย์ต้องได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร (informed consent) จากผู้ป่วยในการเข้าร่วม

การศึกษานี้ โดยการศึกษานี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะ กรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์แล้ว

1.8 ข้อจำกัดในการวิจัย

ในกรณีที่อาสาสมัครไม่สามารถหายใจผ่านเครื่อง exhaled breath condensate ได้ครบ 30 นาที จะทำให้ได้น้ำกลั่นตัวจากลมหายใจน้อย ซึ่งถ้านำไปตรวจอาจวัดปริมาณ cytokines ไม่ได้

1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected benefits & applications)

1. ได้ความรู้ใหม่ทางพยาธิสภาพการเกิดโรคหืดแบบไม่เป็นภูมิแพ้ และโรคหืดภูมิแพ้
2. การศึกษานี้เป็นการศึกษาโดยใช้ exhaled breath condensate เป็นเครื่องแบบประกอบเองเป็นครั้งแรกในประเทศไทยซึ่งจะเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษาด้วยเครื่องมือนี้ต่อไปในอนาคต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

2.1 โรคหืด

2.1.1 คำนิยามโรคหืด

2.1.2 อุบัติการณ์โรคหืด

2.1.3 ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหืด

2.1.4 พยาธิสภาพโรคหืด

2.1.5 พยาธิสภาพการเกิดโรคหืด

2.1.6 ลักษณะทางคลินิก

2.1.7 การวินิจฉัยโรค

2.1.8 การรักษา

2.2 โรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้

2.3 วิธีการเก็บน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจ

2.4 ไซโตไคน์

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

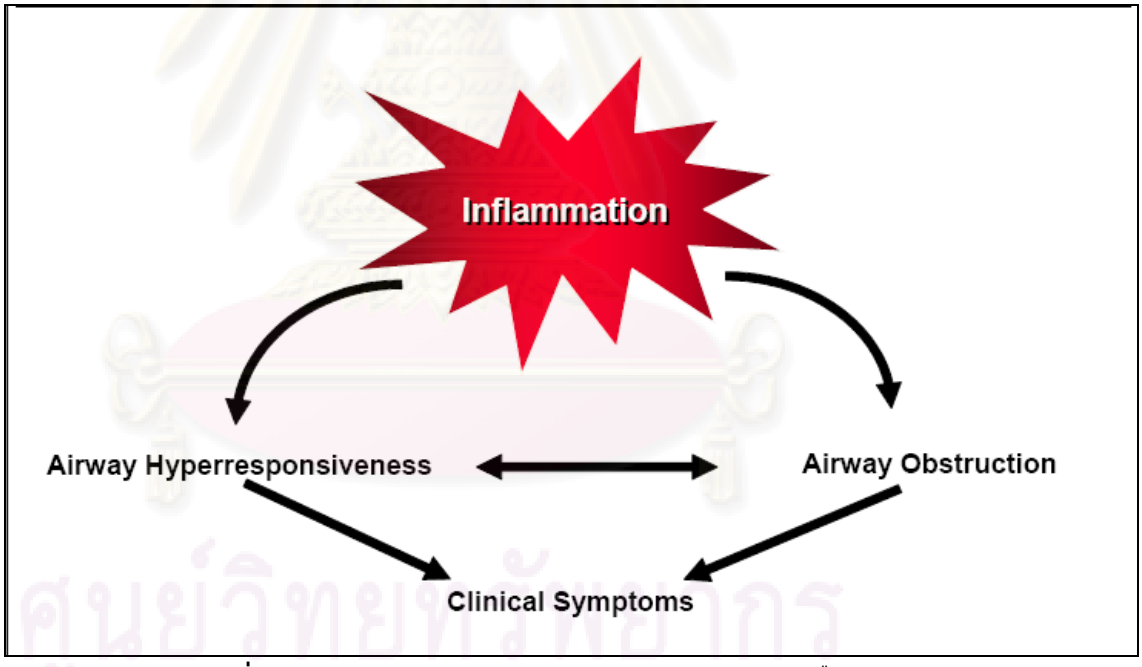
2.5 ปริทรรศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1 โรคหืด

2.1.1 คำนิยามโรคหืด

โรคหืดเป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบเรื้อรังของหลอดลม (chronic inflammatory disorder) ที่มีเซลล์ และ สารที่เกิดจากเซลล์เข้ามามีส่วนร่วมในการทำให้เกิดโรค ซึ่งการอักเสบเรื้อรังของหลอดลมร่วมกับภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ (airway hyperesponsiveness) เมื่อเจอสิ่งกระตุ้นทำให้ทำหลอดลมหดตัวตีบลง ทำให้มีอาการหายใจเสียงวีด หายใจเหนื่อย แน่นหน้าอก และไอ โดยอาการจะเกิดขึ้นบ่อยในช่วงเวลากลางคืน และ ใกล้จะเช้า พบมีภาวะการเปลี่ยนแปลงทางเดินหายใจอุดกั้น (variable airflow obstruction) ของปอดร่วมด้วย และภาวะทางเดินหายใจอุดกั้นสามารถหายได้เอง หรือด้วยการรักษา (reversible airflow obstruction) [12] โดยจากคำนิยามโรคหืดประกอบด้วย 3 ส่วนสำคัญ คือ chronic inflammatory disorder, airway hyperesponsiveness และ variable airway obstruction (รูปที่2)



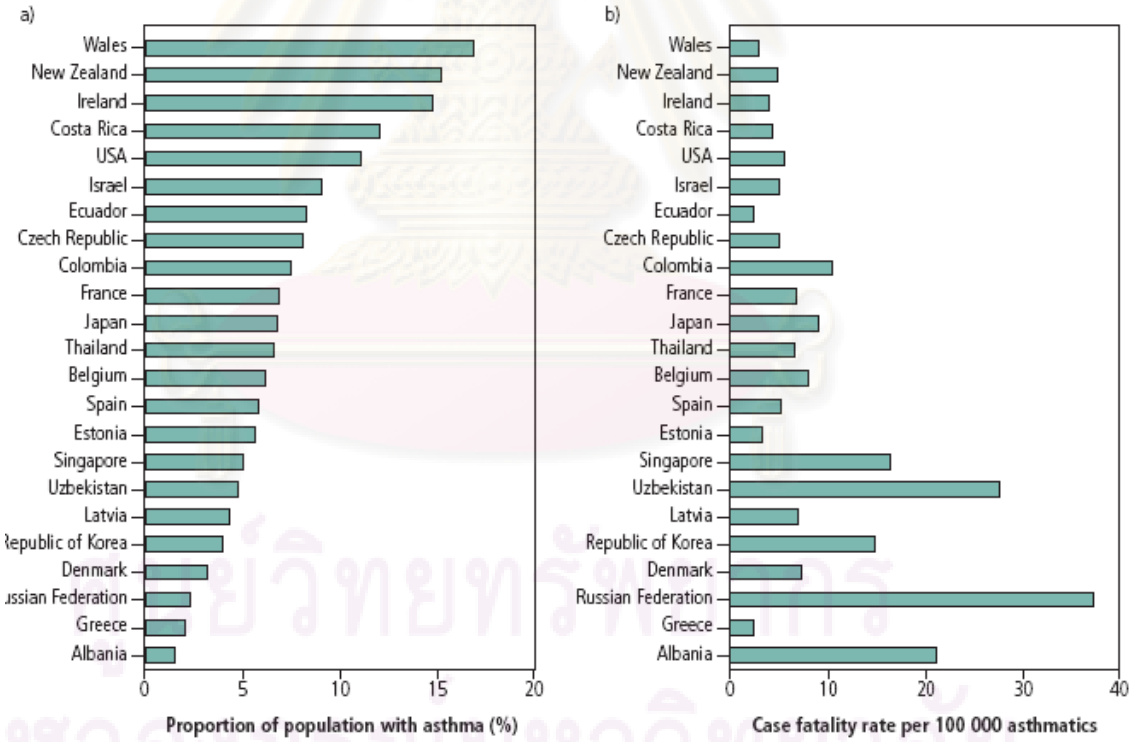
รูปที่2 ความสัมพันธ์ระหว่างการอักเสบและอาการโรคหืด

2.1.2 อุบัติการณ์โรคหืด

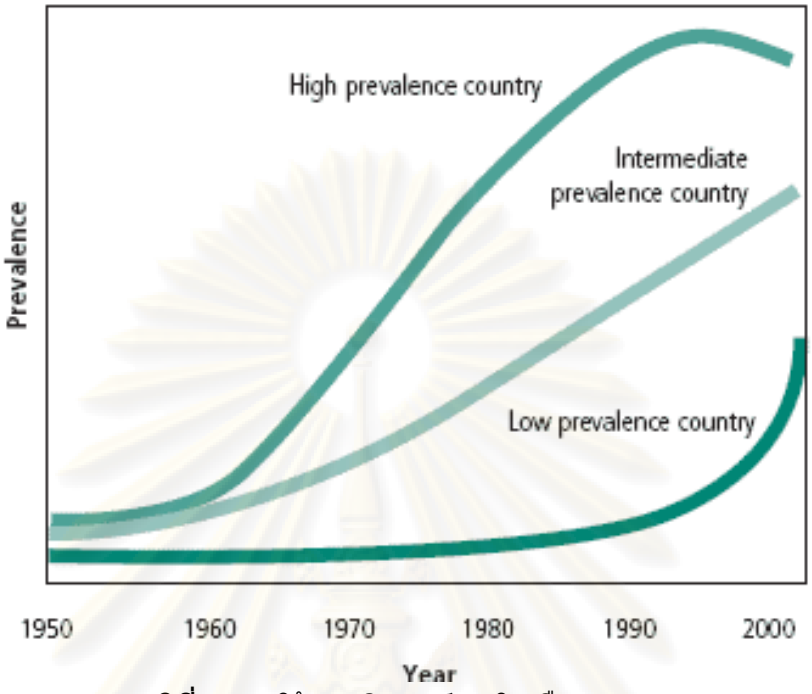
โรคหืดเป็นโรคที่เป็นปัญหาสำคัญของทุกประเทศทั่วโลก ขาดว่ามีผู้ป่วยประมาณ 300 ล้านคนทั่วโลก มีการเพิ่มขึ้นสองเท่าครึ่งในช่วงศตวรรษที่ผ่านมา อุบัติการณ์ของโรคหืดอยู่ในช่วง 1% - 18% ขึ้นอยู่กับแต่ละประเทศ[13] ในประเทศไทยจากที่ได้มีการศึกษาในปี พ.ศ. 2543 – 2544 พบอุบัติการณ์โรคหืดในผู้ใหญ่ในจังหวัดกรุงเทพ เชียงใหม่ ขอนแก่น และสงขลาประมาณ 4 % พบใน

เด็ก 10% -12% [14] โดยในช่วง 13 – 14 ปีที่ผ่านมาพบว่าโรคหืดมีแนวโน้มลดลงในประเทศแถบอเมริกาเหนือ และยุโรปตะวันตก และ แนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในประเทศที่มีประชากรที่เคยเกิดโรคหืดน้อย โดยเฉพาะประเทศในแถบลาตินอเมริกา แอฟริกา และเอเชีย ดูจากแผนภูมิที่ 1 และ 2

โดยถ้าดูตามอุบัติการณ์ตามการศึกษาที่ได้มาตรฐานโดยแยกตามทวีป ในทวีปแอฟริกาพบว่าไม่มีการศึกษาที่เป็นแบบ cohort study มีการศึกษาในประเทศแอฟริกาใต้ เมือง cape town โดยใช้ International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase I and phase III questionnaires ในประชากรอายุ 13 – 14 ปี พบโรคหืดเพิ่มขึ้นจาก 16 %ในปี พ.ศ. 2535 เป็น 20.3% ใน พ.ศ. 2542 ในประเทศโมรอคโค ทำการศึกษาโดย Bouayad และคณะ ในเมือง Casablanca พบมีการเพิ่มขึ้นของการเกิด wheezing ในเด็กอายุ 13 – 14 ปี 1% ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2535 – 2542 แต่ในเมือง Marrakech ที่มีการศึกษาในช่วงเวลาเดียวกัน และระยะเดียวกันพบลดลง 0.2% [15]



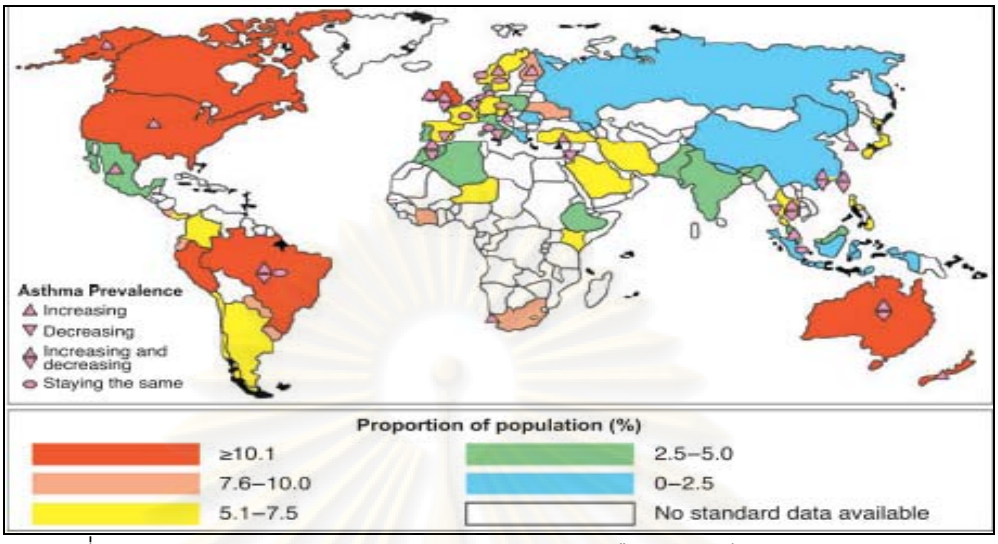
<u>แผนภูมิที่ 1</u> อุบัติการณ์ของโรคหืดและอัตราการเสียชีวิตจาก WHO [13]



<u>แผนภูมิที่ 2</u> แนวโน้มอุบัติการณ์ของโรคหืดจาก WHO [13]

ในทวีปเอเชียและตะวันออกกลาง มีการศึกษาโดยใช้ ISAAC questionnaire การศึกษาในเด็กในช่วงอายุ 6 -7 ปี ระหว่างปี พ.ศ. 2535 – 2544 พบว่าสูงขึ้นในประสิงคโปร์ จาก 9.9% เป็น 11.9% ในประเทศไทย จังหวัดกรุงเทพจาก 11% เป็น 15% จังหวัดเชียงใหม่ 5.5% เป็น 7.8% การศึกษาในประชากรวัยรุ่นในช่วงอายุ 12 – 15 ปี ในประเทศเกาหลี ระหว่างปี พ.ศ. 2538 – 2543 พบอุบัติการณ์สูงขึ้นจาก 2.7% เป็น 5.3% ในประเทศไตหวันในช่วงเวลาเดียวกันพบสูงขึ้นจาก 4.5% เป็น 6% เช่นเดียวกับในประเทศสิงคโปร์เพิ่มจาก 9.9% เป็น 11.9% มีการลดลงของอุบัติการณ์โรคหืดในวัยรุ่นที่มีการศึกษาในช่วงระยะเวลาเดียวกัน ในประเทศฮ่องกง จาก 11.2% เป็น 10.2% ในประเทศไทยจังหวัดเชียงใหม่ลดลง 12.7% เป็น 8.7% และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในจังหวัดกรุงเทพจาก 13.5% เป็น 13.9% [15] ดูจากการศึกษาในประเทศไทยแนวโน้มมีไปในทางเพิ่มขึ้นมากกว่าลดลง (รูปที่ 3)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



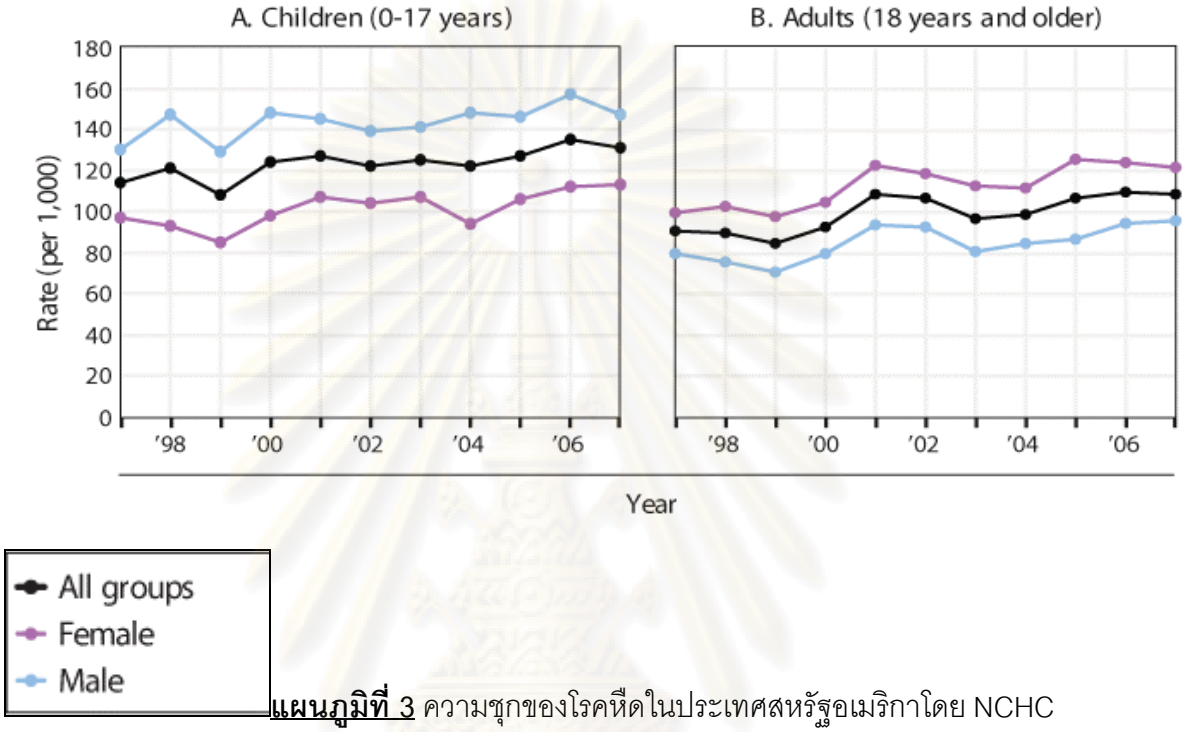
<u>รูปที่3</u> แผนที่โลกแสดงอุบัติการณ์ และแนวโน้มการเกิดโรคหืดในช่วงปี พ.ศ. 2543 -2551 [15]

ในทวีปออสเตรเลียทำการศึกษาในปี พ.ศ. 2535 – 2545 โดยใช้ ISAAC questionnaire พบว่าอุบัติการณ์การเกิดโรคหืดลดลง 7.3% จาก 38.3% เป็น 31.0% ในเด็กอายุช่วง 8 ถึง 11 ปี มีอุบัติการณ์การเกิดโรคหืดเพิ่มขึ้น โดยใช้ crosssectional survey ในอายุ 15 ปีขึ้นไป จาก 7.5% ในปี พ.ศ. 2533 เป็น 12.2% ปี พ.ศ. 2546 และในช่วงอายุ 8 ถึง 11 ปี จาก 30.5% พ.ศ. 2535 เป็น 38.6% พ.ศ. 2540 [15]

ในทวีปยุโรปมีการศึกษามากมายในหลายประเทศ เริ่มจากประเทศอังกฤษมี 3 การศึกษา cross-sectional studies โดยใช้ ISAAC questionnaire การศึกษาแรกพบมีการเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์โรคหืดชัดเจนจาก19.9% ในปี พ.ศ. 2534 เป็น 29.7% พ.ศ. 2542 ในเด็กอายุ 8 ถึง 9 ปี การศึกษาที่สองพบว่ามี current wheeze เพิ่มขึ้นในช่วงอายุ 6 ถึง 7 ปี และ 13 ถึง 14 ปี ที่ทำการศึกษาใน พ.ศ. 2538 ถึง พ.ศ 2546 โดยในช่วงอายุ 6 ถึง 7 ปี เด็กผู้หญิงจาก 15.4% เป็น 23.3% ในเด็กผู้ชายจาก 21.0% เป็น 27.6% ในช่วงอายุ 13 ถึง 14 ปี เด็กผู้หญิงจาก 21.8% เป็น 21.4% ในเด็กผู้ชาย 18.0% เป็น 23.2% โดยพบว่าเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในเด็กผู้ชาย ในการศึกษาที่สามพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของโรคหืดในช่วงอายุ 12 ถึง 14 ปีจาก 20.6% พ.ศ. 2538 เป็น 25.9% ในปี พ.ศ. 2546 มีการศึกษาแบบ cohort study หนึ่งการศึกษา พบว่ามีอุบัติการณ์โรคหืดเพิ่มขึ้นจาก 3.0% ในปี พ.ศ. 2533 เป็น 5.1% ในปี พ.ศ. 2542 มีการศึกษาพบมีอุบัติการโรคหืดเพิ่มขึ้นในประเทศไอแลนด์ สวีเดน เดนมาร์ค สเปนเยอรมันนี อิตาลี ฝรั่งเศส และ ตุรกี และอุบัติการณ์โรคหืดลดลงในประเทศเนเธอแลนด์ [15]

ในทวีปอเมริกาเหนือประเทศสหรัฐอเมริกา ทำในปี พ.ศ. 2523 จาก 3.7% เป็น 6.9% ในปี พ.ศ. 2538 [16] การศึกษาอื่นๆประเทศสหรัฐอเมริกามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็นไปในทางเดียวกัน [15] 0

จากข้อมูลของ National Coalition on Health Care (NCHC) พบอุบัติการณ์โรคหืดในผู้ใหญ่ 7.7 % ของประชากรประเทศสหรัฐอเมริการ พ.ศ. 2547 – 2550 (แผนภูมิที่3)



แผนภูมิที่ 3 ความชุกของโรคหืดในประเทศสหรัฐอเมริกาโดย NCHC

ในทวีปอเมริกาใต้ทำการศึกษาในประเทศบราซิลพบว่าอุบัติการณ์เกิดโรคหืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในเด็กวัยรุ่นช่วงอายุ 13 – 14 ปีที่ทำการศึกษา พ.ศ. 2538 18.4% และในปี2544 18.7%[17]

โรคหืดเป็นโรคเรื้อรังที่มีผลกระทบต่อผู้ป่วยค่อนข้างสูง จากการสำรวจพบว่าผู้ป่วยโรคหืดมากกว่าครึ่งไม่สามารถทำกิจกรรมได้เช่นคนปกติ ผู้ป่วยโรคหืด 21.7% ยังต้องเข้ารับการรักษา ด้วยอาการหอบรุนแรงที่ห้องฉุกเฉินอย่างน้อยหนึ่งครั้งในระยะเวลาหนึ่งปีที่ผ่านมา และ 14.8 % ต้องเข้านอนรับการรักษาในโรงพยาบาล [14]

จากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุขพบว่าจำนวนผู้ป่วยที่เข้านอนรับการรักษาในโรงพยาบาลเนื่องจากโรคหืดก็เพิ่มขึ้นทุกปีนับตั้งแต่ 66,679 คนในปี พ.ศ. 2538 เป็น 102,245 คนในปี พ.ศ.2545 และมีผู้เสียชีวิตด้วยโรคหืด 806 คนในปี พ.ศ. 2540 เพิ่มเป็น 1697 คนในปี พ.ศ.2546 [14]

จะเห็นได้ว่าโรคหืดเป็นปัญหาที่สำคัญระดับประเทศซึ่งมีผลต่อตัวผู้ป่วยเอง ครอบครัวผู้ป่วย และ ภาครัฐที่จะเสียเงินในการดูแลผู้ป่วยโรคหืดเพิ่มมากขึ้น ในอนาคตคาดการณ์ว่าน่าจะมีผู้ป่วย

โรคหืดเพิ่มมากขึ้น ในหลายๆประเทศรวมทั้งประเทศไทยที่แนวโน้มว่าผู้ป่วยโรคหืดจะเพิ่มขึ้นเช่นกัน อาจเป็นไปได้ว่าการที่เจออุบัติการณ์โรคหืดมากขึ้นเนื่องจากเราได้มีการศึกษาวิจัยเชิงระบาดวิทยาดีขึ้นและมีหลายการศึกษามากขึ้นประชาชนเข้าถึงการบริการทางการแพทย์มากขึ้น หรือ ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหืดในอดีตกับในปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงไป คือในปัจจุบันน่าจะมีปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหืดเพิ่มขึ้นกว่าในอดีตนั่นเอง ซึ่งปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหืดจะได้กล่าวถึงต่อไป

2.1.3 ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหืด

ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคหืด และตัวกระตุ้นที่ทำให้เกิดโรคหืด แบ่งใหญ่ๆ ขึ้นอยู่กับ 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยส่วนบุคคล (host factors) ได้แก่ปัจจัยทางพันธุกรรม เพศ ภาวะอ้วน และปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (environmental factors) ได้แก่สารก่อภูมิแพ้ สารก่อภูมิแพ้ที่เกิดจากการทำงาน มลภาวะ บุหรี่ อาหาร และการติดเชื้อ ในผู้ป่วยโรคหืดหนึ่งคนอาจพบได้หลายปัจจัยเสี่ยงที่จะทำให้เกิดโรคหืดเพิ่มมากขึ้น ปัจจัยความเสี่ยงมีดังนี้

ตารางที่ 2 ปัจจัยเสี่ยงทำให้เกิดโรคหืด

- ปัจจัยส่วนบุคคล (Host factors)
  - พันธุกรรม (Genetic)
    - Gene pre-disposing to atopy
    - Gene pre-disposing to airway hyperresponsiveness
  - ภาวะอ้วน (Obesity)
  - เพศ (sex)
- ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม (Enviromental factors)
  - สารก่อภูมิแพ้ (allergen)
    - ภายในบ้าน : ไรฝุ่น ขนสัตว์ เช่นสุนัข แมว แมลงสาบ เชื้อราภายในบ้าน
    - ภายนอกบ้าน : ละอองเกสรดอกไม้ พืช ต้นไม้ เชื้อราภายนอกบ้าน
  - สารก่อภูมิแพ้ที่เกิดจากการทำงาน (Occupational sensitizers)
  - มลภาวะ (Air pollution)
  - บุหรี่
    - active smoker
    - passive smoker
  - อาหาร
  - การติดเชื้อ

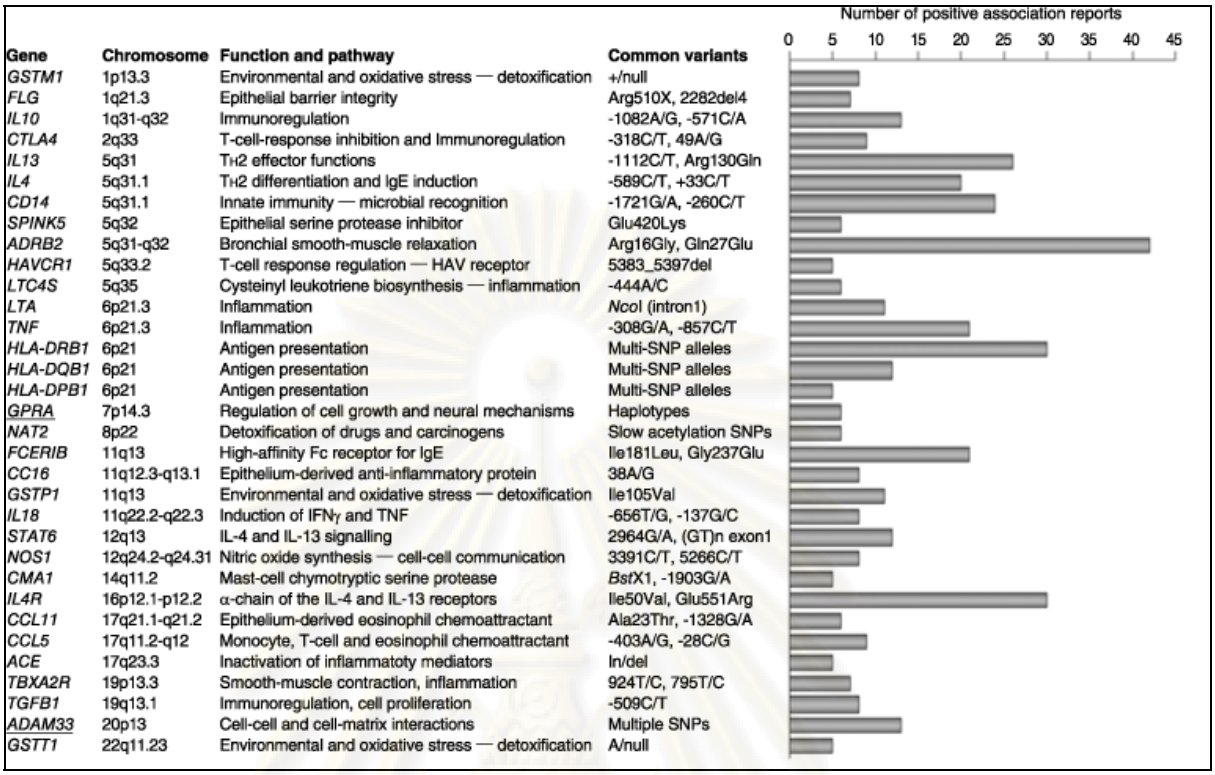
ปัจจัยทางพันธุกรรม

โรคหืดไม่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ โดยตรงเสมอไป แต่พบว่า ถ้าผู้ป่วยมีประวัติภูมิแพ้ในครอบครัวมีโอกาสที่ผู้ป่วยจะเป็นโรคหืดก็จะมีมากขึ้น

ปัจจัยทางพันธุกรรมทำให้เกิดโรคหืดนั้น มีการศึกษาพบ gene หลายตัวที่ทำให้เกิดโรคหืด และแต่ละ gene ที่เจอมักจะพบแต่เฉพาะประชากรในกลุ่มนั้นที่มีการศึกษา การศึกษาจะเน้นในการค้นหา gene ที่แตกต่างกัน เช่น หา gene ที่ทำให้เกิด allergen specific IgE Antibody (atopy)หา gene ที่ทำให้เกิดภาวะ airway hyperesposivenessหา gene ที่ควบคุมการสร้างสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ (inflammatory mediators) พวก cytokines, chemokines และ growth factors หา gene ที่ควบคุมการทำงานของ Th1 และ Th2 lymphocyte และ genes ที่มีความเกี่ยวข้องกับ innate immunity

จากที่มีการศึกษาผู้ป่วยโรคหืดเพื่อหาตำแหน่ง chromosome region ที่สัมพันธ์กับโรคหืด พบ chromosomes 2q, 5q, 6p, 11q, 12q, 16q และ17q สัมพันธ์กับโรคหืด เช่น พบว่า gene บริเวณที่ใกล้กับ major chromosome 5q สัมพันธ์กับระดับ IgE ที่สูงในเลือด ร่วมกับ airway hyperesposiveness [18] เป็นต้น การศึกษาอื่นพบ gene ที่สัมพันธ์กับ epithelial/epidermal barrier function และ remodeling เช่น filaggrin, ADAM33, และ GSDML/ORMDL3 DPP10, GPR154 และ PHF11ในผู้ป่วยภูมิแพ้ผิวหนังและโรคหืด [19] มีการศึกษา gene เพื่อดูการตอบสนองต่อการรักษา เช่น β_2-adrenergic receptor ดู ADRB2 gene และ glucocorticoid receptor ดู gene NR3C1ถ้าดู candidate gene จะพบว่ามี candidate gene หลากหลายและแต่ละ gene ก็สัมพันธ์กับการเกิดโรคหืดไม่เท่ากัน[20] ในตอนนี้ถ้าจะดูจาก gene ตัวเดียวที่ variants แล้วบอกว่า gene ตัวนี้ทำให้เกิดโรดหืดนั้นยังคงสรุปไม่ได้ จากรูปที่4 จะเห็นว่ามี gene หลายตัวมากที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคหืด geneที่เจอในโรคหืดนั้นเมื่อมีการศึกษาแล้วยังพบว่ายังเจอในโรคอื่นได้ด้วย เช่น โรคถุงลมโป่งพองเมื่อศึกษาก็พบ gene ที่เกี่ยวข้องคือ ADAM33, CCL5 และ IL17F

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Gene	Chromosome	Function and pathway	Common variants
GSTM1	1p13.3	Environmental and oxidative stress — detoxification	+/null
FLG	1q21.3	Epithelial barrier integrity	Arg510X, 2282del4
IL10	1q31-q32	Immunoregulation	-1082A/G, -571C/A
CTLA4	2q33	T-cell-response inhibition and Immunoregulation	-318C/T, 49A/G
IL13	5q31	T_H2 effector functions	-1112C/T, Arg130Gln
IL4	5q31.1	T_H2 differentiation and IgE induction	-589C/T, +33C/T
CD14	5q31.1	Innate immunity — microbial recognition	-1721G/A, -260C/T
SPINK5	5q32	Epithelial serine protease inhibitor	Glu420Lys
ADRB2	5q31-q32	Bronchial smooth-muscle relaxation	Arg16Gly, Gln27Glu
HAVCR1	5q33.2	T-cell response regulation — HAV receptor	5383_5397del
LTC4S	5q35	Cysteinyl leukotriene biosynthesis — inflammation	-444A/C
LTA	6p21.3	Inflammation	*Nco*I (intron1)
TNF	6p21.3	Inflammation	-308G/A, -857C/T
HLA-DRB1	6p21	Antigen presentation	Multi-SNP alleles
HLA-DQB1	6p21	Antigen presentation	Multi-SNP alleles
HLA-DPB1	6p21	Antigen presentation	Multi-SNP alleles
GPRA	7p14.3	Regulation of cell growth and neural mechanisms	Haplotypes
NAT2	8p22	Detoxification of drugs and carcinogens	Slow acetylation SNPs
FCERIB	11q13	High-affinity Fc receptor for IgE	Ile181Leu, Gly237Glu
CC16	11q12.3-q13.1	Epithelium-derived anti-inflammatory protein	38A/G
GSTP1	11q13	Environmental and oxidative stress — detoxification	Ile105Val
IL18	11q22.2-q22.3	Induction of IFNγ and TNF	-656T/G, -137G/C
STAT6	12q13	IL-4 and IL-13 signalling	2964G/A, (GT)n exon1
NOS1	12q24.2-q24.31	Nitric oxide synthesis — cell-cell communication	3391C/T, 5266C/T
CMA1	14q11.2	Mast-cell chymotryptic serine protease	*Bst*X1, -1903G/A
IL4R	16p12.1-p12.2	α-chain of the IL-4 and IL-13 receptors	Ile50Val, Glu551Arg
CCL11	17q21.1-q21.2	Epithelium-derived eosinophil chemoattractant	Ala23Thr, -1328G/A
CCL5	17q11.2-q12	Monocyte, T-cell and eosinophil chemoattractant	-403A/G, -28C/G
ACE	17q23.3	Inactivation of inflammatoty mediators	In/del
TBXA2R	19p13.3	Smooth-muscle contraction, inflammation	924T/C, 795T/C
TGFB1	19q13.1	Immunoregulation, cell proliferation	-509C/T
ADAM33	20p13	Cell-cell and cell-matrix interactions	Multiple SNPs
GSTT1	22q11.23	Environmental and oxidative stress — detoxification	A/null

รูปที่ 4 Susceptibility genes ในโรคหืด [20]

มีการศึกษาหา single-nucleotide polymorphism เพื่อหา variants ของ gene ที่สัมพันธ์กับโรคหืด เช่น Pinto LA และคณะพบว่า MMP-9 gene ตำแหน่ง gene SNP rs2664538 จะทำให้เกิดความเสี่ยง โรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้เพิ่มขึ้น 1.66 เท่า [21] Li X และคณะพบ Multiple SNPs ที่บริเวณ RAD50-IL13 region บน chromosome 5q31 rs2244012 โดย gene ตัวนี้สัมพันธ์กับ Th2 lymphocyte ในการสร้าง cytokines และ Ag presenting gene [22] การศึกษาทาง gene ต้องอาศัยเทคโนโลยี ดังนั้นในอนาคตเชื่อว่าถ้ามีเทคโนโลยีที่ดีขึ้น ก็จะสามารถศึกษาเกี่ยวกับเรื่องทาง gene ได้มากขึ้นเช่นกัน

ภาวะอ้วน

จากการศึกษาพบว่าภาวะอ้วนทำให้มีโอกาสเกิดโรคหืดเพิ่มมากขึ้น โดย Litonjua และคณะได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่าง body mass index (BMI) ที่เพิ่มขึ้น และการเกิด AHR ในผู้ชายประเทศสหรัฐอเมริกา [23] กลไกในการเกิดนั้นเกิดได้จาก

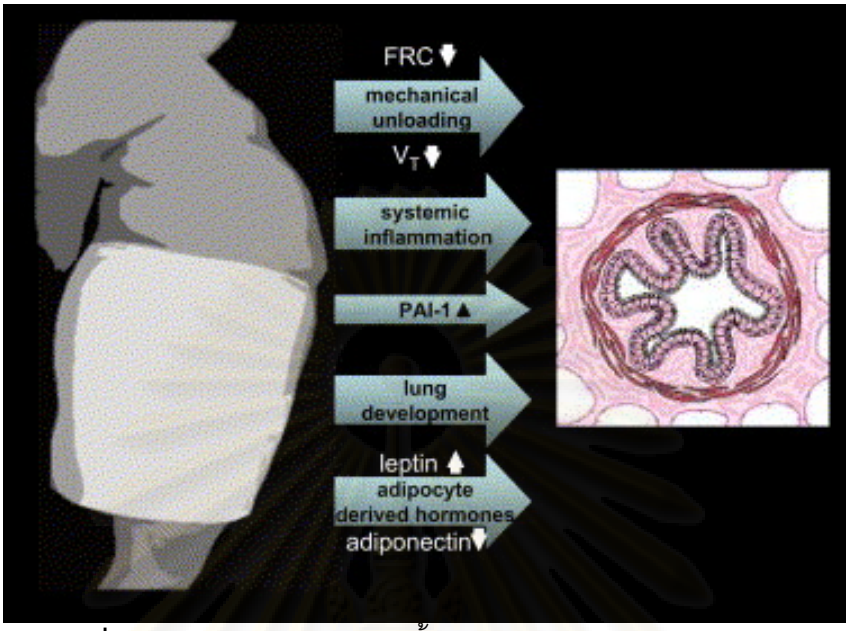
1. Mechanical unloding มีการเพิ่มขึ้นของ abdominal และ chest wall mass ในคนที่อ้วนเป็นสาเหตุให้ functional residual capacity ลดลง [24] การที่เกิด unload ของ airway smooth muscle เนื่องจากการหายใจที่สั้นลง ถ้าดูด้าน dynamic factors ในคน

อ้วนมีค่า tidal volume ของปอดลดลงเมื่อเทียบกับคนรูปร่างสมส่วน [25] ซึ่งจะทำให้เกิด potent bronchodilating mechanism มีความเสี่ยงเกิด AHR สูงขึ้น

2. Inflammatory microenvironment ในคนที่มีภาวะอ้วนจะมี chronic, low-grade systemic inflammation โดยเกิดจากการเพิ่มขึ้นของ circulating leukocytes และการเพิ่มขึ้นของ serum cytokines, cytokine receptors, chemokines และ acute-phase proteins ทฤษฎียังไม่รู้แน่ชัดแต่น่าจะเกิดจาก adipose tissue ที่มากขึ้น [26] ในภาวะอ้วนจะมีการเพิ่มขึ้นของ serum TNF-α ซึ่งที่น่าสนใจคือจะพบ TNF receptors มากขึ้นใน airway smooth muscle และ สาร exogenous TNF-α ที่สูงขึ้นสามารถทำให้เกิดการหดตัวของทางเดินหายใจได้ในหนูในหลอดทดลอง [27]
3. การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนหรือสารที่สร้างมาจาก adipose tissue ซึ่งสารเหล่านี้จะมีผลต่อ airway function ทำให้เกิด AHR สารเหล่านี้คือ leptin, adiponectin และ plasminogen activator inhibitor (PAI-1) [28,29] hormone leptin ออกฤทธิ์ที่ hypothalamusทำให้เกิด metabolism เพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม พบว่า serum leptin พบสูงขึ้นในคนอ้วนน่าจะเกิดจาก leptin resistance ในคนที่มีภาวะอ้วน คล้ายๆกับภาวะ insulin resistance ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 สารleptinจะมีผลต่อหลอดลมโดยทำให้เกิดภาวะ AHR เนื่องจากสาร leptin จะไปกระตุ้น mast cell เพิ่มมากขึ้น สาร Adiponectin จะลดลงในคนอ้วน การที่สาร adiponectin ลดลงจะทำให้เกิด AHR ยังไม่รู้กลไกลว่าเกิดจากอะไร มีการเพิ่มขึ้นของ serum PAI-1 levels ในภาวะอ้วนจะมีผลต่อ extracellular matrix turnover เพิ่มสูงขึ้นสามารถทำให้กิด AHR ได้ [30]

สรุปภาวะอ้วนจะทำให้เกิดโรคหืด คือปริมาณความจุปอดลดลง คือค่า FRC ลดลง ค่า Tidal volume ลดลง การทำงานของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมผิดปกติ เนื่องจากมีการอักเสบภายในร่างกายมากขึ้น สาร PAI-1และ leptin สูงขึ้น และสาร adiponectin ลดลง (รูปที่5)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



<u>รูปที่5</u> ภาวะอ้วนมีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบระบบทางเดินหายใจ [30]

เพศ

เพศชายเป็นปัจจัยเสี่ยงการเกิดโรคหืดในเด็กก่อนอายุ 14 ปี โดยพบเพศชายมากกว่า เพศหญิงสองเท่า [31] แต่ในผู้ใหญ่จะพบเพศหญิงมากกว่าเพศชาย (แผนภูมิที่ 3) แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เรื่องเพศเป็นยังปัจจัยเสี่ยงที่ไม่ชัดเจนในการเกิดโรคหืด

สารก่อภูมิแพ้

พบว่า 80% ของเด็กและผู้ใหญ่ที่เป็นโรคหืดมีการแพ้ต่อสารที่ก่อภูมิแพ้ [32] มีการศึกษาชัดเจนแล้วว่า สารก่อภูมิแพ้เป็นปัจจัยเสี่ยงในการทำให้เกิดโรคหืดในผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ การศึกษาที่บ่งบอกว่าสารก่อภูมิแพ้ทำให้เกิดโรคหืดนั้น มีการศึกษาพบว่าสารก่อภูมิแพ้ทำให้เกิดการอักเสบของทางเดินหายใจ โดยเซลล์ที่เกี่ยวข้องคือ eosinophil และ basophil จะพบได้ภายใน 7 ชั่วโมง หลังจากสูดหายใจสารก่อภูมิแพ้เข้าไป แล้ว eosinophil จะยังคงอยู่ 3 วัน การเพิ่มจำนวนของ eosinophils และ basophils จะสัมพันธ์กับจำนวน common circulating progenitor ในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น แสดงว่าการสูดสารก่อภูมิแพ้เข้าไปทำให้ไขกระดูกมีการสร้าง progenitors ออกมา ซึ่งมีการยืนยันโดยวัดจำนวน bone marrow progenitors จากการดูดไขกระดูกขึ้นมาตรวจหลังจากสูดสารก่อภูมิแพ้เข้าไป 24 ชั่วโมง [33,34] สารที่ทำให้เกิดการหดตัวของหลอดลม (bronchoconstrictor mediators) ที่ตอบสนองในช่วง early allergen-induced response (EAR) และ late allergen response (LAR) พบว่าสาร Histamine และ cysteinyl leukotrienes (cysLTs) จะมีการหลั่งออกมามากขึ้นหลังจากมีการสูดดมสารก่อภูมิแพ้เข้าไป นอกจากนี้จะทำให้ microvascular

permeability เพิ่มขึ้นและมีการหลั่ง mucous ออกมามากขึ้น [35] ในช่วงแรกที่มีการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้ พบว่าเซลล์ eosinophils, mast cells และ basophils จะเข้าไปในทางเดินหายใจ มีการทำงานของเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการหลั่งสาร, histamine และ cysLTs ออกมาเพิ่มขึ้น จากการติดตามการทำงานของไขกระดูกพบว่ามีการหลั่งสาร IL-5 ออกมาเพิ่มมากขึ้น ซึ่งIL-5 จะทำให้มีการผลิต eosinophil และ basophil เพิ่มขึ้นเพื่อมาตอบสนองต่อการอักเสบ [36]

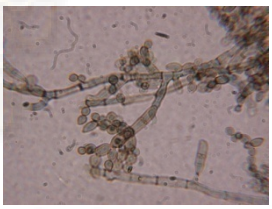
สารก่อภูมิแพ้ทางอากาศ (aeroallergen) แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ สารที่ก่อภูมิแพ้ภายในบ้าน และ สารที่ก่อภูมิแพ้ภายนอกบ้าน สารก่อภูมิแพ้ที่สำคัญภายในบ้านที่พบได้บ่อยคือ ไรฝุ่น แมลงสาบ ขนสัตว์สุนัข แมว กลุ่มเชื้อราภายในบ้าน สารก่อภูมิแพ้ภายนอกบ้านที่พบบ่อยคือ ละอองเกศรดอกไม้ วัชพืช ต้นไม้ซึ่งมักเป็นตามฤดูกาล และเชื้อราภายนอกบ้าน จากการศึกษาพบว่าการแพ้และได้สัมผัสกับไรฝุ่น และเชื้อรา *Alternaria* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคหืดในเด็ก การแพ้และสัมผัสแมลงสาบจะทำให้เกิดโรคหืดกับคนในเมือง บางการศึกษาพบว่าการสัมผัสสุนัขและแมวตั้งแต่อายุยังน้อยสามารถป้องกันการเกิดโรคหืดได้แต่ยังมีการขัดแย้งกันอยู่เนื่องจากบางการศึกษาบอกว่าอาจทำให้เกิดโรคหืดได้เช่นกัน [12]

ไรฝุ่น

แมลงสาบ

แมว

สุนัข



เชื้อรา *Aspergillus* *Penicillium* *Alternaria* *Cladosporium*

Timothy grass

Bermuda grass

White birch

Ragweed

<u>รูปที่6</u> สารก่อภูมิแพ้ทางอากาศที่พบบ่อย

ตารางที่3 สารก่อภูมิแพ้ภายในบ้าน

- **Acarids**
  - ***Dust mites/domestic mites***
    - *Dermatophagoides pteronyssinus*
    - *Dermatophagoides farinae*
    - *Euroglyphus maynei*
    - *Blomia tropicalis*
  - **other**
    - Spiders
    - Sliverfish
- **Mammals**
  - Cats (*Felis domesticus*)
  - Dogs (*Canis familiaris*)
  - Rabbits
  - Ferrets
- ***Rodents***
  - Pets (mice, gerbils, guinea pigs, chinchilla, etc.)
  - Pests
    - Mice *(Mus musculus)*
    - Rats *(Rattus norvegicus)*
- **Insects**
  - ***Cockroaches***
    - *Blattella germanica* (German)
    - *Periplaneta americana* (American)
    - *Blatta orientalis* (Oriental)
  - **Others**
    - *Harmonia axyridis* – Asian lady beetles
    - Crickets
    - Flies
    - Fleas
    - Moths
    - Midges
- **Fungi**
  - *Penicillium*
  - *Aspergillus*
  - *Cladosporium* (growing on surfaces of rotting wood)
  - Other species

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารก่อภูมิแพ้ไรฝุ่น 2 ชนิดที่พบภายในบ้านที่มีความสัมพันธ์กับโรคหอบหืดคือ *Dermatophagoides farina* และ *Dermatophagoides pteronyssinus* ความชุกของ IgE sensitization ต่อไรฝุ่นไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับสถานที่และสิ่งแวดล้อม ในบางที่อาจเจอการแพ้ต่ำแค่ 5% ของประชากร แต่ในบางพื้นที่ที่มีความชื้นสูงอาจเจอการแพ้ไรฝุ่นได้สูงถึง 60 % ของประชากร [37,38] การแพ้ไรฝุ่นเกิดจากการที่มนุษย์หายใจเอาโปรตีนของไรฝุ่นเข้าไปซึ่งโปรตีนมีอยู่ 2 ชนิด ชนิดแรกนั้นอยู่ในลำไส้ของไรฝุ่นถ่ายออกมาเป็นอุจจาระ เป็นโปรตีนที่สำคัญทำให้เกิดสารก่อภูมิแพ้ และชนิดที่สองเป็นโปรตีน glycoproteins ที่สร้างจากไรฝุ่นตัวผู้ ขนาดของโปรตีนอยู่ในช่วง 10 – 20 μm ซึ่งโปรตีนพวกนี้จะไปตกอยู่บริเวณที่นอน พรม ม่าน ตัวไรฝุ่นนั้นอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีความชื้นสูงเนื่องจากตัวมันเองต้องดูดน้ำจากอากาศเข้ามาในตัว ความชื้นที่ต้องการคือ 55- 75% ในอุณหภูมิปกติ [39, 40]

สารก่อภูมิแพ้แมลงสาบ เกิดจากแมลงสาบที่สำคัญ 2 ชนิดคือ German cockroach (*Blatella germanica*) และ American cockroach (*Periplaneta americana*) ส่วนใหญ่ที่เจอในบ้านจะเป็นชนิด American แมลงสาบเป็นสารก่อภูมิแพ้ที่สำคัญของคนที่อาศัยอยู่ในเมือง โดยพบว่าเด็กอาศัยในเมืองแพ้แมลงสาบ 40% มากกว่าเด็กที่อาศัยอยู่นอกเมืองพบ 20% สารก่อภูมิแพ้จากแมลงสาบมาจากลำตัวของแมลงสาบและอุจจาระ ขนาดของโปรตีน 10 - 40 μm จะพบมากภายในบ้านบริเวณ พื้น พรม โต๊ะ และเฟอร์นิเจอร์ที่มีพื้นราบ หรือบริเวณที่เก็บอาหาร มีรายงานว่าเจอสารก่อภูมิแพ้แมลงสาบบริเวณที่นอนได้เหมือนกัน [39, 40]

สารก่อภูมิแพ้จากหนู สามารถทำให้เกิดภูมิแพ้ได้ในคนที่อาศัยอยู่ในเมือง เคยมีการศึกษาพบว่าในที่คนที่ควบคุมอาการโรคหืดไม่ได้นั้น นั้นเกิดจากที่แพ้สารก่อภูมิแพ้จากหนู ในเขตที่อาศัยนอกเมืองสามารถพบสารก่อภูมิแพ้จากหนูได้แต่พบได้ในปริมาณที่น้อยกว่าในเมือง 100 – 1,000 เท่า สารก่อภูมิแพ้จากหนูพบได้ในปัสสาวะ และ pheromones ของหนู ปัสสาวะของหนูนั้นจะระเหยได้ง่าย สารก่อภูมิแพ้จากหนูนั้นขนาดเล็กมาก <10 μm สามารถกระจายได้ในอากาศ ส่วนใหญ่หนูจะอาศัยในบริเวณที่รกและจะออกมาหากินในเวลากลางคืน จึงไม่ค่อยเจอหนูในเวลากลางวัน สิ่งที่ดึงดูดหนูคือ อาหาร จะพบสารก่อภูมิแพ้ปริมาณมากในบริเวณที่เป็นที่ทิ้งขยะ และอาจจะพบได้ในบริเวณที่นอน หรือบริเวณกรงเลี้ยงหนู [41 – 46]

สารก่อภูมิแพ้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วนใหญ่ที่พบสารก่อภูมิแพ้ในคนได้แก่ สุนัข และแมว สารก่อภูมิแพ้ที่พบคือ Can f 1 ในสุนัข และ Fel d 1ในแมว สารก่อภูมิแพ้เป็นโปรตีนที่มาจากน้ำลาย ขนสัตว์ หรือสารคัดหลั่งอื่นๆ ขนาดสารก่อภูมิแพ้จะมีขนาดเล็กมาก <10 μm สามารถกระจายไปในอากาศได้เช่นเดียวกับสารก่อภูมิแพ้ที่พบในหนู [47 – 50] โดยเฉพาะสารก่อภูมิแพ้จากแมวสามารถติดตามเสื้อได้ในคนที่เลี้ยงแมว ซึ่งนำพาสารก่อภูมิแพ้ไปที่อื่นได้ มีรายงานว่าพบสารก่อ

ภูมิแพ้จากแมวและสุนัขในฝุ่นบ้านของบ้านที่ไม่เลี้ยงสัตว์ได้ ยังเป็นเรื่องสรุปไม่ได้ว่าการเลี้ยงสัตว์เลี้ยงหรือหลีกเลี่ยงการสัมผัสสัตว์เลี้ยง อย่างไหนทำให้เกิดภูมิแพ้หรือโรคหืดกันแน่ ก่อนหน้านี้มีการศึกษาออกมาว่าในบ้านคนที่เลี้ยงแมว หรือเลี้ยงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆจะไม่เป็นโรคภูมิแพ้ [51, 52] มีรายงานว่าเจ้าของสัตว์เลี้ยงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สารถป้องกันการเกิดโรคภูมิแพ้ได้ เนื่องจากมีปริมาณสาร endotoxinที่สูงขึ้น (เกี่ยวข้องกับทฤษฎี hygiene hypothesis) หรือเกิดการพัฒนาภาวะ immunologic tolerance ซึ่งยังไม่ชัดเจน [53] อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ IgE sensitization ต่อสารก่อภูมิแพ้จากสัตว์ และมีอาการทางคลินิกเมื่อสัมผัสสารก่อภูมิแพ้จากสัตว์ จะมีอาการมากขึ้น อย่างชัดเจนเมื่อสัมผัสสารก่อภูมิแพ้จากสัตว์เลี้ยงถ้ายังเลี้ยงสัตว์อยู่

สารก่อภูมิแพ้จากเชื้อรา คำว่า mold allergy เป็นคำรวมๆของ species ของ saprophytic fungi ที่พบได้ภายในบ้านและภายนอกบ้านกว่าหนึ่งร้อยชนิด เชื้อรามักอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมบริเวณที่ชื้น อุณหภูมิที่พอดี และมีอาหารเพียงพอต่อการเจริญเติบโต เป็นที่ชัดเจนแล้วว่าในโรคภูมิแพ้สามารถเกิด IgE sensitization ต่อเชื้อราได้ และสารก่อภูมิแพ้จากเชื้อราสามารถทำให้โรคหืดกำเริบ และ เป็นพยาธิสภาพของโรคหืดได้ การเก็บเชื้อราขณะนี้ยังไม่มีมาตราฐานเพื่อใช้ในทางคลินิก โดยวิธีการเก็บต้องเพาะเชื้อราจากสิ่งแวดล้อมแล้วเอามานับ spore โดยสารก่อภูมิแพ้จากเชื้อรา ที่เจอในฝุ่นบ้าน หรือสิ่งที่เชื้อราผลิต เช่น 1-3 β-glucans ขนาดสารก่อภูมิแพ้จากเชื้อราจะอยู่ในช่วง 2 – 10 μm และสามารถอยู่ในอากาศได้เป็นระยะเวลานาน ในส่วนของเชื้อราภายนอกบ้านมีการศึกษายืนยันแล้วว่าเชื้อรา *Alternaria alternata* มีส่วนเกี่ยวข้องกับระดับความรุนแรงของโรคหืด และการเกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ เชื้อราตัวอื่นๆที่เจอได้แก่ Cladosporium, Penicillium, Aspergillus และ Helminthosporium สารก่อภูมิแพ้จากเชื้อราที่สำคัญคือส่วนของ hyphae และฝุ่นที่อยู่ในบริเวณที่เชื้อรามีการเจริญเติบโต ตัวเชื้อรามีการสร้าง digestive enzymes ออกมา ตรงนี้มีความสำคัญเนื่องจากว่า mold proteases นอกจากจะเป็นสารก่อภูมิแพ้แล้วตัวเอมไซม์อาจเป็นสาเหตุการอักเสบของ mast cell, eosinophil และ ทำให้เกิดการสร้าง IgE ต่อโปรตีนโดยกระตุ้นผ่าน protease activated receptors ด้วย [54]

สารก่อภูมิแพ้จากต้นไม้ (Tree pollen) มักพบในฤดูใบไม้ผลิ สารก่อภูมิแพ้จากเกศรหญ้า (grass pollen) มักพบในช่วงเริ่มต้นของฤดูร้อน สารก่อภูมิแพ้จากวัชพืช (weed pollens) โดยเฉพาะ ragweed จะพบในช่วงปลายฤดูร้อน และฤดูใบไม้ร่วง เกศรจากพืชสามารถติดกับเยื่อบุจมูก ทำให้เกิดการปล่อยสารโปรตีนที่ทำให้เกิดโรคภูมิแพ้ขึ้น เกศรจากพืชจะมีขนาดใหญ่จนไม่สามารถผ่านเข้าไปถึงหลอดลม bronchi และไม่สามารถเป็นสาเหตุของโรคหืดได้ ผู้ป่วยโรคหืดที่แพ้สารก่อภูมิแพ้จากพืชมักมีอาการกำเริบเวลาหลังเกิดพายุ หรือหลังฝนตก [55]

ตารางที่4 สารก่อภูมิแพ้ภายนอกบ้าน

- POLLEN AEROALLERGENS
  - **Common allergenic grasses**
    - Bermuda grass
    - Bahia grass
    - Johnson grass
    - Timothy grass
  - **Common allergenic trees**
    - Sugar maple
    - American hazelnut
    - Red birch
    - White birch
    - Mountain cedar
    - Red cedar
    - Acacia
    - Mesquite
    - American beech
    - Pecan
    - Olive
    - Red/green ash
  - **Common allergenic weeds**
    - Short ragweed
    - Giant ragweed
    - Western ragweed
    - Sagebrush
    - Mugwort
- **Fungi**
  - *Alternaria*
  - *Aspergillus*
  - *Cladosporium*
  - *Fusarium*
  - *Penicillium*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารก่อภูมิแพ้ที่เกิดจากการทำงาน

พบว่ามีสารก่อภูมิแพ้ที่เกิดจากการทำงานมากกว่า 300 สารที่ทำให้เกิดโรคหืด แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ High-molecular-weight agents และ Low-molecular-weight agents

ตารางที่5 สารก่อภูมิแพ้ที่เกิดจากการทำงานและประเภทงานที่เกี่ยวข้อง

Agent	Workers at risk
High-molecular-weight agents	
Cereals	Bakers, millers
Animal-derived allergens	Animal handlers
Enzymes	Detergent users, pharmaceutical workers, bakers
Gums	Carpet makers, pharmaceutical workers
Latex	Health professionals
Seafood	Seafood processors
Low-molecular-weight agents	
Isocyanates	Spray painters; insulation installers; manufacturers of plastics, rubbers, and foam
Wood dusts	Forest workers, carpenters, cabinetmakers
Anhydrides	Users of plastics, epoxy resins
Amines	Shellac and lacquer handlers, solderers
Fluxes	Electronic workers
Chloramine-T	Janitors, cleaners
Dyes	Textile workers
Persulfate	Hairdressers
Formaldehyde, glutaraldehyde	Hospital staff
Acrylate	Adhesive handlers
Drugs	Pharmaceutical workers, health professionals
Metals	Solderers, refiners

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พบว่าโรคหืดที่เกิดจากการทำงาน (Occupational asthma) นั้นพบได้ 1 ใน 10 คน ของผู้ป่วยโรคหืดในผู้ใหญ่วัยทำงาน โดยเฉพาะในประเทศอุตสาหกรรม อาชีพที่มีความเสี่ยงสูงได้แก่ ทำงานปศุสัตว์ ทำงานเกษตร ช่างทาสี คนทำความสะอาด และคนที่ทำงานในโรงงานพลาสติก การแพ้จะเกิดได้ทั้ง immediate และ latency period ใช้ระยะเวลาเป็นเดือน เป็นปีหลังจากได้สัมผัสสารภูมิแพ้นั้นแล้ว การตอบสนองจึงมีทั้งแบบ IgE mediated allergic reaction และ cell mediated allergic reaction [12]

จะมีในกลุ่มคนบางกลุ่มที่สูดหายใจได้รับสารที่ระคายเคืองต่อทางเดินหายใจเข้าไปในปริมาณมาก ทำให้เกิด Irritant induced asthma ได้หรือเรียกว่า Reactive airway dysfunctional syndrome โดยผู้ป่วยกลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มที่ไม่แพ้สารที่ทำให้เกิดการแพ้

ตารางที่ 6 สารที่ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจทำให้เกิดโรคหืด

AGENTS RESPONSIBLE FOR CAUSING IRRITANT-INDUCED ASTHMA (IrIA)	
>> Acids	>> Floor sealant
– Acetic acid	>> Formalin
– Sulfuric acid	>> Metal remover
– Hydrochloridic acid	>> Mustard
>> Heated acid	>> Oxide (calcium)
>> Ammonia	>> Paints (heated)
>> Bleaching agent	>> Perchloroethylene
>> Chlorine	>> Phosgene
>> Chloropicrin	>> Phthalic anhydride
>> Cleaning agents	>> Spray paint
>> Diesel exhaust	>> Sulfur dioxide
>> Dimethylaminoethanol	
>> Diisocyanates	
>> Epichlorohydrin	
>> Ethylene oxide	
>> Fire/smoke	

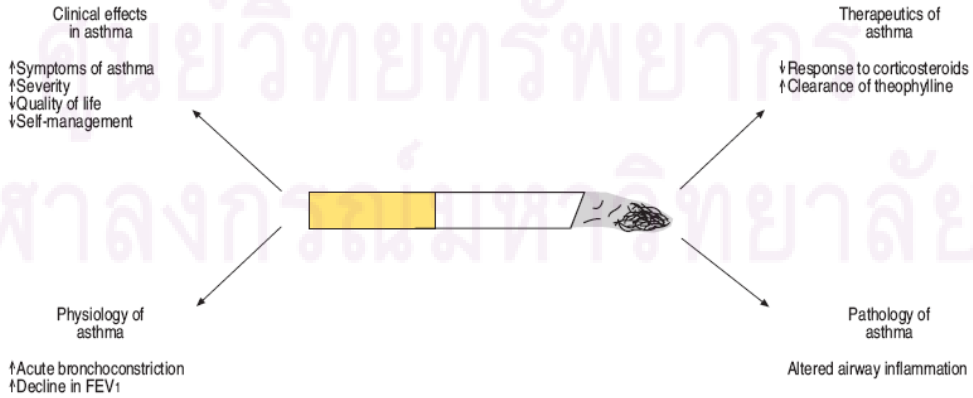
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บุหรี่

การสัมผัสควันบุหรี่ไม่ว่าทางตรงโดยการสูบเองหรือการสัมผัสทางอ้อมโดยการสูดดมควันบุหรี่จากการสูบของผู้อื่น จะทำให้เด็กที่เป็นโรคภูมิแพ้หรือโรคหืดมีอาการรุนแรงมากขึ้นได้ นอกจากนี้ ยังพบว่าหากเด็กมีการสัมผัสกับควันบุหรี่ระยะหนึ่งจะทำให้เพิ่มอัตตราเสี่ยงต่อการเกิดภาวะภูมิแพ้ได้มากว่าเด็กที่ไม่มีประวัติการสัมผัสควันบุหรี่

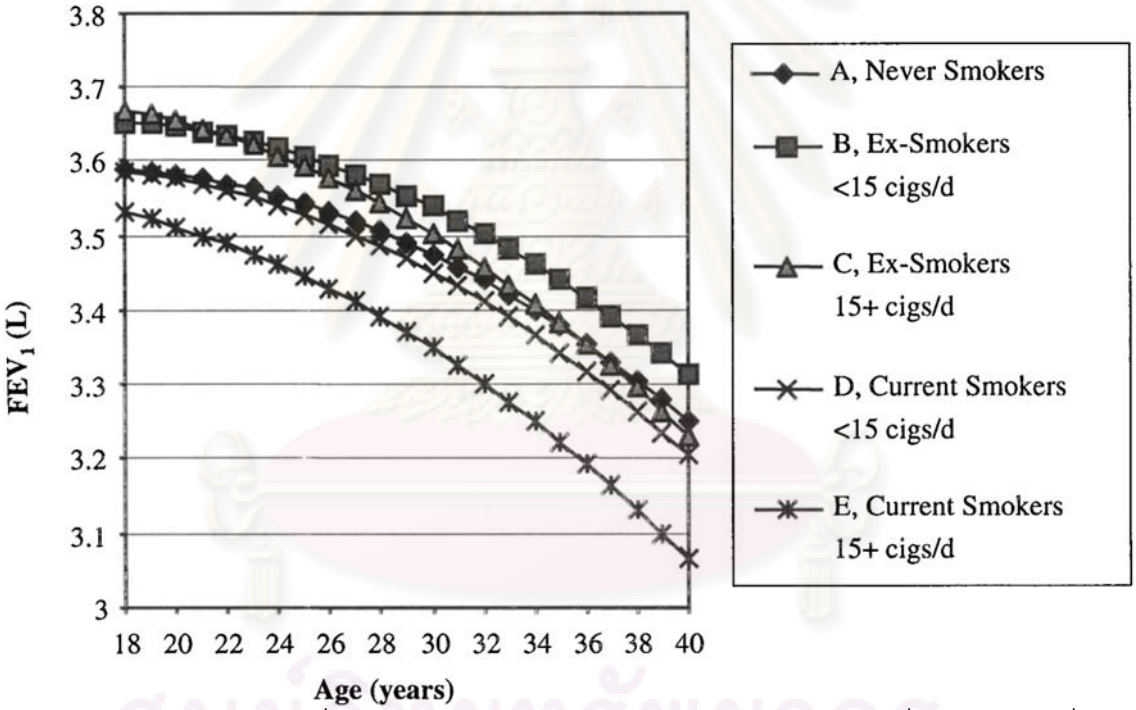
ในผู้ป่วยที่มีประวัติสูบบุหรี่มาก่อนจะมีความเสี่ยงในการเกิดโรคหืดมากขึ้น โดยดูจากการศึกษาของ Piipari และคณะพบว่า ความเสี่ยงในการเกิดโรคหืดในผู้ใหญ่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยกลุ่มกำลังสูบบุหรี่ OR 1.33 (95% CI 1.00–1.77) และกลุ่มเคยสูบบุหรี่แล้วเลิกไปแล้ว OR 1.49 (95% CI 1.12–1.97) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เคยสูบบุหรี่มาก่อน ผู้ป่วยกลุ่มสูบบุหรี่มีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นถ้าสูบบุหรี่มากกว่า 14 มวนต่อวัน [56] ในเด็กวัยรุ่นพบว่าถ้าสูบบุหรี่มากกว่า 300 มวนต่อปีมีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคหืดมากขึ้น 3.9 เท่า(95% CI 1.7–8.5) เมื่อเทียบกับเด็กอายุเดียวกันที่ไม่สูบบุหรี่โดยเฉพาะกลุ่มที่ไม่เป็นภูมิแพ้ มากกว่ากลุ่มที่เป็นภูมิแพ้ ความเสี่ยงในการเกิดโรคหืดจะมากขึ้นไปอีกในกลุ่มสูบบุหรี่ร่วมกับมารดามีประวัติสูบบุหรี่ระหว่างการตั้งครรภ์จะเพิ่มขึ้นสูงถึง 8.8 เท่า (95% CI, 3.2–24.0) [57]

ผู้ป่วยโรคหืดเองที่ป่วยเป็นหืดแล้วยังมีประวัติสูบบุหรี่อยู่พบประมาณ 17–35% ในประเทศสหรัฐอเมริกา และอังกฤษ [58] โดยเฉพาะผู้ป่วยกลุ่มนี้มักมีการหอบที่ต้องมาพ่นยาที่ห้องฉุกเฉินบ่อยครั้งมากกว่าในกลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่หรือเลิกสูบบุหรี่แล้ว บุหรี่จะมีผลต่อโรคหืดถ้าดูตามอาการจะพบว่าจะทำให้ผู้ป่วยโรคหืดมีอาการหอบมากขึ้น ความรุนแรงของโรคหืดเป็นมากขึ้น คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยลดลง ถ้าดูติดตาม 6-yr mortality rate ในกลุ่มที่ มีอาการหอบหืดกำเริบรุนแรง (near-fatal asthma attack) ถ้าเทียบกับผู้ป่วยโรคหืดช่วงอายุเดียวกันพบว่ากลุ่มที่สูบบุหรี่มีอัตตราการเสียชีวิตสูงกว่ากลุ่มไม่สูบไมบุหรี่ 3.6 เท่า (95% CI 2–6.2) [59]



รูปที่ 7 ผลระหว่างบุหรี่กับโรคหืด [58]

ถ้าผู้ป่วยโรคหืดสูบบุหรี่ร่วมด้วยจะทำให้สมรรถภาพปอดลดลงเร็วกว่าปัจจัยอื่น จากการศึกษาที่ติดตามผู้ป่วยโรคหืดไป 15 ปี พบว่าระดับเฉลี่ยการลดลงของค่า FEV1 ในผู้ป่วยโรคหืดผู้ชายที่ไม่สูบบุหรี่อายุช่วง 40–59 ปีอยู่ที่ 33 mL โดยจะลดลงเพิ่มขึ้นเป็น 58 mL ในกลุ่มที่สูบบุหรี่ ($P< 0.001$) และยังพบว่ามี chronic mucus hypersecretion และ การสูบบุหรี่จะสัมพันธ์กับการลดลงของค่า FEV1 [60] จากการศึกษา CARDIA study ทำในผู้ใหญ่ 4,000 คนอายุ 18 – 30 ปี ติดตามไป 10 ปี ในกลุ่มคนปกติที่ไม่สูบบุหรี่ พบการลดลงของค่า FEV1 8.5% ในกลุ่มโรคหืดไม่สูบบุหรี่พบการลดลงของค่า FEV1 10.1% ในกลุ่มสูบบุหรี่ที่ไม่มีโรคหืดพบการลดลงของค่า FEV1 11.1% ในกลุ่มโรคหืดร่วมกับสูบบุหรี่มาก 15 มวนต่อวันพบการลดลงของค่า FEV1จะลดมากว่ากลุ่มอื่นเป็น 17.8% ในช่วงระยะเวลา 10 ปี [61] ดูจากแผนภูมิที่4



แผนภูมิที่ 4 การเปลี่ยนแปลง FEV1 เปรียบเทียบในผู้ป่วยโรคหืดสูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ [61]

นอกจากนี้บุหรี่ยังทำให้ผลการรักษาโรคหืดต่อยา corticosteroid ลดลงจากหลายๆ การศึกษาที่ผ่านมา [62-65] โดยกลไกลการดื้อยาดูได้จากตารางที่7 และในผู้ป่วยโรคหืดที่รับประทานยา theophyline ผลของบุหรี่จะทำให้ยามีการขับออกเร็วขึ้น 60 – 100 % เมื่อเทียบกับคนที่ไม่สูบบุหรี่เนื่องจากบุหรี่ทำให้เอมไซม์ในตับ Cytochrome P450-1A2 ทำงานเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 7 กลไกลการดื้อยา corticosteroid ในผู้ป่วยโรคหืดร่วมกับสูบบุหรี่ [58]

Corticosteroid pharmacokinetics
Increased airway mucosal permeability
Increased bronchial secretions
Corticosteroid and β_2-adrenergic receptor interactions
Down-regulation of β_2-adrenergic receptor function
Inflammatory cell phenotypes
Increased airway neutrophil or CD8+ lymphocyte numbers
Reduced airway eosinophil numbers
Cytokine and mediators levels
Increased production of IL-4, IL-8, TNF-α
Decreased production of IL-10
Nitrosative stress
GR
Overexpression of GR-β
Reduced expression of GR-α
Pro-inflammatory transcription factor activation
Overexpression of NF-κB
Overexpression of activator protein-1
Overexpression of signal transduction-activated factor
Corticosteroid cell-signalling systems
Reduced histone deacetylase activity
Increased p38 mitogen-activated protein kinase activity

มลภาวะ (Air Pollutin)

มลภาวะในอากาศแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ มลภาวะภายในบ้าน (Indoor air pollution) และมลภาวะนอกบ้าน (Outdoor air pollution)

มลภาวะภายในบ้านเกิดจากอากาศภายนอกบ้านเข้ามาข้างในบ้าง และยังรวมไปถึงควันที่เกิดจากการสูบบุหรี่ การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงที่เกิดจากไม้ จากพืชด้วย การเผาไหม้ของเชื้อเพลิงที่เกิดจากพืชจะเกิดฝุ่นควันออกมา สารที่พบมากคือ polyaromatic hydrocarbons และสารอื่นๆที่เมื่อเข้าไปภายในเซลล์ทำให้เกิด oxidant species ขึ้นมา การเผาไหม้เชื้อเพลิงที่เกิดจากไม้ในบ้านจะทำให้เกิดผงฝุ่น และ oxidant gases ขึ้นมาซึ่งจะสัมพันธ์กับการเพิ่มการเจ็บป่วยจากโรคทางเดินหายใจ อย่างไรก็ตามถ้าหายใจเอาควันบุหรี่จากบุคคลที่สูบบุหรี่เข้าไปแม้จะไม่ได้สูบบุหรี่ด้วยตนเองสามารถทำให้โรคหืดกำเริบได้เช่นเดียวกัน [66-69] nitrogen dioxide (NO2) เป็นแก๊สธรรมชาติเกิดจากการเผาไหม้ในอุณหภูมิที่สูง จะพบมากในบริเวณที่มีอากาศถ่ายเทไม่ดี ถ้ามีระดับ nitrogen dioxide สูงขึ้นภายในบ้านจะสัมพันธ์กับอาการระบบทางเดินหายใจที่เพิ่มขึ้น เช่นอาการไอ หายใจเสียงวีด ไอมีเสมหะ หลอดลมอักเสบ และทำให้ peak flow ลดลงในเด็ก และมีผลต่อการติดเชื้อไวรัสในผู้ป่วยโรคหืดด้วย [70 – 74] จากที่มีการศึกษาในโรงเรียนพบว่าถ้าเปลี่ยนเครื่องทำความร้อนจากระบบที่ใช้น้ำมัน มาเป็นระบบใช้แก๊สหรือระบบไฟฟ้า พบว่าระดับ NO2 ในโรงเรียนจะลดลงจาก 47.0 ppb เหลือ 15.5 ppb ($p<001$) ทำให้อาการโรคหืดลดลง อาการหายใจลำบาก [relative risk

0.41; 95% CI 0.07–0.98] อาการแน่นหน้าอก[relative risk 0.45; 95% CI 0.25–0.81] และอาการหอบกำเริบในเด็ก [relative risk 0.39; 95% CI 0.17–.93] จะเห็นได้ชัดเจนว่า NO2 มีผลต่ออาการทางเดินหายใจและโรคหืดในเด็ก ถ้าลดปริมาณ NO2 ลงอาการระบบทางเดินกายใจและอาการหอบกำเริบในเด็กก็จะดีขึ้น [75] แก๊สที่สำคัญอีกตัวคือ ozone ซึ่งปริมาณ ozone ภายในบ้านจะสัมพันธ์ปริมาณ ozone ภายนอกบ้าน และจะมีการเปลี่ยนแปลงได้ตามฤดูกาล [76] แหล่งของ ozone ภายในบ้านจะได้มาจากเครื่องทำ ozone ซึ่งขายมาพร้อมกับเครื่องปรับอากาศหรือเครื่องฟอกอากาศ และมาจากเครื่องถ่ายเอกสารที่ใช้ตามที่ทำงาน โรงเรียน และภายในบ้าน [77] ผลของ ozone ที่อยู่ในบ้านยังไม่มีการศึกษาอย่างจริงจัง และประโยชน์จากเครื่องทำ ozone ภายในบ้านในการลดอัตตราการเสียชีวิตจากโรคหืดได้หรือไม่ยังไม่รู้ อย่างไรก็ตามเราสามารถลด ozone ภายในบ้านได้โดย ถ้าฤดูกาลไหนหรือบริเวณไหนมีปริมาณ ozone มากให้ปิดหน้าต่าง หรือประตู จะสามารถลดปริมาณ ozone ภายในบ้านได้ ในคนที่เป็นโรคหืดแนะนำให้ไม่ควรมีเครื่องทำ ozone หรือเครื่องปรับอากาศ เครื่องฟอกอากาศที่สามารถผลิต ozone ได้ [78]

มลภาวะภายนอกบ้านที่เป็นสาเหตุของโรคหืดมีทั้งผงฝุ่นละออง(Particulate matter) แก๊ส Sulfur dioxide, NO2 และ ozone ดูได้จากตารางที่8 การสัมผัสสารฝุ่นละอองขนาดน้อยกว่า 10 μm มากขึ้นทำให้เกิดการกำเริบของโรคหืดมากขึ้น มีการศึกษาทำในเด็กประเทศเนเธอร์แลนด์ 6,200 คนพบว่าเด็กที่อาศัยในบริเวณที่มีการจราจรคับคั่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหืด ไอและหายใจเสียงวีด [79] อีกการศึกษาทำในประเทศอังกฤษพบเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปีที่อาศัยภายในบริเวณ 500 เมตรจากบริเวณที่มีการจราจรหนาแน่น มีการนอนโรงพยาบาลจากโรคหืดมากขึ้น [80]

ตารางที่8 มลภาวะทางอากาศที่เป็นสาเหตุของโรคหืด [53]

SO_2: Burning of coal, oil, and fossil fuels with a high sulfur content, usually power generation and industrial sites
NO_2: On- and off-road vehicle use, electricity generation, industrial processes, fossil fuel burning
Ozone: Derived from interaction of NO_2 and related nitrogen oxides with sunlight (UV light); thus this depends on vehicle use.
Particulate matter: Uncontrolled fire and planned wood combustion, road dust, electricity generation, and vehicle use

สารที่เกิดจากปล่อยควันเสียจากสารดิเซล Diesel exhaust particles (DEPs) มีการศึกษาหลายการศึกษาทั้งในหลอดทดลอง ในสัตว์และในคนว่าสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันผ่าน Th2

lymphocyte มีการศึกษาในมนุษย์โดยการทำ nasal challenge พบว่า DEPs จะเพิ่มปริมาณ nasal IgE production และเมื่อนำเอาน้ำล้างจมูกไปตรวจจะพบปริมาณ cytokines ที่สร้างมาจาก Th2 lymphocyte เพิ่มมากขึ้น มีการลดลงของ IFN-γ และ IL-2 [81-84] พบว่าเมื่อทำ DEP challenge สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันของเยื่อบุจมูกในคนไปเป็น Th2 phenotype เพิ่มขึ้นและมีการสร้าง allergen-specific IgE [85]

แก๊ส Sulfur dioxide (SO2) มีหลายการศึกษาพบว่าผู้ป่วยไปรักษาตัวที่ห้องฉุกเฉินเกี่ยวกับโรคระบบทางเดินหายใจสูงขึ้น และนอนโรงพยาบาลเพิ่มขึ้น สัมพันธ์กับปริมาณแก๊สSO2 ในอากาศที่เพิ่มปริมาณสูงขึ้นโดยเฉพาะในผู้ป่วยโรคหืด และโรคถุงลมโป่งพอง ในอากาศแก๊ส SO2มีส่วนทำให้เกิด acid aerosol (H2SO4) ซึ่งอาจจะส่งผลร่วมกับแก๊ส SO2 ที่มีผลต่อทางเดินหายใจ [86-89]

แก๊ส NO2 มีงานวิจัยถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ NO2 ในอากาศกับการเปลี่ยงแปลงค่าการทำงานของปอด มีการทำ NO2 challenge พบว่าสามารถทำให้เกิดการอักเสบของทางเดินหายใจได้ มีการเพิ่มขึ้นของ neutrophils เข้ามาในทางเดินหายใจเพิ่มขึ้น โดยผลนี้จะเกิดเมื่อมีระดับ NO2 สูงกว่า 4.0 ppm และจะมีผลต่อการทำงานของระบบทางเดินหายใจในผู้ป่วยโรคหืดด้วย [86-89] NO2 ยังมีผลต่อการตอบสนองของทางเดินหายใจต่อสารก่อภูมิแพ้ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ด้วย จากการศึกษาในผู้ป่วยโรคหืดระดับน้อยให้หายใจสารก่อภูมิแพ้ร่วมกับแก๊ส NO2 0.4 ppm เปรียบเทียบกับแก๊ส SO2 0.2 ppm ผสม NO2 0.4 ppm พบว่าสามารถทำให้เกิดการตอบสนองของหลอดลมได้ทันที การที่ได้มีการสัมผัส NO2 จะทำให้เกิด late-phase responses ในผู้ป่วยโรคหืดที่หายใจสารก่อภูมิแพ้เข้าไป มีการศึกษาโดยให้มีการสัมผัส NO2 0.4 ppm ไป 6 ชั่วโมงพบว่าจะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ eosinophil cationic protein levels ในผู้ป่วยโรคหืดที่หายใจสารก่อภูมิแพ้เข้าไป จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า NO2 สามารถทำให้เกิดการตอบสนองอย่างฉับพลันต่อสาร ก่อภูมิแพ้ในผู้ป่วยโรคภูมิแพ้ [90-93]

แก๊ส ozone เมื่อมีปริมาณสูงขึ้นในอากาศสามารถกระตุ้นทำให้เกิดการกำเริบของโรคหืดได้ วัดได้จากการมารักษาตัวที่โรงพยาบาล การใช้ยา และอาการของผู้ป่วยที่เพิ่มมากขึ้นโดยจะเกิดภายใน 24 – 48 ชั่วโมงหลังจากการสัมผัส ozone ที่เพิ่มสูงขึ้น มีการศึกษาโดยควบคุมการสัมผัส ozone ในอาสาสมัครเพื่อดูผลของการสัมผัส ozone พบว่ามีการลดลงชั่วคราวของค่า FVC และ FEV1 ทำให้มีอาการรู้สึกแน่นหน้าอกเมื่อหายใจเข้าลึกๆ ทำให้เกิด nonspecific bronchial responsiveness และยังสามารถทำให้เกิดการอักเสบ neutrophilic inflammation ของทางเดินหายใจ จะพบได้ตั้งแต่ 1 ชั่วโมงหลังได้สัมผัสและนานได้ถึง 24 หลังได้สัมผัสแล้ว [94, 95] นอกจากนี้การอักเสบที่เกิดจาก ozone สามารถทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของ macrophage และ monocyte เข้ามาในบริเวณที่มีการอักเสบ และพบการแสดงของ CD14 และ CD11b เพิ่มสูงขึ้น มี

การศึกษาเดียวที่บอกว่าเมื่อได้สัมผัส ozone ระดับต่ำ 0.12 ppm ระยะเวลา 1 ชั่วโมงจะมีการเพิ่มการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้เพิ่มขึ้น [96] ระดับ ozone 0.16 และ 0.25 ppm สามารถทำให้เกิดการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้ได้เช่นเดียวกัน จะเห็นได้ว่ามลภาวะทางอากาศจะทำให้หลอดลมมีการตอบสนองที่ไวต่อสารก่อภูมิแพ้ และทำให้เกิดทางเดินหายใจอักเสบได้

อาหาร

มีการศึกษาเรื่องอาหารกับการเกิดโรคหืด คือศึกษาระหว่างการรับประทานนมมารดา กับการรับประทานนมวัวหรือนมถั่วเหลืองในเด็กทารกพบว่า เด็กที่รับประทานนมวัวหรือนมถั่วเหลือง มีอุบัติการณ์ความเสี่ยงหายใจวีด ในเด็กสูงกว่าเด็กที่รับประทานนมแม่ [97]

มีการศึกษาเรื่องการรับประทานอาหารแบบตะวันตกที่มีการรับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์เพิ่มมากขึ้นและรับประทานอาหารผัก ผลไม้ ที่มีสาร anti-oxidant ลดลง การรับประทานอาหารที่มีปริมาณ n-6 polyunsaturated fatty acid (พบมากในมาการีนและน้ำมันผัก)สูงขึ้น การรับประทาน n-3 polyunsaturated fatty acid (พบเฉพาะในน้ำมันปลา)ลดลง จะทำให้เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดภูมิแพ้และโรคหืดเพิ่มขึ้น [98]

การติดเชื้อ

มีการศึกษาถึงการติดเชื้อทำให้เกิดโรคหืดเพิ่มขึ้น เริ่มจากการศึกษาที่ทำในเด็กอายุ 5-7 ปี จำนวน 7,545 คน และเด็ก 9 -11 ปีจำนวน 7,498 คน โดยใช้ ISAAC phase II protocol พบว่าถ้ามีประวัติไข้ซ้ำๆ และการได้รับยาปฏิชีวนะ ตั้งแต่อายุยังน้อยความเสี่ยงโรคหืดเพิ่มมากขึ้น (OR=7.95; 95% CI 6.02-10.50) ประวัติการติดเชื้อซ้ำๆ ทำให้มีการใช้ยาปฏิชีวนะในช่วงอายุแรกเกิดถึง3 ปี จำนวนมากกว่า 6 ครั้งขึ้นไปจะทำให้เกิดโรคหืดชนิดไม่เป็นภูมิแพ้เพิ่มขึ้น (OR=24.29; 95% CI 11.86-49.76) ดังตารางที่9 [99]

ตารางที่9 ปัจจัยเสี่ยงโรคหืดโดยดูจากจำนวนไข้และการได้รับยาปฏิชีวนะ [99]

	Atopic asthma (n=8215)	Nonatopic asthma[$] (n=8187)	Asthma with BHR (n=8083)	Asthma without BHR (n=8109)
Number of fever episodes in 1st year				
Never	1.00	1.00	1.00	1.00
1–2	1.03 (0.69–1.55)	2.18 (1.14–4.16)	1.01 (0.50–2.04)	0.98 (0.48–1.98)
3–4	1.33 (0.83–2.14)	4.5 (2.32–8.88)	1.38 (0.61–3.12)	1.82 (0.85–3.91)
≥5	2.31 (1.43–3.74)	11.48 (5.95–22.12)	2.04 (0.86–4.85)	6.75 (3.37–13.50)
Number of antibiotic courses in 1st 3 yrs				
Never	1.00	1.00	1.00	1.00
1–2	1.10 (0.70–1.73)	2.39 (1.13–5.08)	1.41 (0.68–2.92)	0.85 (0.39–1.85)
3–5	1.69 (1.06–2.70)	6.82 (3.32–14.00)	0.97 (0.40–2.34)	2 .28 (1.11–4.66)
≥6	4.38 (2.73–7.01)	24.29 (11.86–49.76)	3.76 (1.66–8.50)	9 .71 (4.88–19.32)

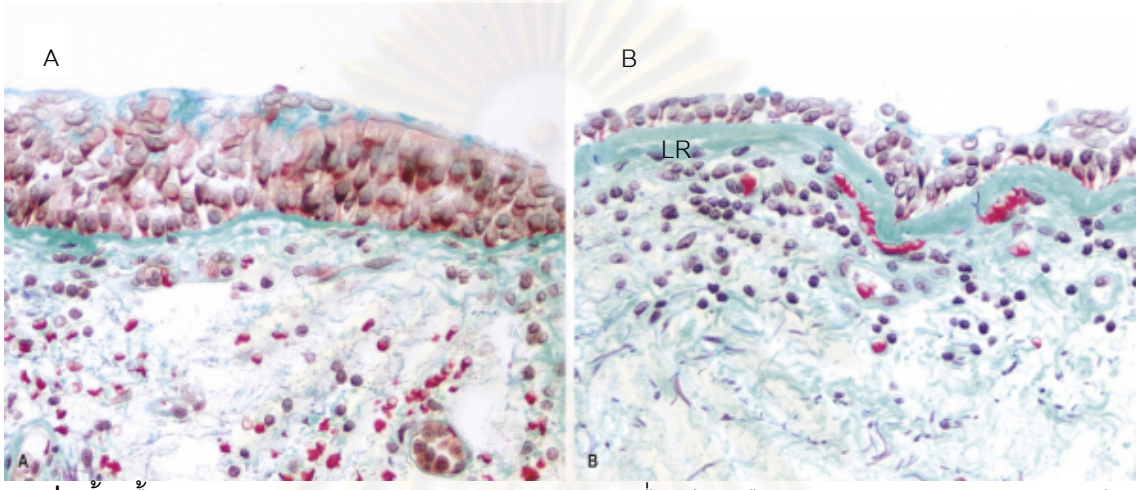
มีการศึกษาการติดเชื้อของมารดาระหว่างการตั้งครรภ์ พบว่าการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ระหว่างการตั้งครรภ์ของมารดาจะสัมพันธ์กับการเกิดโรคหืดในเด็ก (aOR=1.91; 95% CI; 1.1–3.2) โดยเฉพาะกลุ่มโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ มีไข้ในระหว่างตังครรภ์จะเกิดโรคหืดในเด็กเพิ่มขึ้นทั้งชนิดโรคหืดภูมิแพ้และโรคหืดไม่เป็นภูมแพ้ (aOR 2.16; 95% CI 1.2–3.9) จะสัมพันธ์กับการติดเชื้อหรือมีไข้ในช่วงที่ 3 ของการตั้งครรภ์ [100] เชื้อไวรัสที่สัมพันธ์กับการเกิดหายใจเสียงวีดในเด็กคือ respiratory syncytial virus (RSV), rhinovirus (RV) และ parainfluenza virus ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Chlamydia* และ *Mycoplasma* ยังไม่สามารถหาข้อสรุปได้ว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงเกิดโรคหืดหรือไม่

สาร endotoxin เป็น proinflammatory lipopolysaccharide อยู่บนผิวเซล์ด้านนอกของเชื้อ gram-negative bacteria และสามารถทำให้เกิดการอักเสบหายได้ของทางเดินหายใจ การศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าการสัมผัสาร endotoxin ตั้งแต่อายุยังน้อยสามารถป้องกันการเกิดโรคภูมิแพ้ได้ [101, 102] แต่การศึกษาอื่นพบว่าในบ้านที่มีสาร endotoxin สูงเด็กจะมีความเสี่ยงเกิดโรคหืดเพิ่มขึ้น [103, 104] จากหลายการศึกษาเกี่ยวกับสาร endotoxin กับโรคหืดพบว่าสาร endotoxin เป็นปัจจัยเสี่ยงการเกิดโรคหายใจเสียงวีดในเด็กชุมชนเมือง แต่จะป้องกันการเกิดโรคหายใจเสียงวีดได้ในเด็กชุมชนที่ทำเกษตรกรรม [105]

2.1.4 พยาธิสภาพโรคหืด

โรคหืดเป็นโรคของทางเดินหายใจ มีอาการเมื่อทางเดินหายใจตีบแคบลง ทางเดินหายใจที่ตีบแคบลงนอกจากเกิดจากภาวะหลอดลมตอบสนองเร็วผิดปกติแล้ว ยังเกิดจากมีการอักเสบของทางเดินหายใจโดยมีเซล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเข้ามาในทางเดินหายใจเพิ่มขึ้น มีกล้ามเนื้อเรียบหนาตัวผิดปกติ มีการหนาตัวขึ้นของชั้น lamina reticularis ข้างใต้ชั้น basement membrane ดูจากรูปที่8 [106] ในทางเดินหายใจผู้ป่วยโรคหืด พบว่ามีลักษณะของสารเมือกอุดรู (mucus plugs) ซึ่งสามารถทำให้เกิดทางเดินหายใจตีบได้ [107] Mucus plugs จะประกอบด้วยสารเมือก, ซีรั่มโปรตีน , เซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ และเศษเซลล์ที่ตายแล้ว ซึ่งจะร่วมกับ desquamated epithelial cells และ macrophages จะเรียงตัวกันในลักษณะ spiral pattern (Curschmann's spirals) ในผู้ที่เสียชีวิตจากโรคหืดพบว่าที่มีการสร้าง mucus เพิ่มขึ้นอย่างมากมาย ซึ่งจะพบการหน้าตัวและแบ่งตัวเพิ่มขึ้นของ submucosal glands ผนังทางเดินหายใจที่หนาตัวเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคหืดจะสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค เปรียบเทียบกับคนที่ไม่เป็นโรคหืดพบว่า ในผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากโรคหืดผนังทางเดินหายใจจะหนาตัวเพิ่มขึ้น 50% - 300% และในผู้ป่วยโรคหืดผนังทางเดินหายใจจะหนาตัวเพิ่มขึ้น 10% - 100% [108] ทางเดินหายใจที่หนาตัวขึ้นเกิดจากการเพิ่มขึ้นของเนื้อเยื่ออ่อนซึ่ง ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ, epithelium, submucosa, adventitia และ mucosal glands การอักเสบเกิดโดยทั่วไปของทางเดินหายใจโดยเฉพาะ submucosal layer จะมีการหนาตัว

เพิ่มขึ้นและการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นของ submucosal glands และ goblet cell จะพบว่าชั้น muscularis layer แบ่งตัวเพิ่มขึ้นและ หลอดเลือดขนาดเล็กขยายตัวขึ้นในชั้น adventitial layers ของทางเดินหายใจ [109]

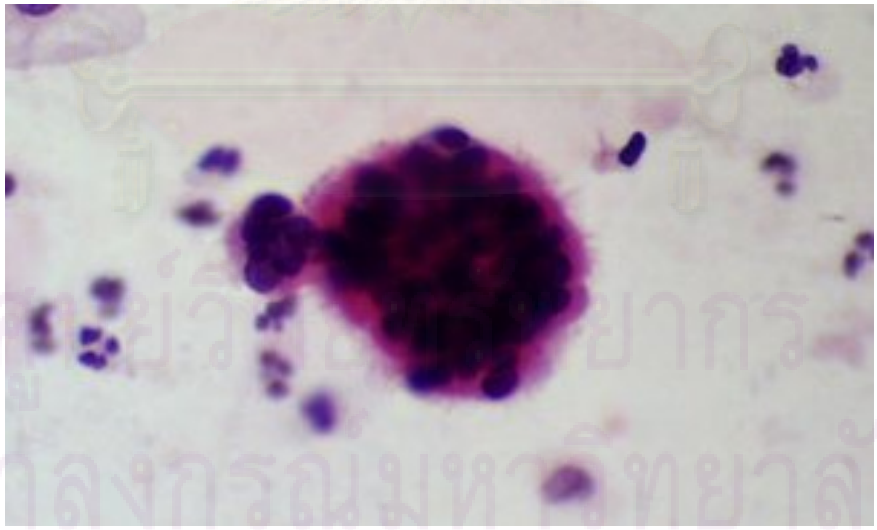


<u>รูปที่8</u> ชิ้นเนื้อจาก Bronchial mucosa. ภาพ A จากคนที่ไม่มีโรคหืด จะเห็นว่า Epithelium ปกติ, ไม่มีการหนาตัวของบริเวณใต้ basement membrane และไม่มีการเข้ามาของเซล์. ภาพ B จากผู้ป่วยโรคหืดความรุนแรงน้อยพบว่ามี goblet cell hyperplasia ในชั้น epithelial cell lining, บริเวณใต้ basement membrane มีการหนาตัวเพิ่มขึ้นร่วมกับมีคลอลาเจนสะสมใน submucosal area และมีการเข้ามาของเซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ [106]

การอักเสบเกิดจากเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันเข้ามาในทางเดินหายใจเกิดจากสองส่วน ส่วนแรกเป็นเซลล์ที่อยู่ในพื้นที่นั้นอยู่แล้วถูกกระตุ้นให้มีการทำงานเพิ่มขึ้น ส่วนที่สองเกิดจากการนำพาเซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบเข้ามาในทางเดินหายใจ เซลล์ที่เข้ามานั้นจะเป็นเซลล์อะไรนั้นขึ้นอยู่กับสารที่ทำให้เกิดการอักเสบและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกาย ส่วนใหญ่ที่พบในโรคหืดจะเป็น eosinophils แต่จะมี neutrophils, lymphocytes และเซลล์อื่นๆเช่น mast cell, macrophage และ dendritic cell โดย neutrophils, eosinophils lและ T lymphocytes จะถูกนำพาออกมาจากระบบไหลเวียนเลือด ส่วน mast cells เป็นเซลล์ที่อยู่ในพื้นที่ทางเดินหายใจอยู่แล้ว Macrophages และ dendritic cells เป็นเซล์ที่อยู่ในพื้นที่และมีการนำพาเข้ามาในปอด เมื่อมีการอักเสบมีหลักฐานว่าจะมีการกระตุ้นการทำงานของ mast cell เกิดขบวนการ degranulation และ eosinophil เกิด vacuolation ส่วน mucosal mast cells จะไม่มีการเพิ่มจำนวนขึ้นแต่มีจะมีการปล่อยสารออกมาจาก granule อย่างช้าๆในผู้ป่วยโรคหืด [110] Alveolar macrophages เป็นเซลล์ที่พบได้ทั่วไปในปอดเมื่อถูกกระตุ้นจะมีการหลั่งสารออกมาหลายขนิด ส่วน T lymphocytes ในปอดจะมีมากขึ้นเมื่อมีการกระตุ้นและมีการตอบสองต่อระบบภูมิคุ้มันโดยเซลล์ที่สำคัญคือ T helper type 2 (Th2)

ไม่มีหลักฐานถึงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน Th2 ที่เพิ่มขึ้นกับระดับความรุนแรงของโรคหืด ยังมีเซลล์อีกตัวที่เข้ามีบทบาทมากขึ้นในโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้คือ NK-T cell ซึ่งพบถึงความสำคัญในการเกิดโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ในสัตว์ทดลองแต่ยังไม่ค่อยได้มีการศึกษาในคน [111]

มีการศึกษาเรื่องของ epithelial cell มีการถูกทำลายเพิ่มขึ้นในหลอดลมของผู้ป่วยโรคหืด พบว่า epithelial ที่ถูกทำลายเกิดจากการแยกตัวของ columnar cells จาก basal cells พบ desquamated epithelial cells ที่ปนออกมากับเสมหะผู้ป่วยโรคหืดที่เรียกว่า Creola bodies (รูปที่ 9) การทำลายของ epithelium อาจทำให้เกิดการซ่อมแซมเพิ่มมากขึ้นแต่ก็อาจเกิดการซ่อมแซมที่ไม่สมบูรณ์ขึ้นได้ ทำให้ epithelial regeneration เกิดรูปร่างที่ผิดปกติไปจากเดิมโดยมีการแบ่งแยกเป็นชั้น, เกิดnon-ciliated epithelium และ goblet cells แบ่งตัวผิดปกติ พบว่าในบริเวณที่มี epithelial regeneration มี mitotic activity เพิ่มขึ้น ปัจจัยที่ทำให้มีการสูญเสีย epithelial cell อาจเกิดได้จากสารที่ปล่อยออกมาจาก eosinophil, active radicals ของ oxygen, สารที่ปล่อยออกมาจาก neutrophils และ mast cells [112] มีหลักฐานพบว่า epithelium ในโรคหืดมีความไวต่อการบาดเจ็บ เซลล์มีแนวโน้มที่จะเข้า programmed cell death โดยเฉพาะเมื่อถูกกระตุ้นโดย oxidative stimulus เช่นพวกมลภาวะทางอากาศหรือการติดเชื้อไวรัส [110] มีหลักฐานมาก่อนหน้านี้ที่พบว่า epithelium ของทางเดินหายใจในโรคหืดมีการขาดสาร antioxidative เช่น superoxide dismutase และ glutathione peroxidase [113] ดังนั้นเมื่อโดน oxidative stimulusจึงมีการบาดเจ็บได้ง่าย

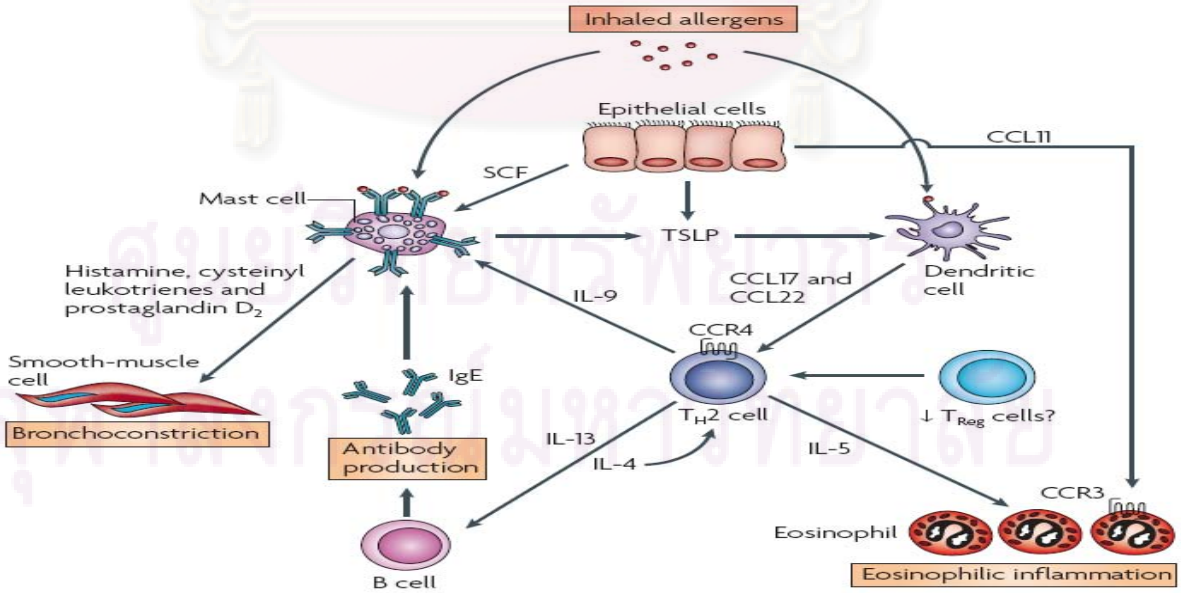


<u>รูปที่9</u> Creola body รูปมาจาก SUNY Upstate Medical University: Susan Stowell

2.1.5 พยาธิสภาพการเกิดโรคหืด

2.1.5.1 การอักเสบของทางเดินหายใจ (Airway inflammation)

เมื่อมีการหายใจสารก่อภูมิแพ้เข้าไปจะทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของ mast cell โดยเกิด crosslinking surface-bound IgE molecules ทำให้ mast cell มีการหลั่งสารไซโตไคน์พวก histamine, cysteinyl leukotrienes และ prostaglandin D2 ออกมา จะมีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบหลอดลมทำให้เกิดการหดตัวของหลอดลม ตัว Epithelial cells จะมีการปล่อยสาร stem-cell factor (SCF) เป็นสารสำคัญที่ทำให้ mast cell ยังคงอยู่บน mucosa surface ของทางเดินหายใจ สารก่อภูมิแพ้จะไปกระตุ้น epithelial cell และ mast cell ให้มีการหลั่งสาร thymic stromal lmphopoietin (TSLP) ทำให้เกิด myeloid dendritic cell ทำงานโดยจะมีการหลั่งสารเพื่อดึงดูดเซลล์อื่นเข้ามาCC-chemokine ligand 17 (CCL17) และ CCL22 จะไปจับกับ CC-chemokine receptor 4 (CCR4) ที่อยู่บน T helper 2 cell ทำให้ Th2 cells เข้ามามีส่วนร่วมในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อสารก่อภูมิแพ้ โดย Th2 cells จะมีการหลั่งสาร interleukin 4 (IL-4) และ IL-13 (จะไปกระตุ้น B cell ให้มีการสร้าง IgE), IL-5 (มีส่วนสำคัญทำให้เกิดการอักเสบโดย eosinophil) และ IL-9 (กระตุ้นการแบ่งตัวของ mast cell) นอกจากนี้ Epithelial cells จะปล่อยลสาร CCL11 ทำให้มีการนำพา eosinophils เข้ามาโดยผ่าน CCR3 และผู้ป่วยโรคหืดจะมีการทำงานของ regulatory T cells (TReg) ที่ผิดปกติ ในช่วงปกติ Treg cell จะคอยควบคุมการแบ่งตัวของ T cell เมื่อมี Treg cell ลดลงทำให้มีการแบ่งตัวของ Th2 cell เพิ่มมากขึ้น (รูปที่10) [114]



รูปที่10 เซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในโรคหืด [114]

2.1.5.2 **เซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ** (Inflammatory cell)

Mast cell จะเป็น cell สำคัญในโรคหืดเนื่องจากเมื่อมีการถูกกระตุ้นจะมีการปล่อยสารออกมาทำให้หลอดลมหดตัว สารที่ปล่อยออกมาจะมาจากสารที่สร้างเก็บไว้ในเซลล์อยู่แล้วเมื่อมีการกระตุ้นจะปล่อยออกมา (preformed granules) เช่น histamine, tryptase และสารที่สร้างมาจากไขมัน (lipid mediators) จะมีการสร้างขึ้นเมื่อโดนเซลล์ถูกกระตุ้นแล้ว เช่น leukotriene C4, leukotriene D4,leukotriene E4 และ prostaglandin D2 การปล่อยสารของ mast cell นั้นจะถูกกระตุ้นได้จากสารก่อภูมิแพ้โดยผ่านทางกระบวนการ IgE แต่ mast cell นั้นยังสามารถถูกกระตุ้นได้จากการที่ค่า osmolar ในเลือดสูงขึ้นจากการออกกำลังกาย (exercise-induced bronchospasm) ตัว Mucosal mast cells จะถูกนำมาบนผิวของระบบทางเดินหายใจโดยสาร stem-cell factor (SCF; อีกชื่อคือ KIT ligand) ที่ปล่อยออกมาจาก epithelial cells โดยจะไปจับกับ KIT receptors ที่มีอยู่บน mast cell [115] ตัว Mast cells จะมีการปล่อย cytokines ที่ทำให้เกิดการอักเสบ คือ IL-4, IL-5 และ IL-23 การที่มี mast cell เข้าไปในกล้ามเนื้อเรียบของทางเดินหายใจจะเกี่ยวข้องกับการเกิดหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติในโรคหืด ในโรค Eosinophilic bronchitis ผู้ป่วยจะมีอาการไอเรื้อรัง แต่ไม่มีอาการหลอดลมตีบ พบมีการอักเสบที่เกิดจาก eosinophil เช่นเดียวกับโรคหืดแต่จะไม่พบ mast cell ในชั้นกล้ามเนื้อเรียบระบบทางเดินหายใจซึ่งเป็นพยาธิภาพของโรคหืด ดังนั้น mast cell จึงสำคัญในการเกิดโรคหืด [116]

เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูล (granulocytes) การอักเสบที่เกิดในโรคหืดส่วนใหญ่จะเกิดจาก eosinophil มีบางส่วนเกิดจาก neutrophil ได้เช่นกัน ความแตกต่างในการเกิดว่าจะเป็นเซลล์อะไรเกิดจากสารดึงดูดเซลล์ (chemotic factor) ในแต่ละตัวกระตุ้นจะมีการสร้างสารดึงดูดเซลล์ที่แตกต่างกัน ในโรคหืดที่เกิดการอักเสบจาก eosinophil สารที่ดึงดูดเซลล์คือ CC-chemokine ligand 11 (CCL11;รู้จักในอีกชื่อคือ eotaxin-1) และสารที่เกี่ยวข้องกับ CC-chemokinesอื่นๆ โดยทั่วไปจะหลั่งออกมาจาก epithelial cells ของทางเดินหายใจ หน้าที่ของ eosinophil ในโรคหืดนั้นยังไม่ชัดเจน พบมีหลักฐานว่าไม่เกี่ยวข้องกับการเกิดหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ คือมีการศึกษาที่ให้ IL-5-specific blocking Ab พบว่าจำนวนของ eosinophil ในเลือดและในเสมหะลดลง แต่พบว่าไม่ลดการเกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติและอาการหอบหืด อย่างไรก็ตามการที่พบ eosinophil ในทางเดินหายใจผู้ป่วยโรคหืดเป็นเครื่องบ่งชี้สำคัญถึงการตอบสนองต่อการรักษาด้วยสเตียรอยด์ [117 -119] ส่วน neutrophil จะพบในทางเดินหายใจและเสมหะของผู้ป่วยโรคหืดที่มีอาการรุนแรง พบได้ในช่วงที่โรคหืดกำเริบ หรือในคนที่สูบบุหรี่ พยาธิสภาพของโรคยังไม่ชัดเจน แต่พบว่าการตอบสนองต่อยาสตีรอยด์จะได้ผลไม่ดี ตัวที่ดึงดูดคือ CXC chemokine ligand

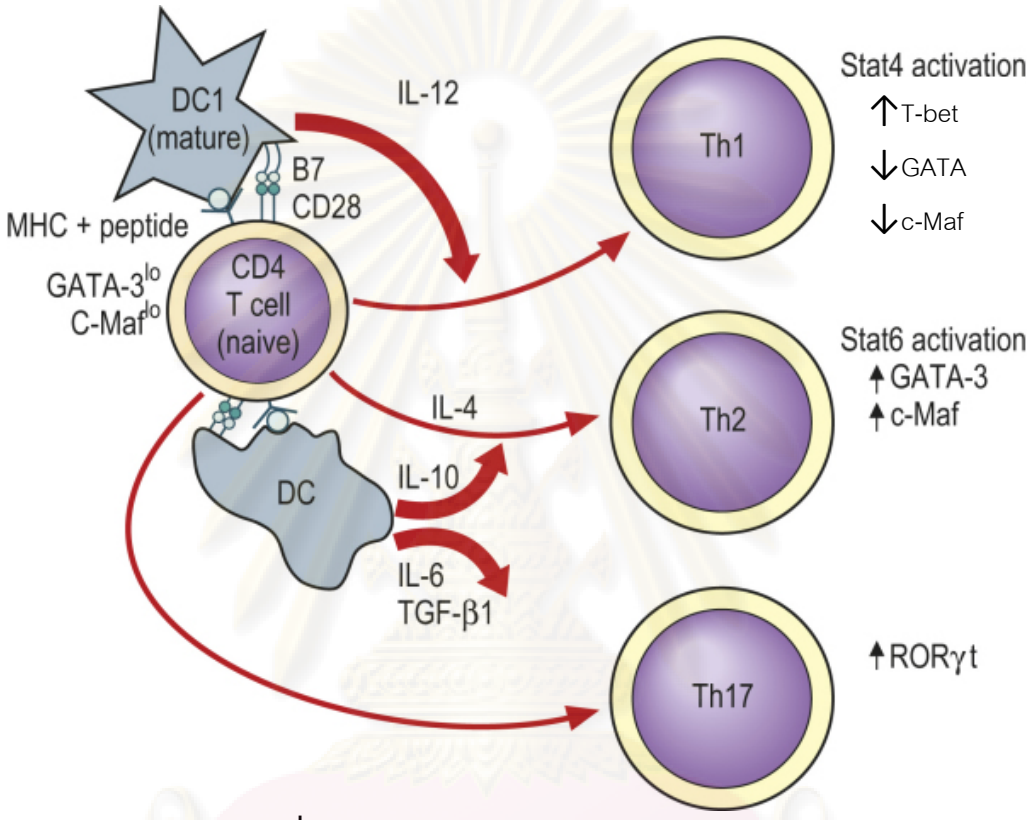
1 (CXCL1; รู้จักในอีกชื่อคือ GROα) และ CXCL8 (รู้จักในอีกชื่อคือ IL- 8) จะไปจับกับ CXCR2 ซึ่งแสดงบน neutrophils และสาร leukotriene B4 สามารถดึงดูด neutrophil มาได้เช่นเดียวกัน

Macrophage cell เป็นเซลล์ที่พบมากในทางเดินหายใจและสามารถถูกกระตุ้นได้โดยสารก่อภูมิแพ้ผ่านทาง low-affinity IgE receptors ให้มีการหลั่งสารที่ทำให้เกิดการอักเสบออกมา พบว่าในโรคหืดจำนวน macrophage จะเพิ่มมากขึ้นแต่จะไม่มากเท่าในโรคถุงลมโป่งพอง โรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้พบ macrophage มากกว่าโรคหืดภูมิแพ้ ตัว macrophages จะถูกดึงดูดโดยสาร CCL2 (รู้จักในอีกชื่อคือ MCP1) จะไปจับกับ CCR2 และ CXCL1 จะไปจับกับ CXCR2 ตัว macrophages จะหลั่งสารเพื่อดึงดูดเซลล์ neutrophils, monocytes และ T cells เข้ามาในบริเวณที่มีการอักเสบและจะปล่อยสาร proteases คือ MMP9 [114]

Drendritic cell (DC) เป็นเซลล์ที่นำหน้าที่เสนอ Ag (antigen-presenting cells) โดยจะไปจับกับสารก่อภูมิแพ้บริเวณของทางเดินหายใจและเคลื่อนไปที่ต่อมน้ำเหลือง ทำให้มีการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของ naïve T cel ไปเป็น Th2 cell และนำเสนอสายเปปไทด์สารก่อภูมิแพ้ให้กับ Th2 cell ตัว DC เป็นตัวเชื่อมระหว่างการสัมผัสสารก่อภูมิแพ้กับการเกิดการอักเสบในโรคหืด สารไซโตไคน์ thymic stromal lymphopoietin (TSLP) จะหลั่งออกมามากจาก epithelial cells และ mast cells ในผู้ป่วยโรคหืด [120, 121] สาร TSLP จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงจาก immature myeloid DC ไปเป็น mature myeloid DC ซึ่งตัว mature myeloid DCจะหลั่งสาร CCL17 (รู้จักกันในอีกชื่อคือ TARC) และ CCL22 (รู้จักในอีกชื่อคือ MDC) จะไปจับกับ CCR4 ที่อยู่บน Th2 cells ทำให้เกิดการนำเข้ามาของ Th2 สู่บริเวณที่มีการอักเสบ [122]

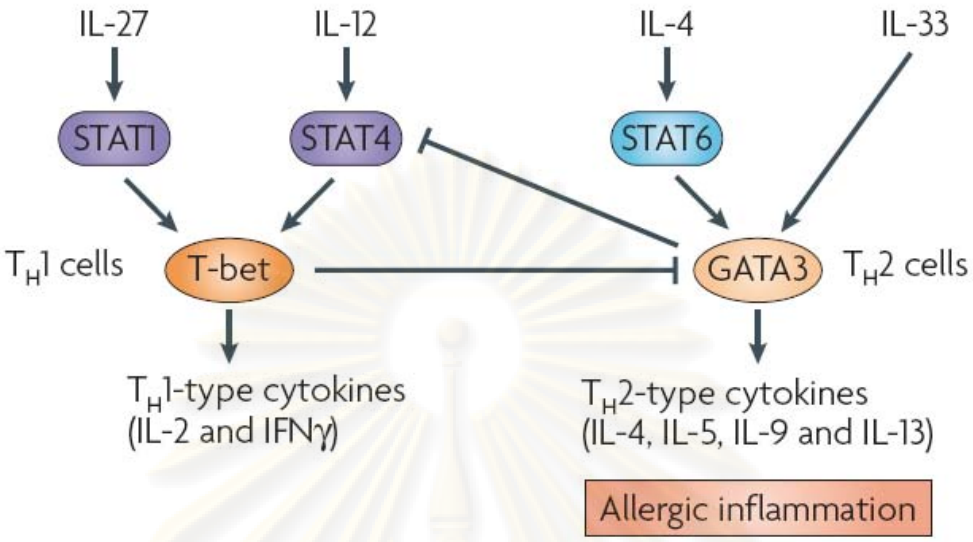
เซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ (lymphocyte) ในผู้ป่วยโรคหืดมีการเพิ่มขึ้นของ CD4+ T cell ในทางเดินหายใจ ส่วนใหญ่จะเป็น T helper 2 (Th2) cells ในขณะที่คนปกติที่พบส่วนใหญ่จะเป็น Th1 cells [123] ตัว Th2 cell จะหลั่งสารไซโตไคน์ IL-4 และ IL-13 ทำหน้าที่ไปกระตุ้น B cell ให้มีการสร้าง IgE สาร IL-5 ทำหน้าที่เพิ่มการแบ่งตัวของ eosinophil ในไขกระดูก และสาร IL-9 จะทำหน้าที่ดึงดูดและเกี่ยวกับการแบ่งตัวของ mast cell [124] สารที่ทำให้เกิดสำเนา (transcription factor) GATA3 (GATA-binding protein3) เป็นตัวสำคัญที่ทำให้ naive T cells เปลี่ยนแปลงไปเป็น Th2 cells และการหลั่ง Th2 ไซโตไคน์ มีการศึกษาพบว่าในทางเดินหายใจผู้ป่วยโรคหืดมีจำนวน GATA3+ T cells เพิ่มขึ้นมากกว่าในคนปกติ [124, 125] เซลล์ที่นำเสนอ Ag จะไปจับกับ T-cell receptor (TCR) และ co-receptor CD28 ของตัว T-cell สารที่ทำให้เกิดสำเนา GATA3 จะเกิดขบวนการphosphorylated และจะถูกกระตุ้นผ่าน mitogen-activated protein kinase (MAPK) p38 ทำให้ GATA3 ที่ถูกกระตุ้นจะเคลื่อนที่จาก cytoplasm เข้าไปใน nucleus ทำให้เกิดกระบวนการ gene transcription การแสดงออกของ GATA3 ใน T cell ถูกควบคุมโดย STAT6

(signal transducer and activator of transcription 6) ซึ่งจะถูกควบคุมโดย IL- 4 receptor activation อีกที (รูปที่11) [126, 127] มีการศึกษาพบว่า IL-33 เป็นสารอยู่ในตระกูล IL-1 สามารถทำให้ Th2 เกิดการแบ่งตัวได้เช่นกัน [128]



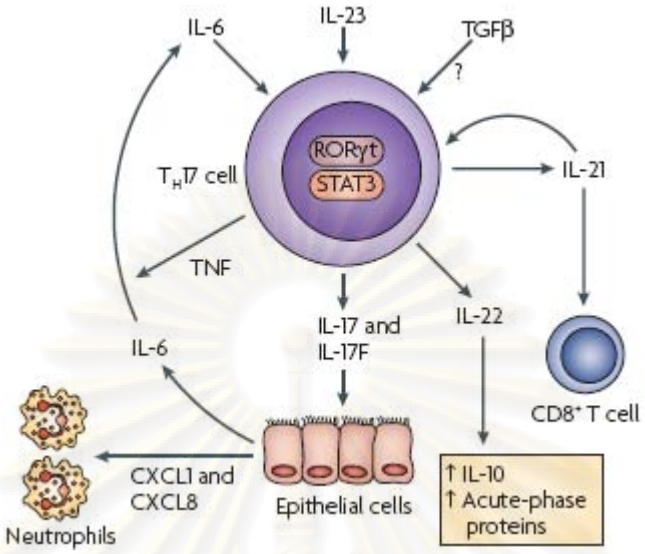
<u>รูปที่11</u> การเกิด Th1, Th2 และ Th17 จาก naïve T cell

สำหรับ Th1 cell เมื่อมีการแบ่งตัวจะมีการหลั่งไซโตไคน์ IFN-γ ออกมา สารที่ทำให้เกิดสำเนาของ Th1 cell คือ T-bet ในทางเดินหายใจผู้ป่วยโรคหืดพบว่ามีการลดลงของ T-bet T cell เมื่อเปรียบเทียบกับคนไม่ได้เป็นโรคหืด [129] เมื่อเกิดขบวนการ phosphorylated ของ T-bet จะเกิดขบวนการยับยั้งหน้าที่ของ GATA3 โดยจะไปป้องกันการจับของ DNA มีการศึกษาในหนูพบว่าหนูที่ขาด T-bet จะมีการแสดงออกของ GATA3 เพิ่มมากขึ้นและมีการสร้าง Th2 ไซโตไคน์เพิ่มขึ้น แสดงว่า T-bet มีส่วนสำคัญในการควบคุม GATA3 [130] ในขณะที่ GATA3 จะไปยับยั้ง STAT4 ทำให้มีการลดลงของการสร้าง Th1 ไซโตไคน์ โดย T-bet จะถูกสร้างและควบคุมโดย IL12 และ IL-27 ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกับ IL-12 [131] ความสัมพันธ์ระหว่าง Th1 และ Th2 แสดงในรูปที่12



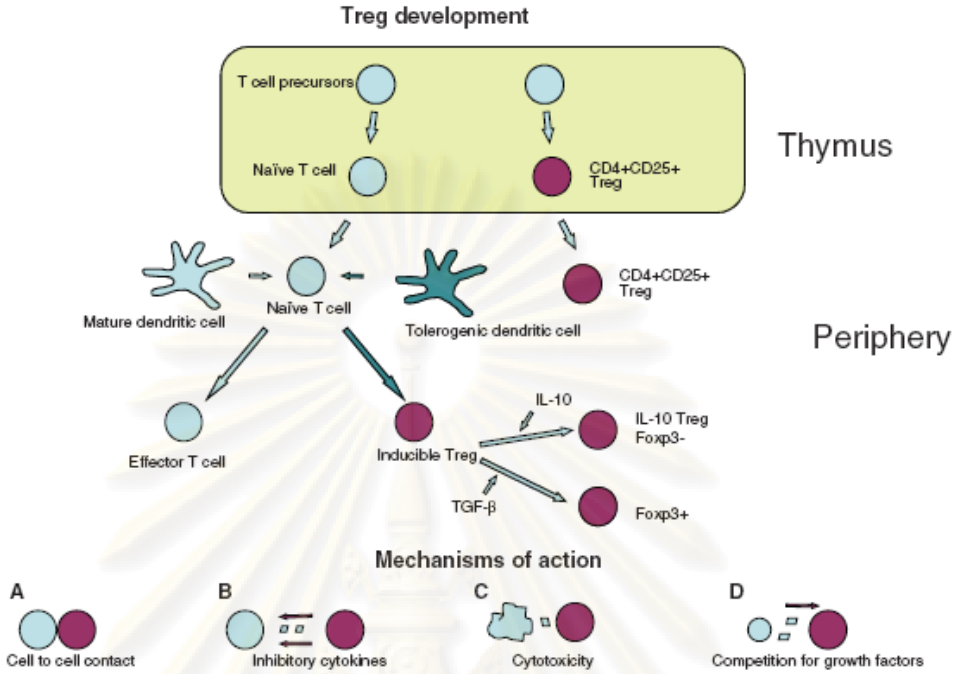
<u>รูปที่12</u> ความสัมพันธ์ระหว่าง Th1 และ Th2 ในโรคหืด

Th อีกตัวคือ Th17 พบว่ามีส่วนสำคัญในการเกิดการอักเสบและโรค autoimmune disease ยังพบหลักฐานการศึกษาของ Th17 ในโรคหืดน้อยมาก พบ IL-17 (เป็นไซโตไคน์ที่สร้างโดย Th17 เป็นหลัก) เพิ่มขึ้นในเสมหะของผู้ป่วยโรคหืด [132] ไซโตไคน์ IL-17 และ IL-17F มีส่วนสำคัญในการเกิดการอักเสบโดย neutrophil โดย IL-17 ไปทำให้ epithelial cell ของทางเดินหายใจมีการหลั่ง CXCL1 และ CXCL8 ซึ่งเป็นสารดึงดูด neutrophil ตัว Th17 ยังสร้าง IL-21 ซึ่งมีส่วนสำคัญในการแบ่งตัวของเซลล์CD8+ T cell และเป็นตัวควบคุมขบวนการ autoregulation ของ Th17 เองด้วย แต่จะไปยับยั้งการแสดงออกของ FOXP3 และการพัฒนาการของ Treg ไซโตไคน์อีกตัวคือ IL-22 ทำหน้าที่กระตุ้นการสร้าง IL-10 และ acute phase protein (รูปที่13) [133] สารที่ทำให้เกิดการแบ่งตัวของ Th17 คือ IL-6, IL-23 และ TGF-β ตัว Th17 จะมีการแสดงของสารที่ทำให้เกิดสำเนา RORγt (เป็นสารในตระกูล retinoic acid) การที่ naïve T cell จะเปลี่ยนไปเป็น Th17 ต้องมีการกระตุ้นจากทั้ง IL-6 และ TGF-β [134] มีการศึกษาพบว่า IL-17 จะมีค่าสูงในผู้ป่วยถุงลมโป่งพอง และ โรคหืดระดับรุนแรงมาก ยังคงต้องมีการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่าง Th17 กับโรคหืดต่อไปเพื่อเป็นประโยชน์ในอนาคต เนื่องจากถ้าใช้ยาที่ไปยับยั้งการทำงานของ IL-17 อาจทำให้อาการของผู้ป่วยโรคหืดดีขึ้นได้



<u>รูปที่13</u> Th17 cell และการอักเสบของทางเดินหายใจ

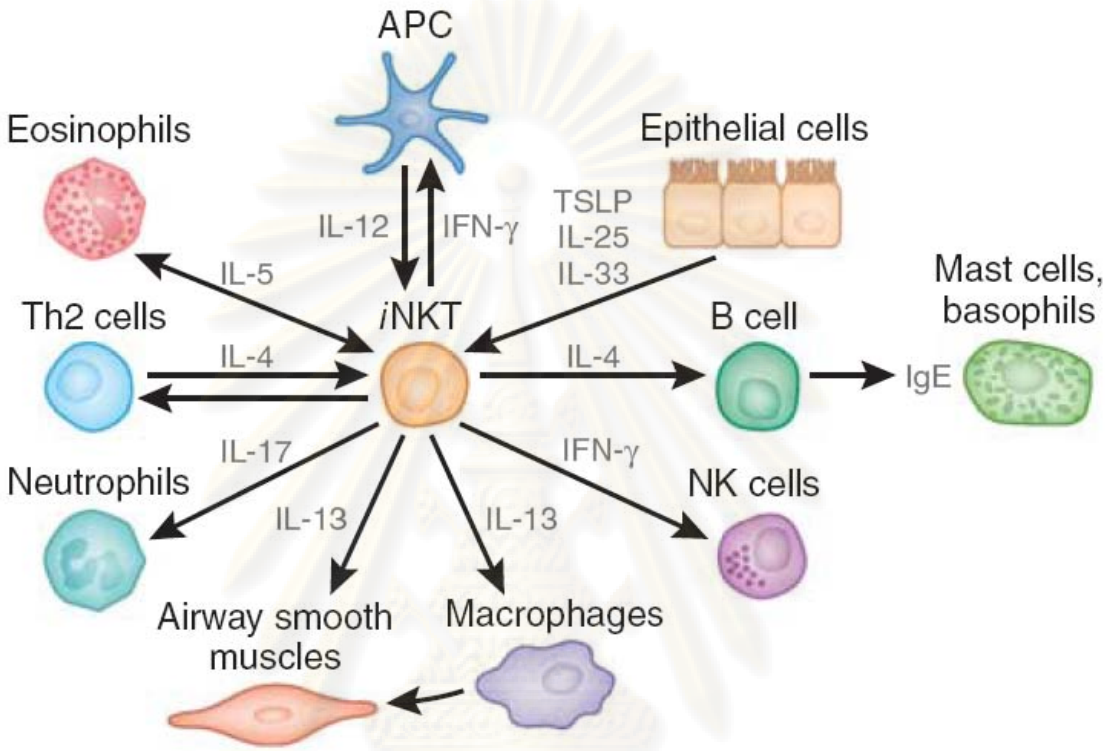
Treg ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ T cell โดยจะไปยับยั้ง T lymphocyte, เซลล์ที่นำเสนอ Ag และ innate cell function ผ่านหลายกลไก มีทั้ง cell contact-dependent pathways, แข่งขันเพื่อแย่ง growth factors, cytotoxicity และการหลั่งสาร inhibitory cytokines คือ TGF-β และ IL-10 (รูปที่14) [135] สารที่ทำให้เกิดสำเนาคือ FOXP3 และ CD ที่แสดงว่าเป็น Treg คือ CD25+ ในการศึกษาวิจัยเซลล์ที่เป็น Treg จะต้องมี CD4+ CD25+ FOXP3+ ตัว Treg เองยังแบ่งย่อยๆออกอีกเป็น 2 ชนิดคือ Treg ที่หลั่ง IL-10 (Tr1 หรือ IL-10 Treg) ส่วนใหญจะจำเพาะในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกันในปอดและโรคหืดควบคุมการสร้าง Th1 และ Th2 ชนิดที่สองคือ Treg ที่หลั่ง TGF-β ส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณลำไส้ ทำหน้าที่ควบคุมเรื่อง wound healing, fibrosis และ structural remodeling มีหลายการศึกษาเกี่ยวกับ Treg กับโรคหืดพบว่าFOXP3 mRNA ลดลงในผู้ป่วยโรคหืดเทียบกับคนปกติ [136, 137] มีการศึกษาพบว่า CD25high สูงขึ้นในเลือดผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ แต่มีการแสดงของ FOXP3 ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ แต่มีการศึกษาต่อมาพบว่าจำนวนของ Treg CD4+ CD25+ ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ไม่แตกต่างกัน [138] แต่หลายการศึกษาต่อมาพบว่า Treg ในผู้ป่วยโรคหืดมีการทำงานที่ผิดปกติ [139] การที่ Treg ทำงานผิดปกติไม่สามารถควบคุมการสร้าง Th2 ได้ ทำให้มีการสร้าง Th2 มากกว่า Th1 จะเกิดโรคหืดภูมิแพ้ขึ้น แต่ถ้าพบว่า Th1 มากกว่าจะเกิดโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้แทน



<u>รูปที่14</u> การพัฒนาของ Treg และกลไกการการควบคุมภูมิคุ้มกัน [135]

invariant natural killer T (iNKT) cells เป็นเซลล์กลุ่มหนึ่งที่มีการแสดงของทั้ง T-cell receptor (TCR) และ NK cells เช่น NK1.1 NKG2D จะหลั่งสารไซโตไคน์ IL-4 และ IL-13 แบ่งเป็นอีก 3 ชนิดย่อยขึ้นอยู่กับ TCR ตัวNKT cell ที่สำคัญและพบมากคือ ชนิดที่ 1 หรืออีกชื่อคือ iNKT จะมีการตอบสนองต่อ glycolipid antigenที่นำเสนอโดย non-polymorphic majorhistocompatibility complex (MHC) class I-like molecule หรือ CD1d ชนิดที่สอง Type II NKT cells จะตอบสนอง glycolipid antigens ที่นำเสนอโดย CD1d แต่ NKT cells ชนิดนี้จะมีการแสดงออกแบบ non-invariant (heterogeneous) ชนิดที่สาม Type III NKT cells จะมีการแสดงของ non-invariant TCRs และจะต่อสนองต่อ antigen ที่นำเสนอโดย CD1d-independent manner มีการศึกษาเกี่ยวกับ NKT cell ในสัตว์ทดลอง พบว่า NKT cell เป็นเซลล์ที่ทำให้เกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติที่เกิดจากภูมิแพ้ (ร่วมกับ CD4+ T cell) และไม่เป็นภูมิแพ้สาเหตุที่เกิดจากเชื้อไวรัส, ozone สาเหตุที่ทำให้ NKT cell สามารถทำให้เกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติได้นั้นเกิดจากการที่ตัวเซลล์สามารถสร้างและหลั่งไซโตไคน์ได้หลากหลายชนิดขึ้นอยู่กับตัว Ag ที่มากระตุ้น เช่นตัวกระตุ้นเป็นสารก่อภูมิแพ้จะทำให้เซลล์สามารถหลั่ง IL-4 และ IL-13 ออกมาได้ ถ้าตัวกระตุ้นเกิดจากเชื้อไวรัสจะทำให้เซลล์หลั่ง IL-13 และถ้ากระตุ้นด้วย ozone เซลล์จะหลั่ง IL-17 ออกมา (รูปที่15) [140] การศึกษาเกี่ยวกับ NKT cellในคนมีการศึกษาอยู่น้อย มีส่วนน้อยจะพบว่ามี NKT cell เพิ่มมากขึ้นในผู้ป่วยโรคหืด แต่ส่วนใหญ่จะพบว่าไม่แตกต่างกัน ซึ่งตัว marker ที่ใช้ในการศึกษาแต่

ละการศึกษายังคงแตกต่างกันอยู่ NKT cell จึงเป็นเซลล์ที่น่าสนใจในการศึกษาพยาธิสภาพโรคหืดต่อไปในอนาคต



<u>รูปที่15</u> iNKT cell และการเกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ

Cytotoxic T cell หรือ CD8+ T cell แบ่งย่อยอีกเป็น 2 ชนิดคือ Type1 Cytotoxic T cell (Tc1) และ Type 2 Cytotoxic T cell (Tc2) โดยเซลล์ Tc1 มีการแสดงออกของ CXCR3 บนผิวเซลล์และหลั่งไซโตไคน์ที่สำคัญคือ IFN-**γ** ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของ epithelium cell และ macrophage ทำให้มีการหลั่งไซโตไคน์ CXCL9, CXCL10 และCXCL11ออกมาและไซโตไคน์จะไปจับกับ CXCR3 ที่มีการแสดงออกบนผิวเซลล์ของ Tc1 และ Th1 ซึ่งจะดึงดูด Tc1 และ Th1 มาที่บริเวณปอด ตัว CXCR3 ligands จะไปยับยั้งสัญญาณของ CCR3 ซึ่งเป็น receptor ของ CCL11 ทำให้ไปยับยั้งการอักเสบที่เกิดจาก eosinophil ได้ ตัว Tc1 จะสร้าง CCL5 (รู้จักในอีกชื่อคือ RANTES) ซึ่งจะไปจับกับ CD4+ และ CD8+ T cell ผ่านทาง CCR5 ตัว Tc1 จะมีการสร้างและปล่อยสาร granzyme B และ perforin ออกมาทำให้เกิดกระบวนการ Apoptosis ส่วนเซลล์ Tc2 cells จะมีการหลั่ง IL-4 ออกมาได้ ในโรคหืดTc1 จะมีความสำคัญในโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ [114]

B cell มีความสำคัญในโรคภูมิแพ้รวมถึงโรคหืดด้วย เนื่องจากจะมีการสร้างและปล่อย cells allergen-specific IgE ที่จะไปจับกับ high-affinity Fc receptors for IgE (Fc**ε**RI) ที่มีการ

แสดงออกบน mast cells และ basophils จะไปจับกับ low-affinity Fc receptors for IgE (Fc**ε**RII) ที่แสดงออกบนผิวเซลล์อื่นๆ เช่น B cells, macrophages และอาจรวมถึง eosinophils ไซโตไคน์หลั่งจาก Th2 คือ IL‾4 และ IL‾13 จะทำให้ B cells เกิดกระบวนการ immunoglobulin class switching เพื่อสร้าง IgE การไปป้องกันการจับ IgE ด้วย omalizumab (monoclonal antibody IgE) จะลดการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้ ทางเดินหายใจอักเสบ และการกำเริบของโรคหืด แสดงว่า IgE มีส่วนทำให้เกิดการอักเสบจากสารก่อภูมิแพ้ในผู้ป่วยโรคหืด ทั้งโรคหืดภูมิแพ้และโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้พบว่า IgE สามารถจะสร้างได้จาก locally B cell ในทางเดินหายใจ [141, 142]

2.1.5.3 **หลอดลมตีบ** (Bronchocostriction)

ในโรคหืดจะมีอาการเมื่อหลอดลมตีบแคบทำให้มีการไหลเวียนของอากาศของทางเดินหายใจที่ผิดปกติ ในช่วงที่โรคหืดกำเริบพบว่ากล้ามเนื้อเรียบจะมีการหดตัวทำให้หลอดลมตีบโดยจะเกิดอย่างรวดเร็วเป็นการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นเช่นสารก่อภูมิแพ้ หรือสารที่ทำเกิดการระคายเคือง สารก่อภูมิแพ้จะทำให้เกิดหลอดลมตีบสาเหตุมาจาก IgE-dependent ทำมีการกระตุ้นให้ปล่อยสารเคมีออกมาจาก mast cell คือ histamine, tryptase,leukotrienes และ prostaglandins เมื่อสารเหล่านี้ไปออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อเรียบจะทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบและเกิดหลอดลมตีบตามมา ยาเอสไพรินและกลุ่มยาแก้ปวด NSAID สามารถเป็นสาเหตุของหลอดลมตีบฉับพลันได้ในผู้ป่วยบางราย พบมีหลักฐานว่าเกิดจาก non-IgE-dependent เกิดได้จากยาที่สามารถไปกระตุ้นให้สารเคมีหลั่งออกมาจากเซลล์ของหลอดลมได้โดยตรง ตัวกระตุ้นอื่นๆที่ทำให้เกิดหลอดลมตีบ เช่น การออกกำลังกาย อากาศเย็น [143]

2.1.5.4 **ทางเดินหายใจบวม** (Airway edema**)**

โรคหืดเป็นโรคที่มีอาการอักเสบเรื้อรังของทางเดินหายใจ การอักเสบภายในหลอดลมถ้าเป็นมากขึ้นจะทำให้การไหลเวียนของอากาศในทางเดินหายใจผิดปกติ เกิดได้จากหลอดลมบวม มีการอักเสบในหลอดลมตลอดเวลา มีการสร้างเมือกออกมามากขึ้นและเมือกรวมตัวกันทำให้เกิดเมือกอุดตัน ร่วมกับมีการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อเรียบหลอดลม มีการหนาตัวของกล้ามเนื้อเรียบและการแบ่งตัวที่ผิดปกติ ซึ่งทำให้การตอบสนองต่อการักษาลดลด [143]

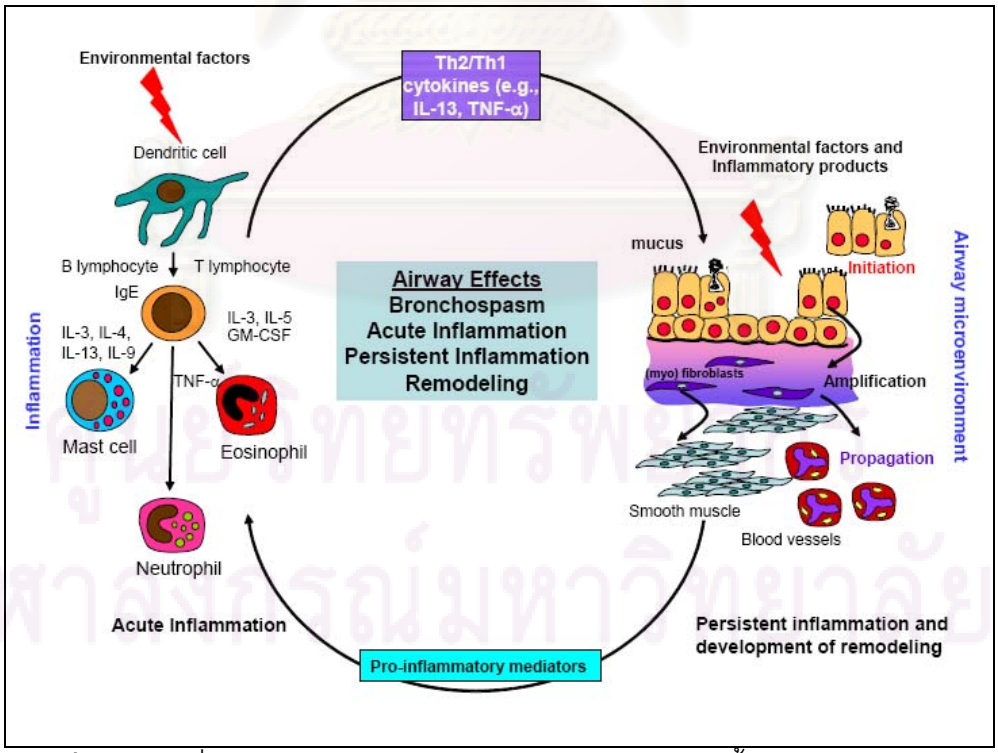
2.1.5.5 **หลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ** (Airway hyperresponsiveness)

หลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นเป็นลักษณะอย่างหนึ่งที่เจอในโรคหืด แต่ไม่ได้หมายความว่าต้องเป็นโรคหืดเสมอไป อาจเจอได้ในโรคอื่นเช่น cough variant asthma ผู้ป่วยมีอาการไออย่างเดียวไม่มีอาการเหนื่อย แต่พบว่ามีหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้น ระดับความรุนแรงของหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติสามารถทำการทดสอบด้วยสารที่กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหดตัวเช่น methacholin และ histamine เป็นต้นซึ่งจะสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืด กลไกลที่ทำให้เกิดหลอดลมไวต่อ

สิ่งกระตุ้นผิดปกติเกิดได้จากหลายอย่างร่วมกัน เช่น การอักเสบของหลอดลม, dysfunctional neuroregulation และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดลม โดยการอักเสบของหลอดลมจะเป็นตัวสำคัญที่สุดที่ทำให้เกิดหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ การรักษาโดยการใช้ยาที่ลดการอักเสบของหลอดลมสามารถลดอาการหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติได้ และสามารถควบคุมอาการโรคหืดได้ [143]

2.1.5.6 การเปลี่ยนแปลงถาวรทางเดินหายใจ (Airway remodeling)

ในผู้ป่วยโรคหืดบางคนมีภาวะทางเดินหายใจตีบแต่ไม่สามารถคืนสภาพได้เท่าเดิมเมื่อไม่มีอาการ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างถาวรของทางเดินหายใจ จะสัมพันธ์กับค่าสมรรถภาพปอดที่ลดลงและไม่สามารถป้องกันได้หรือคืนสภาพได้เหมือนเดิมเมื่อได้รับการรักษาเต็มที่แล้ว การเปลี่ยนแปลงถาวรของทางเดินหายใจจะมีการเปลี่ยนแปลงคือ การหนาตัวเพิ่มขึ้นของ sub-basement membrane, subepithelial fibrosis, กล้ามเนื้อเรียบหลอดลมหนาตัวขึ้นและแบ่งตัวผิดปกติ, เส้นเลือดมีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้นและขยายตัว และต่อมสร้างเมือกมีการแบ่งตัวมากกว่าปกติ มีการสร้างเมือกออกมามากขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างถาวรของระบบทางเดินหายใจจะทำให้การตอบสนองต่อการรักษาลดลง [143]

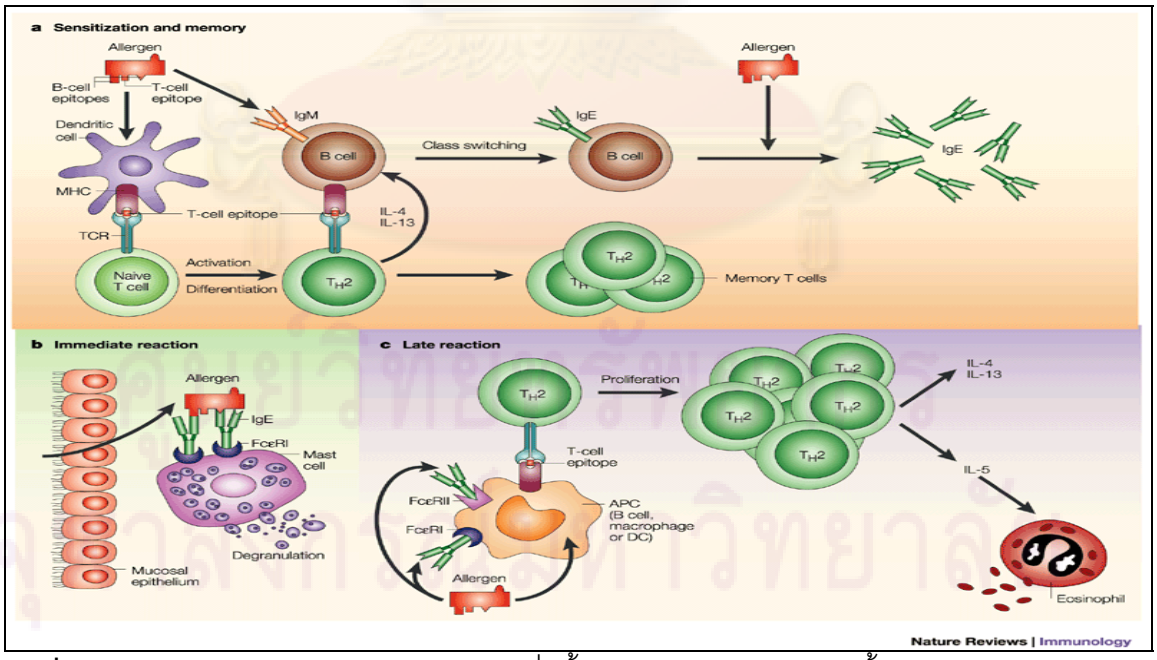


รูปที่16 ปัจจัยที่ทำให้เกิดหลอดลมอุดตันในภาวะฉับพลันและเรื้อรังของโรคหืด[143]

2.1.6 ลักษณะทางคลินิค

โรคหืดเป็นโรคที่พบได้ใน ทุกเพศ ทุกวัย แต่ส่วนมากมักจะเริ่มมีอาการตั้งแต่เด็ก อาการของโรคหืดคือ อาการไอ หายใจเหนื่อย หายใจมีเสียงวีด จะเป็นๆหายๆ ลักษณะที่สำคัญของโรคหืดคือ มักจะมีอาการมากในเวลากลางคืน บางครั้งผู้ป่วยโรคหืดอาจจะมีอาการไอเรื้อรังเพียงอย่างเดียวโดยไม่มีอาการเหนื่อยก็ได้ เนื่องจากคนไข้โรคหืดมีหลอดลมที่ไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติดังนั้นเวลาที่เจอสิ่งกระตุ้นจะ เกิดอาการที่เรียกหืดกำเริบ สิ่งที่กระตุ้นให้ผู้ป่วยหอบได้แก่

1. สารก่อภูมิแพ้ ที่สำคัญได้แก่ ไรฝุ่น เกสรดอกไม้ แมลงสาบ รา ขนสุนัขและแมว สารภูมิแพ้เหล่านี้ทำให้เกิดอาการหอบผ่านทาง type 1 hypersensitivity กล่าวคือเมื่อผู้ป่วยที่แพ้สารก่อภูมิแพ้สูดดมเอาสารก่อภูมิแพ้เข้าไป สารก่อภูมิแพ้จะจับกับ IgE บน mast cells ทำให้เกิดการหลั่ง mediators เช่น histamine, bradykinin, leukotrienes, platelet-activating factor, prostaglandins และ thromboxane A2 ซึ่งทำให้เกิด หลอดลมตีบ หลอดลมบวมและมีการคั่งของเลือด (vascular congestion) ที่เรียกว่า acute asthmatic response นอกจากนี้ leukotrienes ยังมีฤทธิ์ดึงเซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ ที่สำคัญคือ eosinophils มาชุมนุมในหลอดลมยังผลให้ เกิดการอักเสบเพิ่มขึ้น มีความไวของหลอดลมเพิ่มขึ้นและเกิด late asthmatic response ดังนั้นการสัมผัสกับสารภูมิแพ้นอกจากจะทำให้ผู้ป่วยหอบแล้วยังทำให้โรคหืดเป็นมากขึ้นด้วย ในการรักษาโรคหืดจึงจำเป็นที่จะต้องหลีกเลี่ยงการ สัมผัสกับสารภูมิแพ้ด้วย กลไกการตอนสนองต่อสารก่อภูมิแพ้(รูปที่17)



<u>รูปที่17</u> กลไกการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้ เริ่มตั้งแต่สารก่อภูมิแพ้เข้าไปครั้งแรกจนและมีการจดจำ มีการสร้าง Ig E ต่อมาเมื่อมีสารก่อภูมิแพ้เข้ามาจะมีการตอบสนองทันที (immediate reaction) ผ่านทาง Ig E และการตอบสนองล่าช้า (late reation) ผ่านทาง Th2 cell

2. การออกกำลังกาย การออกกำลังกายทำให้ผู้ป่วยโรคหืดจำนวนหนึ่งหอบได้ กลไก ที่การออกกำลังกายกระตุ้นให้หอบจะเกี่ยวข้องกับสูญเสียความร้อน หรือสูญเสีย น้ำในหลอดลม ดังนั้น การออกกำลังกายในที่แห้ง อากาศเย็นจะทำให้หอบได้ง่าย กว่าการ ออกกำลังกายในที่อากาศอุ่นและความชื้นสูง แต่การออกกำลังกายจะ ต่างกับการสัมผัสสารก่อภูมิแพ้ที่การออกกำลังกายไม่ทำให้เกิดการอักเสบของ หลอดลมเพิ่มขึ้นและไม่ทำให้ความไวของหลอดลมเพิ่มขึ้น

3. การติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบน การติดเชื้อทางเดินหายใจเป็นสาเหตุสำคัญที่ ทำให้โรคหืดกำเริบ ส่วนมากเกิดจากการติดเชื้อไวรัส ซึ่ งการติดเชื้อไวรัสพบว่า สามารถทำให้หลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นเพิ่มขึ้นได้นานถึง 6 สัปดาห์

4. ยา ยาที่สำคัญที่กระตุ้นให้ผู้ป่วยหอบได้แก่ aspirin beta-adrenergic antagonist สารกันเสียเช่น metabisulfite สีผสมอาหาร เช่น tartrazine

5. ความเครียด ทำให้โรคหืดเลวลงได้

2.1.7 การวินิจฉัยโรค

การวินิจฉัยโรคหืด อาศัย การซักประวัติ ตรวจร่างกาย และตรวจทางห้องปฏิบัติการ อ้างอิงจาก GINA guideline และ NHLBI education and prevention program [12, 143]

ประวัติ

การวินิจฉัยโรคหืดส่วนใหญ่สามารถวินิจฉัยได้โดย อาศัยประวัติ ที่มีอาการไอ หอบ แน่นหน้าอก หายใจมี เสียงวีด ซึ่งจะเป็นๆ หายๆ บางครั้งผู้ป่วยจะสามารถบอกถึงสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดอาการได้ ชัดเจนด้วย เช่นมีอาการเวลาออกกำลังกาย การติดเชื้อไวรัส เมื่อสัมผัสหรือใกล้ชิดขนสัตว์ หลังจากเจอฝุ่นละออง เชื้อรา บุหรี่ เกศรดอกไม้ อากาศเปลี่ยน อารมณ์เปลี่ยนแปลงเช่นหัวเราะหรือร้องไห้ มลภาวะในอากาศมีอาการเวลาออกนอกบ้าน มีอาการสัมพันธ์กับช่วงมีประจำเดือน เวลาที่ไม่มีอาการก็จะเหมือนคนปกติทุกประการ ลักษณะที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของโรคหืดคือมักมีอาการเวลากลางคืน บางครั้งผู้ป่วยอาจจะมีอาการไอเรื้อรัง เพียงอย่างเดียวก็ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาการไอ หลังเป็นไข้หวัด ประวัติโรคภูมิแพ้ ประวัติการเจ็บป่วยในครอบครัวที่เป็นโรคหืดก็จะช่วยสนับสนุนการ วินิจฉัยโรคหืด จะต้องวินิจฉัยแยกโรคหืดออกจากโรคอื่นๆที่มีอาการเหนื่อย ในเด็กกับในผู้ใหญ่สาเหตุจะแตกต่างกัน ในผู้ใหญ่ต้องแยกจากโรคถุงลมโป่งพอง โรคหัวใจล้มเหลวน้ำท่วมปอด ลิ่มเลือดอุดตันในปอด มะเร็งที่ทำให้ทางเดินหายใจอุดกั้น ไอที่เกิดจากยาลดความดัน ACEI และ เส้นเสียงทำงานผิดปกติ (vocal cord dysfunction) ดูจากตารางที่10 [143]

การตรวจร่างกาย

การตรวจร่างกายจะช่วยในการวินิจฉัย บอกความรุนแรงของโรค และช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคที่มีอาการคล้ายๆ กับโรคหืดได้ ในขณะที่ผู้ป่วยกำลังหอบ การตรวจร่างกายก็จะพบการใช้

accessory muscle ในการหายใจ ฟังได้ยินเสียง wheeze หรือ rhonchi ที่ปอดทั้ง 2 ข้าง ในรายที่เป็นหืดขั้นรุนแรงตั้งแต่เด็ก ก็อาจตรวจพบว่าผิดปกติของทรวงอกได้ ตรวจจมูกมีน้ำมูก มีจมูกบวม เจอเนื้องอกในจมูก ตรวจผิวหนังดูว่ามีผื่นแพ้ผิวหนังอักเสบ ลมพิษ อย่างไรก็ดีถ้าผู้ป่วยไม่มี อาการหอบ การตรวจร่างกายก็จะไม่พบอะไรผิดปกติเลยก็ได้

ตารางที่10 โรคที่ต้องวินิจฉัยแยกจากโรคหืด [143]

Infants and Children
Upper airway diseases
■ Allergic rhinitis and sinusitis
Obstructions involving large airways
■ Foreign body in trachea or bronchus ■ Vocal cord dysfunction ■ Vascular rings or laryngeal webs ■ Laryngotracheomalacia, tracheal stenosis, or bronchostenosis ■ Enlarged lymph nodes or tumor
Obstructions involving small airways
■ Viral bronchiolitis or obliterative bronchiolitis ■ Cystic fibrosis ■ Bronchopulmonary dysplasia ■ Heart disease
Other causes
■ Recurrent cough not due to asthma ■ Aspiration from swallowing mechanism dysfunction or gastroesophageal reflux
Adults
■ COPD (e.g., chronic bronchitis or emphysema) ■ Congestive heart failure ■ Pulmonary embolism ■ Mechanical obstruction of the airways (benign and malignant tumors) ■ Pulmonary infiltration with eosinophilia ■ Cough secondary to drugs (e.g., angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors) ■ Vocal cord dysfunction

การตรวจทางห้องปฏิบัติการที่จะช่วยสนับสนุนการวินิจฉัย

การที่จะให้การวินิจฉัยที่แน่นอนก็คือการตรวจยืนยันว่ามีการอุดกั้นทางเดินหายใจที่ รักษาให้ดีขึ้นได้โดยการให้ยาขยายหลอดลม หรือตรวจพบว่าหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ

1. การตรวจสไปโรเมตรี(spirometry) เพื่อตรวจหาว่ามีการอุดกั้นทางเดินหายใจหรือไม่ ถ้าพบว่ามีการอุดกั้นทางเดินหายใจ คือมีค่า FEV1 ต่ำและ FEV1 /FVC < 70% แล้วตอบสนองต่อการให้ยาขยายหลอดลม โดยที่ค่าFEV1 ดีขึ้นมากกว่าเดิม12% ก็สามารถให้การวินิจฉัยโรคหืดได้

2. ในกรณีที่ไม่มี สไปโรเมตรี อาจจะใช้เครื่องวัดความเร็วสูงสุดของลมที่เป่าออก (Peak flow meter) ซึ่งมีราคาถูก วัดความเร็วสูงสุดของลมที่เป่าออกก็ได้(Peak Expiratory Flow Rate, PEFR) ค่า PEFR จะต่ำเมื่อมีการอุดกั้นทางเดินหายใจ ถ้าพ่นยาขยาย หลอดลมแล้วค่า PEFR เพิ่มขึ้นมากกว่าเดิม 15% ก็วินิจฉัยโรคหืดได้

3. การวัดความผันผวนของค่า PEFR โดยใช้เครื่องวัดความเร็วของลมสูงสุด (peak flow meter) โดยให้ผู้ป่วยวัดค่า PEFR เช้า เย็น แล้วคำนวณค่าความผันผวนโดย

$$\text{ค่าความผันผวน} = \frac{(\text{PEFR สูงสุด} - \text{PEFR ต่ำสุด}) \times 100}{\frac{1}{2}(\text{PEFR สูงสุด} + \text{PEFR ต่ำสุด})}$$

ถ้าวัดความผันผวนของค่า PEFR ได้มากกว่า 20% ถือว่าเป็นโรคหืด การวัดความผันผวนของค่า PEFR สามารถวัดได้อีกวิธีหนึ่งคือ การวัดค่า PEFR ที่ต่ำที่สุดในตอนเช้าคิดเป็นเปอเซ็นต์ของค่า PEFR ที่ดีที่สุดของคนไข้ (Min % Max) ซึ่งวิธีนี้จะ วัดค่า PEFR วันละครั้งตอนเช้าและคำนวณง่ายกว่าวิธีแรก

4. การวัดความไวของหลอดลมต่อสิ่งกระตุ้น ถ้าผู้ป่วยไม่มีอาการหอบ การตรวจสมรรถภาพปอดอาจจะไม่พบว่ามีการอุดกั้นทางเดิน หายใจได้ ในรายเช่นนี้ก็อาจทำ Bronchial provocation test ด้วย histamine หรือ methacholine เพื่อทดสอบความไวของหลอดลมก็จะให้การวินิจฉัยได้ การวัดระดับความไวของหลอดลมวัด ได้ง่ายๆ โดยการตรวจสมรรถภาพปอดของผู้ป่วย โดยใช้เครื่อง spirometer ซึ่งวัดค่า FEV1เสร็จ แล้วให้ผู้ป่วยสูดหายใจเอาสารกระตุ้น เช่น histamine หรือ methacholine เข้าไป แล้ววัดค่า FEV1 ซ้ำ ค่อยๆ เพิ่มความเข้มข้นของ histamine หรือ methacholine จนกระทั่ง FEV1ลดลง 20% จาก Baseline เมื่อนำค่าสมรรถภาพปอดที่ลดลง และขนาดของ histamine หรือ methacholine ที่ใช้ มา plot กราฟก็จะได้ Dose response curve ของ histamine หรือ methacholine ขนาด ของ Methacholine ที่ทำให้ FEV1 ลดลง 20% เราเรียกว่า PD20 (Provocative dose) จะใช้แสดง ถึงระดับความไวของหลอดลม ถ้า PD20 ต่ำๆ หมายความว่าใช้ methacholine เพียงเล็กน้อย ก็ทำให้ FEV1 ลดลง 20% แสดงว่าหลอดลมไวมาก แต่ถ้า PD20 มากๆ ก็หมายความว่าหลอดลมไม่ไว เป็นต้น ค่า PD20 น้อยกว่า 4 μmol แสดงว่าเป็นโรคหืด สิ่งที่ต้องเข้าใจเกี่ยวกับการทำ Bronchial Provocation test คือ BHR พบได้ในคนไข้โรค หืดแทบทุกคนที่มีอาการ แต่ก็ไม่ specific สำหรับโรคหืด เพราะอาจพบได้ในคนไข้ Rhinitis, Atopic ซึ่งไม่มีอาการหอบเลยก็ได้ แต่การทำ Bronchial provocation test มีประโยชน์มากในการ ติดตามการ

รักษา เพราะว่าภายหลังการรักษาอาการผู้ป่วยจะหายไปเร็วมาก และสมรรถภาพปอด ก็กลับมาปกติเร็ว แต่ BHR จะกลับคืนปกติช้ากว่ามาก ระดับความไวของหลอดลมจะบ่งบอกความรุนแรงของโรคหืดได้ โดยจะพบว่าระดับความ ไวของหลอดลมจะมีความสัมพันธ์กับอาการของผู้ป่วย ความต้องการยาในการรักษาอาการ และ ค่าความผันผวนของ PEFR การวัดความไวของหลอดลม นอกจากจะใช้ในการวินิจฉัยโรคหืดแล้ว ยังใช้ในการประเมินความรุนแรงของโรค และใช้ในการติดตามผลการรักษาด้วยซึ่งให้ผลดีกว่าการ ใช้ตรวจสมรรถภาพปอด FEV1 หรือ PEFR ร่วมกับอาการในการติดตามผลการรักษา

ตารางที่11 การจำแนกความรุนแรงของโรคหืดโดยอาศัยอาการ การตรวจสมรรถภาพปอด(FEV1 หรือ PEFR) ค่าความผันผวนของPEFR, PD20 methacholine

	อาการ	PEFR	Peak Flow variability	PD20 methacholine
intermittent	มีอาการนานนานครั้ง ช่วงที่มีอาการจะมีอาการ <1/สัปดาห์ หรือมีอาการกลางคืน<2ครั้ง/เดือน	> 80%	< 20%	
mild persistent (อาการน้อย)	>1 ครั้ง/สัปดาห์ noctumal >2/เดือน	> 80%	20-30%	1-4 μmol
Moderate persistent (อาการปานกลาง)	มีอาการเกือบทุกวัน nocturnal >1/สัปดาห์	60-80 %	> 30%	0.1-1 μmol
severe persistent (อาการมาก)	มีอาการตลอดเวลา	< 60%	> 30%	0.1 μmol

2.1.8 การดูแลรักษา

2.1.8.1 เป้าหมายของการรักษา

โรคหืดเป็นโรคที่ยังรักษาให้หายขาดยังไม่ได้ แต่สามารถควบคุมโรคได้ ซึ่งหมายความว่าผู้ป่วยควรจะมีอาการทั้งกลางวันและกลางคืนน้อยมากหรือไม่มีเลย ไม่ต้องไปโรงพยาบาลเพราะหอบรุนแรงเฉียบพลัน ไม่ต้องใช้ยาขยายหลอดลมหรือใช้ยาขยายหลอดลมน้อยมาก มีสมรรถภาพ

ปอดที่ปกติ โดยที่ไม่มีอาการข้างเคียงจากการรักษา จะเห็นว่าเป้าหมายในการรักษาในปัจจุบันจะสูงกว่าในอดีตเพราะเรามีความรู้เกี่ยวกับโรคหืดมากขึ้น

2.1.8.2 **ยาที่ใช้ในการรักษาโรคหืด**

ในปัจจุบันแบ่งได้ง่าย ๆ เป็น 2 กลุ่มด้วยกันคือยาขยายหลอดลมหรือยาบรรเทาอาการ และยาระงับการอักเสบ

2.1.8.2.1 **ยาขยายหลอดลม** (Bronchodiator) คือยาที่ทำให้กล้ามเนื้อหลอดลมคลายตัวและทำให้หลอดลม ขยายตัว ไม่มีผลในการลดการอักเสบของหลอดลม ยาในกลุ่มนี้ ได้แก่

1.1 Beta-adrenergic agonists เป็นยาขยายหลอดลมที่ดีที่สุด ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ โดยการจับกับ β2 receptor บนกล้ามเนื้อหลอดลมและทำให้ cAMP สูงขึ้น ส่งผลให้ กล้ามเนื้อคลายตัว นอกจากนี้ยาในกลุ่มนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งสารของ mast cells และทำให้ mucocilliary clearance ดีขึ้นด้วย ยาที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบันจะเป็น β2 specific agonist ทำให้มีผลข้างเคียงจากการกระตุ้น β1 receptor น้อย ยาในกลุ่มนี้แบ่งเป็นสองกลุ่มตาม ระยะเวลาที่ออกฤทธิ์

กลุ่มที่1) short-acting β2-agonists (SABA) คือกลุ่มที่ออกฤทธิ์เร็วและออกฤทธิ์ระยะสั้น ยาเหล่านี้ มีฤทธิ์ 4-6 ชั่วโมง เช่น salbutamol, terbutaline, procaterol และ fenoterol ยากลุ่ม นี้เป็นยาที่นิยมใช้ที่สุดเพื่อบรรเทาอาการหอบ เพราะออกฤทธิ์เร็วและขยายหลอดลมได้ดีที่สุด

กลุ่มที่2) long-acting β2-agonists (LABA) ยากลุ่มนี้ออกฤทธิ์อยู่นานมากกว่า 12 ชั่วโมง ได้แก่ formoterol และ salmeterol

ยากลุ่มนี้เมื่อใช้ร่วมกับ inhaled corticosteroids จะได้ผลดีกว่าการใช้ การใช้ inhaled corticosteroids ขนาดสูงเดี่ยวๆ จึงได้มีการเอายาinhaled corticosteroids มาร่วมกับ LABA ใน หลอดเดียวกัน เช่น fluticasone/salmeterol และ budesonide / formoterol ทำให้สะดวกในการ ใช้มากขึ้น

1.2 Anticholinergic ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการทำงานของ cholinergic nervous system ที่ระดับ cholinergic receptor ทำให้หลอดลมขยายตัว ยาในกลุ่มนี้ที่มีใช้คือ Ipratropium bromide ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ช้าและฤทธิ์ในการขยายหลอดลมจะสู้ β-agonist ไม่ได้แต่เมื่อใช้ร่วมกับ β-agonist ก็จะเพิ่มประสิทธิภาพของ β-agonist

1.3 Theophylline ยาในกลุ่มนี้มีใช้แพร่หลายมานาน แต่กลไกการออกฤทธิ์ขยาย หลอดลมยังไม่ทราบชัด ยาในกลุ่มนี้มี 2 ชนิดคือ ชนิดเม็ดธรรมดา (plain tablet) และชนิดออก ฤทธิ์นาน (sustained release) ปัจจุบันความนิยม theophylline ลดลงมาก เพราะว่าฤทธิ์ ในการขยายหลอดลมจะสู้กลุ่ม β-agonist ไม่ได้ และยังมี toxic-therapeutic ratio แคบ ทำให้ยุ่งยากในการเจาะวัดระดับยาในเลือด อย่างไรก็ตามยังมีแพทย์ส่วนหนึ่งนิยมใช้ theophylline อยู่และมีหลักฐาน

ว่าการใช้ theophylline ร่วมกับ inhaled corticosteroids จะทำให้ลดขนาดการใช้ ของ inhaled corticosteroids ได้

2.1.8.2. **ยาระงับการอักเสบ** (Anti-inflammatory) ได้แก่ ยาที่มีฤทธิ์ในการระงับการอักเสบ ของหลอดลม ยาในกลุ่มนี้ได้แก่

2.1 Corticosteroids เป็นยาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาการอักเสบของหลอดลม โดย corticosteroids ออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบแทบทุกขั้นตอน เช่น ขัดขวางการหลั่งสาร mediators โดยยับยั้ง arachidonic acid metabolism, ลดจำนวนเซลล์อักเสบ เช่น eosinophils, neutrophils และ lymphocytes ไม่ให้มาชุมนุมกัน ลด vascular permeability และที่สำคัญคือลดการสร้าง cytokines เช่น IL-1, IL-2, IL-3, IL-5 ซึ่งสารเหล่านี้มีความสำคัญ มากในการทำให้เกิดหลอดลมอักเสบในโรคหืด Corticosteroids มีประสิทธิภาพสูงในการรักษา โรคหืด แต่การกิน corticosteroids เป็นเวลานานก็จะมีอาการข้างเคียงที่ร้ายแรง เช่นกระดูกผุ อ้วน ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และที่สำคัญที่สุดคือการกดการทำงานของต่อมหมวกไต การ ค้นพบ inhaled corticosteroids นับว่าเป็นก้าวที่สำคัญในการรักษาโรคหืด เนื่องจากสามารถลดผลเสียที่จะเกิดจากการกิน Corticosteroids ได้ ปัจจุบันมี inhaled corticosteroids ในท้องตลาด 3 ชนิด ได้แก่ Beclomethasone dipropionate, budesonide, fluticasone propionate ประสิทธิภาพของ inhaled corticosteroids ขึ้นอยู่ขนาดของยาที่ใช้ ขนาดที่ใช้แบ่งเป็น ขนาดต่ำ (< 500 microgram / วัน) ปานกลาง (500-1000 microgram /วัน) และขนาดสูง (> 1000 microgram /วัน) ยา inhaled corticosteroids ถือว่าเป็นยาหลักในการ รักษาโรคหืด

2.2 Cromolyn sodium ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการหลั่ง mediators ของ mast cells และอาจออกฤทธิ์โดยการ block sensory nerve ending ด้วย เป็นยาที่ค่อนข้างจะปราศจากผลข้างเคียง แต่ประสิทธิภาพในการลดความไวของหลอดลมจะสู้ inhaled corticosteroids ไม่ได้ ยานี้มีใช้ในรูปยาพ่นขนาดที่คือ 20-80 mg/day

2.3 Oral antiallergic compounds เช่น Ketotifen ซึ่งเป็นยาแก้แพ้ และมีผลในการ ยับยั้งการหลั่ง Mediator จาก Mast cell ขนาดที่ใช้คือ 2 mg/วัน ในผู้ใหญ่ และ 1 mg/วัน ในเด็ก โดยพบว่าการใช้ยา Ketotifen สามารถลดอาการหอบ และการใช้ยาขยายหลอดลมได้ แต่ไม่มีหลักฐานชัดเจนว่ายานี้ สามารถลดการอักเสบและความไวของหลอดลมในคนไข้โรคหืด อาการข้างเคียงของ Ketotifen คือง่วงมาก และน้ำหนักขึ้น

2.4 Leukotriene modifiers เนื่องจากว่า leukotriene เป็นสาร Mediators ที่หลั่ง ออกมาจาก mast cells, eosinophils และ basophils และมีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อหดตัว, เพิ่ม vascular

permeability และชักนำเซลล์อักเสบมาชุมนุมในหลอดลม ดังนั้นการยับยั้งการทำงาน ของ leukotriene จึงทำให้โรคหืดดีขึ้น ตัวที่มีใช้ในประไทยคือ montelukast

2.5 Anti-IgE เป็นยาที่ออกมาใหม่ในท้องตลาด เนื่องจากว่าปฏิกิริยาระหว่าง IgE ที่อยู่ บน mast cells กับ antigen ทำให้เกิดการหลั่งของ mediators ต่างๆ ซึ่งทำให้เกิด การหดตัวของหลอดลม การชักนำเซลอักเสบมาสู่หลอดลม อันจะทำให้โรคหืดแย่ลง การให้ Anti-IgE จะจับกับ IgE ในกระแสเลือดทำให้ มี IgE ที่อิสระลดลง ซึ่งยังผลให้ปฏิกกิริยาระหว่าง antigen และ IgE ลดลง ทำให้โรคหืดดีขึ้นได้ เนื่องจากยามีราคาแพงจึงใช้ในรายที่ให้ยาอื่นเต็มที่แล้วยังควบคุมโรค หืดไม่ได้

2.1.8.3 ขั้นตอนในการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคหืด

เพื่อให้บรรลุเป้าหมาย แนวทางในการรักษาโรคหืดบอกว่าจะต้องให้การดูแลรักษาผู้ป่วยโรคหืดดังต่อไปนี้

1. ให้ความรู้แก่ผู้ป่วยและญาติเกี่ยวกับโรคหืดและยารักษาเพื่อให้เกิดความร่วมมือใน การรักษา สิ่งสำคัญที่ควรจะสอนผู้ป่วยก็คือสอนให้ผู้ป่วยเข้าใจว่าโรคหืดเป็นโรคที่มี การอักเสบของหลอดลม ทำให้หลอดลมไว เมื่อเจอสิ่งกระตุ้นหลอดลมจึงตีบ ดังนั้น การรักษาโรคหืดไม่ใช่การรักษาหลอดลมตีบ แต่เป็นการรักษาหลอดลมอักเสบซึ่งต้อง ใช้เวลาในการรักษานานแม้ว่าอาการอาจจะไม่มีแล้วก็ตาม ซึ่งการที่ผู้ป่วยเข้าใจเรื่อง โรคได้ดีก็จะช่วยให้ผู้ป่วยร่วมมือในการรักษาดีขึ้น

2. หลีกเลี่ยงจากสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดอาการหอบ โดยทั่วๆ ไปสิ่งกระตุ้นให้หอบมี มากมายหลายชนิด แต่อาจแยกได้ว่าเป็นสิ่งกระตุ้นให้เกิดหลอดลมตีบเฉยๆ (inciter) เช่นการออกกำลังกาย, การเจอความเย็น, การหัวเราะ เป็นสิ่งกระตุ้นให้เกิดหลอดลม หดตัวกับสิ่งกระตุ้นให้เกิดหลอดลมตีบร่วมกับการอักเสบในหลอดลม (Inducer) เช่น สารภูมิแพ้, ฝุ่นบ้าน ไรฝุ่น สิ่งสำคัญที่ผู้ป่วยต้องหลีกเลี่ยงคือสิ่งกระตุ้นให้เกิดการ อักเสบในหลอดลม ส่วนสิ่งกระตุ้นให้หลอดลมตีบไม่ค่อยสำคัญนัก เพราะเมื่อเรา รักษาโรคให้หลอดลมไม่ไวต่อสิ่งกระตุ้น ผู้ป่วยก็จะไม่เกิดอาการเมื่อเจอสิ่งกระตุ้นเหล่านี้

3. จำแนกความรุนแรงของโรคหืดเพื่อจัดยารักษาตามความรนรง ซึ่งความรุนแรงของโรค หืดสามารถแบ่งออกเป็น 4 ขั้น โดยอาศัยความถี่ ห่างของอาการหอบ สมรรถภาพปอด (FEV1 หรือ PEFR) ค่าความผันผวนของPEFR

4. การจัดยารักษาตามความรุนแรงของโรค หลักการของการให้ยารักษาโรคหืดคือการใช้ยาให้น้อยที่สุดที่พอจะควบคุมโรคได้ ดังนั้นการใช้ยาจะมากหรือน้อยก็ขึ้นกับความ รุนแรงของโรค ถ้าโรครุนแรงมากก็จะต้องใช้ยามากเป็นต้น การให้ยารักษาจะเป็น แบบค่อยๆให้ยาจากขั้นต่ำแล้วค่อยๆเพิ่มเป็นขั้นสูงเมื่อไม่ได้ผล (step up approach) หรือจะเริ่มที่ยาขั้นที่สูงแล้วค่อยๆลดยามาเป็นขั้นที่

ต่ำลงเมื่ออาการดีขึ้นและควบคุม อาการได้ (step down approach) ก็ได้ การให้ยาอาจแบ่งเป็นขั้นๆได้เป็น 4 ขั้นได้แก่

4.1 การรักษาขั้นที่ 1 สำหรับคนไข้ที่มีอาการนานนานครั้ง (Intermittent) จะให้ β2-agonist ที่มีฤทธิ์สั้น ชนิดรับประทาน หรือชนิดสูด ก็ได้

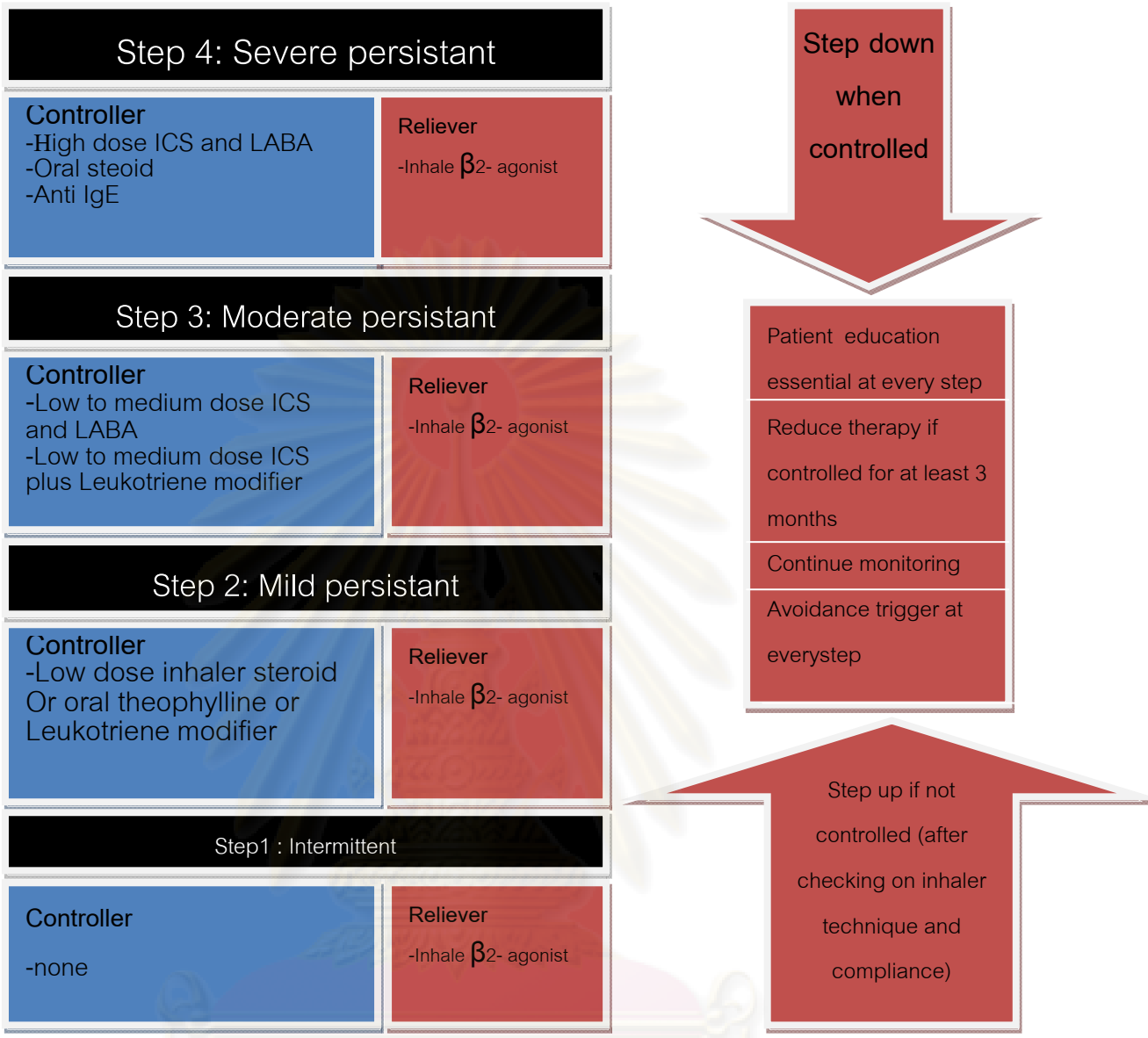
4.2 การรักษาขั้นที่ 2 สำหรับคนไข้ที่มีอาการน้อย (mild persistent) จะให้ Inhaled corticosteroids ขนาดต่ำ (beclomethasone หรือ budesonide 200-800 μg/d หรือ fluticasone 100-400 μg/d) ร่วมกับβ2- agonist ที่มี ฤทธิ์สั้นเมื่อมีอาการ

4.3 การรักษาขั้นที่ 3 สำหรับคนไข้ที่มีอาการปานกลาง(Moderate persistent) มีทางเลือก 4 ทางคือ 1)จะให้Inhaled corticosteroids ขนาดต่ำร่วมกับให้ยา long acting β2-agonists เช่น salmeterolหรือ formoterol 2) จะให้Inhaled corticosteroids ขนาดต่ำร่วมกับให้ sustained release theophylline ซึ่งมี ราคาถูกที่สุด 3)ให้Inhaled corticosteroids ขนาดสูง (beclomethasone หรือ budesonide 800-1600 μg/d และ fluticasone 400-800 μg/d) 4) inhaled corticosteroids ร่วมกับ leukotriene modifiers ทางเลือกที่1 ให้ ผลดีที่สุดส่วนทางเลือกที่ 2 จะมีราคาถูกกว่า ทางเลือกที่4 แพงที่สุด

4.4 การรักษาขั้นที่ 4 สำหรับคนไข้ที่มีอาการหนัก (severe persistent) ให้ Inhaled corticosteroids ขนาดสูง (beclomethasone หรือ budesonide 1600-2000 μg/d และ fluticasone 800-1000 μg/d) ร่วมกับยาตัวอื่นๆ เช่น long acting b2-agonists, sustained release theophylline, ipratropium, และถ้ายังคุมอาการไม่ได้ก็ให้ prednisolone ชนิดรับประทาน ถ้ายังไม่สามารถควบคุมโรคหืดได้ก็อาจพิจารณาให้ anti-IgE เมื่อควบคุมโรคหืดได้ดีแล้วก็สามารถปรับลดขนาดของการรักษาลงอย่างช้าๆ ทุก 3 เดือนโดยการลดยาที่ให้ร่วมกับ inhaled corticosteroids ออกก่อน แล้วค่อย ลดขนาดของ inhaled corticosteroids

5. จัดแผนการรักษาเผื่อเวลาโรคกำเริบ เนื่องจากลักษณะของโรคหืดเป็นๆ หายๆ ดังนั้น เราจึงจำเป็นต้องวางแผนให้ผู้ป่วยดูแลตัวเองได้เมื่อโรคกำเริบขึ้นโดยการให้ผู้ป่วยวัดค่า PEFR ที่บ้าน เมื่อค่า PEFR ลดลงพร้อมกับมีอาการเพิ่มขึ้น ผู้ป่วยควรรู้จักเพิ่มการรักษาได้เอง หรือติดต่อ แพทย์ทันที ซึ่งวิธีนี้จะช่วยป้องกัน acute severe asthma ได้ ทำให้ผู้ป่วยไม่ต้องมาที่ห้องฉุกเฉิน

6.ให้การดูแลรักษาต่อเนื่องควรนัดผู้ป่วยมาพบแพทย์สม่ำเสมอเพื่อดูเทคนิคการใช้ยา อาการข้างเคียงจากยา, ตรวจสมรรถภาพปอด

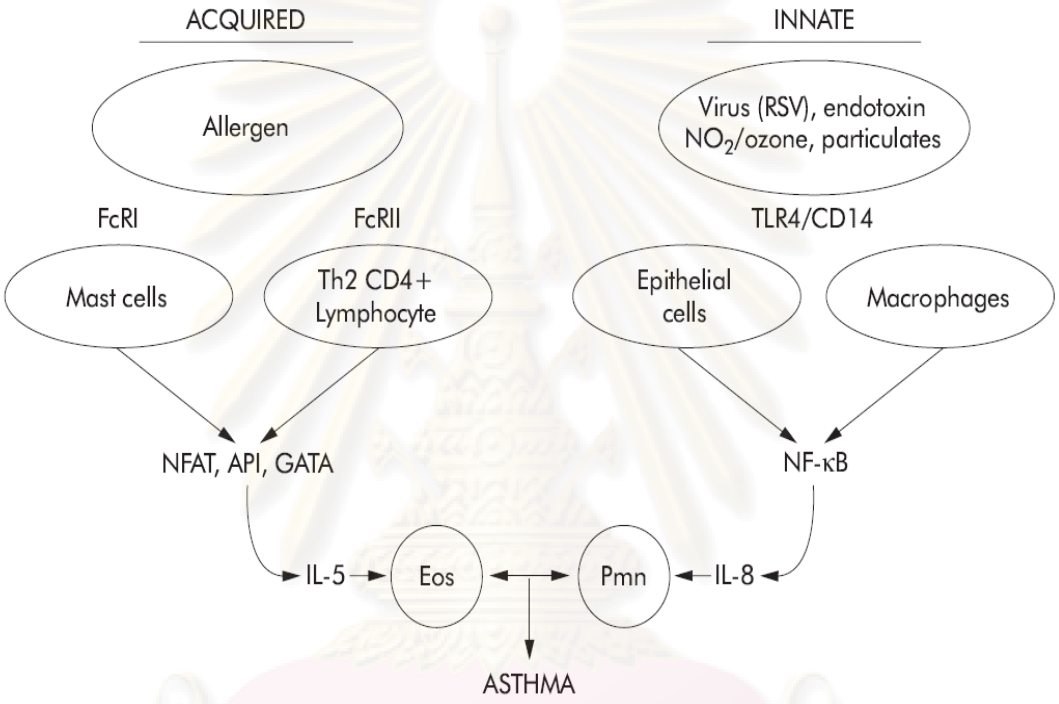


รูปที่18 แนวทางการกษาโรคหืดตาม GINA/NHLBI [12, 143]

2.2 โรคหืดไม่ได้เป็นเป็นภูมิแพ้ (Non-allergic asthma, Intrinsic asthma)

ผู้ป่วยโรคหืดที่ตรวจไม่พบสารก่อภูมิแพ้ จะวินิจฉัยว่าเป็นโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้มีอุบัติการณ์ในเด็กจะพบประมาณ 30 – 60 % ในผู้ใหญ่จะพบ 44 – 60% [144] ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้คือ Early childhood infection, Prenatal infection, Chlamydia infection, Central obesity, การสูดหายใจ endotoxin, ozone, การเปลี่ยนแปลงอารมณ์, immune autoreacitivity และกรดไหลย้อน มีการศึกษาพบว่าเมื่อสูดหายใจสาร endotoxin เข้าไปจะทำให้เกิดโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้โดยผ่าน macrophage และ monocyte ทำให้มีการสร้างและหลั่ง pro-inflammatory เช่น IFN-α, IL-1 และ IL-8 ไซโตไคน์ IL-8 จะหลั่งออกมาจาก monocytes และ fibroblasts จะไปกระตุ้น neutrophils ให้มีการหลั่งสารอื่นๆออกมารวมทั้ง histamine ที่จะไปทำให้

หลอดลมเกิดการหดตัวและไปกระตุ้น Basophil ให้หลั่งสาร leukotriene ออกมาซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการอักเสบและหลอดลมหดตัวได้เช่นกัน [145] โรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้นั้นน่าจะเป็นโรคที่เกิดจาก innate immunity มากกว่าเกิดจาก acquired immunity (รูปที่19) โดยจะสารที่กระตุ้นจะผ่านทาง TLR4/CD14 ทำให้เซลล์ที่ได้รับสารกระตุ้นมีการตอบสนองโดยการสร้างไซโตไคน์ IL-8 ออกมา



รูปที่19 การเกิดการอักเสบจาก neutrophil ในโรคหืด [145]

ในการศึกษาที่ผ่านมาในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้เทียบกับผู้ป่วยโรคหืดที่ไม่เป็นภูมิแพ้ยังมีการศึกษาน้อย ที่มีการศึกษาพบว่าพยาธิสภาพในทางเดินหายใจของผู้ป่วยสองกลุ่มนี้เหมือนกันมากกว่าจะแตกต่างกัน เนื่องจากโรคหอบหืดเป็นโรคของ Chronic airway inflammation จึงมีการศึกษาหาพยาธิสภาพในช่วงแรกๆด้วยวิธีทำให้ผู้ป่วยไม่สบาย (invasive) โดยเริ่มจาก Marc Humbert และคณะในปี พ.ศ. 2542 ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้เทียบกับผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ ในผู้ป่วย10 คน ทำbronchial biopsy แล้วพบว่าระดับcytokines ที่หลั่งมาจากหรือเกี่ยวข้องกับ T helper2 lymphocyte และ eosinophil คือ IL-3, IL-4, IL-5, IL-13 และ GM-CSF เพิ่มขึ้นมากกว่าคนธรรมดาแต่ไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยสองกลุ่ม ระดับ chemotactic cytokines คือ Eotaxin, RANTES, MCP-3 และMCP-4 เพิ่มขึ้นมากกว่าคนธรรมดาแต่ไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยสอง

กลุ่ม พบว่าตัวที่แตกต่างคือ $CD68^+$ macrophage พบในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้มากกว่าในผู้ป่วยเป็นภูมิแพ้ การศึกษานี้เป็นการศึกษาเดียวที่พบว่า $CD68^+$ macrophage เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ [4]

Kawa Amin และคณะในปี พ.ศ. 2543 ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบในผู้ป่วยสองกลุ่มโดยการทำ bronchial biopsy ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ 13 คน และโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ 9 คนพบว่าจำนวน eosinophil, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ และ $CD25^+$ T lymphocyte, IL-4 และ IL-5 สูงขึ้น ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ มากกว่าผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ ตรงกันข้ามกันกับ Neutrophil และ IL-8 จะสูงขึ้นในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้มากกว่าในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ ซึ่งหลายการศึกษาต่อมาก็พบระดับ neutrophil และ IL-8 สูงขึ้นเช่นกัน [146]

E. Truyen และคณะในปี พ.ศ. 2549 ได้ทำการศึกษาภาวะ airway inflammation โดยดู cytokines ของ T helper1 lymphocyte และ T helper2 lymphocyte จากการ induced sputum ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ 21 คนเทียบกับผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ 17 คน พบว่าระดับที่สูงขึ้นของ sputum mRNA ของ IL-4, IL-5, IL-13 สัมพันธ์กับจำนวน Eosinophil ที่สูงขึ้น พบในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้มากกว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ ส่วนระดับของ IFN-γ สูงขึ้นในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมแพ้มากกว่าผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ [147] จากการศึกษาที่ผ่านมาจากการตรวจด้วยวิธี invasiveในหลอดลมของผู้ป่วยพบว่าในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้จะพบ eosinophil เพิ่มขึ้น ซึ่งจะสัมพันธ์กับระดับของของ T helper2 lymphocyte คือ IL-4, IL-5 และ IL-13 ที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ แต่ระดับของ eosinophil และ IL-4, IL-5 และ IL-13 ก็สูงขึ้นเหมือนกันถ้าเทียบกับคนปกติ ในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้จะพบ macrophage และ neutrophil สูงกว่าในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ และสูงกว่าคนปกติ และพบว่าระดับของ IL-8 สูงขึ้นเช่นกัน ตัว IL-8 จะหลั่งออกมาจาก macrophage และ fibroblast เมื่อมีภาวะ inflammation และจะดึงดูด neutrophil เข้ามาในบริเวณที่มี inflammation สาร IFN-γ หลั่งมาจาก T helper1 lymphocyte เป็นสาเหตุของ severe airway inflammation

การศึกษาอื่นๆดูพยาธิสภาพของโรคหืดภูมิแพ้เปรียบเทียบกับโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ สาร adhesion molecule พบว่า sE-Selection ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้และในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้มากว่าคนปกติ ซึ่งปริมาณที่สูงขึ้นจะสัมพันธ์กับค่าการทำงานของปอดที่ไวต่อสิ่งกระตุ้นมากขึ้นในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ [148] มีการศึกษาเรื่อง autoimmune reactivity นั้นพบว่าเมื่อนำผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ไปทำ autologous serum skin test พบผล positive 58% ในขณะที่ทำในคนปกติไม่เกิดปฏิกริยาใดๆ [149] ตัว Inflammatory marker ที่มีการศึกษาการมากคือ High sensitivity C reactive protein (HsCRP) พบว่ามีปริมาณสูงขึ้นเข้าได้กับอาการและความรุนแรงใน

ผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ [150] จะเห็นว่าผู้ป่วยโรคหืดภูมิไม่เป็นภูมิแพ้น่าจะมีอาการอักเสบของทางเดินหายใจมากกว่าผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้

การรักษาผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ มีงานวิจัยที่ศึกษาถึงการให้ ICS ในผู้ป่วยโรคหืดไปไม่เป็นภูมิแพ้ระดับความรุนแรงน้อยถึงปานกลางให้ยา beclomethasone dipropionate ไป 12 สัปดาห์พบว่าค่าสมรรถภาพของปอด FEV1 ดีขึ้น ซีรั่ม ECP ลดลง และค่า exhaled NO ลดลง ถ้าให้ ICS ปริมาณมากขึ้นผู้ป่วยจะมีอาการดีขึ้นเร็วกว่าเริ่มให้ปริมาณน้อย [151] แต่ถ้าไปดูผู้ป่วยในกลุ่มโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ จะมีการตอบสนองต่อ ICS ที่ลดลง และพยาธิสภาพของระบบทางเดินหายใจจะคล้ายกับผู้ป่วยถุงลมโป่งพอง ถุงลมโป่งพอง คือมีการอักเสบของหลอดลมที่เกิดจาก macrophage และ neutrophil (ตารางที่12)

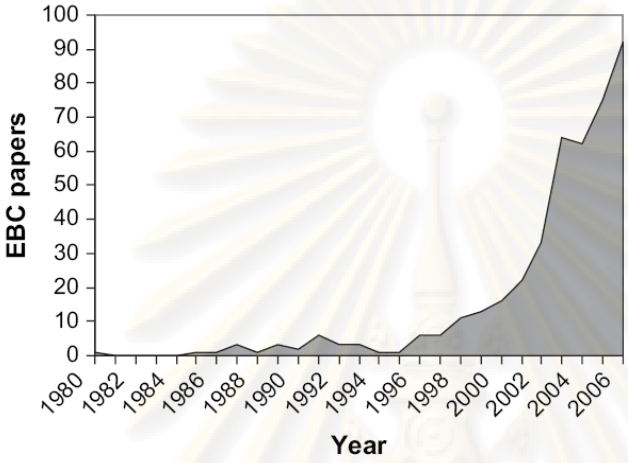
ตารางที่12 เปรียบเทียบความรุนแรงของการอักเสบในโรคหืดกับถุงลมโป่งพอง [114]

	Asthma			COPD		
	Mild	Severe	Exacerbation	Mild	Severe	Exacerbation
Neutrophils	0	++	++++	++	+++	++++
Eosinophils	+	++	+++	0	0	+
Mast cells	++	+++	+++?	0	0	?
Macrophages	+	+	?	+++	++++	++++
T cells	T_H2 cells: ++ iNKT cells: ?	T_H1 cells: + T_H2 cells: + T_C1 cells: + T_C2 cells: +? T_H17 cells: ?	?	T_C1 cells: +	T_C1 cells: +++ T_H1 cells: +++ T_H17 cells: ?	?
B cells	IgE producing	IgE producing	?	+	+++	?
Dendritic cells	+	?	?	+?	+?	?
Chemokines	CCL11: +	CXCL8: +	CXCL8: ++	CXCL8: + CXCL1: + CCL2: +	CXCL8: ++	CXCL8: +++
Cytokines	IL-4: ++ IL-5: ++ IL-13: ++	TNF: ++	?	TNF: +	TNF: ++	TNF: +++
Lipid mediators	LTD_4: ++ PGD_2: +	LTB_4: ++ PGD_2: +	?	LTB_4: +	LTB_4: ++	LTB_4: +++
Oxidative stress	0	++	+++	++	+++	++++
Steroid response	++++	++	+	0	0	0

2.3 วิธีการเก็บน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจ (Exhaled breath condensate)

เครื่องมือ exhaled breath condensate (EBC)ได้มีการนำมาศึกษาเพื่อใช้วิจัยเกี่ยวกับ biomarker ของโรคระบบทางเดินหายใจ มีการศึกษาและลงตีพิมพ์เป็นที่ยอมรับเพื่อใช้ในการวิจัยมากขึ้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมา [152] การให้ผู้ป่วยหายใจแล้วเอาน้ำที่กลั่นตัวออกมาจากลมหายใจมาตรวจเป็นวิธีที่ non-invasive ทำให้ผู้ที่รับการตรวจด้วยวิธีนี้ให้ความร่วมมือในการศึกษาเป็นอย่างดี หลักการของ EBC คือ หยดน้ำขนาดเล็กในทางเดินหายใจที่เกาะกับผนังทางเดินหายใจ จะมีการ

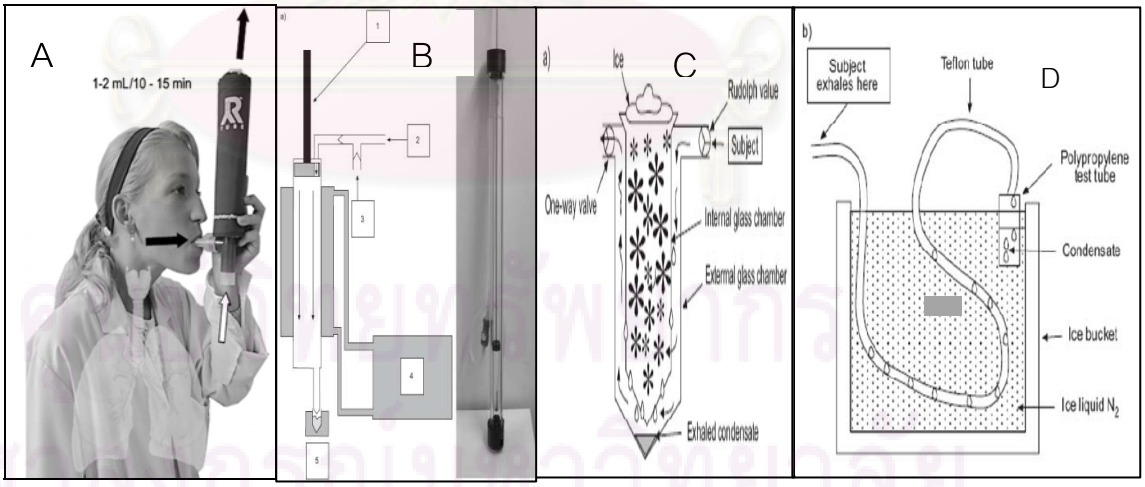
ระเหยออกมาพร้อมกับลมหายใจออก เมื่อหยดน้ำที่ระเหยออกมาพร้อมกับลมหายใจออกไปกระทบกับตัว condenser หยดน้ำที่ระเหยออกมาเมื่อผ่านความเย็นจะไปรวมตัวกับหยดน้ำที่ใหญ่กว่าในผนังของ condenser ถ้าให้ผู้เข้าตรวจหายใจผ่านเครื่องประมาณ 10 นาที จะได้ของเหลว1- 4ml [11]



<u>แผนภูมิที่5</u> มีงานวิจัยออกมามากขึ้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมาเกี่ยวกับ EBC [152]

ของเหลวในที่เก็บจากวิธี EBC ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำ > 99% และส่วนที่เหลือเป็นสารที่ปนออกมากับลมหายใจซึ่งมีคุณสมบัติ hydrophobic และ water-soluble molecules ซึ่งเมื่อผ่านท่อ condenser จะไปเกาะและรวมตัวกับหยดน้ำที่อยู่ใน condenser โดย aerosol particles จะอยู่ในช่วงระหว่าง 0.1–4 particles.cm-3 ซึ่งค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3 mm มีการศึกษาพบว่าวิธีเก็บน้ำที่ได้จากลมหายใจผ่านทางปากเปรียบเทียบกับที่ได้จากท่อ tracheostomies และendotracheal tubes ค่า pH และ Thrombaxane B2 (TxB2) ไม่แตกต่างกัน ยังไม่มีการศึกษาว่าโรคในปากเช่น เหงือกอักเสบจะมีผลต่อน้ำที่เก็บด้วย EBC หรือไม่ มีการศึกษาต่อมาว่าถ้าให้ผู้ป่วยหายใจเข้าทางจมูกและหายใจออกทางปากจะมีผลต่อ EBC หรือไม่ พบว่าถ้าจะมีผลเกิดจากสองอย่างคือ อย่างแรกการหายใจเข้าทางจมูกจะมีการปรับความชื้นที่ทางเดินหายใจส่วนบน และสองหายใจเข้าทางจมูกจะได้ไซโตไคน์ที่อยู่ในจมูกกับไซนัสเข้าไปในทางเดินหายใจส่วนล่าง มีการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบวิธีการสองวิธีคือ nasal inhalation-oral exhalation กับ oral inhalation-oral exhalation พบว่าการหายใจเข้าทางจมูกจะได้ลมหายใจออกมากกว่า แต่ไม่พบความแตกต่างกันของ adenosine, TxB2 และ ammonia ในคนปกติ อย่างไรก็ตามถ้าพบว่ามีโรคที่มีการอักเสบของจมูกจะทำให้ค่า adenosine เพิ่มขึ้น ทาง ERS/ATS แนะนำให้เก็บ EBC ด้วยวิธี oral inhalation -oral exhalation จะมีหรือไม่มี noseclip ก็ได้ การที่มี noseclip เพื่อป้องกันไม่ให้เผลอมีการหายใจทางจมูก [11] มีการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลกระทบต่อสิ่งส่งตรวจดังนี้

1. เครื่องมือในการเปลี่ยนก๊าสให้เป็นของเหลว (Condensing equipments) จากหลายการศึกษาพบว่ามีการใช้อุปกรณ์หลากหลายที่ใช้เป็นท่อในเครื่องที่ทำให้แก๊สเป็นของเหลว เช่น Teflon, polypropylene tubing (รูปที่20) ซึ่งมักมีขนาดและเส้นผ่าศูนย์กลางที่แตกต่างกัน หรือมีการใช้ double-wall glass chambers ตัวที่ทำให้เกิดความเย็นที่ใช้ก็แตกต่างกันเช่น น้ำแข็ง น้ำแข็งแห้ง อากาศเย็น หรือ เหล็ก มีการศึกษาเปรียบเทียบถึงการใช้อุปกรณ์ที่แตกต่างกัน 4 ชนิดคือ แก้ว, silicone, EcoScreen ®(Erich Jaeger GmbH, Hoechberg, Germany) และ optimised glass condenser และนำน้ำที่เก็บจาก EBC ไปตรวจ H2O2, 8-isoprostane, cytokines ด้วยวิธี multiplexed xMAP® technology พบว่าเมื่อเก็บด้วย optimised glass condenser นาน 15 นาทีจะได้ปริมาณน้ำ ออกมามากเฉลี่ย 2,025 μL และตรวจ H2O2, 8-isoprostane, interleukin-2, -4, -5, -13 และ TNF-α ได้ค่าสูงกว่าเครื่องมืออื่น [153] แต่โดยทั่วไปงานวิจัยที่ได้ลงตีพิมพ์มักจะใช้เครื่องมือที่ซื้อจากบริษัทมากกว่า (รายชื่อเครื่องมือที่มีขายใช้ในงานวิจัย ตารางที่13) เนื่องจากมี one-way inspiratory valves เพื่อที่จะแน่ใจได้ว่าผู้ป่วยไม่หายใจเอาอากาศเย็นเข้าไป ซึ่งมีส่วนสำคัญในการป้องกันภาวะ unintentional cold air challenge ถ้าจะใช้เครื่องมือ condenser ที่ประกอบเองต้องมีรายละเอียดเกี่ยวกับ salivatrap, resistance, พื้นผิวของ condenser, วิธีทำความเย็น, อุณหภูมิภายใน condenser, และคงที่หรือไม่ในช่วงเวลาที่หายใจ



<u>รูปที่20</u> เครื่องมือในการเปลี่ยนก๊าสให้เป็นของเหลว A.commercial EBC B. optimised glass condenser C. อุปกรณ์ทำจากแก้ว D. อุปกรณ์ทำจาก Teflon tube

ตารางที่13 รายชื่อเครื่องมือ EBC ที่มีขายและใช้ในงานวิจัย ชื่อบริษัท ข้อดีและข้อเสีย [152]

EBC collection system	Manufacturer	Advantages	Disadvantages
ECoScreen I and ECoScreen II	Viasys, USA, Europe	Most commonly published EBC collection system. More common in European centers. Optional package for determination of total exhaled volume.	Not readily portable. Cleaning between patients may need to be extensive to abide by standard respiratory care practices. No ability to control condensation temperature (ECo 1).
RTube	Respiratory Research, USA	More total EBC collections performed using RTube than other systems. Multiple collections can be performed concurrently. More common in North American centers. Disposable (no cleaning between patients) and portable. Can be prepared for use in a standard freezer.	Choice and maintenance of set condensing temperature requires optional cooling unit, otherwise condensation temperature is chosen by cooling sleeve preparation temperature and rises during collection.
Anacon	Biostec, Spain	Controllable temperature of collection. Designed for use on ventilated patients	Few publications.
TurboDeccs	Italchil, Italy	Has both nondisposable and disposable portions. Controllable collection temperature. Moderately portable. Readily cleanable because of disposable components.	Few publications. Simple system. One collection at a time.

2. ความมีประสิทธิภาพ, ระยะเวลา, และอุณหภูมิ ของ condensation โดยทั่วไปถ้าหายใจ 10 นาทีจะได้น้ำประมาณ 3 ml ส่วนใหญ่ระยะเวลาที่เก็บที่ทำในงานวิจัยที่ลงตีพิมพ์จะให้หายใจประมาณ 10 – 30 นาที การศึกษาที่สั้นที่สุดใช้เวลา 3 นาทีนาที่สุดประมาณ 60 นาทีในการศึกษาที่ใช้ระยะเวลา 10 นาทีในการศึกษาเพราะว่าน้ำแค่ 1-2 mlก็เพียงพอต่อการตรวจเป็นเวลาที่ผู้ใหญ่และเด็กอายุ 4 ปีขึ้นไปสามารถทำได้ และผู้ป่วยสามารถทนได้ไม่มีอาการเหนื่อย หมดความสนใจ โดยเฉพาะในเด็ก อุณหภูมิที่ใช้ในการทำจะอยู่ที่ 0 °C เมื่อใช้น้ำแข็งผสมเกลือ และสามารถทำความเย็นได้ด้วยวิธีอื่นเช่น น้ำแข็งแห้ง ไนโตรเจนเหลว ผ้าห่มทำความเย็น ตู้ทำความเย็น อุณหภูมิในเครื่อง EBC และเวลาจะสำคัญมากในการเก็บสารที่ไม่ค่อยคงที่เช่น leukotriene และ purine มีการศึกษาถึงอุณหภูมิภายในเครื่อง

EBC ในการเก็บสาร biomarker ที่อุณหภูมิ -10, -5, 0 และ 5 ºC พบว่า จะได้ปริมาณน้ำมากขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ สาร hydrogen peroxide และ malondialdehyde จะเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บในอุณภูมิสูง [154]

3. อากาศแวดล้อม ถ้าในอากาศมีโมเลกุลมากอาจมีผลต่อ EBC เนื่องจากว่าถ้าในอากาศมีโมเลกุลปริมาณมากเมื่อมีการหายใจอาจทำให้เกิดการอักเสบภายในหลอดลมขึ้น ค่าความเร็วลม อุณหภูมิ และความชื้นของอากาศเวลาหายใจเข้าจะมีผลต่อปริมาณและสารที่เก็บจาก EBC
4. ลักษณะการหายใจ ลมหายใจออกจะมีผลต่อค่า NO2 และสารที่ระเหยง่าย เช่น H2O2 เมื่อหายใจ flow มากค่า H2O2 จะลดลง แต่ถ้าหายใจ flow ต่ำๆ จะมีผลน้อย ให้หายใจ Tidal volume ปกติ
5. สมรรถภาพปอด พบว่าสมรรถภาพปอดไม่มีผลต่อปริมาณน้ำที่เก็บได้ แต่พยาธิสภาพในปอดจะมีผลต่อค่า mediator ที่อาจแตกต่างกัน
6. เพศและอายุ มีการศึกษามากมายทีหลากหลาย พบว่าเด็กกับผู้ใหญ่ใช้เทคนิคแบบเดียวกัน อายุและน้ำหนัก ไม่มีผลกับปริมาณน้ำ และ H2O2 ที่เก็บได้จาก EBC
7. อาหาร ยังไม่มีข้อมูลการศึกษาที่มากพอ แต่อาหารที่มีส่วนประกอบของคาแฟอีน อาจมีผลได้
8. Circadian rhythm มีการศึกษาทั้งในคนปกติ และผู้ป่วยโรคถุงลมโป่งพองพบว่า Circadian rhythm ไม่มีผลต่อ pH แต่สาร mediator อื่นๆยังไม่มีการศึกษา
9. การสูบบุหรี่ จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสาร mediator ที่ต้องการจะวัดเช่นคนปกติจะมีการเพิ่มขึ้นของ H2O2, 8-isoprostane และ nitrotyrosine ถ้าสูบบุหรี่ในผู้ป่วยโรคหืดจะทำให้ H2O2 เพิ่มขึ้น
10. โรคทางระบบ พบว่าไม่มีผลต่อวิธีการ EBC แต่อาจมีผลต่อสาร mediator เช่นพบว่าผู้ป่วยโรคไตที่มีอาการทาง uremic มีระดับ H2O2 สูงกว่าคนปกติ 20 เท่า
11. ยา พบว่ายาอาจมีผลต่อสาร mediator แต่การศึกษายังมีไม่มากพอ มีการศึกษาผลของ salbutamol ให้พ่น 800 μg มีการเพิ่มขึ้นของ pH มีการลดลงของ nitrosative species และ 8-isoprostane [155]
12. การปนเปื้อนของน้ำลาย มีการศึกษาหลายการศึกษาพบว่าสารบางอย่างที่มีในปอดแต่ไม่มีในน้ำลายจะไม่มีผลต่อ EBC แต่สารที่มีทั้งในน้ำลายและในปอดอาจมีผลต่อสาร mediator ที่ต้องการจะตรวจได้ มีการศึกษาเกี่ยวกับไซโตไคน์ในน้ำลายกับในปอดในผู้ป่วยโรคหืด ใช้วิธีการตรวจ cytokine protein array พบว่าค่าความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำลาย 2,398

μg/ml น้ำจาก EBC 4.6 μg/ml ส่วนใหญ่ปริมาณไซโตไคน์จาก EBC จะสูงกว่าน้ำลาย (ตารางที่14) การศึกษานี้น้ำลายไม่น่าจะมีผลต่อไซโตไคน์จาก EBC [156] มีหลายเทคนิคที่จะหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของน้ำลายเช่น การใช้ salivary trap, ให้ condenser สูงกว่าปาก แยก mouth piece จาก condenser โดยใช้ท่อที่ยาวขึ้น มีหลายๆการศึกษาที่ตรวจ alpha amylase แต่ก็ไม่จำเพาะกับน้ำลาย มีการศึกษาพบว่าสามารถพบ amylase ได้จากปอดเช่นกัน การที่เจอ amylase ไม่ได้หมายความว่ามีน้ำลายปน

ตารางที่14 เปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์ที่จาก EBC กับน้ำลาย [156]

Cytokines	EBC(%)	Saliva(%)	p value	Cytokines	EBC(%)	Saliva(%)	p value
TNF-β	41.4 (36.6–51.6)	43.8 (33.8–52.6)	0.721	IL-16	10.3 (8.5–21.9)	11.4 (3.5–17.2)	0.386
IP-10	37.0 (28.0–37.9)	36.6 (28.2–50.1)	0.575	M-CSF	10.3 (8.1–14.2)	12.4 (8.9–21.8)	0.139
TNF-α	34.3 (25.9–43.8)	32.9 (24.8–46.3)	0.333	GCSF	9.9 (5.2–12.1)	5.6 (2.3–6.9)	0.028
RANTES	25.8 (21.4–44.5)	29.7 (15.9–49.2)	0.575	IL-2	9.9 (8.0–26.9)	10.9 (4.4–22.1)	0.799
TGF-β1	21.8 (16.3–31.5)	24.0 (14.3–36.8)	0.959	MIP-1α	9.6 (8.2–16.8)	18.1 (7.1–19.5)	0.575
MIP-1β	20.8 (16.8–30.3)	32.9 (19.6–52.4)	0.241	MCP-1	8.7 (6.8–15.1)	51.2 (38.7–62.5)	0.005
IL-15	15.9 (6.2–26.6)	11.5 (5.4–14.3)	0.114	IL-17	8.2 (5.1–10.5)	6.1 (5.4–7.1)	0.386
EOTAXIN2	15.5 (14.5–23.0)	12.4 (5.4–20.3)	0.037	IL-1β	7.9 (4.6–20.9)	56.3 (9.3–199.6)	0.017
IL-8	15.5 (12.2–19.7)	174.8 (108.1–358.8)	0.005	IL-6	6.9 (4.4–9.4)	5.9 (2.4–7.9)	0.386
PDGF-BB	14.0 (10.6–17.5)	16.8 (11.3–23.2)	0.386	MIG	6.7 (5.0–6.9)	8.7 (4.4–13.1)	0.333
IL-6sR	13.3 (7.6–14.6)	11.9 (9.2–15.9)	0.799	I-309	6.5 (3.0–8.0)	4.6 (1.3–7.3)	0.241
EOTAXIN	13.2 (10.5–21.8)	10.1 (5.4–17.8)	0.013	IL-12p40	4.8 (3.4–7.2)	8.1 (2.9–12.3)	0.799
sTNF R II	13.1 (10.5–14.1)	16.2 (13.5–19.0)	0.386	IFN-γ	4.7 (4.2–11.3)	5.1 (1.4–6.7)	0.093
TIMP-2	12.9 (9.0–15.7)	56.7 (48.2–110.4)	0.005	GM-CSF	4.6 (3.2–5.6)	2.3 (1.8–4.8)	0.028
IL-10	12.5 (10.0–20.6)	18.6 (13.1–25.0)	0.093	IL-13	4.6 (1.6–13.0)	5.4 (2.4–14.3)	0.508
MIP-1δ	12.5 (5.9–18.7)	19.3 (5.2–32.4)	0.169	MCP-2	4.1 (3.1–8.4)	5.0 (4.6–9.1)	0.508
IL-3	11.5 (7.0–21.5)	5.8 (3.6–13.8)	0.114	ICAM-1	4.0 (2.9–6.1)	14.9 (13.4–19.0)	0.009
sTNF-R I	11.1 (10.6–19.3)	32.6 (20.6–45.9)	0.009	IL-7	3.3 (2.3–5.4)	5.4 (4.3–9.1)	0.047
IL-1α	10.7 (7.7–18.2)	8.4 (2.3–12.6)	0.093	IL-12p70	3.0 (2.0–5.4)	4.8 (0.3–9.7)	0.721
IL-4	10.4 (7.4–15.9)	8.7 (4.5–11.7)	0.241	IL-11	1.8 (1.1–3.6)	2.8 (2.1–6.9)	0.333

การเก็บสิ่งส่งตรวจ น้ำที่ได้จาก EBC ควรจะแช่แข็งทันทีที่ -70°C จนกว่าจะตรวจสาร mediator ควรหลีกเลี่ยงกระบวนการ multiple frosting-defrosting cycles เนื่องจากว่าอาจมีการทำลาย mediators เช่น prostaglandins, leukotrienes และ H2O2 ได้ ยังไงก็ตามสารบางตัวอาจ

ไม่คงที่หากแช่ไว้ระยะเวลานานๆ เช่น H2O2 ปริมาณจะลดลงได้ไม่กี่วัน สาร Cysteinyl-leukotrienes จะไม่คงที่เมื่ออยู่ในของเหลว มีรายงานว่า pH ยังคงที่หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 2 ปี [11]

งานวิจัยที่ทำการศึกษา EBC สามารถตรวจ mediator ได้หลายชนิด คือ H2O2, Nitrogen oxides and related products, Adenosine, Arachidonic acid metabolites, Leukotrienes, 8-isoprostane, pH, Ammonia (NH3/NH4) และ Cytokines [11]

2.4 ไซโตไคน์ (Cytokines)

ไซโตไคน์เป็น extracellular signalling สารโปรตีนขนาดจะน้อยกว่า 80 kD และส่วนใหญ่จะเป็น glycosylated สารไซโตไคน์สามารถสร้างได้จากหลายๆเซลล์ ซึ่งจะทำให้เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเซลล์โดยผ่านทาง specific receptor บนผิวของเซลล์เป้าหมาย ไซโตไคน์ที่สร้างออกถ้าออกฤทธิ์ที่เซลล์ข้างเคียงเรียกว่า paracrine ถ้าออกฤทธิ์กับเซลล์อื่นที่อยู่ไกลออกไปเรียก endocrine และถ้าออกฤทธิ์กับเซลล์ที่สร้างขึ้นมาเรียกว่า autocrine กลไกของไซโตไคน์นอกจะทำให้เกิดการสื่อสารระหว่างเซลล์แล้ว ยังมีหน้าที่อื่นอีกเช่น growth factors ไซโตไคน์ที่ทำหน้าที่ดึงดูดเซลล์ตัวอื่น (chemokines) การที่ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์เป้าหมายจะทำให้เกิดการทำงานของเซลล์ เช่น ถูกกระตุ้นให้ทำงาน มีการแบ่งตัว มีการดึงดูดเซลล์อื่นเข้ามา ควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน มีการปล่อยสารไซโตไคน์อื่นๆ เพื่อทำให้เซล์มีการเจริญเติบโต แบ่งเซลล์เพิ่มมากขึ้น หรือทำให้เซลล์ตาย [157] ไซโตไคน์ในโรคหืดถ้าจะแบ่งเป็นกลุ่มตามการทำงานได้ดังนี้

1. Lymphokines: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17
2. Pro-inflammatory cytokines: IL-1, TNF, IL-6, IL-11, GM-CSF, SCF
3. Anti-inflammatory cytokines: IL-10, IL-1ra, IFN-γ, IL-12, IL-18
4. Chemotactic cytokines (chemokines): RANTES, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MCP-5, MIP-1α, eotaxin, IL-8
5. Growth factors: PDGF, TGF-β, FGF, EGF, IGF

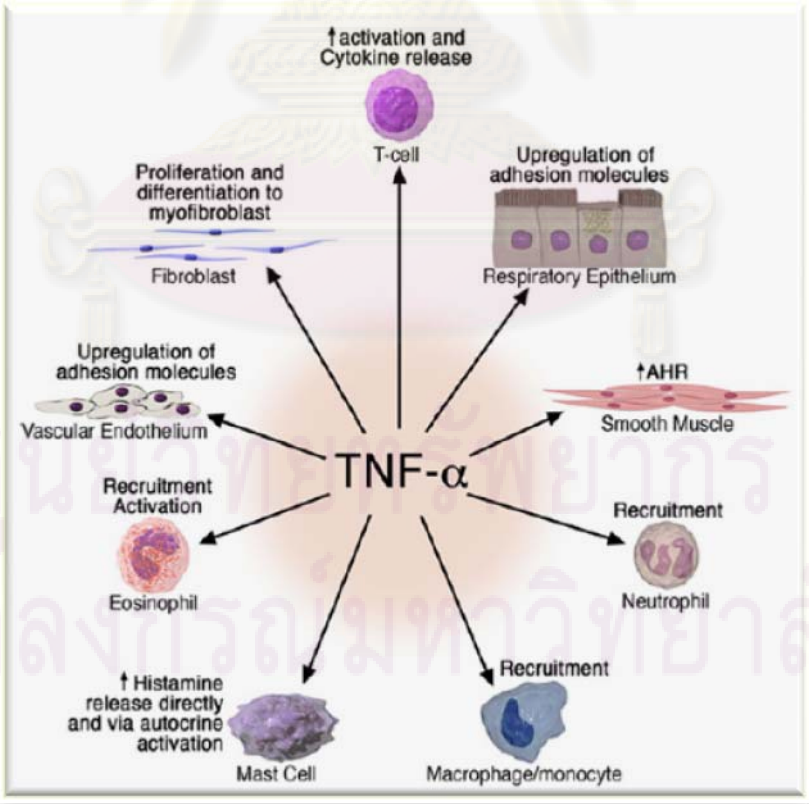
หน้าที่ของไซโตไคน์แต่ละชนิดดูได้ตามตารางที่15 บทบาทของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้จะเป็นไซโตไคน์ที่สร้างมาจาก Th2 cell คือ IL-4 (เพิ่มการแบ่งตัวจาก naive Th0 cells ไปเป็น Th2 cells และกระตุ้นการหลั่ง IL-4, IL-5, IL-9 and IL-13, IL-5 (กระตุ้น B cell ให้มีการสร้าง Ig, เป็นปัจจัยทำให้ eosinophil มีการเติบโตและแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้น), IL-13 (กระตุ้นการสร้าง IgE), IL-9 (ทำให้เกิด AHR) ไซโตไคน์ที่สร้างมาจาก Th1 คือ IFN-γ (ยับยั้งการแบ่งตัวของ Th2 และการเกิดภูมิแพ้), IL-12 (ส่วนใหญ่สร้างมาจาก DC และ macrophage ทำให้เกิดการแบ่งตัวของ Th1), IL-18 (IFN-γ releasing factor), IL-27 (ยับยั้งการทำงาน Th2) [158]

ตารางที่15 หน้าที่ของไซโตไคน์แบ่งตามหน้าที่การทำงาน [157]

	Important cellular and mediator effects
Lymphokines	
IL-2	• Eosinophilia in vivo • Growth and differentiation of T cells
IL-3	• Eosinophilia in vivo • Pluripotential haematopoietic factor
IL-4	• Eosinophil growth ↑ • Th2 cells ↑; Th1 cells ↓ • IgE ↑
IL-5	• Eosinophil maturation • Apoptosis ↓ • Th2 cells ↑ • BHR
IL-13	• Activates eosinophils • Apoptosis ↓ • IgE ↑
IL-15	• As for IL-2 • Growth and differentiation of T cells
IL-16	• Eosinophil migration • Growth factor and chemotaxis of T cells (CD4+)
IL-17	• T cell proliferation • Activates epithelia, endothelial cells, fibroblasts
Pro-inflammatory	
IL-1	• Adhesion to vascular endothelium ↑; eosinophil accumulation in vivo • Growth factor for Th2 cells • B cell growth factor; neutrophil chemoattractant; T cell and epithelial activation • BHR
TNF-α	• Activates epithelium, endothelium, antigen presenting cells, monocytes/ macrophages • BHR
IL-6	• T cell growth factor • B cell growth factor • IgE ↑
IL-11	• B cell growth factor • Activates fibroblast • BHR
GM-CSF	• Eosinophil apoptosis and activation; induces release of leukotrienes • Proliferation and maturation of haematopoietic cells; endothelial cell migration • BHR
SCF	• VCAM-1 on eosinophils ↑ • Growth factor for mast cells
Inhibitory cytokines	
IL-10	• Eosinophil survival ↓ • Th1 and Th2 cells ↓ • Monocyte/macrophage activation ↓; B cells ↑; mast cell growth ↑ • BHR ↓
IL-1ra	• Th2 proliferation ↓ • BHR ↓
IFN-γ	• Eosinophil influx after allergen ↓ • Th2 cells ↓ • Activates endothelial cells, epithelial cells, alveolar macrophages/monocytes • IgE ↓ • BHR ↓
IL-18	• via IFN-γ release ↓ • Releases IFN-γ from Th1 cells • Activates NK cells, monocytes • IgE ↓
Growth factors	
PDGF	• Fibroblast and airway smooth muscle proliferation • Release of collagen
TGF-β	• T cell proliferation ↓ • Blocks IL-2 effects • Fibroblast proliferation • Chemoattractant for monocytes, fibroblasts, mast cells • ASM proliferation ↓

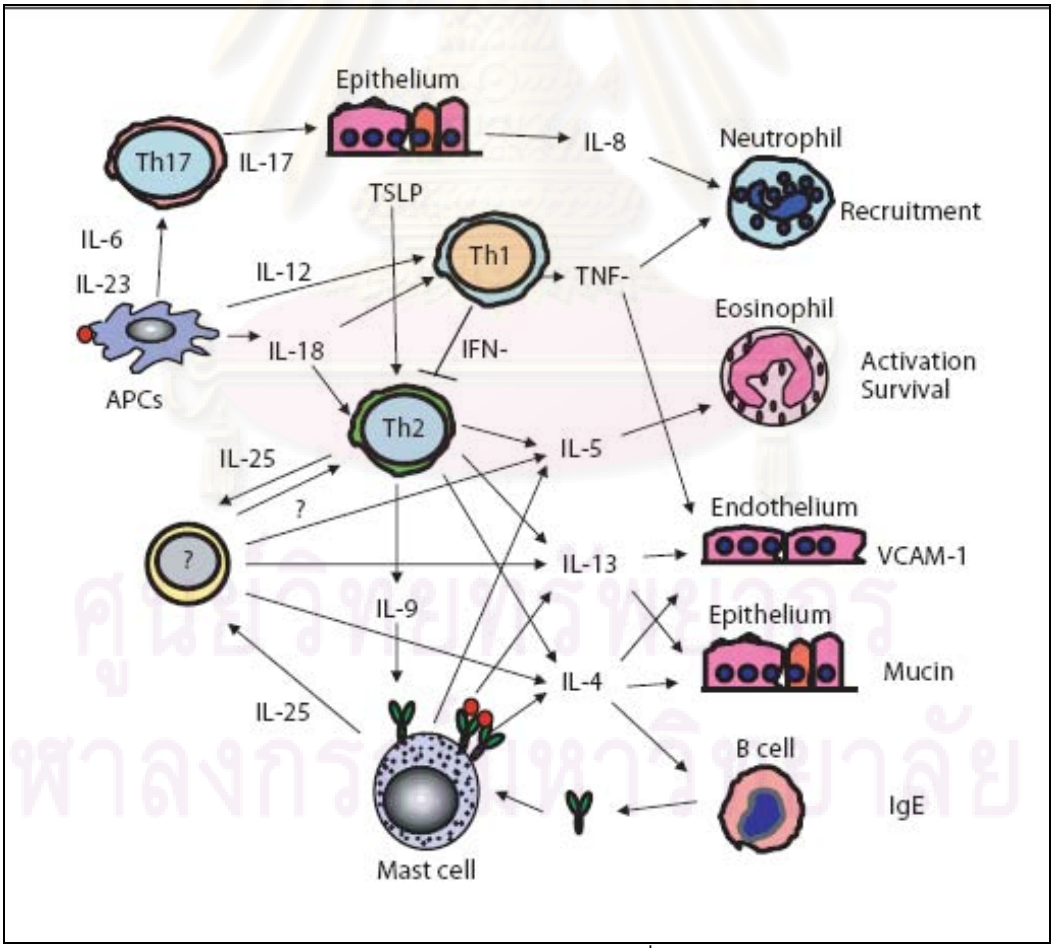
IL = interleukin; TNF = tumour necrosis factor; GM-CSF = granulocyte-macrophage colony stimulating factor; SCF = stem cell factor; IFN = interferon; PDGF = platelet derived growth factor; NK = natural killer; Th cells = T helper cells; BHR = bronchial hyperresponsiveness; VCAM = vascular adhesion molecule; ASM = airway smooth muscle.

ในการอักเสบที่เกิดจากภูมิแพ้ยังมี pro-inflammatory cytokine เช่น IL-17 family cytokine (ประกอบด้วย IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E หรืออีกชื่อคือ IL-25 และ IL-17F) โดย IL-17A กับ IL-17F จะสร้างมาจาก CD4+ Th17 cell ซึ่งเชื่อว่าเป็นพยาธิสภาพการเกิดโรคของ autoimmune disease หน้าที่ของ IL-17A และ IL-17F คือ ทำให้มีการหลั่งไซโตไคน์ IL-6, GMCSF และ CXCL10 จาก epithelial และ vascular endothelial cells และกระตุ้นให้มีการหลั่ง IL-8 จาก fibroblasts เนื่องจากว่า IL-17 สามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มขึ้นและเข้ามาของ neutrophil ได้ เป็นตัวสำคัญในโรคหืดระดับรุนแรง สาร IL-17 จึงเป็นตัวเชื่อมที่สำคัญระหว่าง activated T cell กับ neutrophil ให้เข้าในระบบทางเดินหายใจ สาร IL-25 จะสร้างมาจาก Th2 และ mast cell กระตุ้นให้มีการหลั่ง IL-4, IL-5 และ IL-13 ออกมาจาก Th2 เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ eosinophil และ IgE [158] pro-inflammatory cytokine ที่สำคัญอีกตัวคือ TNF-α ทำหน้าที่ดึงดูดเซลล์เม็ดเลือดขาว ทำให้มีการเพิ่มของ adhesion molecules เพิ่มการแบ่งตัวของ myofibrobast และทำให้เกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ พบว่า TNF-α เพิ่มสูงขึ้นใน severe asthma ผลของ TNF-α กับทางเดินหายใจผู้ป่วยโรคหืดดูได้จากรูปที่21 [159]



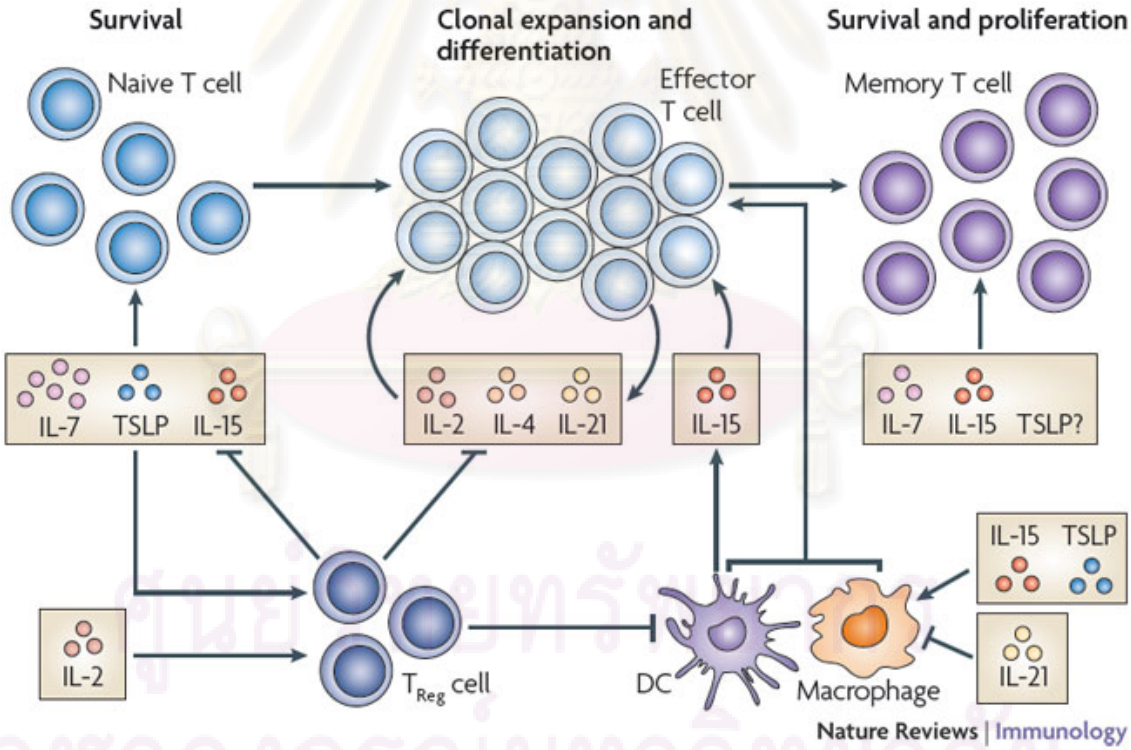
<u>รูปที่21</u> ผลของ TNF-α กับทางเดินหายใจในผู้ป่วยโรคหืด [159]

ผลของไซโตไคน์ตัวอื่นเช่น TSLP เป็น IL-17 like cytokine ทำให้เกิดการอักเสบที่เกิดจาก Th2 cell โดย TSLP จะแสดงออกมากจากเซลล์ skin keratinocytes และ epithelial cells ของทางเดินหายใจในช่วงที่มีการอักเสบจากภูมิแพ้ TSLP จะทำให้เกิด maturation ของ DCs โดยเฉพาะทำให้เกิด OX40L ยังกระตุ้นให้มีการสร้าง TNF-α และการสร้าง IL10 ไซโตไคน์ IL-21 สร้างมาจาก CD4+ T cells พบว่ามีหน้าที่ ลดการสร้าง IgE ไซโตไคน์ IL-31 เป็นสารที่ใกล้ชิดกับ oncostatin M, leukemia inhibitory factor และ cardiotrophin-1 จะแสดงอยู่บน activated CD4+ T cells มีปริมาณสูงใน T cells ที่ถูกกระตุ้นโดย Th2-polarizing condition ไซโตไคน์ IL-33 เป็น IL-1-like cytokine สร้างมาจากหลายๆเซลล์ เช่นเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ epithelial cells และ DCs ทำหน้าทีให้มีการสร้าง IL-5 และ IL-13 จาก Th2 [158] ดูความสัมพันธ์ของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดภูมิแพ้จากรูปที่22



รูปที่22 ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์กับไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบภูมิแพ้

ไซโตไคน์ตัวอื่นที่น่าสนใจที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยคือ IL-2 เป็น cellular immunity เริ่มจากการกระตุ้น T cells ด้วย antigen (signal 1)และมี accessory signals ระหว่าง B7 molecules (CD80 หรือ CD86) กับ CD28 (signal 2) และ ไซโตไคน์ IL-1 และ IL-6 (signal 3) จะกระตุ้นให้มีการหลั่ง IL-2 และมีการแสดง high affinity กับ IL-2R บน effector T cells เมื่อมีการจับกันทำให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นของ T cell ผลที่เกิดกับ Treg มีการแสดงของ IL-2R และจะไปกระตุ้นให้มีการแสดงของ IL-2 ไซโตไคน์ IL-2 มีความจำเป็นต่อ Treg cell ในการพัฒนาการที่ต่อม thymus โดย IL-2 signals จะผ่าน receptor complex มีส่วนประกอบของ IL-2–specific IL-2Rα (CD25), IL- 2Rβ (CD122) และ common γ chain และ IL-2 จะไปกระตุ้นการทำงานของ NK cells, B cells, cytotoxic T cells และ macrophage ยาหลายๆตัวที่ใช้กดภูมิคุ้มกันและรักษาโรค autoimmune disease เช่น corticosteroids, cyclosporine และ tacrolimus ทำงานโดยไปยับยั้งการทำงานและสัญญาณของ IL-2 ยาตัวอื่น เช่น Rapamycin ไปป้องกัน IL-2R signaling [160]



รูปที่23 การทำงานของ IL-2 มีผลต่อ Treg และ effector T cell

IL-10 มีส่วนสำคัญในการควบคุม immunoregulatory cytokine เซลล์ที่ทำการสร้างและหลั่ง IL-10 คือที่สำคัญคือ Treg เซล์อื่นๆทีสร้างได้คือ monocytes และ B cells โดย IL-10 จะอยู่ในลักษณะ homodimer และจะทำงานโดยไปจับกับ IL-10R1 และ IL-10R2 receptor complex สาร

IL-10 จะไปยับยั้งการสร้าง IFN-γ ที่สร้างมาจาก Th1 lymphocyte ไปยับยั้การสร้าง IL-4 และ IL-5 ที่สร้างมาจาก Th2 lymphocyte ยับยั้ง IL-1β, IL-6, CXCL8, IL-12 และ TNF-α ที่สร้างมาจาก mononuclear phagocytes และยับยั้ง IFN-γ กับ TNF-α ที่สร้างมาจาก NKcells จะมีการยับยั้ง MHC class II expression ของ APCs ผ่านทาง CD23 (low-affinity IgE receptor [FceRII]) และ ICAM-1 นอกจากนี้ IL-10 ยับยั้งการแสดงออกของ costimulatory molecules CD80 และ CD86 ของ DCs ด้วย หน้าที่ของ IL-10 ในคนปกติในระบบทางเดินหายใจคือ ทำให้เกิดภาวะ tolerance ต่อสารก่อภูมิแพ้ พบว่ามีการลดลงของ IL-10 ในโรคหืดกับภูมิแพ้จมูก การลดลงของ IL-10 ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเป็น mature DC ทำให้เกิดการอักเสบตามมา [160] นอกจากนี้ยังมีไซโตไคน์อื่นๆ ในกลุ่ม IL-10 คือ IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, และ IL-29 (ตาราง16)

ตารางที่16 IL-10 superfamily [160]

Interleukin	1° Cell source	Receptor	Activated signal transducer	Biologic effect	Clinical association
IL-10	Monocytes, B cells, Treg cells	IL-10R1/IL-10R2	JAK1, TYK2, STAT1, STAT3	Immune suppression, anti-inflammatory	Burkitt lymphoma, malignant B-cell lymphomas
IL-19	Monocytes	IL-20R1/IL-20R2	STAT1, STAT3	Skin development, immunoregulatory	Psoriasis, asthma
IL-20	Monocytes, skin keratinocytes	IL-20R1/IL-20R2, IL-22R1/IL-10R2	JAK/STAT	Skin development, innate immunity, hematopoiesis	Psoriasis, atherosclerosis, angiogenesis
IL-22	Activated T cells, activated NK cells, T_H17 cells	IL-22R1/IL-10R2	STAT3	Acute-phase response, innate immunity	Crohn disease, interstitial lung disease, rheumatoid arthritis, psoriasis
IL-24	Melanocytes, monocytes, T_H2 cells	IL-20R1/IL-20R2, IL-22R1/IL-20R2 (skin only)	STAT3	Proapoptosis, epidermal functions, inflammatory cascade	Melanoma, psoriasis, inflammation
IL-26	Monocytes, memory T cells	IL-20R1/IL-10R2	STAT1, STAT3	Mucosal and cutaneous immunity	T-cell transformation
IL-28, IL-29	DCs	IFNLR1/IL-10R2	JAK1, STAT1, STAT2, STAT3, and STAT5	Antiviral immunity	Hepatitis B/C infections

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.5 ปริทรรศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

มีการศึกษาใช้ EBC และตรวจหาสารไซโตไคน์ด้วยวิธี Multiplex bead array ตรวจหา IL -1β, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, and IL-12p70 ทำโดย Ulrich Sack และคณะ ในปี พ.ศ. 2548 ทำในคนปกติเทียบกับคนไข้ที่มี acute lung injury พบว่าผู้ป่วยที่มีการอักเสบของปอดจะมีปริมาณไซโตไคน์ที่มากกว่าคนปกติ [161]

มีการใช้ EBC เพื่อตรวจหาสาร cytokine ในผู้ป่วยโรคหืดดูจากที่มีผู้ศึกษามาก่อน โดย Kazuto Matsunaga และคณะในปีพ.ศ. 2549 ทำในผู้ป่วยโรคหืด 16 คนพบว่าระดับ IL-4, IL-8, IL-17, TNF-α, RANTES, IP-10, TGF-β, MIP-1α and MIP-1β สูงขึ้นในผู้ป่วยหอบหืดมากกว่าคนธรรมดา แต่ไม่ได้มีข้อมูลเปรียบเทียบผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้และผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ [162]

มีการศึกษา EBC เพื่อตรวจหาสารไซโตไคน์ในผู้ป่วยถุงลมโป่งพองด้วยวิธี multiplex fluorescent bead immunoassay เทียบกับวิธีเก็บน้ำด้วย BAL ตรวจ IL -1β, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, and IL-12p70 ทำโดย Christian Gessner และคณะพบว่าปริมาณไซโตไคน์ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณไซโตไคน์ที่สูงขึ้นเมื่อเก็บด้วยวิธี BAL และในคนที่สูบบุหรี่ปริมาณไซโตไคน์ทุกตัวจะมากกว่าคนที่ไม่สูบบุหรี่ [163]

มีการศึกษา EBC เพื่อดูว่า nitric oxide และ inflammatory markers (nitrite, nitrate, hydrogen peroxide, 8-isoprostane, IFN-γ, TNF-α, IL-2, -4,-5, -10 และ acidity) มีความแตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยโรคหืดในเด็กกับกลุ่มควบคุมหรือไม่ และ biomarker ที่ตรวจสามารถบอกระดับความรุนแรงของโรคหืดได้หรือไม่ ศึกษาในเด็กโรคหืด 64 คนและ กลุ่มเด็กปกติ 50 คน ทำการศึกษาโดย Roboeke และคณะ พบว่า ค่า nitric oxide, IFN-γ และ IL-4 มีความแตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยโรคหืดกับเด็กปกติ พบว่าระดับ IL-4 สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคหืดได้ exhaled nitric oxide, 8-isoprostane, IFN-γ และ IL-4 สามารถใช้ติดตามการรักษาได้ และ exhaled nitric oxide, 8-isoprostane, nitrate และ nitrite ใช้ดูระดับความรุนแรงของโรคหืดได้ [164]

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

3.1.1ประชากร

3.1.1.1 ประชากรเป้าหมาย (Target population)

ผู้ป่วยที่เป็นโรคหืดภูมิแพ้ (Allergic asthma) กับผู้ป่วยที่เป็นโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้(Non-allergic asthma)

3.1.1.2 ประชากรตัวอย่าง (Sample population)

ผู้ป่วยที่เป็นโรคหืดภูมิแพ้ (Allergic asthma) กับผู้ป่วยที่เป็นโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้(Non-allergic asthma) โดยทำการศึกษาในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในคลินิกผู้ป่วยนอกและห้องฉุกเฉิน โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และคนปกติ

3.1.1.3 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1) ผู้ป่วยที่เป็นโรคหืดภูมิแพ้ (Allergic asthma) ที่ไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาสูดพ่นสเตียรอยด์มาก่อน หรือ ผู้ป่วยได้หยุดยาสูดพ่นสเตียรอยด์อย่างน้อย 2 สัปดาห์
2) ผู้ป่วยทีเป็นโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้(Non-allergic asthma)ที่ไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาสูดพ่นสเตียรอยด์มาก่อน หรือ ผู้ป่วยได้หยุดยาสูดพ่นสเตียรอยด์อย่างน้อย 2 สัปดาห์
3) คนปกติที่มีสุขภาพร่างกายแข็งแรงไม่เป็นโรคหืด
4) ผู้ป่วยอายุตั้งแต่ 5 ปี ขึ้นไป

3.1.1.4 กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1) ผู้ป่วยที่ใช้ยาสูดพ่นสเตียรอยด์อยู่ (Steroid Inhaler) จะทำให้มีผลต่อค่า cytokines ลดลง หรือทานยา ได้รับยาฉีดสเตียรอยด์ช่วง 1 เดือนที่ผ่านมา
2) ผู้ป่วยสูบบุหรี่ จะทำให้มีผลต่อค่า cytokines สูงขึ้น
3) ผู้ป่วยที่ไม่ให้ความร่วมมือในการตรวจ exhaled breath condensate
4) ผู้ป่วยที่ไม่สามารถตรวจภูมิแพ้ผิวหนังหรือเจาะเลือดหา Specific IgE ต่อสารก่อภูมิแพ้ได้

3.1.1.5 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจ IL-17 ด้วยวิธี exhaled breath condensate ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้เทียบกับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ จึงใช้การศึกษาที่ใกล้เคียงกัน ศึกษาโดย

Kazuto Matsunaga และคณะได้ตรวจ IL-17 ด้วยวิธี exhaled breath condensate ในผู้ป่วยโรคหอบหืด 16 คน เทียบกับคนธรรมดา 9 คน พบว่าได้ระดับ IL-17 เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ positive control ร้อยละ12.6±4.1 ในคนธรรมดาระดับ IL-17 เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ positive control ร้อยละ 8.6±1.5 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) จะได้ค่า $S_1 = 4.1$ และ $S_2 = 1.5$ ใช้วิธีคำนวณตัวอย่างโดยสูตร หาความแตกต่างของ 2 ตัวแปร ที่เป็นอิสระต่อกัน เมื่อกำหนดระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % ($\alpha = 0.05$) ความสามารถในการทดสอบที่ 80 % (power = 80 %)

$$\text{สูตร } N = \frac{2\,(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{\Delta^2}$$

$$\Delta = \frac{|\mu 2-\mu 1|}{\delta} + \frac{Z^2_{1-\alpha/2}}{4}$$

$$\delta^2 = \frac{(n_1-1)S_1^{\,2} + (n_2-1)S_2^{\,2}}{n_1+n_2-2}$$

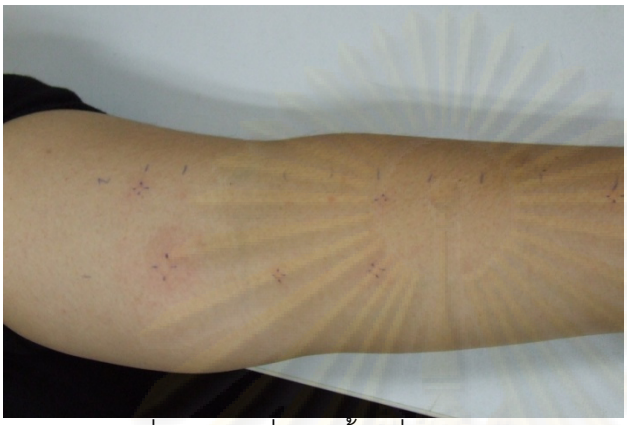
เมื่อแทนค่าจะได้ N ต่อกลุ่มอย่างน้อย = 12 คน โดยตั้งเป้าหมายผู้ป่วยโรคหืดภูมแพ้ 12 คน ผู้ป่วยหืดไม่เป็นภูมิแพ้ 12 คน รวมทั้งหมด 24 คน

3.2 ขั้นตอนการทำการวิจัย

1) ชี้แจงวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการวิจัย วิธีการตรวจ และ ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น
2) ซักประวัติและตรวจร่างกายเพื่อวินิจฉัยว่าเป็นโรคหืด และประเมินความรุนแรงของโรคหืดตามแนวทาง Global Initiative for Asthma (GINA) พ.ศ. 2550
3) ส่งผู้ป่วยไปทำการตรวจสมรรถภาพปอด (spirometry, nSpire Health, Denver, USA) ดูการเปลี่ยนแปลงค่า FEV1 ≥ ร้อยละ 12 หรือ ≥ 200 มิลลิลิตร หลังได้ยาขยายหลอดลมเพื่อวินิจฉัยว่าเป็นโรคหืด

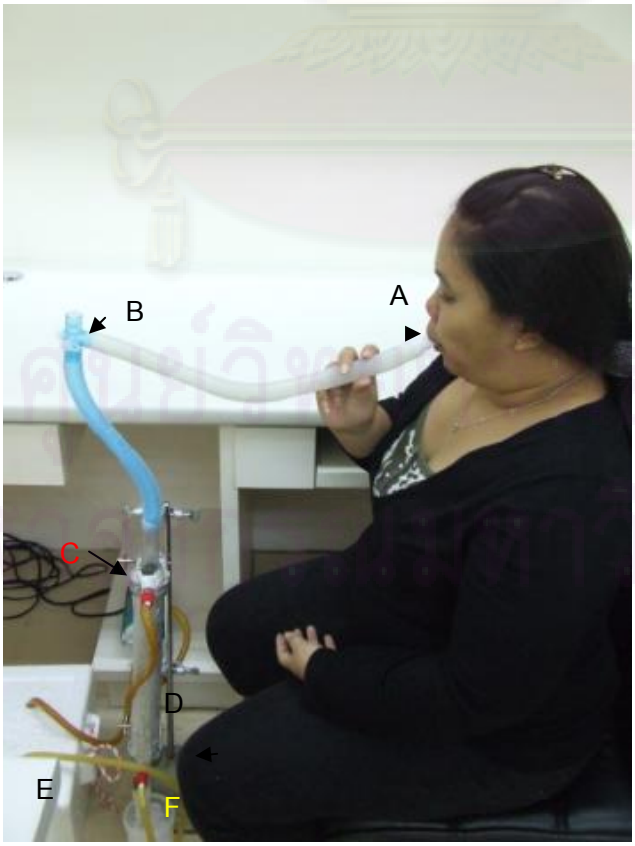
รูปที่24 ผู้ป่วยทำspirometry

4) นำผู้ป่วยโรคหืดมาทดสอบสารก่อภูมิแพ้ทางผิวหนัง(skin prick test) ต่อ common allergen 16 ชนิด อ่านผล 20 นาที ผล positive อย่างน้อยหนึ่งตัว (skin prick test positive เกิด wheal > 3 มิลลิเมตร) วินิจฉัยว่ามีภูมิแพ้ ถ้าไม่ขึ้นวินิจฉัยว่าไม่เป็นภูมิแพ้



<u>รูปที่25</u> ทดสอบภูมิแพ้ผิวหนัง

5) นำผู้ป่วยมานั่งหายใจเพื่อเก็บน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ให้ผู้ป่วยหายใจธรรมดา ทางปากผ่าน mouthpiece ผ่านท่อแล้วผ่าน 3-way nonrebreathing valve หายใจผ่าน double-wall glass condenser ยาว 58 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลางทางเข้าวงกลม 22 มม. ทางออกเป็นวงรี 22 x 17 มม. อุณหภูมิความเย็น 0 ºC จากกล่องใส่น้ำแข็งผสมเกลือ หายใจ 30 นาที ลมหายใจที่ออกมากลั่นตัวเป็นหยดน้ำเก็บใน Eppendorf tube และนำไปเก็บที่ -20 ºC ทันที จากนั้นนำไปเก็บที่ -70 ºC



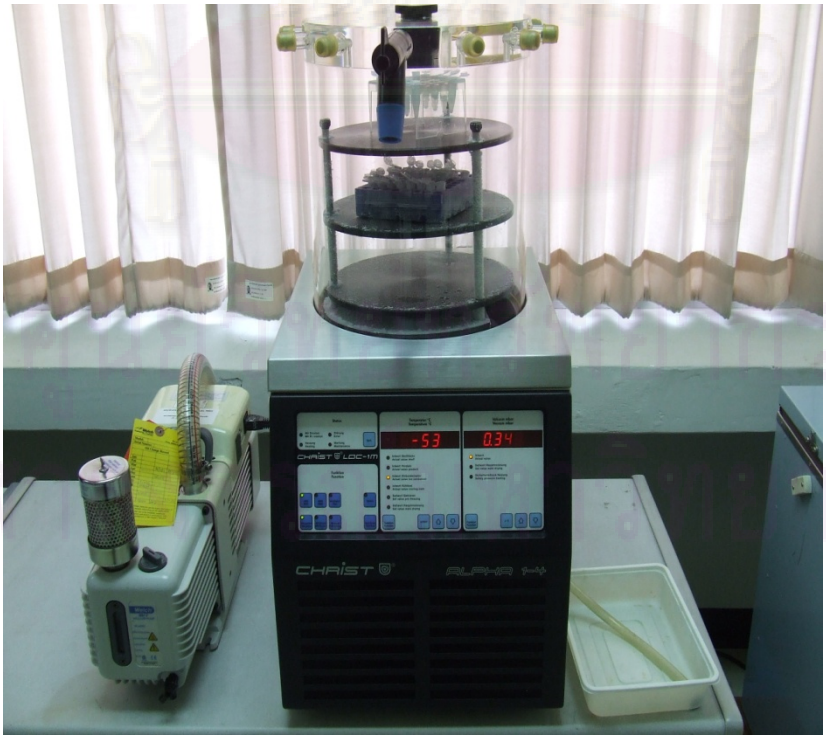
<u>รูปที่26</u> อุปกรณ์ EBC

A. Mouth piece
B. 3 way nonrebeathing valve
C. เครื่องปั๊มน้ำเข้า
D. ท่อ double-wall glass condenser ห่อด้วยกระดาษฟรอยเพื่อให้อุณหภูมิคงที่ จะมีสายยางน้ำเข้าด้านบน และสายยางน้ำออกด้านล่าง
E. ถังน้ำแข็งใส่เกลือเจาะรูเข้ารูออกเพื่อให้อุณหภูมิคงที่
F. หลอดเก็บน้ำ EBC แช่ในน้ำแข็ง

6) นำหยดน้ำที่เก็บได้มาตรวจหาปริมาณไซโตไคน์โดยวิธี Flow cytomix โดยต้องส่ง sample ส่งตรวจหา total amylase วิธี dry chemistry มี sensitivity ที่ 30 μg/ml ถ้าตรวจเจอค่า total amylase ตัวอย่างนั้นอาจมีการปนเปื้อนน้ำลายเอามาใช้ตรวจต่อไปไม่ได้

7) วิธีปฏิบัติการ Flow cytomix

1. จาก sample ของผู้ป่วยที่ได้หลังจากนำออกมาจากตู้แช่อุณหภูมิ – 70 ºC จะนำมาละลายในอุณหภูมิห้อง โดยจะแบ่ง sample อย่างละ 2 cc มาใส่ Eppendorf tube เพื่อเตรียมทำ lyophilization เอามาพันพาราฟิน ปิดไว้ด้านบน นำเข็มมาเจาะรู เพื่อให้มีอากาศออก จากนั้นเอาแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ – 70 ºC อีกครั้ง
2. ต่อไปเตรียมเครื่องสำหรับทำเครื่องแช่แข็งแบบแห้ง (lyophilization หรือ Freeze-drying เป็นกรรมวิธีในการขจัดน้ำออกจากสารตัวอย่างโดยที่สารตัวอย่างยังคงมีคุณสมบัติเหมือนเดิม) ทำในเครื่อง CHAIST® รุ่น alpha 1-4 นำ sample ที่เตรียมไว้ออกมาจากตู้แช่ -70 ºC เข้าไปใส่เครื่องแช่แข็งแบบแห้งทันที โดยเครื่องแช่แข็งแบบแห้ง จะทำงานที่อุณหภูมิที่ -55 ºC และจะดูดอากาศออก ใส่ไว้ในเครื่องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จะได้ sample จากสภาพน้ำจะกลายเป็นผง แล้วนำ sample ที่ได้มาเติมน้ำ 60 μl แล้วนำไปแช่ตู้เย็นอีกครั้ง จะได้ concentration เพิ่มขึ้น 33 เท่า



<u>รูปที่27</u> เครื่องทำ lyophilization

3. น้ำยาที่ใช้ทำ Flowcytomix เป็นของบริษัท Bender Medsystem® ใช้ 2 kit คือ Human Th1/Th2 11 plex Kit BMS810FF และ Human IL-17A BMS82017FF simplex Kit โดยจะมี sensitivity ในการตรวจไซโตไคน์ได้ดังนี้

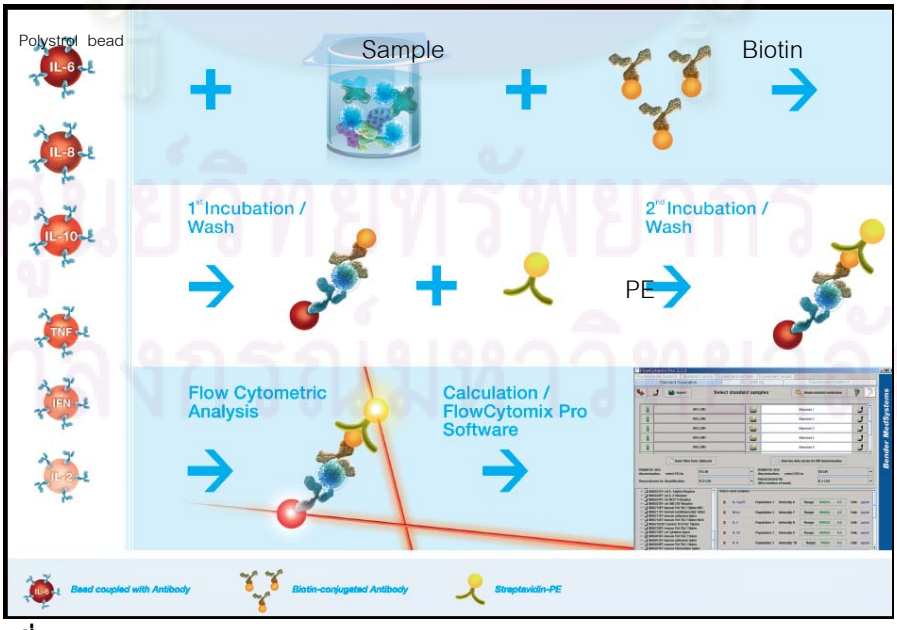
ตารางที่17 ค่า sensitivityของ ไซโตไคน์ด้วยวิธี Flow cytomix

สารไซโตไคน์	Sensitivity (pg/ml)
IFN-γ	1.6
IL-1β	4.2
IL-2	16.4
IL-4	20.8
IL-5	1.6
IL-6	1.2
IL-8	0.5
IL-10	1.9
IL-12 p70	1.5
IL-17	2.5
TNF-α	3.2
TNF-β	2.4

น้ำยาที่ใช้ตรวจแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรกน้ำยา standard ใช้ standard vials ที่มากับชุดตรวจเติมน้ำเข้าไปเพื่อทำการ dilute ความเข้มข้น 1:20 ไปเรื่อยๆจนได้ strandard ทั้งหมด 7 หลอดที่ความเข้นข้นแตกต่างกัน เพื่อนำไปใช้เป็นกลุ่ม standard well กลุ่มที่สอง Bead Mixture (fluorescent beads) จะใช้ 25 μl/well กลุ่มที่สาม Biotion conjugate mixture จะใช้ 50 μl/well นำหลอดที่มี sample ใช้ปริมาณ 25 μl ใส่ลงไปใน well จากนั้นใส่น้ำยากลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 3 ตามลงไป จากนั้นนำ film ไปปิดไว้ด้านบนและทับด้วย aluminium foil อีกที จากนั้นนำไป Incubate ที่อุณหภูมิ 18 – 25 ºC บนเครื่อง microlate shaker ตั้งไว้ที่ 500 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างด้วย assay buffer 2 ครั้ง แล้วเตรียมสาร Streptacidin-PE เพื่อใส่ลง 50 μl/well นำ sample ไป Incubate ที่

อุณหภูมิ 18 – 25 ºC บนเครื่อง microlate shaker ตั้งไว้ที่ 500 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำ sample มาล้างอีก 2 ครั้ง แล้วใส่ assay buffer เข้าไปอีก 200 µl แล้วนำมาผสมให้เข้ากัน แล้วเติม assay buffer อีก 300 µl จนได้ปริมาณ 500 µl ใส่ในหลอดทดลองเพื่อเตรียมเข้าเครื่อง flowcytomix BD FACSCalibur® หลักการของ Flowcytomix ใช้หลักการ sandwich immunoassay

- Fluorescent polystyrol beads มาจับกับ specific Ab ของสารที่ต้องการจะทดสอบ
- ผสม coupled beads ร่วมกับ samples ที่ต้องการจะทดสอบ
- การวิเคราะห์จะหาปริมาณ sample ที่ถูกจับโดย beads
- นำ biotin conjugated antibody ไปผสมกับ sample ที่ถูกจับโดย bead จะมีการจับกันระหว่าง bead กับ biotin จากนั้นเติมสาร Streptavidin-Phycoerythrin (PE) เพื่อจับกับ biotin conjugates อีกที
- Bead แต่ละอันจะมีขนาดแตกต่างกัน และทำให้ได้ spectral signature ที่วัดแตกต่างกันเมื่อวัดด้วย flow cytometry
- ใช้ FlowCytomix Pro 2.3 Software เพื่อคำนวณหาปริมาณของสารที่ต้องการตรวจ



รูปที่28 หลักการของ Flowcytomix

8) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS ver.16 หาความแตกต่างกันระหว่าง 3 กลุ่ม ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติใช้ ANOVA ในกรณีที่ข้อมูลมีการแจกแจงไม่ปกติใช้ Kruskal-Wallis test หาความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มใช้ t-test หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไซโตไคน์กับความรุนแรงโรคหืดกับค่า FEV1 ใช้ Pearson correlation และ Spearman rank correlation ในกรณีที่ตรวจปริมาณไซโตไคน์ไม่พบ ไม่นับว่าเป็น missing data เนื่องจากปริมาณไซโตไคน์อาจมีค่าน้อยกว่า sensitivity ที่ใช้ในการตรวจได้ กำหนดค่ามีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

3.3 **การสังเกตและการวัด** (Observation and measurement)

3.3.1**ตัวแปรในการวิจัย**

3.3.1.1 ตัวแปรอิสระคือ ผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ ผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้

3.3.1.2 ตัวแปรตามคือ ระดับ IL-17 และ ไซโตไคน์ตัวอื่นๆ

3.3.1.3 ตัวแปรควบคุมคือ เครื่องมือ exhaled breath condensate เก็บข้อมูลและวัดผล

3.3.1.4 โดยใช้ แบบบันทึกข้อมูล การตรวจปริมาณ IL-17 และไซโตไคน์ด้วยวิธี Flow cytomix

3.3.2**เครื่องมือที่ใช้วัดตัวแปร**

แบบบันทึกการเก็บข้อมูล (Record form)

3.4 **วิธีการหรือสิ่งแทรกแซง** (Interventions)

ไม่มี

3.5 **การรวบรวมข้อมูล** (Data collection)

เก็บข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยเพศ อายุ มีอาการหอบหืดมากี่ปี ความรุนแรงของโรคหืด โรคที่เป็นร่วมด้วย ประวัติโรคภูมิแพ้ในครอบครัว ประวัติการใช้ยาสูดพ่นสเตียรอยด์ การสูบบุหรี่ ส่วนสูง น้ำหนัก ผลตรวจสมรรถภาพปอด ผลการทดสอบภูมิแพ้ทางผิวหนัง ปริมาณ IL-17 ที่ตรวจได้

3.6 **การวิเคราะห์ข้อมูล** (Data analysis)

3.6.1 **การสรุปข้อมูล** (Summarization of data)

ข้อมูลที่ได้เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ วิธีการทางสถิติที่ใช้ทดสอบสมมุติฐานเปรียบเทียบ 2 กลุ่ม เป็นอิสระต่อกันสรุปเป็นค่าเฉลี่ย ทดสอบโดย t-test เปรียบเทียบ 3 กลุ่มใช้ ANOVA

3.6.2**การนำเสนอข้อมูล** (Data presentation)

เป็นตารางและแผนภูมิ

3.6.3**การทดสอบสมมติฐาน** (Hypothesis testing)

ไม่มี

3.6.4ปัญหาที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูล

เช่น ข้อมูลขาดหายไป (missing data) บาง sample ตรวจปริมาณไซโตไคน์ไม่ได้ทุกอัน

3.6.5การวิเคราะห์ก่อนการวิจัยสิ้นสุด (Interim analysis)

ไม่มี

3.7 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problems)

3.7.1 เนื่องจากการทดลองนี้ใช้อาสาสมัครที่เข้าร่วมต้องเป็นผู้ป่วยโรคหืดที่ไม่เคยได้ยาสูดพ่นสเตียรอยด์มาก่อน การหาอาสาสมัครเข้ามาร่วมโครงการในผู้ป่วยที่มาตรวจที่โอพีดีโรคภูมิแพ้อย่างเดียว จึงยากที่จะหาได้ครบตามเป้าหมายวิธีการแก้ไขต้องประชาสัมพันธ์หาอาสาสมัครจากห้องฉุกเฉิน และผู้ป่วยจากโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

3.7.2 เครื่องมือ exhaled breath condensate เป็นครั้งแรกที่นำมาใช้การตรวจในประเทศไทย วิธีการประกอบเครื่องมืออาจไม่ชำนาญเนื่องจากผู้วิจัยไม่เคยใช้มาก่อน วิธีแก้ไขได้ติดต่อขอความร่วมมือจากผู้เชี่ยวชาญ ที่เคยใช้เครื่องมือนี้ในการทำวิจัยในประเทศสหรัฐอเมริกามาก่อน มาช่วยประกอบเครื่องมือและแนะนำวิธีการตรวจในตอนเริ่มต้น

3.7.3 เนื่องจาก IL-17 และไซโตไคน์มีปริมาณน้อยมากในน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ถ้าเก็บไม่ดีมีโอกาสที่ IL-17 จะสลายไปทำให้ไม่สามารถตรวจได้ วิธีแก้ไขหาอุปกรณ์ในการเก็บให้ได้มาตรฐานเก็บในอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

จากการเก็บข้อมูลผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้และโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ และคนปกติจำนวน 50 คนที่ได้ทำการซักประวัติตรวจร่างกาย ประเมินความรุนแรงโรคหืดตาม GINA guideline จากนั้นนำผู้ป่วยไปหาค่าสมรรถภาพปอด FEV1 แล้วนำไปทดสอบภูมิแพ้ผิวหนังจากสารก่อภูมิแพ้ 16 ชนิด สุดท้ายอาสาสมัครนั่งหายใจผ่านเครื่อง EBC เป็นเวลา 30 นาที มาดู sample ที่ไม่สามารถทำการตรวจต่อได้ได้คือมีปริมาณน้อยกว่า 2 ml มี 9 คนและ ตรวจแล้วพบว่าค่า total amylase > 30 μg/ml จำนวน 3 คน คงเหลือเหลือจำนวน 38 sample แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้จำนวน 16 คน แบ่งเป็นชาย 4 คน หญิง 12 คน อายุเฉลี่ย 39.3 ปี ค่า FEV1 เฉลี่ย 75.5% ระดับความรุนแรงของโรคหืดเป็นนานๆครั้ง 1 คน โรคหืดรุนแรงระดับน้อย 4 คน โรคหืดรุนแรงระดับปานกลาง 9 คน และระดับรุนแรงมาก 2 คน น้ำหนักโดยเฉลี่ย 68.8 กก. ส่วนสูงโดยเฉลี่ย 159.3 ซม. กลุ่มโรคหืดไม่เป็น ภูมิแพ้จำนวน 13 คน แบ่งเป็นชาย 7 คน หญิง 6 คน อายุเฉลี่ย 36.9 ปี ค่า FEV1 เฉลี่ย 80.1% ระดับความรุนแรงโรคหืดรุนแรงระดับน้อย 8 คน โรคหืดรุนแรงระดับปานกลาง 3 คน และระดับรุนแรงมาก 2 คน น้ำหนักโดยเฉลี่ย 61.1 กก. ส่วนสูงโดยเฉลี่ย 157.2 ซม. และคนปกติ 9 คน แบ่งเป็นชาย 4 คน หญิง 5 คน อายุเฉลี่ย 30.8 ปี ค่า FEV1 เฉลี่ย 98% น้ำหนักโดยเฉลี่ย 62 กก. ส่วนสูงโดยเฉลี่ย 166.6 ซม. ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่อาจจะมีผลต่อ EBC ตามตารางที่18 นำข้อมูลพื้นฐานของแต่ละกลุ่มมาเปรียบเทียบกัน ตามตารางที่19 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง 3 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ข้อมูลผู้ป่วยกลุ่มโรคหืดภูมิแพ้พบว่า ส่วนใหญ่แพ้ไรฝุ่น 16/16 (100%), แมลงสาบ 5/16 (31.25%) เชื้อราผสม 5/16 (31.25%), หญ้าแพรก 3/16 (18.75%), เชื้อรา *Alternaria* 2/16 (12.5%) และ แมว 2/16 (12.5%) ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่18 ข้อมูลพื้นฐานอาสาสมัครแยกตามกลุ่มโรค

ID	เพศ	อายุ(ปี)	น้ำหนัก	ส่วนสูง	FEV1	ระดับความรุนแรง	กลุ่ม
Sample 6	หญิง	44	61	1.53	72	moderate persistent	alergic asthma (DM,BG)
Sample 7	หญิง	59	92	1.54	69	moderate persistent	alergic asthma (DM,CT)
Sample 14	หญิง	37	46	1.56	87	mild persistene	alergic asthma (DM,MM,BG)
Sample 23	หญิง	43	72	1.59	64	moderate persistent	alergic asthma (DM,CR)
Sample 24	หญิง	55	65	1.53	78	moderate persistent	alergic asthma (DM,CR)
Sample1	ชาย	27	79	1.77	105	intermittent	alergic asthma(DM,AL,BG)
Sample2	หญิง	33	53	1.65	58	severe persistent	alergic asthma(DM,MM)
Sample12	หญิง	43	73	1.57	82	mild persistene	alergic asthma(DM.CT)
Sample19	ชาย	45	68	1.66	41	severe persistent	alergic asthma(DM,CR)
Sample20	ชาย	50	49	1.65	77	moderate persistent	alergic asthma(DM,MM,CR)
Sample22	หญิง	44	92	1.65	64	moderate persistent	alergic asthma(DM,AR,MM)
Sample33	หญิง	50	65	1.65	78	moderate persistent	alergic asthma(DM)
Sample38	หญิง	33	89	1.6	70	moderate persistent	alergic asthma(DM,MM)
Sample40	ชาย	48	111	1.68	80	moderate persistent	alergic asthma(DM,AL)
Sample45	หญิง	12	49	1.58	95	mild persistene	alergic asthma(DM)
Sample48	หญิง	7	38	1.28	88	mild persistene	alergic asthma(DM,CR)
Sample 17	ชาย	40	70	1.65	87	mild persistene	non-allergic asthma
Sample 18	ชาย	45	75	1.69	84	mild persistene	non-allergic asthma
Sample 25	ชาย	42	62	1.61	89	mild persistene	non-allergic asthma
Sample 42	หญิง	45	50	1.6	56	severe persistent	non-allergic asthma
Sample21	ชาย	50	98	1.65	58	severe persistent	non-allergic asthma
Sample35	หญิง	34	52	1.61	66	moderate persistent	non-allergic asthma
Sample36	หญิง	48	53	1.51	90	mild persistene	non-allergic asthma
Sample43	หญิง	55	75	1.5	82	mild persistene	non-allergic asthma
Sample44	หญิง	37	65	1.55	73	moderate persistent	non-allergic asthma
Sample46	ชาย	35	76	1.7	101	mild persistene	non-allergic asthma
Sample47	หญิง	28	56	1.6	62	moderate persistent	non-allergic asthma
Sample49	ชาย	6	29	1.3	87	mild persistene	non-allergic asthma
Sample50	ชาย	15	40	1.47	107	mild persistene	non-allergic asthma
Sample 34	ชาย	27	64	1.7	96		healthy
Sample26	ชาย	31	86	1.8	105		healthy
Sample28	หญิง	35	55	1.61	94		healthy
Sample29	หญิง	24	49	1.68	98		healthy
Sample30	หญิง	25	49	1.61	104		healthy
Sample31	หญิง	33	65	1.6	94		healthy
Sample32	ชาย	42	80	1.68	104		healthy
Sample37	หญิง	26	47	1.63	98		healthy
Sample39	ชาย	35	63	1.69	89		healthy

DM – Dust Mite, CR- Cockraoch, AL – *Alternaria sp.*, MM – Mixed Mold, CT – Cat, BG – Bermuda grass

ตารางที่19 ข้อมูลอาสาสมัครแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบกัน

	โรคหืดภูมิแพ้ จำนวน 16 คน	โรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ จำนวน 13 คน	คนปกติ จำนวน 9 คน
เพศ : ชาย	4	7	4
หญิง	12	6	5
อายุเฉลี่ย (ปี)	39.3	36.9	30.8
น้ำหนักเฉลี่ย (กก)	68.8	61.1	62
ส่วนสูงเฉลี่ย (ซม)	159.3	157.2	166.6
ค่า FEV1 (%)	75.5	80.1	98
ระดับความรุนแรงโรคหืด			
นานๆครั้ง	1	-	
รุนแรงน้อย	4	8	
รุนแรงปานกลาง	9	3	
รุนแรงมาก	2	2	

4.2 ผลตรวจหาปริมาณไซไคน์

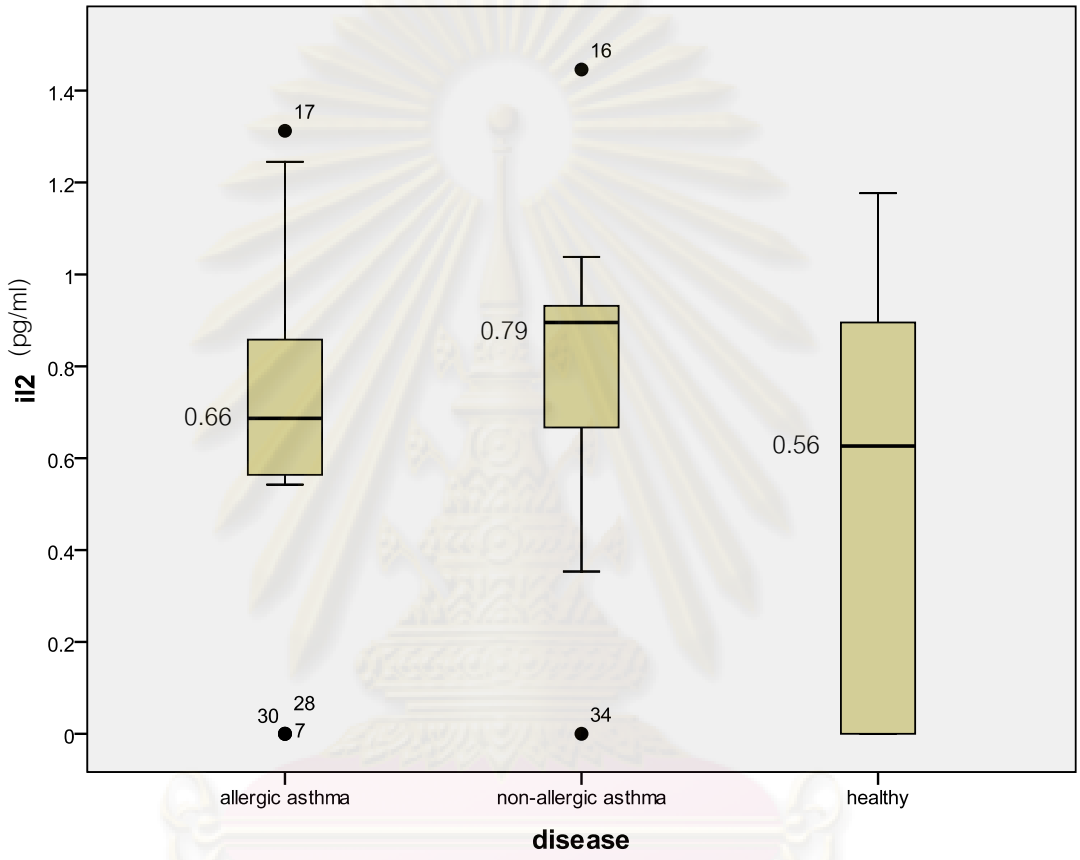
หลังจากได้ sample ที่มีปริมาณสามารถตรวจได้และไม่มีน้ำลายปนจำนวน 38 sample จำนวน 2 ml ไปทำ lyophilyzation ทำให้สารกลายสภาพจากน้ำมาเป็นผง นำไปทำเติมน้ำ 60 μl เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 33 เท่า แล้วนำไปตรวจด้วยวิธี Flow cytomix หาไซโตไคน์พร้อมกันทั้งหมด 12 ตัวคือ IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, IFN-γ, TNF-α และ TNF-β พบว่ามีไซโตไคน์ 5 ตัวที่ตรวจไม่เจอเลย แม้จะใช้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 99 เท่าก็ตาม คือ IFN-γ, IL-17A, IL-6, IL-4, IL-5 มี 2 ไซโตไคน์ที่ตรวจเจอ sample เดียวคือ IL-8 เจอจาก sample34, TNF-α เจอจาก sample42 ไซโตไคน์ตัวอื่นที่เหลือแสดงไว้ในตารางที่20 พบว่าไซโตไคน์ IL-1β,IL-12p70 และ TNF-β ตรวจเจอ 6 samples, 3 samples และ 14 samples ตามลำดับ IL-2 ตรวจเจอ 31 samples และ IL-10 เจอ 29 samples จึงได้นำ IL-2 และ IL-10 มาศึกษาต่อเพื่อดูว่า

ตารางที่20 ปริมาณไซโตไคน์ IL-2,IL10 , IL-1β, IL-12p70 และ TNF-β

ID	IL-2	IL-10	IL-1β	IL12p70	TNF-β
sensitivity (pg/ml)	**20**	**1.5**	**5.2**	**11.6**	**3.1**
Sample 6	1.245	0.1467	3.1113	0.5172	0.4968
Sample 7	0.8211	0.2364	0	<=0	0
Sample 14	0.585	0.1467	0	<=0	0
Sample 17	0.6669	0.102	0	<=0	0
Sample 18	1.0032	0.2817	0	<=0	0
Sample 23	0.606	0	0	<=0	0
Sample 24	0	0	0	<=0	0
Sample 25	0.35325	0.2817	0	<=0	1.15755
Sample 34	0.585	0.1467	0	<=0	0
Sample 42	1.0383	0.1017	0	<=0	1.1085
Sample1	0.7065	0.07335	0	<=0	0
Sample2	0.9672	0.225	0	<=0	8.4258
Sample12	0.8028	0.1017	1.2507	<=0	0
Sample19	0.6669	0.3501	0	0.5223	0
Sample20	0.7452	0.1914	0	<=0	0
Sample21	1.446	0.2364	7.6959	<=0	1.3362
Sample22	1.3125	0.1914	124.95	<=0	0
Sample26	0.6264	0	0.0996	<=0	0
Sample28	0	0	6.5664	<=0	3.8088
Sample29	1.0383	0.1467	0	<=0	1.1991
Sample30	1.1769	0	0	0.5421	0
Sample31	0.7452	0.2139	0	<=0	0.9957
Sample32	0.8952	0	0	<=0	0
Sample33	0.6669	0	0	<=0	0
Sample35	0.9132	0.0906	0	<=0	0
Sample36	0.9315	0.1242	0	<=0	0
Sample37	0	0.1017	0	<=0	0
Sample38	0	0	0	<=0	0
Sample39	0	0	0	<=0	0
Sample40	0	0	0	<=0	0
Sample43	0.8952	0.2364	0	<=0	0
Sample44	0.8583	0.2364	0	<=0	0.8604
Sample45	0.5424	0.1689	0	<=0	0.5886
Sample46	0	0.15225	0	<=0	0
Sample47	0.8952	0.1239	0	<=0	2.2401
Sample48	0.8952	0.1182	0	<=0	0.9729
Sample49	0.7836	0.2589	0	<=0	0
Sample50	0.564	0.2364	0	<=0	0

4.2.1 ปริมาณ IL-2 ระหว่างอาสาสมัคร 3 กลุ่มมีความแตกต่างกันหรือไม่

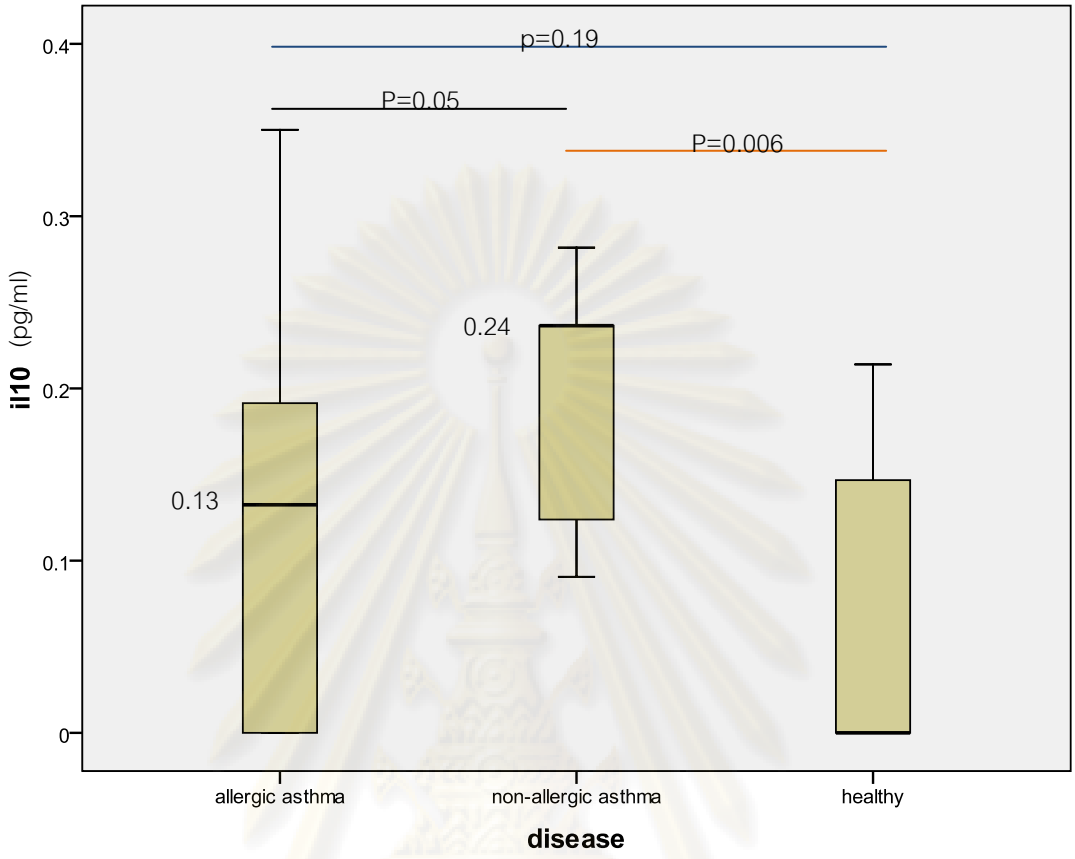
จากผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของ IL-2 ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ 0.66 pg/ml ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ 0.79 pg/ml และ กลุ่มคนปกติ 0.56 pg/ml เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Anova พบว่าได้ค่า p = 0.389 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแผนภูมิที่ 6



<u>แผนภูมิที่6</u> ปริมาณ IL-2 ในอาสาสมัคร 3 กลุ่ม

4.2.2 ปริมาณ IL-10 ระหว่างอาสาสมัคร 3 กลุ่มมีความแตกต่างกันหรือไม่

จากผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของ IL-10 ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ 0.12 pg/ml ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ 0.19 pg/ml และ กลุ่มคนปกติ 0.07 pg/ml เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติจึงใช้ Kruskal-Wallis Test จึงใช้ค่า median แทนพบกลุ่มโรคหืดภูมิแพ้กับโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p = 0.05 กลุ่มโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้แตกต่างกับคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p = 0.006 ส่วนกลุ่มโรคหืดภูมิแพ้กับคนปกติไม่การแตกกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p = 0.19 ดังแผนภูมิที่ 7

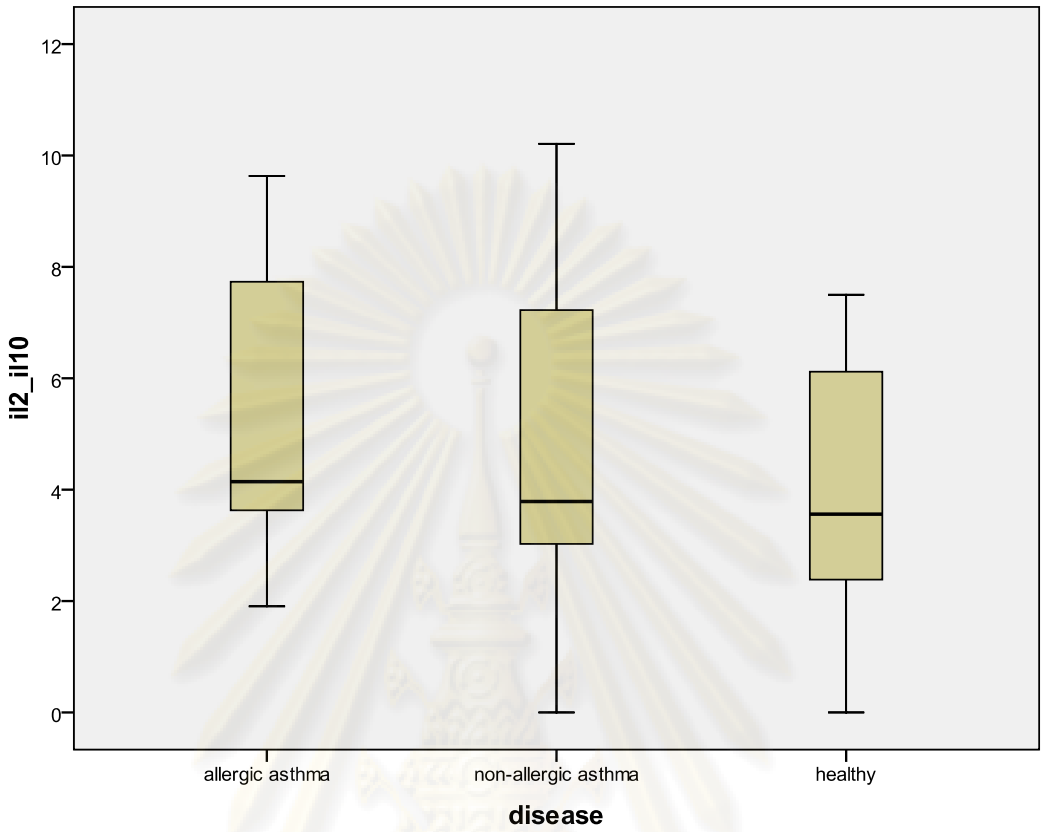


<u>แผนภูมิที่7</u> ปริมาณ IL-10 ในอาสาสมัคร 3 กลุ่ม

4.2.3 ปริมาณ IL-2/IL-10 ระหว่างอาสาสมัคร 3 กลุ่มมีความแตกต่างกันหรือไม่

จากผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของ IL-2/IL-10 ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ 5.56 ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ 5.42 และ กลุ่มคนปกติ 4.85 พบว่ามีการแจกแจงแบบไม่ปกติจึงใช้ Kruskal-Wallis Test พบว่าไม่มีการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p = 0.38 ดังแผนภูมิที่ 8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

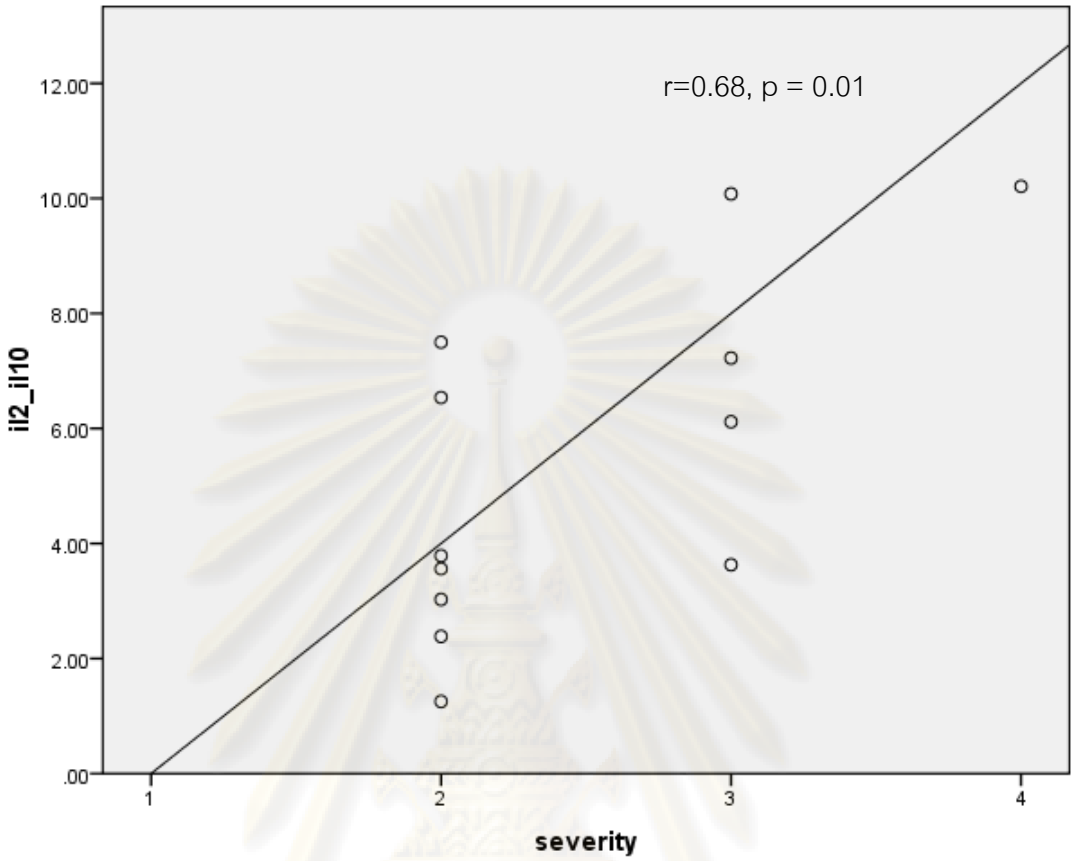


<u>แผนภูมิที่8</u> อัตตราส่วน IL-2/IL-10 ในอาสาสมัคร 3 กลุ่ม

4.2.4 ปริมาณ IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดในแต่ละกลุ่มหรือไม่

ในผู้ป่วยโรคหืดเป็นภูมิแพ้พบว่าระดับ IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p =0.97, 0.24 และ 0.57 ตามลำดับ

ในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้พบว่าระดับ IL-2, IL-10 ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p =0.07, 0.15 แต่พบว่ามีอัตตราส่วน IL-2/IL-10 สัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค(r=0.68, p = 0.01) ยิ่งมีค่าอัตตราส่วนที่มากแสดงว่าผู้ป่วยมีโรคหืดระดับความรุนแรงมาก ดูแผนภูมิที่9

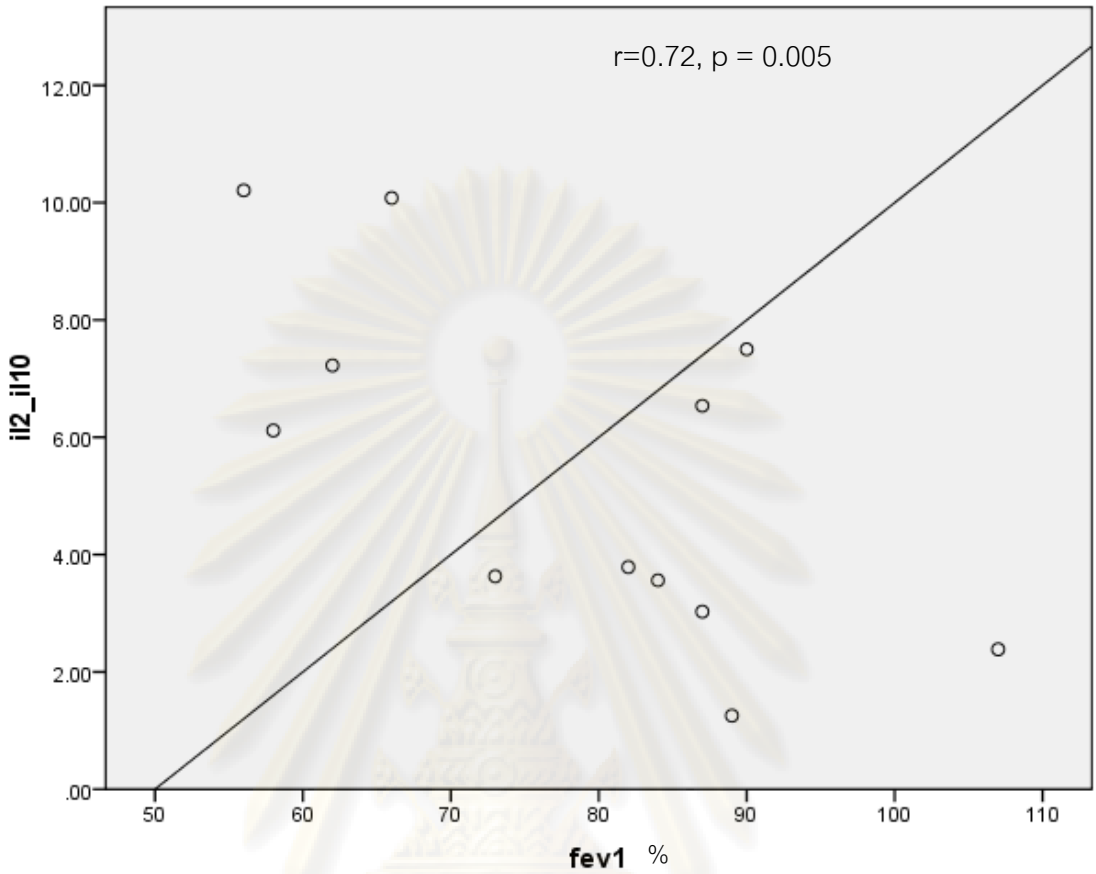


<u>แผนภูมิที่9</u> ความสัมพันธ์ระหว่างค่า IL-2/IL-10 แปรตามระดับความรุนแรงในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้

4.2.5 ปริมาณ IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 มีความสัมพันธ์กับค่า FEV1 ในแต่ละกลุ่มหรือไม่

ในผู้ป่วยโรคหืดเป็นภูมิแพ้พบว่าระดับ IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 ไม่มีความสัมพันธ์กับค่า FEV1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p =0.55, 0.08 และ 0.23 ตามลำดับ

ในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้พบว่าระดับ IL-10 ไม่มีความสัมพันธ์กับค่าFEV1อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p =0.31 แต่พบว่ามีระดับ IL-2 และ IL-2/IL-10 มีความสัมพันธ์กับค่า FEV1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า (r=0.73, p = 0.004) และ (r=0.72, p = 0.005) ตามลำดับ โดยถ้าผู้ป่วยมีค่า FEV1 ต่ำแสดงถึงสมรรถภาพปอดไม่ดี จะตรวจพบปริมาณ IL-2 สูง เช่นเดียวกับค่าอัตตราส่วน IL2/IL10 ถ้ายิ่งสูงพบว่าค่า FEV1 จะต่ำ ดูแผนภูมิที่10 ในคนปกติพบว่าระดับ IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 ไม่มีความสัมพันธ์กับค่า FEV1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p =0.06, 0.41 และ 0.15 ตามลำดับ

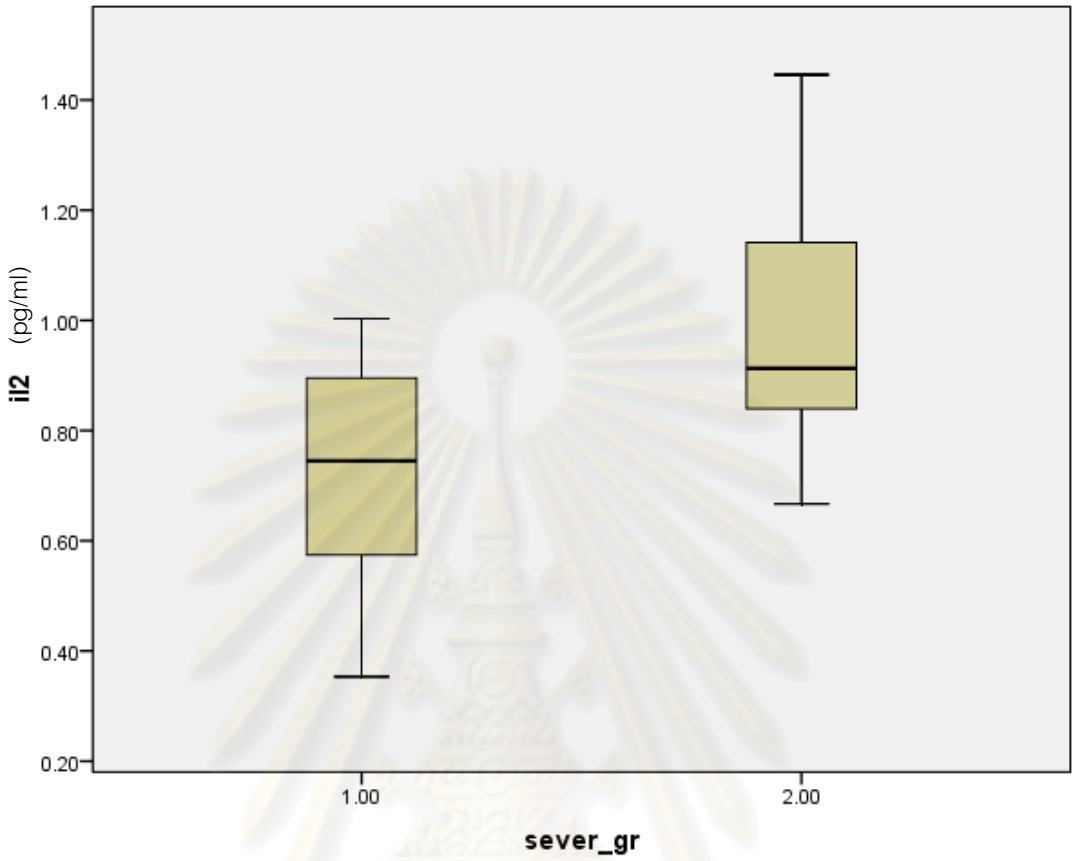


<u>แผนภูมิที่10</u> ความสัมพันธ์ระหว่างค่า IL-2/IL-10 กับ FEV1 ในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้

4.2.6 ปริมาณ IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดในผู้ป่วยโรคหืดหรือไม่

ถ้าแบ่งตามระดับความรุนแรงของโรคหืดเป็น intermittent, mild persistent, moderate persistent และ severe persistent พบว่า IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 ไม่สัมพันธ์กับผู้ป่วยโรคหืด โดยมี p = 0.08, p = 0.22 และ p = 0.97 ตามลำดับ

แต่ถ้าแบ่งระดับความรุนแรงโดยแยกเป็น 2 กลุ่ม ในกลุ่มที่1 intermittent และ mild persistent รวมกันเป็นกลุ่มที่มีความรุนแรงน้อย กลุ่มที่2 moderate persistent และ severe persistent เป็นกลุ่มที่มีความรุนแรงมาก พบว่า IL-2 สัมพันธ์กับระดับความรุนแรงเมื่อแยกเป็น 2 กลุ่ม (r=0.43, p=0.03) ดูแผนภูมิที่11 ส่วน IL-10 และ IL-2/IL-10 ไม่พบความสัมพันธ์

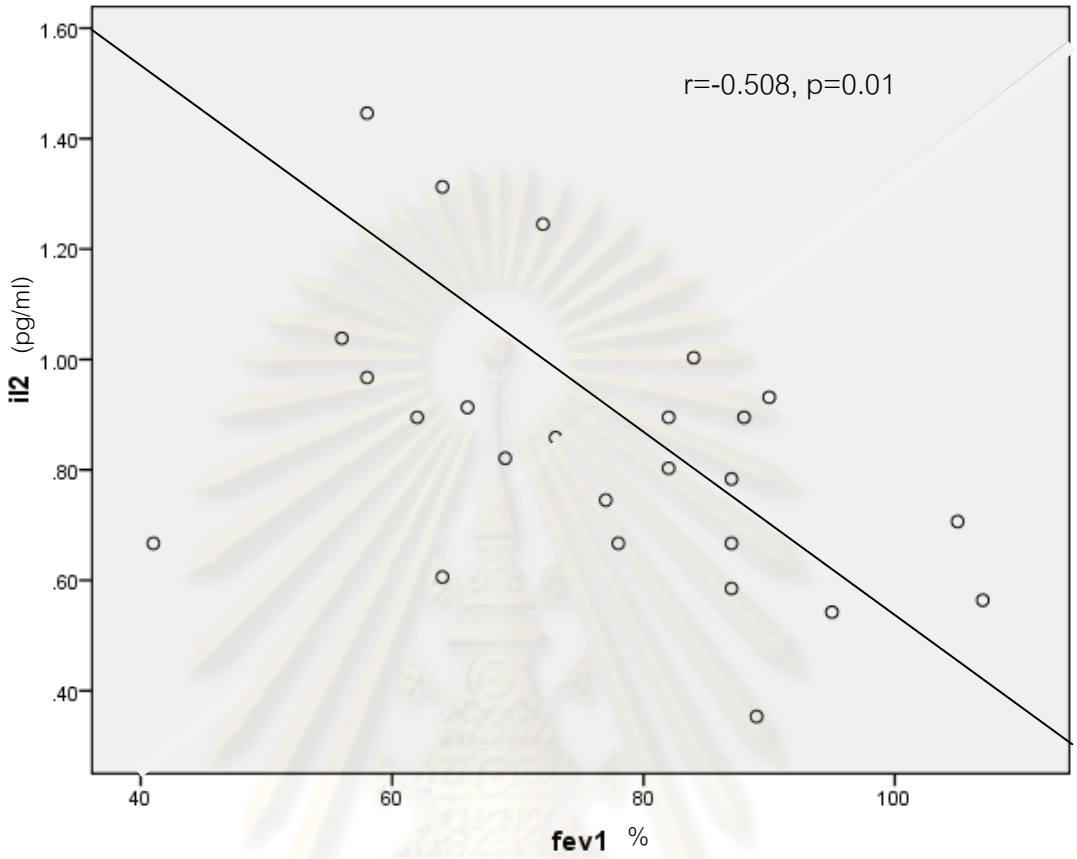


<u>แผนภูมิที่11</u> ความสัมพันธ์ระหว่าง IL-2 กับ ระดับความรุนแรงโรคหืด กลุ่มที่1 intermittent และ mild persistent กลุ่มที่2 moderate persistent และ severe persistent

4.2.6 ปริมาณ IL-2, IL-10 และ IL-2/IL-10 มีความสัมพันธ์กับ FEV1ในผู้ป่วยโรคหืดหรือไม่

พบว่า IL-2 มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับ FEV1 ในผู้ป่วยโรคหืด (r=-0.508, p=0.01) หมายความว่า ปริมาณ IL-2 เมื่อสูงขึ้นในผู้ป่วยโรคหืดจะพบว่าค่า FEV1 ของผู้ป่วยลดลง ในทางตรงกันข้าม ถ้าปริมาณ IL-2 มีระดับต่ำ จะพบว่ามี FEV1 สูง ตามแผนภูมิที่12 แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างค่า IL-10 และ IL-2/IL-10 กับ FEV1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



<u>แผนภูมิที่12</u> ความสัมพันธ์ระหว่าง IL-2 กับ FEV1 ในผู้ป่วยโรคหืด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

การเก็บสิ่งส่งตรวจด้วยวิธี exhaled breath condensate เป็นวิธีที่ไม่ทำให้ผู้ป่วยมีความเจ็บปวดโดยผู้ป่วยสามารถกลับมาทำซ้ำใหม่ก็ได้ เป็นวิธีที่ผู้ป่วยให้ความร่วมมือดี มีการนำมาใช้ศึกษาเกี่ยวกับโรคระบบทางเดินหายใจส่วนล่างมากขึ้น ศึกษาพยาธิสภาพ ใช้ประเมินภาวะความรุนแรงการอักเสบของหลอดลม และใช้ติดตามการรักษาได้ ในการศึกษานี้ได้เลือกวิธี EBC แบบประกอบเอง โดยใช้ condenser เป็นแบบ double-wall glass ที่มีค่าเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัยประมาณ 7,000 บาทสามารถใช้ได้ตลอดเปลี่ยนแค่ mouth piece ถ้าเทียบกับ commercial set จำนวน 25 ชุดของ RTube® เริ่มต้นที่ประมาณ 35,000 บาท ที่ใช้แล้วไม่สามารถนำกลับมาใช้ได้อีก ซึ่งต้นทุนจะถูกกว่าประมาณ 5 เท่า เพื่อศึกษาพยาธิสภาพของผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ เทียบกับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ โดยเน้นไปที่ไซโตไคน์ IL-17 เนื่องจากมีหลักฐานว่าในหลอดลมของผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้จะพบการอักเสบที่เกิดจาก neutrophil และ macrophage มากกว่าการอักเสบ ของหลอดลมที่เกิดจาก eosinophil โดย IL-17 จะหลั่งมาจาก T helper17 lymphocyte และยังพบว่า macrophage สามารถหลั่ง IL-17 ได้เช่นกัน จะพบสาร IL-17 เพิ่มขึ้นในภาวะ inflammation โดยหน้าที่จะไปกระตุ้นการหลั่ง IL-6, IL-8, IL-11, Gro-α, G-CSF และ GM-CSFจากเซลล์ทำให้เกิดภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นผิดปกติ และทำให้มีการชักนำ neutrophil มาบริเวณที่มีการอักเสบ ทำให้หอบหืดมีความรุนแรงมากขึ้น ระดับ neutrophil ที่สูงขึ้นจะสัมพันธ์กับระดับ IL-17 ที่สูงขึ้น

5.1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

พบว่าข้อมูลของผู้ป่วยทั้งสามกลุ่ม เมื่อเฉลี่ยออกมาแล้วมีค่าใกล้เคียงกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อไปทำการวิเคราะห์จะทำให้ไม่เกิดการแตกต่างกันมาก โดยปัจจัยที่อาจมีผลต่อปริมาณไซโตไคน์คือ น้ำหนัก อายุ ระดับความรุนแรงของโรคหืด ค่าสมรรถภาพปอด FEV1 เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มโรคหืดภูมิแพ้กับโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน สิ่งที่มีความแตกต่างกันคือเรื่องของเพศจะพบว่าในกลุ่มที่มีการศึกษาในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้จะเป็นผู้หญิงมากกว่าผู้ชายประมาณ 3 เท่า

5.2 ผลตรวจหาปริมาณไซโตไคน์

ในการศึกษานี้ไม่พบปริมาณของไซโตไคน์ IL-17 แม้จะทำให้มีความเข้มข้นขึ้น 99 เท่า ก็ยังตรวจไม่พบ สาเหตุที่ตรวจไม่พบนั้นเกิดได้จาก

1) IL-17 ที่ออกมากับลมหายใจมีปริมาณน้อยมากๆ การศึกษาที่ทำด้วยวิธี EBC แล้วเจอระดับ IL-17 นั้นทำโดยวิธี protein micro array [162] แล้วค่าที่ได้ออกมานั้นเป็น % ไม่ได้เป็นปริมาณ
2) อาจเกิดจากวิธีในการทำการศึกษาก็ได้ โดยเริ่มตั้งแต่ การเก็บตัวอย่างด้วยวิธี EBC ที่เราใช้เป็น double-wall glass condenser ที่ประกอบขึ้นเองไม่ใช่ commercial set จะมีข้อเสียคือ อุณหภูมิที่เกิดจากน้ำแข็งอาจจะไม่คงที่เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที พื้นผิวที่เป็นแก้ว อาจมีผลต่อปริมาณสาร ไซโตไคน์ ถ้าเปลี่ยนไปเป็น commercial set อาจจะ ตรวจได้ก็ได้
3) วิธีเก็บสิ่งส่งตรวจอาจเป็นข้อ ผิดพลาดอีกอย่างในการศึกษานี้ เนื่องจากตัวอย่างจะถูกแช่ไว้ที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียสก่อนจะนำไปแช่ต่อที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส มีการละลายและแช่แข็งๆหลายครั้งอาจทำให้โปรตีนสูญ เสียสภาพไป
4) เกิดจากการทำ Flow cytomix ซึ่งมีหลายขั้น อาจมีการผิดพลาดจนทำให้ตรวจไม่ได้
5) Flow cytomix อาจมี sensitivity ที่ยังไม่เพียงพอต่อการวัดระดับ IL-17

อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบว่า sample ที่ส่ง total amylase > 30 pg/ml เมื่อนำไปตรวจหาปริมาณไซโตไคน์ IL-17 พบว่าสามารถตรวจวัดระดับได้ทั้ง 3 sample ดูจากตารางที่21 ซึ่งต่อไปในอนาคต น่าจะมีการศึกษาว่าน้ำลายกับ IL-17 จะสัมพันธ์กับโรคหืดหรือไม่

ตารางที่21 ปริมาณไซโตไคน์ IL-17 ที่ตรวจได้จาก 3 samples

IL-17A	Dilution	Intensity	BB0 (MFI/MFI_Bl.*100)	Conc. in pg/ml
Sample6	1.0	2.23	99.10	<=0
Sample7.1	1.0	1.93	85.82	<=0
Sample7.2	1.0	1.83	81.31	<=0
Sample9.1	1.0	7.81	347.55	183.54
sample9.2	1.0	9.47	421.70	219.63
Sample14	1.0	2.09	93.06	<=0
Sample15.1	1.0	15.54	691.58	331.13
Sample15.2	1.0	7.17	319.08	168.66
Sample17	1.0	2.00	88.96	<=0
Sample18	1.0	1.95	86.60	<=0
Sample23	1.0	1.97	87.77	<=0
Sample24	1.0	1.96	87.38	<=0
Sample25	1.0	2.09	93.06	<=0
Sample34	1.0	1.83	81.31	<=0
Sample42	1.0	2.32	103.20	<=0
Sample1	1.0	2.15	95.60	<=0
Sample2	1.0	1.89	83.92	<=0
Sample12	1.0	2.14	95.17	<=0
Sample16	1.0	33.08	1,472.21	578.97

ในการศึกษานี้ทำ Multiplex flow cytomix ซึ่งจะตรวจไซโตไคน์ได้พร้อมกันหลายๆตัวครั้งเดียว แต่พบว่าตรวจเจอไซโตไคน์แค่ไม่กี่ตัว เทียบกับการศึกษาที่เก็บ sample ด้วย EBC เหมือนกัน แต่กับส่งตรวจไซโตไคน์ได้ทุกตัว ความแตกต่างอาจอยู่ที่วิธีเก็บ EBC เครื่องมือที่แตกต่างกัน วิธีการเก็บรักษา samples และ สารที่เอามาทำ Flow cytomix ก็เป็นคนละบริษัทกัน

การศึกษานี้พบ IL-2 ซึ่งเป็น lymphokine กับ IL-10 ซึ่งเป็น anti-inflammatory cytokine พบว่าในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้มีปริมาณ IL-10 สูงกว่าผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ และคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาที่ทำโดย Stasiak-Barmuta ใช้เลือดจากผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ มาเปรียบเทียบกับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ที่มีการติดเชื้อบ่อยๆ และคนปกติ พบว่าผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ที่มีการติดเชื้อบ่อยๆ จะมีค่า IL-10 สูงกว่ากลุ่มคนปกติ โดยมีสมมุติฐานที่ว่าการติดเชื้อไวรัสจะทำให้หน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกันเสียไป และเป็นปัจจัยเกิดโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ [165] มีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างคนปกติ mild intermittent asthma และ severe persistent asthma พบว่า Treg ในผู้ป่วยกลุ่ม mild intermittent asthma สูงกว่ากลุ่มคนปกติ และ severe persistent asthma [166] มีการศึกษา IL-10 ใน EBC บางการศึกษาพบว่า IL-10 ในผู้ป่วยโรคหืดมีปริมาณสูงกว่าคนธรรมดา แต่บางการศึกษาก็พบว่าไม่แตกต่างกัน

มีการศึกษาเปรียบเทียบโดยไซโตไคน์ในเลือดของผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้เทียบกันพบว่า IL-10 ในเลือดของผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้จะสูงกว่าผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ [167] IL-10 สร้างได้จากหลายเซลล์และเซลล์ที่สำคัญคือ Treg อาจเป็นไปได้ว่าในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้มีปริมาณ Treg ในทางเดินหายใจมากกว่าในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ แต่อย่างไรก็ตามไม่พบว่าปริมาณ IL-10 ที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค และ ค่า FEV1ในการศึกษานี้

ในการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของ IL-2 ในผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่มการศึกษานี้พบว่าระดับ IL-2 สัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืด และค่า FEV1 ซึ่งปริมาณ IL-2 จะเกี่ยวข้องกับการทำงานของ effector T cell และ Treg ในหลอดลม แสดงว่าผู้ป่วยโรคหืดที่มีสมรรถภาพปอดไม่ดีค่า FEV1 ต่ำน่าจะมี effector T cell และ Treg ทำงานเพิ่มมากขึ้น ซึ่งไม่สามารถบอกได้ว่าเป็น T cell ชนิดอะไร นอกจากนี้ IL-2 จะกระตุ้นเซลล์อื่นที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบด้วย คือ NK cells, B cells, cytotoxic T cells และ macrophage อาจจะพอสรุปได้ว่าถ้าในหลอดลมของผู้ป่วยมีจำนวนเซลล์ต่างๆเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ สมรรถภาพปอดลดลง มีการศึกษาพบว่า IL-2 ในผู้ป่วยโรคหืดในเลือดพบว่ามี soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) มากกว่าในคนธรรมดา โดยเฉพาะกลุ่ม moderate และ severe จะมีปริมาณมากกว่าผู้ป่วยโรคหืดแบบ remission [168] มีการศึกษาพบว่าระดับ sCD25 (receptor IL-2) มีความสัมพันธ์กับ asthma severity score ในเด็ก ($r=0.41$; $P<0.01$) [169] การศึกษาที่ทำโดย Virchow JC และคณะพบว่าผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้จะมี Th2 เด่น

แต่ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้จะมี T suppressor เด่น จะตรวจพบ IL-2 สูงในกลุ่มโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้มากกว่าโรคหืดภูมิแพ้ [170] การศึกษาที่ทำเกี่ยวกับ EBC เพื่อดูระดับความรุนแรงของโรคหืด จะพบว่าระดับ NO, pH สามารถบอกได้ ยังไม่มีการศึกษาไหนที่บอกว่า IL-2 สามารถบอก severity และ FEV1 ได้เหมือนการศึกษานี้ และเมื่อดูแยกตามกลุ่มพบว่าอัตตราส่วน IL-2/IL-10 สามารถบอกระดับความรุนแรงโรค และ แนวโน้มค่า FEV1 ในกลุ่มโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ได้ ซึ่งไม่เคยมีใครรางงานมาก่อนหน้าการศึกษานี้

5.3 **ข้อจำกัดของงานวิจัย**

1) งานวิจัยนี้ทำในผู้ป่วยโรคหืดที่เคยได้รับการรักษาด้วยยาสเตียรอยด์มาก่อน ทำในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ซึ่งเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิดังนั้น คนไข้ในกลุ่มนี้ค่อนข้างหายาก ทำให้ได้คนไข้ที่ศึกษาปริมาณไม่มาก
2) การใช้เครื่องมือ EBC ที่ประกอบเองเป็นครั้งแรกที่ใช้ในการศึกษาในประเทศไทย ซึ่งผู้วิจัย ยังไม่ค่อยชำนาญในการใช้เครื่องมือเท่าไรในช่วงแรก ในตอนแรกมีปัญหาเกี่ยวกับเครื่องมือ เพราะได้น้ำจากลมหายใจมาในปริมาณที่น้อย เนื่องจากว่า ความเย็นไม่พอใน condenser และอาสาสมัครไม่ค่อยหายใจทางปาก ถ้ามีการใช้เครื่องมือให้ชำนาญมากขึ้น การใช้ EBC ยังเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการศึกษาโรคหืด เนื่องจาก invasive เมื่อเทียบกับวิธีส่องกล้องเพื่อเอาน้ำล้างหลอดลมมาตรวจหรือตัดชิ้นเนื้อมาตรวจ
3) สถานที่ที่ใช้ทำ EBC กับตู้เย็น -70 ºC อยู่บริเวณห่างไกลกันทำให้ไม่ได้แช่ sample ทันทีซึ่งมีผลอาจให้โปรตีนมีการเปลี่ยนแปลง การศึกษานี้ อาจเกิด multiple frosting-defrosting cycles ซึ่งทำให้ตรวจไซโตไคน์ไม่ได้ทุกตัว
4) วิธีการตรวจด้วย Flow cytomix ใช้เทคนิคหลายขั้นตอนซึ่งอาจเกิดข้อผิดพลาด ได้ง่าย ถ้ามีวิธีที่ตรวจง่ายกว่านี้อาจช่วยลดการผิดพลาดทางเทคนิคได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ crossectional analytic study โดยเป็นการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์ จากน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจ ด้วยวิธีการ exhaled breath condensate เป็นวิธีที่ non-invasive ต่อผู้ป่วย เพื่อศึกษาถึงพยาธิสภาพของโรคหืดภูมิแพ้กับโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ว่ามีความแตกต่างกันอย่างไร

จากผลการศึกษาได้อาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษา ตั้งแต่ขั้นตอนการซักประวัติตรวจร่างกาย การประเมินความรุนแรงของโรคหืดตาม GINA guideline การทดสอบสารก่อภูมิแพ้ทางผิวหนัง การทดสอบสมรรถภาพปอดเพื่อหาค่า FEV1 จากนั้นอาสาสมัครจะไปนั่งเพื่อหายใจทางปากผ่านเครื่องมือ EBC เป็นระยะเวลา 30 นาที จะได้น้ำที่กลั่นตัวออกมาจำนวน 5 ml จากนั้นนำน้ำที่ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ºC แล้วนำไปเก็บที่ต่อที่อุณหภูมิ -70 ºC ได้ตัวอย่างมาทั้งหมด 50 sample มี sample ที่ไม่สามารถทำการตรวจได้คือมีปริมาณน้อยกว่า 2 ml มี 9 คนและ ตรวจแล้วพบว่าค่า total amylase > 30 μg/ml จำนวน 3 คน คงเหลือเหลือจำนวน 38 sample แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้จำนวน 16 คน แบ่งเป็นชาย 4 คน หญิง 12 คน อายุเฉลี่ย 39.3 ปี ค่า FEV1 เฉลี่ย 75.5% ระดับความรุนแรงของโรคหืดเป็นนานๆครั้ง 1 คน โรคหืดรุนแรงระดับน้อย 4 คน โรคหืดรุนแรงระดับปานกลาง 9 คน และระดับรุนแรงมาก 2 คน น้ำหนักโดยเฉลี่ย 68.8 กก. ส่วนสูงโดยเฉลี่ย 159.3 ซม. กลุ่มโรคหืดไม่เป็น ภูมิแพ้จำนวน 13 คน แบ่งเป็นชาย 7 คน หญิง 6 คน อายุเฉลี่ย 36.9 ปี ค่า FEV1 เฉลี่ย 80.1% ระดับความรุนแรงโรคหืดรุนแรงระดับน้อย 8 คน โรคหืดรุนแรงระดับปานกลาง 3 คน และระดับรุนแรงมาก 2 คน น้ำหนักโดยเฉลี่ย 61.1 กก. ส่วนสูงโดยเฉลี่ย 157.2 ซม. และคนปกติ 9 คน แบ่งเป็นชาย 4 คน หญิง 5 คน อายุเฉลี่ย 30.8 ปี ค่า FEV1 เฉลี่ย 98% น้ำหนักโดยเฉลี่ย 62 กก. ส่วนสูงโดยเฉลี่ย 166.6 ซม. นำ sample ที่สามารถตรวจได้ไปผ่านกระบวนการ lyophilization ซึ่งจะเปลี่ยนสารจากน้ำกลายเป็นผงโดยที่ไม่เสียคุณสมบัติของสารทิ้งไว้ระยะเวลา 2 วันจากนั้น นำมาผสมน้ำเพื่อตรวจไซโตไคน์ด้วยวิธี Flow cytomix เพื่อตรวจหาสารไซโตไคน์ IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, IFN-γ, TNF-α และ TNF-β ผลการตรวจไม่พบระดับของ IL-17A จาก sample แต่ที่พบใน sample คือ IL-2 และ IL-10 สามารถนำมาวิเคราะห์

ได้ พบว่าปริมาณ IL-10 สูงในกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ มากกว่ากลุ่มโรคหืดภูมิแพ้และกลุ่มคนปกติ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p = 0.05 และ p = 0.006 ตามลำดับ ระดับ อาจจะเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้น่าจะมีปริมาณ Treg ในหลอดลมมากกว่าผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้ พบอัตตราส่วน IL-2/IL-10 ที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ๖ (r=0.68, p=0.01) คือถ้ามีค่าสูงจะสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงมากในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ พบ IL-2 และ IL-2/IL-10 สัมพันธ์กับค่า FEV1 โดยมีค่า (r=0.73, p = 0.004) และ (r=0.72, p = 0.005) ตามลำดับ โดยถ้าผู้ป่วยมีค่า FEV1 ต่ำแสดงถึงสมรรถภาพปอดไม่ดี จะตรวจพบปริมาณ IL-2 สูง เช่นเดียวกับค่าอัตตราส่วน IL2/IL10 ถ้ายิ่งสูงพบว่าค่า FEV1จะต่ำ พบว่าปริมาณ IL-2 สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคหืด (r=0.43, p=0.03) และ FEV1(r=-0.458, p=0.02) ในผู้ป่วยโรคหืด โดยพบว่าค่า IL-2 จะสูงตามความรุนแรงของโรค เมื่อแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่1 intermittent และ mild persistenr และกลุ่มที่2 คือ moderate persistent และ severe persistent โดยปริมาณ IL-2 จะแปรผกผันกับค่า FEV1 อาจเป็นไปได้ว่าในผู้ป่วยโรคหืด IL-2 ที่มากแสดงถึงมีการสร้างเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบมากขึ้น ส่งผลให้ค่าสมรรถภาพปอดต่ำ

การศึกษานี้ไม่สามารถตรวจ IL-17 จากน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจได้ ด้วยวิธี Flow cytomety แต่พบ IL-2 และ IL-10 และพบว่า IL-10 มีปริมาณสูงในผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้เมื่อเทียบกับโรคหืดภูมิแพ้ ค่า IL-2/IL-10 ที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ค่า IL-2 และ IL-2/IL-10 ที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับค่า FEV1 ที่ลดลงในกลุ่มโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ค่า IL-2 สัมพันธ์กับค่า FEV1 และระดับความรุนแรงโรคหืด ในผู้ป่วยโรคหืด

6.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมของพยาธิสภาพโรคหืดภูมิแพ้ และโรคหืดภูมิแพ้ให้มากกว่านี้ โดยเฉพาะโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ที่มีอาการรุนแรงกว่า และพยาธิสภาพยังไม่ค่อยชัดเจน
2. ควรมีการศึกษาให้มีจำนวนอาสาสมัครมากกว่านี้เพื่อที่จะได้เปรียบเทียบหาความแตกต่างระหว่างไซโตไคน์ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้และผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ได้ชัดเจนมากขึ้น
3. ควรมีการใช้เครื่องมือ exhaled breath condensate ให้มีความชำนาญ และทำให้เกิดมาตราฐานเป็นที่ยอมเพื่อเป็นประโยชน์ ในการศึกษาวิจัยโรคของระบบทางเดินหายใจ เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและผู้ป่วยให้ความร่วมมือดี
4. ควรมีการตรวจสาร IL-17 ด้วยวิธีอื่นเช่นการเก็บ sample ด้วยวิธี BAL หรือ tranbronchial biopsy การตรวจวิธีอื่นที่ไม่ใช่ Flow cytomix ที่มี sensitivity ที่ดีกว่าเช่น วิธี Micro-RNA หรือใช้ protein microarray

5. ศึกษาถึงเซลล์ที่สร้างและหลั่ง IL-10 ในผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้และผู้ป่วยโรคหืดไม่เป็นภูมิแพ้ว่ามีจำนวนแตกต่างกันหรือไม่ เช่น Treg เพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านผลการศึกษานี้
6. ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ IL-2 ที่สัมพันธ์กับค่า FEV1และระดับความรุนแรงของโรคเพื่อเอาไปใช้ในทางคลินิกต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

[1] สมาคมอุรเวชแห่งประเทศไทย. แนวทางการวินิจฉัยและรักษาโรคหืดในประเทศไทย สำหรับผู้ป่วยผู้ใหญ่ **วารสารสามาคมอุรเวชแห่งประเทศไทย** พ.ศ. 2547.

[2] Comi AL, Tedeschi A, Lorini M, Miadonna A. Novel clinical and serological aspects in non-allergic asthma. **Respir Med** 2007 Dec;101(12):2526-33.

[3] Frew AJ. Atopic and non-atopic asthma. **Curr Probl Dermatol** 1999;28:129-34.

[4] Humbert M, Menz G, Ying S, Corrigan CJ, Robinson DS, Durham SR, et al. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences. **Immunol Today** 1999 Nov;20(11):528-33.

[5] Soyer OU, Dizdar EA, Keskin O, Lilly C, Kalayci O. Comparison of two methods for exhaled breath condensate collection. **Allergy** 2006 Aug;61(8):1016-8.

[6] Jackson AS, Sandrini A, Campbell C, Chow S, Thomas PS, Yates DH. Comparison of biomarkers in exhaled breath condensate and bronchoalveolar lavage. **Am J Respir Crit Care Med** 2007 Feb 1;175(3):222-7

[7] Mutlu GM, Garey KW, Robbins RA, Danziger LH, Rubinstein I. Collection and analysis of exhaled breath condensate in humans. **Am J Respir Crit Care Med** 2001 Sep 1;164(5):731-7.

[8] Chow S, Yates DH, Thomas PS. Reproducibility of exhaled breath condensate markers. **Eur Respir J** 2008 Oct;32(4):1124-6.

[9] Holz O. Catching breath: monitoring airway inflammation using exhaled breath condensate. **Eur Respir J** 2005 Sep;26(3):371-2.

[10] Muller WG, Morini F, Eaton S, Peters M, Jaffe A. Safety and feasibility of exhaled breath condensate collection in ventilated infants and children. **Eur Respir J** 2006 Sep;28(3):479-85.

[11] Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. **Eur Respir J** 2005 Sep;26(3):523-48.

[12] Eirc B. **Global initiative for asthma guideline** 2009.

[13] Masoni M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination committee report. **Allergy** 2004;59(5):469-78.

[14] Boonsawat W, Charoenphan P. Survey of asthma control in Thailand. **Respirology** 2004;9: 373–378.

[15] Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OCP, Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. **Allergy** 2010; 65: 152–167.

[16] Akinbami LJ, Schoendorf KC. Trends in childhood asthma: prevalence, health care utilization, and mortality. **Pediatrics** 2002;110:315–322.

[17] Riedi CA, Rosario NA, Ribas LF, Backes AS, Kleiniibing GF, Popija MI. Increase in prevalence of rhinoconjunctivitis but not asthma and atopic eczema in teenagers. **J Investig Allergol Clin Immunol** 2005;15:183–188.

[18] Postma DS, Bleecker CR, Amelung PJ. Genetic susceptibility to asthma-bronchial hyperesponsiveness coinherited with a major gene for atopy. **N Engl J Med** 1995;333(14):894-900.

[19] Holloway JW, Yang IA, Holgate ST. Genetics of allergic disease. **J Allergy Clin Immunol**. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S81-94.

[20] Hizawa N. Genetic backgrounds of asthma and COPD. **Allergol Int**. 2009 Sep;58(3):315-22.

[21] Pinto LA, Depner M, Klopp N, Illig T, Vogelberg C, von Mutius E, Kabesch M. MMP-9 gene variants increase the risk for non- atopic asthma in children. **Respir Res**. 2010 Feb 24;11(1):23.

[22] Li X, Howard TD, Zheng SL, Haselkorn T, Peters SP, Meyers DA, Bleecker ER. Genome-wide association study of asthma identifies RAD50-IL13 and HLA-DR/DQ regions. **J Allergy Clin Immunol**. 2010 Feb;125(2):328-335.

[23] Litonjua AA, Sparrow D, Celedon JC, DeMolles D, Weiss ST. Association of body mass index with the development of methacholine airway hyperresponsiveness in men: the Normative Aging Study. **Thorax**. 2002;57:581–585.

[24] Yap JC, Watson RA, Gilbey S, Pride NB. Effects of posture on respiratory mechanics in obesity. **J Appl Physiol**. 1995;79:1199–1205.

[25] Sampson MG, Grassino AE. Load compensation in obese patients during quiet tidal breathing. **J Appl Physiol**. 1983;55:1269–1276.

[26] Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. **Int J Obes Relat Metab Disord**. 2003;27(suppl 3):S53–S55.

[27] Chen H, Tliba O, Van Besien CR, Panettieri RA, Amrani Y. TNF-α modulates murine tracheal rings responsiveness to G-protein-coupled receptor agonists and KCl. **J Appl Physiol**. 2003;95:864–873.

[28] Rajala MW, Scherer PE. Minireview: the adipocyte—at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology**. 2003;144:3765–3773.

[29] Nawrocki AR, Scherer PE. The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation. **Curr Opin Pharmacol**. 2004;4:281–289.

[30] S.Shore, J.Fredberg. Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness. **J of Allergy and Clinical Immunology**.115; 5: Pages 925-927.

[31] Horwood LJ, Fergusson DM, Shannon FT. Social and familial factors in the development of early childhood asthma. **Pediatrics**. 1985 May;75(5):859-68.

[32] Sporik R., Holgate S.T., Platts-Mills T.A. Exposure to house-dust mite allergen (Der p I) and the development of asthma in childhood. A prospective study. **N Engl J Med** 1990; 323:502-507.

[33] Gauvreau G.M., Watson R.M., O'Byrne P.M. Kinetics of allergen-induced airway eosinophilic cytokine production and airway inflammation. **Am J Respir Crit Care Med** 1999; 160:640-647.

[34] Wood L.J., Inman M.D., Watson R.M. Changes in bone marrow inflammatory cell progenitors after inhaled allergen in asthmatic subjects. **Am J Respir Crit Care Med** 1998; 157:99-105.

[35] Lange P., Parner J., Vestbo J. A 15-year follow-up study of ventilatory function in adults with asthma. **N Engl J Med** 1998; 339:1194-1200.

[36] Leckie M.J., ten Brinke A., Khan J. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. **Lancet** 2000; 356:2144-2148.

[37] Platts-Mills TA. Allergens and asthma. **Allergy Proc** 1990;11:269-71.

[38] Platts-Mills TA, Ward GW Jr, Sporik R, Gelber LE, Chapman MD, Heymann PW. Epidemiology of the relationship between exposure to indoor allergens and asthma. **Int Arch Allergy Appl Immunol** 1991;94:339-45.

[39] Diette GB, McCormack MC, Hansel NN, Breysse PN, Matsui EC. Environmental issues in managing asthma. **Respir Care** 2008;53:602-15.

[40] Diette GB, Hansel NN, Buckley TJ, Curtin-Brosnan J, Eggleston PA, Matsui EC, et al. Home indoor pollutant exposures among inner-city children with and without asthma. **Environ Health Perspect** 2007;115:1665-9.

[41] Chew GL, Perzanowski MS, Miller RL, Correa JC, Hoepner LA, Jusino CM, et al. Distribution and determinants of mouse allergen exposure in low-income New York City apartments. **Environ Health Perspect** 2003;111:1348-51.

[42] Curtin-Brosnan J, Matsui EC, Breysse P, McCormack MC, Hansel NN, Tonorezos ES, et al. Parent report of pests and pets and indoor allergen levels in inner-city homes. **Ann Allergy Asthma Immunol** 2008;101:517-23.

[43] Matsui EC, Simons E, Rand C, Butz A, Buckley TJ, Breysse P, et al. Airborne mouse allergen in the homes of inner-city children with asthma. **J Allergy Clin Immunol** 2005;115:358-63.

[44] Matsui EC, Eggleston PA, Breysse P, Diette GB. Mouse allergen levels vary over time in inner-city homes. **J Allergy Clin Immunol** 2007;120:956-9.

[45] Phipatanakul W, Cronin B, Wood RA, Eggleston PA, Shih MC, Song L, et al. Effect of environmental intervention on mouse allergen levels in homes of inner-city Boston children with asthma. **Ann Allergy Asthma Immunol** 2004;92:420-5.

[46] PhipatanakulW, Eggleston PA, Wright EC,Wood RA. Mouse allergen. II. The relationship of mouse allergen exposure to mouse sensitization and asthma morbidity in inner-city children with asthma. **J Allergy Clin Immunol** 2000;106:1075-80.

[47] Celedon JC, Litonjua AA, Ryan L, Platts-Mills T, Weiss ST, Gold DR. Exposure to cat allergen, maternal history of asthma, and wheezing in first 5 years of life. **Lancet** 2002;360:781-2.

[48] Erwin EA, Woodfolk JA, Custis N, Platts-Mills TA. Animal danders. Immunol **Allergy Clin North Am** 2003;23:469-81.

[49] Leaderer BP, Belanger K, Triche E, Holford T, Gold DR, Kim Y, et al. Dust mite, cockroach, cat, and dog allergen concentrations in homes of asthmatic children in the northeastern United States: impact of socioeconomic factors and population

density. **Environ Health Perspect** 2002;110:419-25.

[50] Perzanowski MS, Ronmark E, Platts-Mills TA, Lundback B. Effect of cat and dog ownership on sensitization and development of asthma among preteenage children. **Am J Respir Crit Care Med** 2002;166:696-702.

[51] Chan-Yeung M, McClean PA, Sandell PR, Slutsky AS, Zamel N. Sensitization to cat without direct exposure to cats. **Clin Exp Allergy** 1999;29:762-5.

[52] Custovic A, Taggart SC, Woodcock A. House dust mite and cat allergen in different indoor environments. **Clin Exp Allergy** 1994;24:1164-8.

[53] Ownby DR, Johnson CC, Peterson EL. Exposure to dogs and cats in the first year of life and risk of allergic sensitization at 6 to 7 years of age. **JAMA** 2002;288:963-72.

[54] David Peden, Charles E. Reed. Environmental and occupational allergies. **J Allergy Clin Immunol 2010**;125: S150-60.

[55] Marks GB, Bush RK. It's blowing in the wind: new insights into thunderstormrelated asthma. **J Allergy Clin Immunol** 2007;120:530-2.

[56] R. Piipari, J.J.K. Jaakkola, N. Jaakkola, M.S. Jaakkola. Smoking and asthma in adults. **Eur Respir J** 2004; 24: 734–739.

[57] Frank D. Gilliland, Talat Islam, Kiros Berhane, W. James Gauderman, Rob McConnell, Edward Avol, and John M. Peters. Regular Smoking and Asthma Incidence in Adolescents. **Am J Respir Crit Care Med** 2006; 174: pp 1094–1100.

[58] N.C. Thomson, R. Chaudhuri, E. Livingston. Asthma and cigarette smoking. **Eur Respir J** 2004; 24: 822–833.

[59] Marquette C, Saulnier F, Leroy O, et al. Long-term prognosis of near-fatal asthma. **Am Rev Respir Dis** 1992; 146: 76–81.

[60] Lange P, Parner J, Vestbo J, Schnohr P, Jensen G. A 15 year follow-up study of ventilatory function in adults with asthma. **N Engl J Med** 1998; 339: 1194–1200.

[61] Apostol G, Jacobs D, Tsai A, et al. Early life factors contribute to the decrease in lung function between ages 18 and 40. **Am J Respir Crit Care Med** 2002; 166: 166–172.

[62] Kerstjens H, Overbeek S, Schouten J, Brand P, Postma D. Airways hyperresponsiveness, bronchodilator response, allergy and smoking predict improvement in FEV1 during long-term inhaled corticosteroid treatment. **Eur Respir J**. 1993; 6:868–876.

[63] Pedersen B, Dahl R, Karlstrom R, Peterson C, Venge P. Eosinophil and neutrophil activity in asthma in one-year trial with inhaled budesonide. **Am J Respir Crit Care Med** 1996; 153: 1519–1529.

[64] Chalmers GW, Macleod KJ, Little SA, Thomson LJ, McSharry CP, Thomson NC. Influence of cigarette smoking on inhaled corticosteroid treatment in mild asthma. **Thorax** 2002; 57: 226–230.

[65] Chaudhuri R, Livingston E, McMahon AD, Thomson L, Borland W, Thomson NC. Cigarette smoking impairs the therapeutic response to oral corticosteroids in chronic asthma. **Am J Respir Crit Care Med** 2003; 168: 1308–1311.

[66] BrimsF, Chauhan AJ. Air quality, tobacco smoke, urban crowding and day care:modern menaces and their effects on health. **Pediatr Infect Dis J** 2005;24(suppl):S152-6.

[67] Gupta D, Aggarwal AN, Chaudhry K, Chhabra SK, D'Souza GA, Jindal SK, et al. Household environmental tobacco smoke exposure, respiratory symptoms and asthma in non-smoker adults: a multicentric population study from India. **Indian J Chest Dis Allied Sci** 2006;48:31-6.

[68] Mishra V. Effect of indoor air pollution from biomass combustion on prevalence of asthma in the elderly. **Environ Health Perspect** 2003;111:71-8.

[69] Schei MA, Hessen JO, Smith KR, Bruce N, McCracken J, Lopez V. Childhood asthma and indoor woodsmoke from cooking in Guatemala. **J Expo Anal Environ Epidemiol** 2004;14(suppl 1):S110-7.

[70] Brunekreef B, Houthuijs D, Dijkstra L, Boleij JS. Indoor nitrogen dioxide exposure and children's pulmonary function. **J Air Waste Manage Assoc** 1990;40: 1252-6.

[71] Neas LM, Dockery DW, Ware JH, Spengler JD, Speizer FE, Ferris BG Jr. Association of indoor nitrogen dioxide with respiratory symptoms and pulmonary function in children. **Am J Epidemiol** 1991;134:204-19.

[72] Chauhan AJ, Johnston SL. Air pollution and infection in respiratory illness. **Br Med Bull** 2003;68:95-112.

[73] Chauhan AJ, Inskip HM, Linaker CH, Smith S, Schreiber J, Johnston SL, et al. Personal exposure to nitrogen dioxide (NO2) and the severity of virus-induced asthma in children. **Lancet** 2003;361:1939-44.

[74] van Strien RT, Gent JF, Belanger K, Triche E, Bracken MB, Leaderer BP. Exposure to NO2 and nitrous acid and respiratory symptoms in the first year of life. **Epidemiology** 2004;15:471-8.

[75] Pilotto LS, Nitschke M, Smith BJ. Randomized controlled trial of unflued gas heater replacement on respiratory health of asthmatic schoolchildren. **Int J Epidemiol** 2004;33: 208–14.

[76] Perry TT, Wood RA, Matsui EC, et al. Room-specific characteristics of suburban homes as predictors of indoor allergen concentrations. **Ann Allergy Asthma Immunol** 2006;97: 628–35.

[77] Institute of Medicine Committee on the Assessment of Asthma and Indoor Air. Clearing the air: asthma and indoor air exposures. Washington, DC: **National Academy Press**; 2000.

[78] Elizabeth C M, Nadia M H, Meredith C Mc, Robert R, Patrick N B, Gregory B D. Asthma in the Inner City and the Indoor Environment. **Immunol Allergy Clin N Am** 2008; 28: 665–686.

[79] van Strien RT, Verhoeff AP, Brunekreef B, van Wijnen JH. Mite antigen in house dust: relationship with different housing characteristics in The Netherlands. **Clin Exp Allergy** 1994;24:843-53.

[80] Edwards J, Walters S, Griffiths RK. Hospital admissions for asthma in preschool children: relationship to major roads in Birmingham, United Kingdom. **Arch Environ Health** 1994;49:223-7.

[81] Diaz-Sanchez D, Proietti L, Polosa R. Diesel fumes and the rising prevalence of atopy: an urban legend? **Curr Allergy Asthma Rep** 2003;3:146-52.

[82] Peden DB. Pollutants and asthma: role of air toxics. **Environ Health Perspect** 2002;110(suppl 4):565-8.

[83] Riedl M, Diaz-Sanchez D. Biology of diesel exhaust effects on respiratory function. **J Allergy Clin Immunol** 2005;115:221-8.

[84] Pandya RJ, Solomon G, Kinner A, Balmes JR. Diesel exhaust and asthma: hypotheses and molecular mechanisms of action. **Environ Health Perspect** 2002; 110(suppl 1):103-12.

[85] Diaz-Sanchez D, Garcia MP, Wang M, Jyrala M, Saxon A. Nasal challenge with diesel exhaust particles can induce sensitization to a neoallergen in the human mucosa. **J Allergy Clin Immunol** 1999;104:1183-8.

[86] Health effects of outdoor air pollution. Committee of the Environmental and Occupational Health Assembly of the American Thoracic Society. **Am J Respir Crit Care Med** 1996;153:3-50.

[87] Barnes PJ. Air pollution and asthma. **Postgrad Med J** 1994;70:319-25.

[88] Koenig JQ. Air pollution and asthma. **J Allergy Clin Immunol** 1999;104:717-22.

[89] Peden DB. Mechanisms of pollution-induced airway disease: in vivo studies. **Allergy** 1997;52(suppl):37-44.

[90] Jenkins HS, Devalia JL, Mister RL, Bevan AM, Rusznak C, Davies RJ. The effect of exposure to ozone and nitrogen dioxide on the airway response of atopic asthmatics to inhaled allergen: dose- and time-dependent effects. **Am J Respir Crit Care Med** 1999;160:33-9.

[91] Tunnicliffe WS, Burge PS, Ayres JG. Effect of domestic concentrations of nitrogen

dioxide on airway responses to inhaled allergen in asthmatic patients. **Lancet** 1994;344:1733-6.

[92] Wang JH, Devalia JL, Duddle JM, Hamilton SA, Davies RJ. Effect of six-hour exposure to nitrogen dioxide on early-phase nasal response to allergen challenge in patients with a history of seasonal allergic rhinitis. **J Allergy Clin Immunol** 1995;96:669-76.

[93] Wang JH, Duddle J, Devalia JL, Davies RJ. Nitrogen dioxide increases eosinophil activation in the early-phase response to nasal allergen provocation. **Int Arch Allergy Immunol** 1995;107:103-5.

[94] Gent JF, Triche EW, Holford TR, Belanger K, Bracken MB, Beckett WS, et al. Association of low-level ozone and fine particles with respiratory symptoms in children with asthma. **JAMA** 2003;290:1859-67.

[95] Peden DB. Controlled exposures of asthmatics to air pollutants. In: Holgate S, Koren HS, Samet J, Maynard RL, editors. Air pollution and health. London: **Academic Press**; 1999. p. 865-80.

[96] Sunyer J, Basagana X, Belmonte J, Anto JM. Effect of nitrogen dioxide and ozone on the risk of dying in patients with severe asthma. **Thorax** 2002;57:687-93.

[97] Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. **J Allergy Clin Immunol** 2005; 115(6): 1238-48.

[98] Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for allergy and asthma. **J Allergy Clin Immunol** 2005; 115(6): 1109-17.

[99] E. von Mutius, S. Illi, T. Hirsch, W. Leupold, U. Keil, S.K. Weiland. Frequency of infections and risk of asthma, atopy and airway hyperresponsiveness in children. **Eur Respir J** 1999; 14: 4-11.

[100] M. Calvani, C. Alessandri, S. Miceli Sopo, V. Panetta, S. Tripodi, A. Torre, G. Pingitore,T. Frediani, et al. Infectious and uterus related complications during pregnancy and development of atopic and nonatopic asthma in children. **Allergy** 2004: 59: 99–106.

[101] Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. **N Engl J Med** 2002;347:869–77.

[102] Gereda JE, Leung DY, Thatayatikom A, et al. Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. **Lancet** 2000;355:1680–3.

[103] TavernierG, Fletcher G, Gee I, et al. IPEADAM study: indoor endotoxin exposure, family status, and some housing characteristics in English children. **J Allergy Clin Immunol** 2006; 117:656–62.

[104] Tavernier GO, Fletcher GD, Francis HC, et al. Endotoxin exposure in asthmatic children and matched healthy controls: results of IPEADAM study. **Indoor Air** 2005;15(Suppl 10): 25–32.

[105] PerzanowskiMS, Miller RL, Thorne PS, et al. Endotoxin in inner-city homes: associations with wheeze and eczema in early childhood. **J Allergy Clin Immunol** 2006;117:1082–9.

[106] Busse WW, Lemanske RF Jr. Asthma. **N Engl J Med** 2001; 344:350.

[107] Cardell B.S., Pearson R.S.B.: Death in asthmatics. **Thorax** 1959; 14:341-352**.**

[108] James A. Relationship between airway wall thickness and airway hyperresponsiveness. Airway wall remodeling in asthma, **Boca Raton**: CRC; 1996.

[109] Salvato G. Quantitative and morphological analysis of the vascular bed in bronchial biopsy specimens from asthmatic and non-asthmatic subjects. **Thorax** 2001; 56:902-906.

[110] Djukanovic R., Wilson J.W., Britten K.M., et al: Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. **Am Rev Respir Dis** 1990; 142:863-871.

[111] Vijayanand P., Seumois G., Pickard C., et al: Invariant natural killer T cells in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **N Engl J Med** 2007; 356:1410-1422.

[112] Holloway L.J., Cluroe A.D., Lorimer S., et al: The role of apoptosis in the pathogenesis of epithelial shedding in asthma. **Aust N Z J Med** 1990; 20:542.

[113] Comhair S.A., Xu W., Ghosh S., et al: Superoxide dismutase inactivation in pathophysiology of asthmatic airway remodeling and reactivity. **Am J Pathol** 2005; 166:663-674.

[114] Peter J. Barnes. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Nature reviews immunology** 2008;(8): 183-192.

[115] Reber L, Da Silva C. A, Frossard N. Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets for inflammatory diseases. **Eur. J. Pharmacol**. 2006;**533**: 327–340.

[116] Brightling C. E. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. **N. Engl. J. Med** 2002;346: 699–1705.

[117] Leckie M. J. Effects of an interleukin‐5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyperresponsiveness and the late asthmatic response. **Lancet** 2000; 356: 2144–2148.

[118] Flood-Page P. A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. **Am. J. Respir. Crit. Care Med**. 2007; 176: 1062–1071.

[119] Green R. H. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. **Thorax** 2002; 57: 875–879.

[120] Ying S. Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in asthmatic airways and correlates with expression of Th2-attracting chemokines and disease severity. **J. Immunol**. 2005;174: 8183–8190.

[121] Allakhverdi Z. Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. **J. Exp. Med**. 2007: 204: 253–258.

[122] Liu Y. J. Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation. **J. Exp. Med**. 2006; 203: 269–273.

[123] Meyer E. H., DeKruyff, R. H., Umetsu, D. T. T cells and NKT cells in the pathogenesis of asthma. **Annu. Rev. Med**. 2008; 59: 281–292.

[124] Kay A. B. The role of T lymphocytes in asthma. **Chem. Immunol. Allergy**. 2006; 91: 59–75.

[125] Ho I. C, Pai S. Y. GATA-3 not just for Th2 cells anymore. **Cell Mol. Immunol**. 2007; 4: 15–29.

[126] Mosmann T.R., Cherwinski H., Bond M.W. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **J Immunol** 1986; 136:2348-2357**.**

[127] Langrish C.L., Chen Y., Blumenschein W.M. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. **J Exp Med** 2005; 201:233-240.

[128] Carriere V. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand or ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor *in vivo*. **Proc. Natl Acad. Sci. USA** 2007; 104: 282–287.

[129] Finotto S. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet. **Science** 2002; 295: 336–338.

[130] Yoshimoto T, Yasuda K, Mizuguchi J, Nakanishi K. IL-27 suppresses Th2 cell development and Th2 cytokines production from polarized Th2 cells: a novel therapeutic way for Th2-mediated allergic inflammation. **J. Immunol**. 2007*;* 179: 4415–4423.

[131] Usui T. T-bet regulates Th1 responses through essential effects on GATA-3 function rather than on *IFNG* gene acetylation and transcription. **J. Exp. Med.** 2006; 203: 755–766.

[132] Bullens D M. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? **Respir. Res.**2006; **7**: 135.

[133] Laan M, Lotvall J, Chung K F, Linden A. IL-17-induced cytokine release in human bronchial epithelial cells *in vitro*: role of mitogen-activated protein (MAP) kinases. **Br. J. Pharmacol.** 2001; 133: 200–206.

[134] Suzanne L T, Louise E D. Th17 Cells in Airway Diseases. **Current Molecular Medicine** 2008; 8: 416-426.

[135] Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. **Nat Rev Immunol** 2008;8:523–532.

[136] Hartl D, Koller B, Mehlhorn AT, Reinhardt D, Nicolai T, Schendel DJ. Quantitative and functional impairment of pulmonary CD4+CD25hi regulatory T cells in pediatric asthma. **J Allergy Clin Immunol** 2007;119:1258–1266.

[137] Lee JH, Yu HH, Wang LC, Yang YH, Lin YT, Chiang BL. The levels of CD4+CD25+ regulatory T cells in paediatric patients with allergic rhinitis and bronchial asthma. **Clin Exp Immunol** 2007;148:53–63.

[138] Zhang Q, Qian FH, Liu H, Zhou LF, Huang M, Zhang XL. Expression of surface markers on peripheral CD4+CD25high T cells in patients with atopic asthma: role of inhaled corticosteroid. **Chin Med J (Engl)** 2008;121:205–212.

[139] Shi HZ, Li S, Xie ZF, Qin XJ, Qin X, Zhong XN. Regulatory CD4+CD25+ T lymphocytes in peripheral blood from patients with atopic asthma. **Clin Immunol** 2004;113:172–178.

[140] Matangkasombut P ,Pichavant M ,DeKruyff R H,Umetsu D T. Natural killer T cells and the regulation of asthma. **Mucosal Immunology** 2009; 2: 383–392.

[141] Avila P C. Does anti-IgE therapy help in asthma? Efficacy and controversies. **Annu. Rev. Med.** 2007;**58**:185–203.

[142] Takhar P. Class switch recombination to IgE in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic patients with asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.** 2007; 119: 213–218.

[143] National Heart, Lung, and Blood Institute. Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. **National Asthma Education and Prevention Program**. Expert Panel Report 3:. Full Report 2007.

[144] Neil P, Juha P, Richard B. How much asthma is really attributable to atopy? **Thorax** 1999;54:268-272.

[145] J Douwes, P Gibson, J Pekkanen, N Pearce. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. **Thorax** 2002;57;643-648.

[146] Amin K, Ludviksdottir D, Janson C, Nettelbladt O, Bjornsson E, Roomans GM, et al. Inflammation and structural changes in the airways of patients with atopic and

nonatopic asthma. BHR Group. **Am J Respir Crit Care Med** 2000 Dec;162(6):2295-301.

[147] Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Overbergh L, Dupont LJ, Ceuppens JL, et al. Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. **Thorax** 2006 Mar;61(3):202-8.

[148] Christer J, Dora L, Marha G. Circulating adhesion molecules in allergic and non-allergic asthma. **Respiratory Medicine** 2005;99: 45–51.

[149] Tedeschi A, Comi AL, Lorini M. Autologous serum skin test reactivity in patients with non-allergic asthma. **Clin Exp Allergy** 2005;35:849–853.

[150] Janson I S Ólafsdottir, T Gislason, B Thjodleifsson, Í Olafsson, D Gislason, R Jögi. C reactive protein levels are increased in non-allergic but not allergic asthma: a multicentre epidemiological study. **Thorax** 2005;60:451–454.

[151] R. Dal Negro. Assessment of inhaled BDP-dose dependency of exhaled nitric oxide and local and serum eosinophilic markers in steroids-naive nonatopic asthmatics. **Allergy** 2003; 58: 1018–1022.

[152] J. Hunt. Exhaled Breath Condensate:An Overview. **Immunol Allergy Clin N Am** 2007; 27: 587–596.

[153] P.P. Rosias, C.M. Robroeks, A. Kester, G.J. den Hartog, W.K. Wodzig, G.T. Rijkers, et al. Biomarker reproducibility in exhaled breath condensate collected with different condensers. **Eur Respir J** 2008; 31: 934–942.

[154] M Goldoni, A Caglieri, R Andreoli, Diana Poli, P Manini, M V Vettori, et al. Influence of condensation temperature on selected exhaled breath parameters. **BMC Pulmonary Medicine** 2005, **5**:10.

[155] O Roca, S Gómez-Ollés, MJ Cruz, X Muñoz, M JD Griffiths, J R Masclans. Effects of salbutamol on exhaled breath condensate biomarkers in acute lung injury: prospective analysis. **Critical Care** 2008; 12: 1-6.

[156] T. Ichikawa, K. Matsunaga, Y. Minakata, S. Yanagisawa, K. Ueshima, K. Akamatsu, et al. Possible Impact of Salivary Infl uence on Cytokine Analysis in Exhaled Breath Condensate. **Analytical Chemistry Insights** 2007; 2: 85–92.

[157] K F Chung, P J Barnes. Cytokines in asthma. **Thorax** 1999;54;825-857.

[158] H Nakajima, K Takatsu. Role of Cytokines in Allergic Airway Inflammation. **Int Arch Allergy Immunol** 2007;142:265–273.

[159] C Brightling, M Berry, Y Amrani. Targeting TNF-α: A novel therapeutic approach for asthma **J Allergy Clin Immunol** 2008;121:5-10 .

[160] S P Commins, L Borish, J W Steinke. Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons, and chemokines. **J ALLERGY CLIN IMMUNOL** 2009.

[161] U Sack, R Scheibe, M W□otzel, S Hammerschmidt, H Kuhn, F Emmrich, et al. Multiplex Analysis of Cytokines in Exhaled Breath Condensate. **Cytometry Part A** 2006; 69A:169–172.

[162] Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, Ueshima K, Akamatsu K, Hirano T, et al. Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. **J Allergy Clin Immunol** 2006 Jul;118(1):84-90.

[163] C Gessner, R Scheibe, M Wotze, S Hammerschmidt, H Kuhn, L Engelmann, et al. Exhaled breath condensate cytokine patterns inchronic obstructive pulmonary disease. **Respiratory Medicine** 2005; 99: 1229–1240.

[164] C. M. H. H. T. Robroeks, K. D. G. van de Kant, Q. Jobsis, H. J. E. Hendriks, R. van Gent, E. F. M. Wouters, et al. Exhaled nitric oxide and biomarkers in exhaled breath condensate indicate the presence, severity and control of childhood asthma. **Clinical and Experimental Allerg** 2007; 37: 1303–1311.

[165] Stasiak-Barmuta A, Stankiewicz W, Chciałowski A, Moniuszko T, Alifier M. Concentration of IL-10, IL-13 and IFN-gamma cytokines in supernatants of microcultured CD4+ and NK cells in patients with non-allergic bronchial asthma. **Pol Merkur Lekarski.** 2008 Jan;24(139):8-13.

[166] Abdulamir AS, Kadhim HS, Hafidh RR, Ali MA, Faik I, Abubakar F, Abbas KA. Severity of asthma: the role of CD25+, CD30+, NF-kappaB, and apoptotic markers. **J Investig Allergol Clin Immunol**. 2009;19(3):218-24.

[167] Sánchez-Guerrero I, Vegara RP, Herrero N, García-Alonso AM, Luna A, Alvarez MR. Cytokine serum profiles in allergic and non-allergic asthma. Increased

production of IL-10 by non-allergic asthmatic patients. **Allergol Immunopathol (Madr).** 1997 Mar-Apr;25(2):98-103.

[168] Shinji M, Akira H, Atsushi K, Kinji T, Toshio N, Takeshi F. Serum Levels of Soluble Interleukin-2 Receptor in Asthma Patients . **Journal of a**sthma 1995; 32:151-158.

[169] Hoeger PH, Niggemann B, Ganschow R, Dammann C, Haeuser G. Serum levels of sCD23 and sCD25 in children with asthma and in healthy controls. **Allergy**. 1994 Apr;49(4):217-21.

[170] Virchow JC Jr, Kroegel C, Walker C, Matthys H. Inflammatory determinants of asthma severity: mediator and cellular changes in bronchoalveolar lavage fluid of patients with severe asthma. **J Allergy Clin Immunol**. 1996; 98:S27-33.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

รายละเอียดการศึกษาวิจัยและหนังสือยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

<u>ชื่อโครงการวิจัย</u> การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์อินเตอร์ลิวคิน 17 จากน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ระหว่างผู้ป่วยโรคหอบหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหอบหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้

<u>แพทย์ผู้ทำวิจัย</u>

ชื่อ น.พ.สวัสดิ์ บุญปิยทัศน์

ที่อยู่ สาขาวิชาโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันทางคลินิก ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ (ที่ทำงาน) 02-256-4152 (มือถือ) 081-4384213

<u>อาจารย์ที่ปรึกษา</u> ผศ.นพ.เจตทะนง แกล้วสงคราม

ที่อยู่ สาขาวิชาโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันทางคลินิก ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ (ที่ทำงาน) 02-256-4152

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่แสดงข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจของท่านในการเข้าร่วมการศึกษาวิจัยอย่างไรก็ตามก่อนที่ท่านตกลงเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างละเอียดเพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย ซึ่งจะเป็นผู้สามารถให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านเซ็นชื่อยินยอมในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

เพื่อหาความแตกต่างของสารไซค์โตไคน์ซึ่งเป็นสารเคมีในร่างกาย ระหว่างผู้ป่วยโรคหอบหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหอบหืดไม่เป็นภูมิแพ้ ด้วยวิธีตรวจจน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออกโดยใช้เครื่องมือ exhaled breath condensate เพื่อที่จะได้ความรู้ใหม่เกี่ยวกับพยาธิสภาพของโรคหอบหืด

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หากท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมและยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านจะได้พบแพทย์เพื่อสัมภาษณ์ประวัติและตรวจร่างกาย โดยอายุรแพทย์โรคภูมิแพ้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานก่อนการศึกษา รวมถึงจะได้รับการชี้แจงเกี่ยวกับโรค, วิธีการตรวจสมรรถภาพปอด, วิธีการตรวจสารภูมิแพ้ทางผิวหนัง วิธีการเก็บน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออกและการหยุดยาต่างๆที่มีผลกระทบต่อการทดสอบ จากนั้นท่านจะได้รับการตรวจสมรรถภาพปอดด้วยเครื่องตรวจสมรรถภาพปอด เมื่อตรวจเสร็จแล้วจะทำการตรวจสารภูมิแพ้ทางผิวหนังเพื่อดูว่าท่านเป็นภูมิแพ้หรือไม่ จากนั้นจะนำท่านไปเก็บน้ำกลั่นตัวจากลมหายใจ โดยให้หายใจเป็นเวลาประมาณ 10 นาที โดยจะใช้อาสาสมัครจำนวน 24 คน

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องได้รับความร่วมมือจากท่าน โดย

ท่านจะต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์ผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับ

ท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ ผู้วิจัยจะรับผิดชอบของหากเกิดอันตรายจากการวิจัย

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

การทดสอบภูมิแพ้ทางผิวหนัง สามารถทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้ อาจมีอาการผื่นคันขึ้น แน่นหน้าอก ความดันโลหิตลดต่ำลง แต่โอกาสเกิดนั้นน้อยมาก 0.01 % ในกลุ่มที่แพ้สารก่อภูมิแพ้รุนแรง ส่วนเครื่องมือ exhaled breath condensate ไม่มีความเสี่ยงทำให้เกิดอันตรายกับท่าน ดังนั้นระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัยจะมีการติดตามดูแลสุขภาพของท่านอย่างใกล้ชิด

กรุณาแจ้งแพทย์ผู้ทำวิจัยของท่านในกรณีที่พบอาการดังกล่าวข้างต้น หรืออาการอื่น ๆ ที่พบร่วมด้วย ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ท่านต้องรายงานให้แพทย์ผู้ทำวิจัยทราบทันที

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้อาจจะทำให้ท่านทราบว่าท่านเป็นโรคหอบหืดหรือไม่ ความรุนแรงของโรคหอบหืดอยู่ระดับไหน และ ท่านจะทราบด้วยว่าท่านเป็นภูมิแพ้หรือไม่ เพื่อท่านได้จะได้หลีกเลี่ยงสารที่แพ้ได้ในกรณีที่ทราบว่าท่านแพ้สารอะไร และได้รับการดูแลรักษาโดยอายุรแพทย์โรคภูมิแพ้อย่างใกล้ชิดตลอดช่วงการรักษาโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย นอกจากนี้ผู้ป่วยจะได้รับค่าตอบแทนรวมเป็นเงิน 500 บาท เมื่อสิ้นสุดการวิจัย

เป็นประโยชน์สำหรับแพทย์เพื่อเป็นข้อมูลใหม่ในวงการแพทย์ ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ จากการวิจัยนี้

<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้ร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่าน รวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลเสียใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านจะได้โอกาสในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่าน
มีข้อปัญหาทางด้านจริยธรรมการวิจัย สามารถติดต่อได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ
10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

หนังสือแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

ข้าพเจ้า นาย / นาง /นางสาว_____อายุ_____ ปี ยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยเรื่องการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์น้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้ โดยที่ข้าพเจ้าได้รับทราบรายละเอียดการศึกษาวัตถุประสงค์และวิธีการดำเนินการวิจัย ตลอดจนประโยชน์ที่จะได้รับและอาการไม่พึงประสงค์ที่มีโอกาสเกิดขึ้น จากผู้วิจัย และมีความเข้าใจเป็นอย่างดีแล้ว โดยผู้ทำวิจัยรับรองว่าข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าจะถูกเก็บไว้เป็นความลับและจะเปิดเผยเฉพาะผลการศึกษาวิจัยในรูปแบบของการสรุปผลโดยไม่เปิดเผยชื่อข้าพเจ้า

ข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมการศึกษานี้โดยสมัครใจ หากมีปัญหาหรือข้อสงสัยใดเกิดขึ้น ข้าพเจ้าสามารถสอบถามจากผู้วิจัยได้ และข้าพเจ้าทราบว่า ข้าพเจ้าสามารถถอนตัวจากโครงการศึกษานี้เมื่อใดก็ได้โดยไม่มีผลกระทบต่อการรักษา จึงลงลายมือชื่อไว้ท้ายหนังสือฉบับนี้เพื่อเป็นหลักฐานต่อหน้าพยานด้วยความสมัครใจ

ลงชื่อ _____ (อาสาสมัคร)

(_____)

วันที่_____

_____(ผู้วิจัย)

(นายแพทย์สวัสดิ์ บุญปิยทัศน์)

วันที่_____

_____(พยาน)

(_____)

วันที่_____

<u>หมายเหตุ</u>

ความรับผิดชอบของผู้วิจัย น.พ.สวัสดิ์ บุญปิยทัศน์ เป็นผู้สัมภาษณ์ประวัติ ตรวจร่างกาย และเก็บข้อมูลผู้ป่วยระหว่างที่อยู่ในช่วงเวลาการวิจัย

ค่าตอบแทนของอาสาสมัคร 500 บาท/คน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

เลขที่ID.....

แบบสอบถามสำหรับงานวิจัย

เรื่อง **การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไซโตไคน์อินเตอร์ลิวคิน 17 น้ำกลั่นตัวจากลมหายใจออก ระหว่างผู้ป่วยโรคหืดภูมิแพ้กับผู้ป่วยโรคหืดไม่ได้เป็นภูมิแพ้**

ข้อมูลส่วนบุคคล	ตัวแปร
1) เพศ 1.ชาย 2.หญิง	Sex
2) อายุ.....ปี	Age
3) โรคที่เป็นร่วมด้วยโพรงจมูกอักเสบ 1.เป็น 2.ไม่เป็น	Rhinitis
4) โรคที่เป็นร่วมด้วยลมพิษ 1.เป็น 2.ไม่เป็น	Urticaria
5) ความรุนแรงของหอบหืด 1.Intermitent2.Mild 3.Moderate 4.Severe	Severity
6) ระยะที่เป็นหอบหืด.....ปี	Time
7) อายุที่เริ่มเป็นหอบหืด.....ปี	Onset
8) ประวัติโรคหืดในครอบครัว 1.มี 2.ไม่มี	Family History
9) ใช้ยา Inhaled steroid 1.ใช้ 2.ไม่ได้ใช้ (อาสาสมัครตอบข้อนี้)	Steroid
10) สูบบุหรี่ 1.สูบบุหรี่ 2.ไม่สูบบุหรี่	Smoking
11) น้ำหนัก.....กิโลกรัม	Weight
12) ส่วนสูง.....เซนติเมตร	Height
13) ตรวจสารภูมิแพ้ทางผิวหนัง 1.ภูมิแพ้ 2.ไม่เป็นภูมิแพ้	Allergy
14) ผลการตรวจสมรรถภาพปอด FEV1..... 1.หืด 2.ไม่เป็นหืด	Asthma
15) ปริมาณไซโตไคน์ที่ตรวจได้.....pg/ml	Cytokine

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ พันตรี นายแพทย์ สวัสดิ์ บุญปิยทัศน์
เกิดวันที่ 4 สิงหาคม พ.ศ. 2521 อายุ 31 ปี
ที่อยู่ บ้านเลขที่ 1272 ซอย จรัญสนิทวงศ์ 75 ถนนจรัญสนิทวงศ์ แขวงบางพลัด เขตบางพลัด จังหวัดกรุงเทพ
โทรศัพท์ 0814384213
Email b_sawad@hotmail.com

การศึกษา
ระดับประถมศึกษา โรงเรียนราชวินิต กรุงเทพ
ระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนจิตรลดา กรุงเทพ
ระดับปริญญาตรี แพทยศาสตรบัณฑิต วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า มหาวิทยาลัยมหิดล
วุฒิบัตรผู้เชี่ยวชาญ สาขาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

ประวัติการทำงาน
พ.ศ. 2544 – พ.ศ. 2545 แพทย์ใช้ทุนปีที่ 1 โรงพยาบาลค่ายจักรพงษ์ จังหวัดปราจีนบุรี
พ.ศ. 2545 – พ.ศ. 2547 ผู้บังคับหน่วยเสนารักษ์ กองพันทหารช่างที่ 2 จังหวัดฉะเชิงเทรา
พ.ศ. 2547 - พ.ศ. 2550 แพทย์ประจำบ้านสาขาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า
พ.ศ. 2550 - พ.ศ. 2551 อายุรแพทย์ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า
พ.ศ. 2551 – ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ผลงานวิจัย
การศึกษาวัณโรคดื้อยาหลายขนานในผู้ป่วยติดเชื้อเอส ไอ วี ในโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย