ผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

นางสาววัชรี ประภาวัฒน์เวช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

EFFECTS OF VITAMIN E SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY MARKERS IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL

Miss Watcharee Prapawatwech

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy
Program in Food Chemistry and Medical Nutrition
Department of Food and Pharmaceutical Chemistry
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2011
Copyright of Chulalongkorn University

Thesis Title	EFFECTS OF VITAMIN E SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY MARKERS IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL
By	Miss Watcharee Prapawatwech
Field of Study	Food Chemistry and Medical Nutrition
Thesis Advisor	Assistant Professor Kulwara Meksawan, Ph.D.

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

..... Dean of the Faculty of Pharmaceutical Sciences

(Associate Professor Pintip Pongpech, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman

(Associate Professor Thitirat Panmaung)

..... Thesis Advisor

(Assistant Professor Kulwara Meksawan, Ph.D.)

..... Examiner

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

..... External Examiner

(Assistant Professor Bunchoo Pongtanakul, M.D.)

วัชรี ประภาวัฒน์เวช : ผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช (EFFECTS OF VITAMIN E SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY MARKERS IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.ภญ.ดร.กุลวรา เมฆสวรรค์, 119 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลางที่ไม่ได้รับเลือดเป็นประจำ ณ โรงพยาบาลศิริราช มีผู้ป่วยอายุระหว่าง 5 - 19 ปี จำนวน 31 คน เข้าร่วมการศึกษา โดยแบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มวิตามินอี (ได้รับวิตามินอีเสริมวันละ 10 ยูนิตต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) จำนวน 16 คน และกลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับวิตามินอี) จำนวน 15 คน ใช้ระยะเวลาการศึกษา 12 สัปดาห์ ผู้ป่วยได้รับการประเมินการเจริญเติบโต ภาวะโภชนาการ และสารอาหารที่ได้รับจากการรับประทานอาหาร นอกจากนี้ยังได้รับการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ระดับตัวชี้วัดการอักเสบ (ทูเมอร์ นีโครซีส แฟคเตอร์ อัลฟ่า (TNF-α) และ ซี รีแอ็คทีพโปรตีน (hs-CRP)) ในพลาสมา ระดับวิตามินอีในซีรัม และการนับเม็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ ทั้งที่เริ่มต้นและเมื่อสิ้นสุดการศึกษา (สัปดาห์ที่ 12)

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเริ่มต้นการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับวิตามินอีในซีรัมกับตัวชี้วัดการอักเสบทั้ง TNF-α และ hs-CRP อย่างไรก็ตาม พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างระดับวิตามินอีกับจำนวนเม็ดเลือดแดง ($r = 0.503$, $p = 0.002$) ซึ่งเมื่อแบ่งผู้ป่วยเป็นกลุ่มวิตามินอีและกลุ่มควบคุม พบว่าผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทั้งในด้านลักษณะประชากรและระดับตัวชี้วัดทางชีวเคมีและโลหิตวิทยาต่างๆ ได้แก่ ระดับ TNF-α และ hs-CRP ในพลาสมา ระดับวิตามินอีในซีรัม และการนับเม็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ หลังจากทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มวิตามินอีมีความเข้มข้นของวิตามินอีในซีรัมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเมื่อเริ่มต้นการศึกษา ($p < 0.001$) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความเปลี่ยนแปลงของระดับ TNF-α และ hs-CRP ในพลาสมาของผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าในสัปดาห์ที่ 12 ผู้ป่วยในกลุ่มวิตามินอีได้รับพลังงานจากอาหารเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเริ่มต้นการศึกษา ($p = 0.037$) และมากกว่าผู้ป่วยในกลุ่มควบคุม ($p = 0.008$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าหลังจากการเสริมวิตามินอีผู้ป่วยบางรายมีน้ำหนักตัวและค่าดัชนีมวลกายจัดอยู่ในเกณฑ์ที่ดีขึ้น

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมวิตามินอีไม่มีผลต่อระดับ TNF-α และ hs-CRP ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง อย่างไรก็ตามการเสริมวิตามินอีในผู้ป่วยกลุ่มนี้อาจมีประโยชน์ทำให้ระดับวิตามินอีในเลือดเพิ่มขึ้นจนอยู่ในระดับปกติ และอาจมีผลทำให้ผู้ป่วยได้รับพลังงานจากอาหารมากขึ้น

ภาควิชา....อาหารและเภสัชเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา..อาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์..ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ปีการศึกษา.....2554.....

##5276591733 : MAJOR FOOD CHEMISTRY AND MEDICAL NUTRITION
KEYWORDS : THALASSEMIA INTERMEDIA/ VITAMIN E/ INFLAMMATION/ TUMOR NECROSIS FACTOR-α/ C-REACTIVE PROTEIN

WATCHAREE PRAPAWATWECH: EFFECTS OF VITAMIN E SUPPLEMENTATION ON INFLAMMATORY MARKERS IN PATIENTS WITH THALASSEMIA INTERMEDIA AT SIRIRAJ HOSPITAL. ADVISOR: ASST. PROF. KULWARA MEKSAWAN, Ph.D., 119 pp.

The purpose of this study was to investigate the effects of vitamin E supplementation on inflammatory markers in patients with thalassemia intermedia who do not required regular blood transfusion at Siriraj hospital. There were 31 patients aged 5 - 19 years participating in this study. They were divided into 2 groups: the vitamin E group (supplemented with vitamin E at dose of 10 IU/kg/d, n = 16) and the control group (no vitamin E supplementation, n = 15). The duration of the study was 12 weeks. The patients received growth, nutritional and dietary intake assessments. In addition, their blood samples were collected for determining levels of plasma inflammatory markers (tumor necrosis factor-α (TNF-α) and high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP)), serum vitamin E, and complete blood count (CBC) at baseline and at the end of the study (week 12).

The results of the study showed that at the baseline, no correlations between level of serum vitamin E and inflammatory markers including TNF-α and hs-CRP were found. However, there was a positive correlation between serum vitamin E levels and red blood cell ($r = 0.503$, $p = 0.002$). After the patients were assigned into the vitamin E and the control groups, there were no significant differences in demographic characteristics, biological and hematological variables including plasma TNF-α and hs-CRP levels, serum vitamin E levels, and CBC between the patients in both groups. After 12 weeks of the study, serum vitamin E concentrations in the patients supplemented with vitamin E were significantly increased from their baselines ($p < 0.001$). However, plasma TNF-α and hs-CRP levels of the patients in both groups did not change from the baseline after vitamin E supplementation. It was found that total energy intake of the patients in the vitamin E group at week 12 were significantly increased from baseline ($p = 0.037$) and that amount was significantly greater than that in the control group ($p = 0.008$). Moreover, it was found that after vitamin E supplementation, weight and body mass index of some patients were improved to the better categories.

This study revealed that vitamin E supplementation did not affect the levels of TNF-α and hs-CRP in patients with thalassemia intermedia. However, it may be beneficial in ameliorating vitamin E levels of these patients to the normal range and increasing total energy intake from the diet.

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

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

Academic Year.....2011.....

ACKNOWLEDGEMENTS

First and foremost, I would like to show my deepest gratitude to my advisor, Assistant Professor Dr. Kulwara Meksawan for spacious knowledge, excellent advice, encouragement and continuous carefulness throughout this thesis. Her opinion and logical way of thinking have had a remarkable influence on my entire occupation.

I am sincerely and deeply grateful to Assistant Professor Dr. Bunchoo Pongtanakul, Division of Hematology and Oncology, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University for precious knowledge, important support and beneficial suggestions to complete this study.

I wish to express my honest appreciation to the members of the Thesis Committee, Associate Professor Thitirat Panmaung and Assistant Professor Suyanee Pongthananikorn for their supportive attitude, interesting discussion, valuable advice and constructive criticism over my thesis.

I owe my most sincere thank to Miss Duangkamon Ngarmpattarangkoon for her useful advices, kindness and help which supported some patients' information that were enrolled in the study.

I am grateful to Miss Juraporn Pooliam, Office of Research and Development, Faculty of Medicine, Mahidol University for helpful statistical advice.

My sincere thanks also are due to all staff members of Food Chemistry and Medical Nutrition Program, Department of Food and Pharmaceutical Chemistry, Chulalongkorn University for their great helpful support.

Moreover, I would like to thank the Faculty of Graduate Studies, Chulalongkorn University for the supporting scholarship.

Last but not least, I wish to express my loving thanks to my family. It would have been impossible to complete this work without their love, care and encouragement.

CONTENTS

Page

ABSTRACT (THAI)..... iv

ABSTRACT (ENGLISH)..... v

ACKNOWLEDGEMENTS..... vi

CONTENTS..... vii

LIST OF TABLES..... ix

LIST OF FIGURES..... x

LIST OF ABBREVIATIONS..... xi

CHAPTER

I INTRODUCTION..... 1

II LITERATURE REVIEW..... 7

2.1 Thalassemia..... 7

2.2 Inflammation..... 10

2.3 Inflammatory status in patients with thalassemia..... 13

2.4 Growth and nutritional status in thalassemia..... 15

2.5 Vitamin E..... 15

2.6 Role of vitamin E in thalassemia..... 21

III MATERIALS AND METHODS..... 24

3.1 Subjects..... 24

3.2 Study design..... 24

3.3 Study measurements and data collections..... 26

3.4 Statistical analysis..... 29

IV RESULTS..... 30

4.1 Characteristic of the subjects..... 30

4.2 Biochemical and hematological parameters of the subjects..... 34

4.3 Growth status and dietary intake of the subjects..... 36

4.4 Compliance and adverse effects of vitamin E supplementation..... 40

V DISCUSSION..... 41

5.1 Correlations between serum vitamin E and study parameters of the subjects..... 41

CHAPTER Page

5.2 Effect of vitamin E supplementation on serum vitamin E level..... 42
5.3 Effect of vitamin E supplementation on inflammatory markers..... 44
5.4 Effect of vitamin E supplementation on hematological parameters... 48
5.5 Effect of vitamin E supplementation on growth and nutritional status..... 49
VI CONCLUSION..... 52
REFERENCES..... 54
APPENDICES..... 67
APPENDIX A..... 68
APPENDIX B..... 70
APPENDIX C..... 79
APPENDIX D..... 101
APPENDIX E..... 110
APPENDIX F..... 113
BIOGRAPHY..... 119

LIST OF TABLES

TABLE		Page
1	The U.S. recommended daily dietary allowance for vitamin E.....	20
2	Dose of vitamin E on body weight.....	26
3	Standard categories of BMI-for-age.....	28
4	Nutritional status classification.....	28
5	Types and hematological parameters of the thalassemia intermedia subjects.....	31
6	Baseline demographic and clinical characteristics of the subjects.....	31
7	Correlations between serum vitamin E level and study parameters.....	32
8	Demographic and clinical characteristics of the subjects at baseline.....	33
9	Biochemical and hematological parameters of the subjects.....	35
10	Growth status of the subjects at baseline and week12 of the study.....	37
11	Dietary intake of the subjects in the control group and vitamin E group at baseline and week 12 of the study.....	39

LIST OF FIGURES

FIGURE		Page
1	Some mechanisms of actions of excessive free radicals which generate inflammation.....	10
2	Structure formula of vitamin E.....	16

LIST OF ABBREVIATIONS

%H/A	percentage of height for age
%W/A	percentage of weight for age
%W/H	percentage of weight for height
µg	microgram
BMI	body mass index
CBC	complete blood count
cm	centimeter
CRP	C-reactive protein
d	day
df	degree of freedom
dL	deciliter
DNA	deoxyribonucleic acid
DRI	dietary reference intake
eg.	exempli gratia (for example)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
et al.	et alia (and others)
FDA	Food and Drug Administration
g	gram
Hb	hemoglobin
Hct	hematocrit
hs-CRP	high sensitivity C-reactive protein
IL	interleukin
IU	international unit
kcal	kilocalorie
kg	kilogram
L	liter
LDL	low density lipoprotein
m^2	square meter
MDA	malondialdehyde

mg	milligram
mL	milliliter
mRNA	messenger ribonucleic acid
n	number
NF-κB	nuclear transcription factor-κB
nm	nanometer
$OH^{\bullet}$	hydroxyl radical
p	*p*-value
pg	picogram
PKC	protein kinase C
PUFA	polyunsaturated fatty acid
RBC	red blood cell
RDA	recommended dietary allowance
ROS	reactive oxygen species
SD	standard deviation
SEM	standard error of mean
SGA	subjective global assessment
sICAM-1	soluble intercellular adhesion molecule-1
sVCAM-1	soluble vascular cell adhesion molecule-1
TNF-α	tumor necrosis factor-α
WBC	white blood cell

CHAPTER I

INTRODUCTION

Thalassemia is an inherited autosomal recessive blood disorder that occurs worldwide (Borgna-Pignatti and Galanello, 2009). In Thailand, thalassemia is one of the most common genetic-related health problems. Around 1% of Thai population (sixty-thousand persons) have been diagnosed with thalassemia, and more than 40% of the population (twenty-four million people) are asymptomatic carriers (Dhamcharee, Romyanan, and Ninlagarn, 2001). The symptoms of patients with thalassemia may vary among individuals depending on the globin gene defects. The types of thalassemia can be classified based on the severity as major, intermedia, and minor.

The clinical manifestations of thalassemia intermedia are between symptomatic thalassemia major and thalassemia minor. Most of patients who are diagnosed with thalassemia intermedia have moderate anemia with hemoglobin levels in the range of 7 - 10 g/dL and are dependent on blood transfusion occasionally. In addition, the results of ineffective erythropoiesis and rapidly hemolysis increase intestinal iron (ferrous form, Fe^{2+}) absorption that is associated with whole body iron overload (Taher, Isma'eel and Cappellini, 2006; Aessopos, Kati and Farmakis, 2007). The excessive free iron in the red blood cells (RBC) may generate reactive oxygen species (ROS) initiating lipid peroxidation reactions in the membrane. Malondialdehyde (MDA), the end product of these reactions, causes the loss of the integrity of cell membrane and cell death (Cimen, 2008). Moreover, the ROS may

promote inflammation. The reactive metabolites amplify the inflammatory response by activation of transcription factors, including nuclear transcription factor-κB (NF-κB). NF-κB plays a key role in regulating numerous genes involved in immune and inflammatory responses. It appears that NF-κB activation induces the production of pro-inflammatory cytokines and leukocyte adhesion molecules (Conner and Grisham, 1996).

Tumor necrosis factor-α (TNF-α) is one of the pro-inflammatory cytokines. TNF-α not only regulates the response of inflammation, but also affects the central nervous system inducing fever, anorexia, and altered pituitary hormone secretions (Zhang and Tracey, 1998). In addition, TNF-α is a powerful stimulant of oxidant molecule production, which upregulates cytokine production (Grimble, 1998). When the inflammation occurs, the pro-inflammatory cytokines induce acute-phase proteins, including C-reactive protein (CRP). Persistent high levels of CRP and pro-inflammatory mediators in the bloodstream might be a cause of complication in patients with chronic low-grade inflammatory diseases (Gabay and Kushner, 1999; Ablij and Meinders, 2002). Prolonged inflammation increases the risk of cardiovascular disease and induces osteoporosis (Smith et al., 2006; Smith et al., 2009).

Patients with thalassemia usually suffer from oxidative stress and deficiencies of micronutrients, especially antioxidant agents (e.g. zinc, vitamin E, and vitamin A) (Fuchs et al., 1996; Tesoriere et al., 1998; Kassab-Chekir et al., 2003; Ghone et al., 2008). Because of this, the excessive free radicals in the body bring about the inflammation. Many reports showed that patients with thalassemia had chronic low-grade inflammation (Walter et al., 2006; Kyriakou et al., 2001). The

levels of inflammatory markers (including CRP and TNF-α) and the levels of endothelial adhesion molecules, the marker of vascular inflammation, arise in patients with thalassemia (Kyriakou et al., 2001; Butthep et al., 2002; Aggeli et al., 2005). Moreover, the patients have chronic hypercoagulable status because of prolonged platelet activation. As a result, complications including thrombophilia, pulmonary hypertension, and congestive heart failure may occur in these patients (Taher et al., 2008; Aessopos et al., 2007). Furthermore, patients with thalassemia suffer from growth retardation and malnutrition status. These problems involved with defects of growth hormone secretion, hypothyroidism, and decreased food intake (Soliman et al., 1998).

Vitamin E is an antioxidant vitamin that plays a role in inflammation process. Anti-inflammatory effects of vitamin E involve its antioxidant activity, which eliminates the existent free radicals, limits the production of more free radicals, and inhibits pro-inflammatory cytokines released by the decreased NF-κB activation. In addition, vitamin E modulates the activity of inflammatory involving enzymes, such as phospholipase A2, cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase (Zingg and Azzi, 2004; Calder et al., 2009; Devaraj and Jialal, 2005). Because of the anti-inflammatory actions, the uses of vitamin E supplementation in patients with chronic inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis, type 2 diabetes, metabolic syndrome, and coronary heart disease have been reported (Devaraj and Jialal, 2000; Devaraj et al., 2007; Devaraj et al., 2008; Aryaeian et al., 2009).

There have been several studies investigating outcomes of vitamin E treatment in patients with thalassemia (Das et al., 2004; Dissayabutra, Tosukhowwong and Seksan, 2005; Pfeifer et al., 2008). Most of studies have

concerned with the effect of vitamin E supplementation on antioxidation aspect. The results have shown the benefits of vitamin E in these patients including improving the activity of antioxidant enzymes in erythrocytes, reducing the levels of lipid peroxidation in erythrocyte membranes, and decreasing the ROS production in RBC (Das et al., 2004; Ngarmpattarangkoon et al., 2010). Thus, reduction of the oxidative stress in patients with thalassemia by vitamin E supplementation might ameliorate inflammation status generated by excessive free radicals. Studies in patients with inflammatory disease such as rheumatoid arthritis, coronary artery disease, and metabolic syndrome showed that vitamin E supplementation in these patients significantly decreased levels of CRP and TNF-α (Devaraj et al., 2007; Devaraj et al., 2008; Aryaeian et al., 2009). Accordingly, vitamin E supplementation might benefit patients with thalassemia by decreasing the levels of inflammatory markers, which lead to complications of the disease.

Excessive ROS in thalassemic patients can induce the activation of NF-κB (Li and Karin, 1999). As this result, it promotes pro-inflammation cytokines production which appears to be reasons of the complications including anorexia, metabolic change, and hypercoagulation. Patients with thalassemia obtain treatments to maintain their clinical symptoms. Prevention of complications in children with thalassemia should be concerned along with treatments of the disease to control the poor clinical status that probably occurs in the future. Children with thalassemia intermedia do not have severe clinical status like those with thalassemia major. However, the children with thalassemia intermedia have risks of developing of heart disease from increasing of inflammatory markers and hypercoagulation (Kanavaki et al., 2009; Angchaisuksiri et al., 2007). Treatment of children with thalassemia

intermedia should be carefully considered to support their growth and prevent further complications. It is well known that vitamin E supplementation is beneficial in patients with high oxidative stress. There were many studies reported that vitamin E could ameliorate the oxidative stress in thalassemic patients (Das et al., 2004; Pfeifer et al., 2008). However, a benefit of vitamin E supplementation on inflammatory aspects in transfusion independent thalassemic patients, who were children, remained unclear. Therefore, this study investigated the effects of vitamin E supplementation on inflammatory markers in children with thalassemia intermedia.

The purposes of this study:

1. To investigate the effects of vitamin E on inflammatory markers, hs-CRP and TNF-α, in patients with thalassemia intermedia
2. To investigate the nutritional status of patients with thalassemia intermedia
3. To study the relationship between serum vitamin E and inflammatory markers in patients with thalassemia intermedia
4. To study the relationship between nutritional status and inflammatory markers in patients thalassemia intermedia
5. To investigate the adverse effects of vitamin E supplementation in patients with thalassemia intermedia

Benefits and applications:

This study provides information on the effects of vitamin E supplementation on inflammatory markers in patients with thalassemia intermedia. Physicians might consider the information for taking an in-depth look at treatment selection, which may be beneficial in reducing complications in thalassemic patients.

CHAPTER II

LITERATURE REVIEW

2.1 Thalassemia

Thalassemia is one of the most common inherited disorders. The occurrence of thalassemia extends from the Mediterranean region southward all the way to Southeast Asia and the Pacific islands (Weatherall, 2001; Borgna-Pignatti and Galanello, 2009). Thalassemia is caused by a genetic defect of the globin-chain synthesis that alters one or more of globin genes expressions resulting in the reduction of α- or β-globin biosynthesis (Borgna-Pignatti and Galanello, 2009). There are two classified forms of thalassemia, α-thalassemia and β-thalassemia. α-thalassemia has little or no α-chain synthesis that cause α-globin gene deletions whereas β-thalassemia is characterized by a deficiency of β-chain causing mutation in the β-globin gene (Galanello and Origa, 2010). The unbalanced globin chains initiate an accumulation of excessive globin chains within erythrocytes, which causes damage of red cell membranes. In addition, abnormal hemoglobin is synthesized less efficiently, or broken down more rapidly, than healthy mature hemoglobin (Weatherall, 2001). The abnormalities may affect the patient's clinical features.

The clinical symptom of patients with thalassemia varies widely from person to person depending on the severity of the abnormal globin-chain synthesis (Rund and Rachmilewitz, 2000). There are three types of clinical severity: thalassemia major, thalassemia minor, and thalassemia intermedia. Thalassemia major is characterized by patients requiring regular blood transfusion to survive. Most of

these patients are either newborn or infants. In addition, they suffer from liver and spleen enlargement, growth retardation, muscle weakness, and skeleton deformities as a result of the expansion of bone marrow cavity. Another type is thalassemia minor. Patients with thalassemia minor have mild anemia and do not need hypertransfusion. These patients do not show physical symptoms. The last type is thalassemia intermedia. Patient with thalassemia intermedia have a wide range of clinical symptoms, which overlap between thalassemia major and minor (Galanello and Origa, 2010; Weatherall, 2001).

Patients with thalassemia intermedia including β-thalassemia/Hb E and hemoglobin H disease present mild anemia, but do not require, or only occasionally require blood transfusion, to maintain the hemoglobin level in the range of 7 - 10 g/dL (Taher et al., 2006; Borgna-Pignatti and Galanello, 2009). Some patients are asymptomatic until adulthood, but some have ineffective erythropoiesis resulting in many health problems later in life. However, if patients do not receive the proper treatment, various complications can occur consequently from the chronic hemolytic anemia. The body has mechanisms to compensate for the anemia by increasing the erythropoiesis with expansion of bone marrow and raising iron absorption from digested food in small intestine. However, increased iron absorption could lead to chronic iron overload in patient's body (Aessopos et al., 2007).

In fact, oxidants are continuously generated in human erythrocytes due to the high oxygen tension in the blood and iron content in heme (Cimen, 2008). The excessive iron is found in the serum of thalassemic patients, whereas their serum total iron binding capacity, the ability of transferin to bind iron in the bloodstream, is decreased (Ghone et al., 2008). Moreover, the excessive free iron may be released

from the unpaired-hemoglobin in thalassemic erythrocytes (Pfeifer et al., 2008). This causes production of hydroxyl radical ($OH^{\bullet}$), the most active form of reactive oxygen species (ROS), by Fenton's reaction. This reaction initiates lipid peroxidation reactions in the membrane. The end product of the reactions is malondialdehyde (MDA), which can be crosslinked with the proteins and phospholipid membrane of erythrocyte leading to the loss of integrity of cell membrane and cell death (Dissayabutra et al., 2005; Cimen, 2008). Moreover, excessive ROS cause oxidative stress and also lead to oxidative damage of DNA and proteins in cells. The injury cells respond to the stress leading to inflammation and cell mutagenesis (Ferguson, 2010).

An increased oxidative stress may generate an inflammation in patients with thalassemia by stimulation of NF-κB. NK-κB is a transcription factor. It plays an important role in regulating a variety of genes, which involve in immune and inflammatory responses (Li and Karin, 1999). As a result, this stimulation enhances the transcription of mRNA for pro-inflammatory cytokines. The examples of these cytokines include interleukin (IL)-1, IL-6, and TNF-α, which are multi-function cytokines (Grimble, 1998). In the same way, produced cytokines also cause more generated ROS and induce NF-κB activation through the phosphorylation of IκB (Beg et al., 1993; Li and Karin, 1999) as shown in **Figure 1**. The inflammation, chronic hemolytic anemia, ineffective erythropoiesis, and iron overload can bring about many health problems and complications in patients with thalassemia intermedia (Kanavaki et al., 2009). The complications include endocrine abnormalities such as diabetes mellitus, growth hormone deficiency, and hypothyroidism and hypercoagubility, which is the cause of pulmonary hypertension and congestive heart failure (Taher et al., 2006).

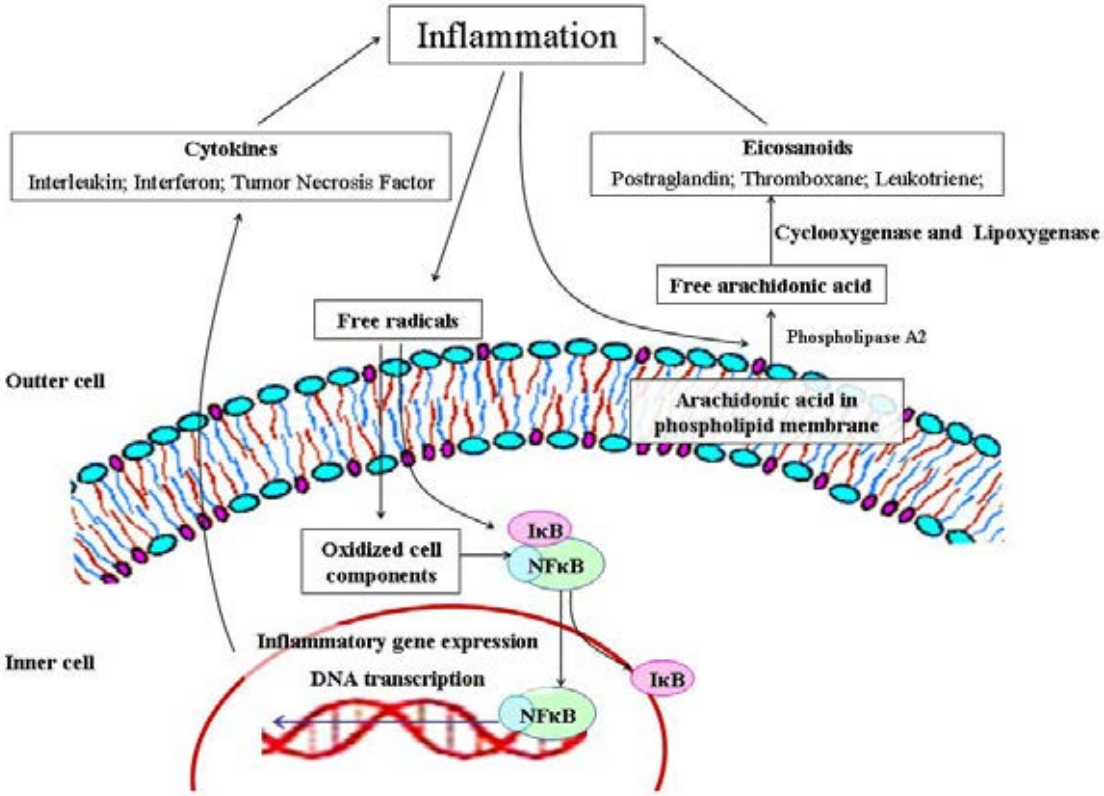


Figure 1 Some mechanisms of actions of excessive free radicals which generate inflammation (modified from Calder et al., 2009)

2.2 Inflammation

Inflammation is a reaction of the host defense system in response to infection and tissue injury. Inflammation can be classified into two types. One is acute inflammation or the early response of local tissue to trauma. This type of inflammation involves an increased blood flow to the damage tissue and amplifies the vascular permeability. This results in leukocytes moving to the injured tissue to eliminate the pathogens. The other is chronic inflammation, which might occur after acute inflammation from the prolonged stimulus exposure. This process takes place

when the immune system is stimulated for an extended period of time (Porth and Sommer, 2009; Calder et al., 2009).

During early inflammation, there are local and systemic responses of normal physiology, which serve to control damage, clean up debris, and initiate injured tissue repair. This is known as the acute phase response. In this response, acute phase proteins, such as C-reactive protein (CRP), serum amyloid A ceruloplasmin, and hepatoglobulin are synthesized from the hepatocytes by stimulating of pro-inflammatory cytokines (Sigal and Ron, 1994; Gabay and Kushner, 1999). CRP is an acute phase protein in response to an inflammation. The CRP has various biological functions including eliminating microorganisms, destroying host cell materials, modulating the inflammatory process, and preventing the adhesion of neutrophils on endothelial cells. Elimination of the CRP is the monoexponential clearance halftime (19 hours), which is independent of CRP level in the bloodstream. Therefore, measurement of CRP level is generally used in clinical practice to monitor the patient's inflammatory status (Ablij and Meinders, 2002). There are methods for CRP measurement. The high sensitivity test is used to detect the low level of CRP in the patient with low grade inflammation including obese patient and smoker (Yu and Rifai, 2000).

In general, normal CRP concentration is 0.8 mg/L in healthy person. However, it was found that average CRP levels in patients with thalassemia intermedia were 3 fold higher than those in healthy subjects (Ablij and Meinders, 2002; Kanavaki et al., 2009). In addition, concentration of CRP more than 5 mg/L has pro-inflammatory effect that can induce the expression of adhesion molecules in human endothelial cells (Pasceri, Willerson and Yeh, 2000). High level of CRP in the

bloodstream is not only an indicator of inflammation, but also is a prediction for future risk of cardiac events (Koening, Sund, and Frohlich, 1999; Danesh et al., 2004). CRP concentrations in healthy subjects positively correlated with insulin resistance, dyslipidemia and markers of endothelial dysfunction including von Willebrand factor, cellular fibronectin, and tissue plasminogen activator antigen. Increasing levels of these markers can increase cardiovascular risk (Yudkin et al., 1999)

In the inflammatory process, the immune system plays a significant role in countering the inflammatory stimulus by producing mediators including platelet-activating factors and cytokines (Nowak and Handford, 2003). Cytokines are multi-function polypeptides secreted by leukocytes. They can be mediators and regulators of innate or adaptive immunity. Secreted cytokines regulate immune and inflammatory reactions. Several cytokines have multiple effects on various cell types and some have additive effects or antagonism. The actions of cytokines are initiated after cytokines binding to their specific receptors on target cells. The target cells respond by changing in gene expression. As a result, the functions of target cells might change in other ways by differentiation and proliferation which leads to expression of new functions (Abbas, Lichtman and Pillais, 2007).

TNF-α is produced and released from numerous immune cells, such as, monocytic cells, natural killer cells, neutrophils, B cells, and T cells. In addition, non-immune cells including epithelial cells, smooth muscle cells, fibroblasts, and neurons can also secrete this protein (Abbas et al., 2007). The primary role of TNF-α is the regulation of immune cells to induce apoptotic cell death and inflammation. Biological effects of TNF-α are also involved in various systems in the body (Zhang

and Tracey, 1998). TNF-α has been shown to be involved in the cardiovascular system and play a primary pathophysiologic role in the development of heart failure. TNF-α in the cardiovascular system ultimately leads the endothelial cells to increase pro-coagulant activity and also induces rearrangement of actin filaments in cardiac muscle. This rearrangement of actin filaments can lead to structural damage and loss of the tight junction between endothelial cells (Zhang and Tracey, 1998). In addition, TNF-α is involved in release of soluble endothelial adhesion molecules, such as soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), and E-selectin, which are known as markers of endothelial activation (Kyriakou et al., 2001; Kallmann et al., 2000).

Most patients with chronic diseases (e.g. type 2 diabetes, cardiovascular diseases and asthma) suffer from low-grade chronic inflammation, which may cause deteriorating complications. Chronic inflammation in many chronic diseases may occur as a consequence of prolonged high level of ROS in the body. This can lead to an oxidative stress and oxidative damage in the tissue respectively (Ferguson, 2010). In addition, oxidant molecules can induce an activation of nuclear transcription factors as a result of enhancing transcription of mRNA for pro-inflammatory cytokines (Grimble, 1998).

2.3 Inflammatory status in patients with thalassemia

Thalassemia is a group of blood disorder with low-grade chronic inflammation (Walter et al., 2006). Many studies found increased levels of oxidative stress markers in the patients with thalassemia (Kassab-Chekir et al., 2003; Das et al., 2004; Ghone et al., 2008; Pfeifer et al., 2008). Oxidative stress that occurs in the

patients can generate chronic inflammation by simulation of NF-κB. It was found that the levels of TNF-α in the serum of patients with various types of thalassemia were higher than these in healthy persons (Butthep et al. 2002). Circulating activated endothelial cells and vascular endothelial growth factors in these patients were also increased. It was reported that serum levels of TNF-α, IL-1β, and soluble endothelial adhesion molecules in the thalassemic patients were significantly higher than those in thalassemia carriers and healthy persons (Kyriakou et al., 2001). Furthermore, Kanavaki et al. (2009) found that the patients with β-thalassemia intermedia had increased serum levels of sICAM-1, sVCAM-1, P-selectin and E-selectin. They also indicated that CRP levels were significantly elevated in the patients with thalassemia compared to the controls. Therefore, the patients with thalassemia suffer from inflammation, especially endothelial inflammation that can contribute to endothelial damage and probably increase a risk of atherosclerosis in the future (Aessopos et al., 2001; Angchaisuksiri et al., 2007).

Excessive free radicals in thalassemic patients cause many complications. Thus, antioxidant defense systems are important in eliminating these free radicals and are beneficial in preventing cell injuries. There are many antioxidant vitamins and trace minerals involving in these defense systems. Among these antioxidants, vitamin E has been brought to an attention. Several studies found that serum vitamin E levels in the patients with thalassemia were lower than those in the healthy persons (Kassab-Chekir et al., 2003; Şimşek et al., 2005).

2.4 Growth and nutritional status in thalassemia

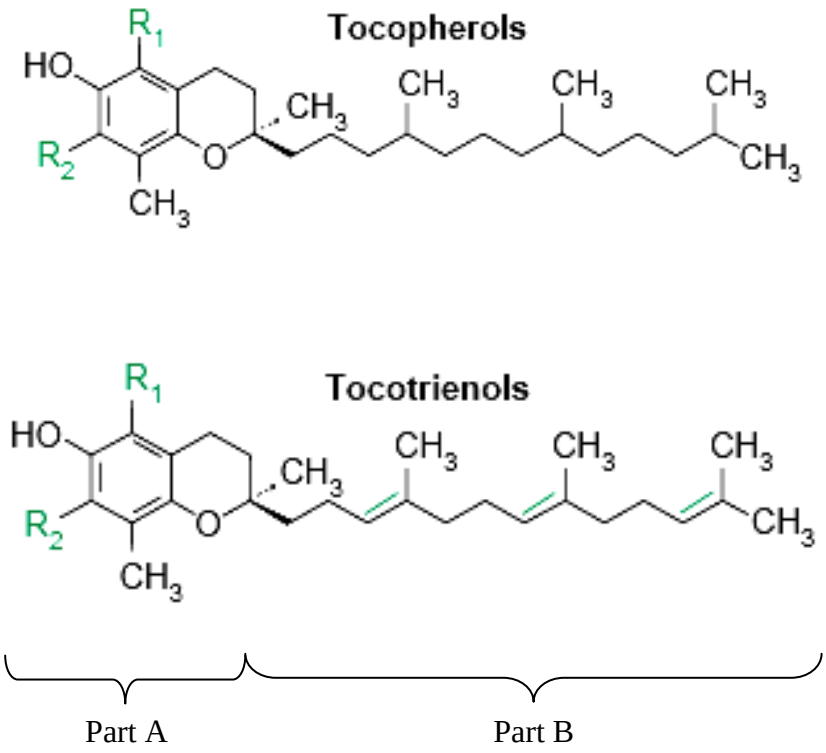
A clinical feature of thalassemia intermedia is growth retardation (Taher, et al., 2006). Growth retardation, delayed puberty, and retarded bone age depended on severity of anemia. Iron overload in thalassemic patients might deposit into the bone and lead to the decreasing of bone formation (Mahachoklertwattana et al., 2003). In addition, Thongkijpreecha et al. (2011) found that most of children with thalassemia intermedia were underweight and stunted. In addition, dietary intakes in these patients were lower than the reference range. Poor appetite was found to be related with increasing of CRP, TNF-α, and IL-6 levels (Kalantar-Zadeh et al., 2004). Inadequate dietary intakes in thalassemic patients increased risk of nutritional deficiencies including vitamin E, vitamin D, vitamin B12, zinc, and selenium, which are necessary for body functions (Tesoriere et al., 2001; Claster et al., 2009).

2.5 Vitamin E

Vitamin E was discovered almost a century ago. Basically, it is a fat-soluble vitamin, which is mostly found in common foods, such as nuts, grains, vegetable oils, avocado, and leafy green vegetables. It is also identified as a fat-soluble antioxidant in the body because of its unique chemical structure that can neutralize the ROS compounds (Gropper, Smith and Groff, 2005).

2.5.1 Biochemistry

The common chemical structure of vitamin E consists of two major parts, a phenolic functional group on a chromanol ring (part A) and an attached phytyl side chain (part B) as shown in **Figure 2**. In nature, vitamin E can be classified into two



Tocochromanol	**R1**	**R2**
Alpha (α)	CH_3	CH_3
Beta (β)	CH_3	H
Gamma (γ)	H	CH_3
Delta (δ)	H	H

Figure 2 Structures formula of vitamin E (DellaPenna, 2005)

classes: tocopherols, which have saturated side chains and tocotrienols, which have unsaturated side chains. Each class is composed of four vitamers (designated as α-, β-, γ-, δ-) (Mann and Truswell, 2002; DellaPenna, 2005).

2.5.2 Biological functions

2.5.2.1 Antioxidant function

Vitamin E is a fat soluble antioxidant in phospholipid membranes due to its lipophilic structure. With antioxidant property, vitamin E helps maintain the biological integrity of cell membranes. The major hydrogen ions attached to the phenolic ring help to prevent free radicals from attaching and damaging the cell (Zingg and Azzi, 2004). In dietary source of vitamin E, a mixture of forms is found, but α-tocopherol amounts are always higher compared with the other forms (Gropper et al., 2005). In addition, α-tocopherol has the most powerful biological potency on antioxidation due to its ability of hydrogen donating of the phenolic rings. The hydrogen donating of the phenolic ring depends on the number and position of methyl groups on the chromanol ring. The order of hydrogen donating power is α > β > γ > δ. Moreover, the mobility of α-tocopherol is more effective than other forms because of a liver protein called α-tocopherol transfer protein. This protein selectively incorporates the alpha form of tocopherol into a lipoprotein (very low density lipoprotein) and distributes to the body tissues (Chow, 2001; Zingg and Azzi, 2004)

2.5.2.2 Non-antioxidant functions

The other interesting role of vitamin E is its anti-inflammatory aspect (Rimbach et al., 2010). The anti-inflammation-related mechanisms of vitamin E are associated with its antioxidation property and the modulation of cellular behavior by interactions with enzymes, structural proteins, lipids, and transcription factors (Suzuki

and Packer, 1993; Deviraj and Jialal, 1996; Zingg and Azzi, 2004; Traber and Atkinson, 2007 Calder et al., 2009). Vitamin E was discovered to inhibit protein kinase C (PKC) activity (nitric oxide and superoxide production) during inflammation in many type of cells, such as neutrophils and macrophages. PKC is a signaling molecule which is important in the regulation of cellular proliferation, differentiation and apoptosis (Traber and Atkinson, 2007). A study found that vitamin E can inhibit the activity of phospholipase A2 (Chandra et al., 2002). Phospholipase A2 is a fatty acid enzyme that is released from the phospholipid membrane. It involves in the synthesis of eicosanoids. α-tocopherol inhibits the enzyme activity by attaching itself to phospholipase A2. In addition, vitamin E and its bioactive metabolization can influence gene expression by changing the enzymes activities and modulating transcription factors via nuclear receptors (Zingg and Azzi, 2004; Rimbach et al., 2010)

Based on antioxidant and anti-inflammatory properties of vitamin E, many clinical trials have discovered the efficacy of vitamin E in reducing oxidative stress and inflammation. Several studies found that vitamin E supplementation reduced inflammatory markers and cell adhesion molecules in patients with rheumatoid arthritis, diabetes, cardiovascular disease, metabolic syndrome, and coronary heart disease (Devaraj and Jialal, 2000; Leichtle, Teupser and Thiery, 2006; Devaraj et al., 2008; Aryaeian et al., 2009). Supplementation of vitamin E may be useful in preventing progression and complications of diseases with oxidative stress or inflammation.

2.5.3 Vitamin E in health and disease

Free radicals are essential in killing pathogens and in the apoptotic removal of damaged cells. However, excessive free radicals in the body are associated with oxidative damage of cells and organs resulting in many health problems including aging, cancer, cardiovascular disease, inflammation disease, etc. The antioxidant role of vitamin E is important in protecting cells from the excessive ROS. Vitamin E may also involve gene transcription and signal transduction regulation, which results in the inhibition of inflammation, cell adhesion molecules, platelet aggregation, and smooth muscle cell proliferation. Results of changing gene expression may occur in patients with high oxidative stress (Combs, 2008).

Vitamin E may be beneficial in promoting general health. Increasing age is associated with oxidative damage to deoxyribonucleic acid, protein, and lipid. Thus, vitamin E is commonly used as anti-aging agent (Combs, 2008). Vitamin E is also used in prevention of diseases, including cardiovascular disease. Vitamin E protects the low-density lipoprotein from the oxidation which transforms to foam cell and accumulates within the artery (Singh and Jialal, 2004). Moreover, vitamin E can alleviate the severity of diseases with oxidative stress or inflammation such as rheumatoid arthritis (Aryaeian et al., 2009), metabolic syndrome (Devaraj et al., 2008), and type 2 diabetes (Devaraj and Jialal, 2000).

2.5.4 Recommended dietary allowance, deficiency and toxicity

Vitamin E is an essential micronutrient widely found in several kinds of foods. Although the deficiency of vitamin E is not frequently seen, there is a determination of daily requirement for the prevention of intake insufficiency. In the

Table 1 The U.S. recommended daily dietary allowance for vitamin E

	Age (years)	International units (IU)	Tocopherol equivalents (mg)
Infants	0-0.5	4.5	3.0
Children	0.5-1.0	6.0	4.0
	1-3	8.9	6.0
	4-10	10.4	7.0
Males	≥11	14.9	10.0
Females	≥11	11.9	8.0
	Pregnant	14.9	10.0
	Lactating,		
	First 6 months	17.9	12.0
	Second 6 months	16.4	11.0

Source: Chow, 2001

United States of America, the recommended amounts of vitamin E intake (based on age and sex) are shown in **Table 1**. In Thailand, the Thai FDA (Food and Drug Administration) suggests that the vitamin E daily intake for Thais over 6 years old is 10 mg (15 IU) α-tocopherol.

Vitamin E deficiency may occur in persons who have prolonged fat malabsorption, such as cystic fibrosis, short bowel syndrome, and chronic cholestasis. The absorption of vitamin E requires bile salts for micelle formation, and the micelle formed is absorbed through the jejunum. Vitamin E deficiency is often characterized by neurological problems. Common symptoms of these neurological problems include muscle weakness, limb ataxia, and impaired eye movement (Ball, 2004).

There have been no reports of toxicity from the overconsumption of vitamin E from dietary sources. An article reviewing the effects of vitamin E supplementation up to 2,000 IU/d found no subjective and objective adverse effects (Hathcock et al., 2005). However, high dose of vitamin E intake had an effect on platelet coagulation due to limiting the ability of platelets to clot. Therefore, high doses of vitamin E supplementation should be careful in patients treated with antiplatelet aggregation or anticoagulant therapy (Freeman et al., 1996).

2.6 Role of vitamin E in thalassemia

Oxidative stress has been a concern of patients with thalassemia for long periods of time. Liverea et al. (1998) found that plasma MDA concentration and serum ferritin, a marker that represents iron storage in the body, in thalassemic patients were higher than healthy individuals. This study also found that the levels of plasma MDA and serum ferritin were positively correlated with oxidized LDL, and the amount of vitamin E were negatively correlated with oxidized LDL relating to atherogenesis. There were several studies reported that patients with thalassemia intermedia had low vitamin E levels in their body when compared with healthy persons (Liverea et al., 1998; Tesoriere et al., 1998; Tesoriere et al., 2001). This information should be concerned for future risk of coronary heart disease in patients with thalassemia intermedia. These patients may experience a poor progression which could result in more severe complications. Hence, the supplementation with vitamin E may be beneficial for thalassemic patients. Vitamin E supplementation not only could ameliorate the vitamin E levels in patients, but also could protect RBC membranes

from free radicals and prolong RBC lifespan as antioxidant property of vitamin E (Rund and Rachmilewitz, 2000).

Several studies have found some benefits of vitamin E supplementation in patients with thalassemia (Das et al., 2004; Dissayabutra et al., 2005; Mahjoub et al., 2007; Pfeifer et al., 2008). Rashidi and colleagues (2011) showed that serum vitamin E levels of the patients with thalassemia major who took vitamin E (400 mg/d) for 3 months were significantly elevated. They also indicated that activity of glutathione peroxidase (an antioxidant enzyme) was decreased after the treatment. In addition, Tesoriere et al. (2001) studied in 15 thalassemia intermedia patients who received occasional blood transfusion and aged 10 to 51 years. They found that when the thalassemic patients were supplemented with vitamin E (600 mg/d) for 9 months, vitamin E levels in RBC rapidly increased in the first 3 months of supplementation. At the end of the study, the other plasma antioxidant vitamins including vitamin A, β-carotene, ascorbate, and lycopene in the patients were markedly increased from baselines. RBC count and hematocrit (Hct) levels of these patients also increased. The increase in RBC count after the supplementation might associate with vitamin E maintained the integrity of long-chain PUFA in cell membranes. In contrast, levels of oxidized LDL in these patients were decreased after 6 months of administration. Furthermore, after vitamin E treatment, thalassemic RBCs better resist osmotic concentration or hemolytic agents that induce the hemolysis (Wang et al., 2006; Traber and Atkinson, 2007). Similarly, Das et al. (2004) found that vitamin E treatment at doses of 10 mg/kg/d for 4 weeks in the patients with thalassemia not only improved hemoglobin levels and vitamin E levels in the erythrocyte, but also reduced the levels of lipid peroxidation in the membranes of RBC. In the same way, Pfeifer et

al. (2008) found that the supplementation of vitamin E (400 IU daily for 3 months) in patients with thalassemia intermedia reduced ROS production in erythrocytes, T lymphocytes, and polymorphonucleus leukocytes.

The patients with thalassemia intermedia who suffer from low-grade chronic inflammation can experience health problems. The clinical use of vitamin E as an antioxidant may be effective in reducing inflammation in patients through antioxidation property and modulation of enzymes, structural proteins, and transcription factors which relate to inflammation. However, there are limited studies on the effects of vitamin E supplementation on inflammation status in thalassemic patients. In addition, most of the studies about thalassemia investigated patients with thalassemia major who have more clinical complications than those with intermedia type. There have been many reports found that patients with thalassemia intermedia had a future risk of cardiovascular complications by vascular inflammation and platelet hyperaggregation. Giving supportive treatment in thalassemia intermedia children might improve their clinical outcome and prevent some future complications.

CHAPTER III

MATERIALS AND METHODS

3.1 Subjects

The subjects of this study were patients with thalassemia (aged 5 - 19 years old) from the Pediatric Hematology Clinic at Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand. All participants were classified with thalassemia intermedia according to hemoglobin typing. Their baseline hemoglobin levels were between 7 - 9 g/dL. All of them did not have severe anemia that leads to blood transfusion therapy. They were not treated with iron chelating agents or any antioxidant supplementation such as vitamin E, vitamin C and curcumin for at least 3 months before entering the study. The patients did not recently have any surgical operations or infection. Moreover, they were free from acute or chronic inflammation and did not take any anti-inflammatory agents (e.g. anti-inflammatory medications, immunosuppressive agents, anti-inflammatory dietary supplements) in the past month. None of them were allergic to vitamin E. All patients and their parents received an explanation of the experimental protocol which was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Siriraj Hospital. The participants gave informed consents before the study was started.

3.2 Study design

This study was conducted in patients with thalassemia intermedia. At baseline, the height and weight of the patients were measured. They were also

interviewed about personal information such as dietary intake, physical activity, and health history in past few months. The patients' nutritional status was assessed using the subjective global assessment (SGA). The patients obtained a dietary handbook for thalassemia, and they also received nutrition counseling that was suitable for their growth and health. Blood sample (10 ml) was collected to determine CBC, serum vitamin E levels, and plasma hs-CRP and TNF-α levels. Finally, each patient was asked to follow the diet based on the advice given. They were also asked to consume the recommended dietary foods throughout the study. They were told to record their 3-day dietary intake (1 weekend day and 2 weekdays) on the first and the last week of the study for dietary intake assessment. The patients were divided into the vitamin E group and the control group.

Each patient in the vitamin E group took natural vitamin E soft gelatin capsules (Mega®, Thailand) based on their weight (**Table 2**) once daily after breakfast, while the control patients did not take any supplements. The patients in both groups still received their own prescribed medications. During the study period, all patients received a phone call at least once a week to remind them to follow the advice. In addition, the patients in the vitamin E group were asked about undesirable effects after taking the vitamin E supplement.

At the end of the study (week 12), height and weight of the patients were measured. Peripheral blood samples (10 ml) were collected again to examine CBC, serum vitamin E levels, and plasma hs-CRP and TNF-α levels. Each patient in the vitamin E group was assessed for their compliance by counting the remaining vitamin E capsules.

Table 2 Dose of vitamin E on body weight

Weight (kg)	Dose of Vitamin E (IU/d)
≤ 10	100
>10 - 29	200
> 29	400

3.3 Study measurements and data collections

3.3.1 Anthropometric assessments

Height and weight of each patient was measured at baseline and week 12 of the study using a standiometer and an electronic digital weight scale (Tanita WB-100, Illinois, The United State of America). The values were used to calculate their body mass index (BMI) as followed:

$$\text{BMI } (kg/m^2) = \frac{\text{weight (kg)}}{\text{height}^2\ (m^2)}$$

The calculated BMI was interpreted by the CDC BMI-for-age growth chart of different genders (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2000). The weight status categories were based on the calculated BMI-for-age percentile as shown in **Table 3**. The height and weight of each patient was plotted into a growth chart, which was modulated from the national growth references for children under 20 years of age (Appendix E). It was also compared to the reference values for children aged 1 day - 19 years old of The Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand. This was used to calculate the percentages of weight for height (%W/H), height for age (%H/A), and weight for age (%W/A). The formulas are as followed:

$$\%W/H = \frac{\text{Patient's weight x 100}}{50^{th} \text{ percentile weight at the same height}}$$

$$\%H/A = \frac{\text{Patient's height x 100}}{50^{th} \text{ percentile weight at the same age}}$$

$$\%W/A = \frac{\text{Patient's weight x 100}}{50^{th} \text{ percentile weight at the same age}}$$

3.3.2 Nutritional status assessments

Nutritional status of the patients was assessed by the 7-point SGA questionnaire, which was modified by the Department of Clinical Nutrition, Siriraj Hospital, Thailand (Appendix C). According to the SGA scores, nutritional status was classified into three groups: well-nourished, moderately malnourished, and severely malnourished (**Table 4**).

3.3.3 Dietary assessment

On the first and the last weeks of the study, the patients filled out a menu with portion sizes to be eaten in three days (1 weekend day and 2 weekdays) in the 3-day food record forms (Appendix C). The recorded data were used to analyze the energy of food consumption to evaluate the proportion of energy distribution and to assess the nutrients intakes by using the Thai Nutrisurvey software developed for Thai food by the Department of Health, the Ministry of Public Health and the Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand. The amount of nutrient intake obtained from the 3-day food records was calculated to determine the average energy, protein, carbohydrate and fat intakes per day.

Table 3 Standard categories of BMI-for-age (CDC, 2000)

Percentile range	Weight status categories
< 5th Percentile	Underweight
5th to < 85th Percentile	Healthy weight
85th to < 95th Percentile	Overweight
≥ 95th Percentile	Obese

BMI = body mass index; kg/m^2 = kilogram/square meter

Table 4 Nutritional status classification

SGA score	Nutritional status
1 - 14	Well-nourished
14 - 35	Moderately malnourished
36 - 39	Severely malnourished

3.3.4 Hematological assessments

Peripheral blood (10 ml) of each patient was collected via venipuncture at the beginning and at the end of the study. Blood in the amount of 3 ml was drawn into a serum tube (non-additive tube) for determining serum vitamin E levels by high-performance liquid chromatography (Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom, Thailand). The other 3 ml of the blood was collected into a heparin coated tube for determining plasma hs-CRP levels by high sensitivity CRP test using immunoturbidimetric method at Bangkok Pathology-Laboratory, Bangkok, Thailand. In addition, 4-ml blood sample was collected into a K2 EDTA coated tube for determining plasma TNF-α levels by sandwich ELISA assay (human TNF-α

Quantikine HS Kit, R&D systems, Minnesota, The United State of America) and for analyzing CBC (Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand).

3.3.5 Compliance of vitamin E assessments

At the beginning of the study, the patients in the vitamin E group received bottles of vitamin E capsules for 12-week supplementation. All patients were called at least once a week to ensure that they took the capsules. At the end of the study, the patients returned the remaining vitamin E capsules to be counted, and the percentage compliance of each patient was calculated as followed:

$$\% \text{ of compliance} = \frac{\text{Number of eaten capsules x } 100}{\text{Number of given capsules}}$$

3.4 Statistical analysis

Each variable in this study was tested for distribution of data by Shapiro-Wilk test. Parametric statistic was used when the data was normally distributed. The data were shown as mean ± standard error of the mean (SEM). The differences in demographic data were compared by Chi-square tests. Independent sample *t*-test was used for statistical comparison of data between the vitamin E group and the control group. Comparisons of the data within each group were made using paired sample *t*-test. Correlations between variables were reported with Pearson's coefficient. In addition, non-parametric statistic was used when the data was not normally distributed. For each analysis conducted, statistical significance was considered for those that showed the *P* value less than 0.05.

CHAPTER IV

RESULTS

4.1 Characteristic of subjects

Thirty-seven patients with thalassemia intermedia were recruited into this study. The types and hematology variables of the patients at baseline are listed in **Table 5**. Most of the patients (56.8%) were diagnosed with β-thalassemia/ hemoglobin (Hb) E. Among the other patients, 7 were α-thalassemia/Hb constant spring (CS), 5 were Hb A-E-Bart's with CS, 2 were Hb H and 2 were Hb H with CS. The demographic and clinical data of the patients at baseline are shown in **Table 6**. The patients included 18 males and 19 females. The patients of both genders had similar characteristics including age, weight, height, severity of clinical symptoms, and amount of daily dietary intake. Serum vitamin E levels and other variables were statistically analyzed for their relationships. The results of relationships between those parameters are presented in **Tables 7**. There were no correlations between the levels of serum vitamin E and inflammatory markers (hs-CRP and TNF-α). However, serum vitamin E levels were positively correlated with RBC count ($r = 0.503$, $p = 0.002$).

In this study, the thalassemic patients were assigned into two groups, the control group and the vitamin E group. Eighteen patients in the control group (9 males and 9 females) took their own prescribed medications with the diet based on the nutritional advice for thalassemic patient, while 19 patients in the vitamin E group (9 males and 10 females) additionally supplemented with vitamin E at the dose of 10

Table 5 Types and hematology parameters of the thalassemia intermedia subjects

Thalassemia types	n (%)	RBC[a] (10^6/mL)	Hb[a] (g/dL)	Hct[a] (%)
β-thalassemia/Hb E	21 (56.8)	4.42 ± 0.19	8.05 ± 0.16	27.40 ± 0.57
α-thalassemia/Hb CS	7 (18.9)	4.87 ± 0.31	8.24 ± 0.34	29.79 ± 1.21
Hb A-E-Bart's with CS	5 (13.5)	5.37 ± 0.14	8.66 ± 0.22	31.02 ± 0.30
Hemoglobin H	2 (5.4)	5.32 ± 0.34	8.85 ± 0.50	31.35 ± 0.45
Hemoglobin H with CS	2 (5.4)	4.58 ± 0.03	8.40 ± 0.10	30.65 ± 0.85

[a] Mean ± SEM

n = number; RBC = red blood cell; Hb = hemoglobin; Hct = hematocrit; 10^6/mL = 1,000,000 per milliliter; g/dL= gram per deciliter

Table 6 Baseline demographic and clinical characteristics of the subjects

Parameter[a]	Male (n = 18)	Female (n = 19)	Total (n = 37)
Age (yr)	11.94 ± 1.03	14.10 ± 0.78	13.05 ± 0.66
Vitamin E (μg/dL)	592.93 ± 65.48	538.84 ± 64.12	565.16 ± 45.40
TNF-α (pg/mL)	1.40 ± 0.10	1.14 ± 0.08	1.27 ± 0.07
hs-CRP (mg/L)	0.77 ± 0.17	1.43 ± 0.31	1.11 ± 0.18
RBC (10^6/mL)	4.90 ± 0.22	4.47 ± 0.16	4.68 ± 0.14
Hb (g/dL)	8.36 ± 0.19	8.04 ± 0.71	8.20 ± 0.12
Hct (%)	29.00 ± 0.76	28.28 ± 0.62	28.64 ± 1.47
Height (cm)	140.96 ± 5.05	149.57 ± 3.20	145.38 ± 3.00
Weight (kg)	35.70 ± 3.11	41.18 ± 2.87	38.52 ± 2.13
BMI (kg/m^2)	17.29 ± 0.69	18.01 ± 0.80	17.66 ± 0.53
%W/A	93.78 ± 3.94	98.43 ± 4.27	96.17 ± 2.90
%H/A	96.60 ± 0.86	99.32 ± 0.86	98.00 ± 0.64
%W/H	101.38 ± 4.04	96.79 ± 3.94	99.02 ± 2.81
Energy intake (kcal/d)	1,169.86 ± 48.31	1,135.45 ± 43.82	1,152.20 ± 32.21
Protein (g/d)	49.25 ± 2.94	52.44 ± 2.81	50.88 ± 2.02
Fat (g/d)	41.33 ± 2.59	36.14 ± 1.65	38.66 ± 1.56
Carbohydrate (g/d)	149.31 ± 5.98	149.90 ± 7.62	149.61 ± 4.81

[a] Mean ± SEM

n = number; TNF-α = tumor necrosis factor-α; hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein; RBC = red blood cell; Hb = hemoglobin; Hct = hematocrit; BMI = body mass index; %W/A = percentage of weight for age; %H/A = percentage of height for age; %W/H = percentage of weight for height; yr = year; mg/L = milligram per liter; pg/mL = pictogram per milliliter; 10^6/mL = 1,000,000 per milliliter; g/dL= gram per deciliter; μg/dL = microgram per deciliter; kg = kilogram; cm = centimeter; kg/m^2 = kilogram per meter square

Table 7 Correlations between serum vitamin E level and study parameters

Parameters		Correlation coefficient[a]
Inflammatory marker	TNF-α	-0.159
	hs-CRP	-0.251[b]
Hematological parameter	RBC	0.503*
	Hb	0.254
	Hct	0.317
Growth assessment	%W/A	0.140[b]
	%H/A	-0.075
	%W/H	0.161
	BMI	-0.180
Dietary intake	Energy	0.325
	Protein	0.130
	Fat	0.274[b]
	Carbohydrate	0.288

[a] Pearson's correlation was used for statistical analysis.
[b] Spearman's rank correlation was used for statistical analysis.
* Significant correlation between two variables ($p < 0.01$)
TNF-α = tumor necrosis factor-α; hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein; RBC = red blood cell; Hb = hemoglobin; Hct = hematocrit; %W/A = percentage of weight for age; %H/A = percentage of height for age; %W/H = percentage of weight for height; BMI = body mass index

IU/kg/d for 12 weeks. At the end of the study, data of 6 patients were excluded. In the control group, 2 patients lost to follow-up and 1 patient received a hypertransfusion during the study. In the vitamin E group, 2 patients had poor vitamin E compliance as they took vitamin E less than 80% of the supplementation, and the other 1 subject lost to follow-up during the study.

The baseline demorgraphic and clinical characteristic data of both groups are listed in **Table 8**. Data of 31 patients, which included 16 patients (7 males and 9 females) in the vitamin E group and 15 patients (8 males and 7 females) in the control group, were assessed. Characteristic data including gender, age, duration of diagnosed thalassemia, weight, height, and nutritional status of both groups were not significantly different. The patients aged between 5-19 years old with the mean age of

Table 8 Demographic and clinical characteristics of the subjects at baseline

Characteristics	**Vitamin E group n (%)**	**Control group n (%)**
Number of subjects	16	15
Gender		
Male	7 (43.75)	8 (53.30)
Female	9 (56.25)	7 (46.70)
	$\chi^2 = 0.285$	$p = 0.594$
Age (yr)		
Mean (yr)[a]	13.8 ± 0.92	12.8 ± 1.00
	t = -0.744	$p = 0.463$
< 10 yr	3 (18.75)	3 (20.00)
10-15 yr	7 (43.75)	8 (53.33)
> 15 yr	6 (37.50)	4 (26.67)
	$\chi^2 = 0.435$	$p = 0.805$
Duration of diagnosed thalassemia		
Mean (yr)[a]	11.06 ± 0.92	9.06 ± 1.01
	t = -1.008	$p = 0.322$
< 10 yr	7 (43.75)	7 (46.67)
10-15 yr	6 (37.5)	7 (46.67)
> 15 yr	3 (18.75)	1 (6.66)
	$\chi^2 = 1.046$	$p = 0.593$
Height		
Mean (cm)[a]	148.06 ± 4.05	146.05 ± 4.84
	t = -0.320	$p = 0.751$
Weight		
Mean (kg)[a]	42.34 ± 3.10	35.85 ± 2.77
	t = -1.554	$p = 0.131$
BMI for age (kg/m^2)		
Underweight	6 (37.5)	6 (40.0)
Normal	8 (50.0)	9 (60.0)
At risk of overweight	1 (6.3)	0
Overweight	1 (6.3)	0
	$\chi^2 = 2.029$	$p = 0.566$

[a] Mean±SEM

yr = year; kg = kilogram; cm = centimeter; kg/m^2 = kilogram per meter square

13.81 ± 0.92 years in the vitamin E group and 12.80 ± 1.00 years in the control group. The patients in the vitamin E group were diagnosed with thalassemia intermedia for 11.06 ± 0.92 years, while the patients in the control group were diagnosed with thalassemia intermedia for 9.06 ± 1.01 years.

Mean body height and weight of the patients in both groups were not significantly different. In the vitamin E group, mean height and weight were 148.06 ± 4.05 cm and 42.34 ± 3.10 kg respectively. In the control group, mean height and weight were 146.05 ± 4.84 cm and 35.85 ± 2.77 kg respectively. BMI was calculated from weight and height of each patient. It was found that in the vitamin E group, 50% of the patients were classified into normal BMI category, and 37.5% of those were classified as underweight. The results also showed that 6.3% of the patients in the vitamin E group were categorized into at risk of overweight class, and 6.3% of those were classified as overweight. In the control group, 60% of the patients had normal BMI, and 40% of them were classified into underweight category. However, there was no difference in BMI between groups. All patients appeared to be well-nourished when assessed by the SGA questionnaire.

4.2 Biochemical and hematological parameters of the subjects

Analyzed data of biochemical and hematological parameters of the patients at baseline and the end of the study (week 12) are shown in **Table 9**. At baseline, serum vitamin E levels of patients in the vitamin E group and the control group were 510 ± 64.65 g/dL and 558.45 ± 76.71 μg/dL respectively. The levels of serum vitamin E in these two groups were not significantly different. After 12 weeks of the study, the levels of vitamin E in the patients who took vitamin E were 1,264 ±

Table 9 Biochemical and hematological parameters of the subjects

Parameters[a]	**Vitamin E (n = 16)**		**Control (n = 15)**		**Reference range**
	Baseline	**Week 12**	**Baseline**	**Week 12**	
Vitamin E (μg/dL)	510.56 ± 64.65	1,264.43 ± 119.32**††	558.45 ± 76.71	536.36 ± 64.00	615 - 1,360[c]
TNF-α (pg/mL)	1.20 ± 0.09	1.14 ± 0.10	1.32 ± 0.10	1.34 ± 0.08	
hs-CRP (mg/L)[b]	0.65 (0.10 - 3.10)	0.45 (0.10 - 2.90)	0.50 (0.20 - 4.90)	0.40 (0.20 - 3.10)	0.08 - 3.00[d]
RBC (10^6/mL)	4.85 ± 0.18	4.90 ± 0.20	4.31 ± 0.22	4.38 ± 0.21	4.2 - 5.4[e]
Hb (g/dL)	8.34 ± 0.15	8.54 ± 0.18	7.98 ± 0.20	8.04 ± 0.23	12 - 18[e]
Hct (%)	28.88 ± 0.67	29.48 ± 0.63	27.97 ± 0.74	28.13 ± 0.77	37 - 52[e]
WBC (10^3/μL)[b]	10.20 (5.80 - 38.30)	8.75 (3.50 - 62.90)	9.50 (5.40 - 126.00)	8.50 (6.10 - 210.00)	5.7 - 9.4[e]

[a] Mean ± SEM
[b] Median (Minimun - Maximum) of the data were presented when the data were not normally distributed.
[c] Normal ranges in healthy children were obtained from Kassab-Chekir et al. 2003.
[d] Normal ranges were obtained from Pearson et al. 2003.
[e] Normal ranges were obtained from laboratory manual, Siriraj Hospital, Thailand.
** Significant difference from baseline within group ($p < 0.001$)
†† Significant difference from the control group at the same time point ($p < 0.01$)
n = number; TNF-α = tumor necrosis factor-α; hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein; RBC = red blood cell; Hb = hemoglobin; Hct = hematocrit; WBC = white blood cell; μg/dL = microgram/ deciliter; pg/mL = pictogram/milliliter; mg/L = milligram per liter; 10^6/mL = 1,000,000 per mililiter; g/dL= gram per deciliter; 10^3/μL= 1,000 per microlite

119.32 μg/dL. It was significantly increased from their baseline ($p < 0.001$) and was higher than those of the patients in the control group (536.36 ± 6.00 μg/dL, $p < 0.001$).

Tumor necrosis factor-α (TNF-α) levels of the patients in the vitamin E group and the control group at baseline were 1.20 ± 0.09 pg/mL and 1.32 ± 0.10 pg/mL respectively. There was no significant difference in the levels of TNF-α between both groups at baseline and at week 12. At baseline, the mean levels of hs-CRP were 0.65 mg/L in the vitamin E group and were 0.50 mg/L in the control group. After 12 weeks of vitamin E supplementation, the levels of hs-CRP did not change, compared to baseline. There was no significant difference in hs-CRP levels between groups at week 12 of the study.

Hematological variables presented were RBC, Hb, Hct, and white blood cell (WBC). The amount of RBC, Hb, Hct, and WBC of the patients between the vitamin E and the control groups at baseline were not significantly different. After the vitamin E supplementation, the amounts of RBC, Hb, Hct, and WBC of the patients did not change from their baselines. At week 12, the patients in the control group also had no changes in RBC, Hb, Hct and WBC levels from baselines, and the amounts of those were not different between groups.

4.3 Growth status and dietary intake of the subjects

Assessment of growth status in the thalassemic patients was based on body height and weight. The results are shown in **Table 10**. The height and weight were used to assess growth status by the national growth chart and were categorized into 4

Table 10 Growth status of the subjects at baseline and week 12 of the study

Parameters	Vitamin E (n = 16)		Control (n = 15)	
	Baseline n (%)	**Week 12** n (%)	**Baseline** n (%)	**Week 12** n (%)
Height (cm)				
Under 25th percentile	5 (31.3%)	5 (31.3%)	2 (13.3%)	2 (13.3%)
25th-49.9th percentile	6 (37.5%)	6 (37.5%)	10 (66.7%)	10 (66.7%)
50th-74.9th percentile	5 (31.3.0%)	5 (31.3%)	3 (20.0%)	3 (20.0%)
Over 75th percentile	-		-	-
Weight (kg)				
Under 25th percentile	5 (31.3%)	5 (31.3%)	6 (40.0%)	7 (46.7%)
25th-49.9th percentile	6 (37.5%)	4 (25.0%)	4 (26.7%)	4 (26.7%)
50th-74.9th percentile	3 (18.8%)	5 (31.3%)	5 (33.3%)	4 (26.7)
Over 75th percentile	2 (12.5%)	2 (12.5%)	-	-
BMI for age				
Underweight	6 (37.5%)	3 (18.8%)	6 (40.00%)	8 (53.30%)
Normal	8 (50.0%)	11 (68.8%)	9 (60.00%)	7 (46.70%)
At risk of overweight	1 (6.3%)	1 (6.3%)	-	-
Overweight	1(6.3%)	1 (6.3%)	-	-

n = number; cm = centimeter; kg = kilogram

control group were classified into worse percentile of weight. These results were consistent with categories of BMI. Three patients who were supplemented with vitamin E and firstly classified as underweight had increased BMI and then were classified into normal weight category. In contrast, 2 patients in the control group had lower BMI when compared with baseline.

The results showed that percentage of weight for age (%W/A), percentage of height for age (%H/A), and percentage of weight for height (%W/H) of the patients in the vitamin E group at baseline were 102.05 ± 5.17, 98.13 ± 1.11 and 105.04 ± 5.11 respectively, and those in control group were 90.48 ± 3.49, 98.49 ± 0.89, and 93.24 ± 2.92 respectively. At the end of the study, %W/A, %H/A and %W/H of the patients in both groups did not change from baselines, and the differences between groups were not found.

In the present study, nutritional status of the patients was assessed by SGA questionnaire. The result showed that the patients in both groups were well-nourished at baseline and week 12. Dietary intakes of the patients assessed by 3-day food records at baseline and week 12 are shown in **Table 11**. At baseline, there were no significant differences in the amounts of energy, protein, fat, and carbohydrate consumption between groups. Total energy intakes in the vitamin E group were significantly increased from 1,174.73 ± 51.08 kcal/d at baseline to 1,301.00 ± 75.53 kcal/d at week 12 (p = 0.037). At week 12, the total energy intakes in the vitamin E group were significantly greater than those in the control group (p = 0.008). The amount of carbohydrate consumption in the vitamin E group significantly increased after the vitamin E supplementation (151.52 ± 5.97 g/d at baseline and 172.69 ± 9.47

Table 11 Dietary intake of the subjects in the control group and vitamin E group at baseline and week12 of the study

Parameters[a]	Vitamin E (n = 16)		Control (n = 15)		Reference range
	Baseline	Week 12	Baseline	Week 12	
Total energy intake					
kcal/d	1,174.73 ± 51.08	1,301.00 ± 57.53*††	1,128.50 ± 54.62	1,095.00 ± 42.21	1,600 - 1,700[c]
Protein intake					
g/d	53.03 ± 3.98	54.84 ± 2.97	48.33 ± 2.29	47.57 ± 2.18	40 - 41
kcal/d	212.13 ± 15.92	219.37 ± 11.89	193.34 ± 9.16	190.30 ± 8.73	
g/kg/d[b]	1.44 (0.41 - 3.16)	1.44 (0.53 - 2.78)	1.52 (0.86 - 3.34)	1.43 (0.74 - 2.18)	1.2
% of total energy	17.86 ± 0.89	16.83 ± 0.49	17.42 ± 0.82	17.59 ± 0.81	
Fat intake					
g/d[b]	38.17 (24.46 - 78.06)	39.19 (28.84 - 72.72)	38.08 (23.67 - 47.38)	33.47 (25.63 - 50.67)	-
kcal/d[b]	343.56 (220.12 - 702.51)	352.73 (259.56 - 654.48)	342.72 (213.03 - 426.42)	301.23 (230.64 - 456.03)	
% of total energy	29.79 ± 1.19	29.87 ± 1.63	30.32 ± 1.09	30.70 ± 1.56	
Carbohydrate intake					
g/d	151.52 ± 5.97	172.69 ± 9.47*†	148.12 ± 9.75	142.62 ± 9.08	-
kcal/d	606.09 ± 23.88	690.77 ± 37.89*†	592.47 ± 39.02	570.50 ± 36.33	
% of total energy	52.08 ± 1.57	53.12 ± 1.88	52.03 ± 1.63	51.57 ± 1.89	

[a] Mean ± SEM
[b] Median (range)
[c] Reference ranges from Reference Intake For Thais 2003, Bureau of Nutrition , Ministry of Public Health
* Significant difference from baseline within group ($p < 0$ .05)
† Significant difference from the control group at the same time point ($p < 0.05$); †† Significant difference from the control group at the same time point ($p < 0.001$)
n = number; g/d = gram per day; kcal/day = kilocalories per day; g/kg/day = gram per kilogram per day

at week 12, $p = 0.044$). In addition, carbohydrate intakes in the vitamin E group were significantly higher than those in the control group at week 12 (172.69 ± 9.47 g/d in the vitamin E group and 142.62 ± 9.08 g/d in the control group, $p = 0.030$). Total protein and fat intakes of the patients were not significantly different within group and between groups.

4.4 Compliance and adverse effects of vitamin E supplementation

In this study, 18 patients were assigned to consume vitamin E at the dose of 10 IU/kg/d for 3 months. At the end of the study, the patients were evaluated for their compliance by counting the remaining vitamin E capsules. It appeared that 2 patients had low compliance as they consumed vitamin E less than 80% of the supplementation. Therefore, these patients were excluded from this study. Average percentage of compliance of 16 patients was 89.40 ± 1.21. All patients could consume vitamin E throughout the study without any adverse effects.

CHAPTER V

DISCUSSION

This study investigated the effect of vitamin E supplementation on levels of TNF-α, hs-CRP, serum vitamin E, and CBC in patients with thalassemia intermedia (aged 5 - 19 years) who did not require regular hypertransfusion at Pediatric Hematology Clinic, Siriraj Hospital. In addition, the effect of vitamin E on their growth, nutritional status, and amount of dietary intake were also evaluated.

5.1 Correlations between serum vitamin E and study parameters of the subjects

At baseline, this study evaluated levels of plasma TNF-α and hs-CRP, serum vitamin E, CBC, growth, and dietary intake in the patients with thalassemia intermedia for analyzing relationships between serum vitamin E levels and the study variables. The results showed that no correlations between levels of vitamin E and TNF-α and hs-CRP were found. Previous study by Aryaeian et al. (2009) showed that patients with joint inflammation had high levels of CRP (3.46 - 12.18 mg/L) but low levels of vitamin E (237 - 811 μg/dL). Improving of vitamin E concentrations in the patients who suffer from the inflammation may alleviate their inflammatory status. It was found that vitamin E supplementation could decrease levels of TNF-α and hs-CRP in patients with type 2 diabetic, metabolic syndrome, and rheumatoid arthritis (Devaraj and Jialal, 2000; Devaraj et al., 2008; Aryaeian et al., 2009). The results in the previous studies may be due to the effects of vitamin E on inflammatory gene expression by reducing NF-κB activity that involved in the regulation of

inflammatory response (Suzuki and Packer, 1993). The decreased NF-κB activity may result in decreased plasma TNF-α and hs-CRP concentrations. However, correlations between the levels of vitamin E and inflammatory markers were not found in the present study. This may associate with the differences in characteristics and severity of inflammation among patients in each study. The patients recruited in this study had only subclinical inflammation. Therefore, the apparent relationship between the levels of vitamin E and inflammatory markers may not be shown.

The serum vitamin E levels positively correlated with amount of RBC in this study. This correlation could be explained by the protective effect of vitamin E on RBC membranes. Generally, the RBCs of the patients are easily destroyed. Tesoriere et al. (2001) showed that RBCs of patients with thalassemia intermedia increased resistance to osmotic lysis after 9 months of vitamin E supplementation. In addition, Sutipornpalangkul et al. (2012) demonstrated that vitamin E could increase fluidity of erythrocyte membranes after daily treatment with 350-mg vitamin E for a month in β-thalassemia/Hb E. Therefore, increasing vitamin E intake either from supplementation or food may improve vitamin E status, which could be beneficial on RBC count in thalassemic patients.

5.2 Effect of vitamin E supplementation on serum vitamin E level

This study evaluated serum vitamin E levels in the patients with thalassemia intermedia. At baseline, the vitamin E levels of the patients were in the range of 565.16 ± 45.40 μg/dL. The result showed that the vitamin E levels in patients with thalassemia intermedia were lower than those in healthy persons (Kassab-Chekir et al., 2003; Chow, 2001). Kassab-Chekir and colleagues (2003) found that serum

vitamin E concentration in healthy children aged 8 - 12 years were in the range of 615 - 1,360 µg/dL. In addition, Chow (2001) showed that the normal range of vitamin E levels in healthy adults were 770 - 1,550 µg/dL. The serum vitamin E levels in the present study agreed with several studies reporting that serum vitamin E concentration in patients with thalassemia intermedia were lower than those in healthy persons (Tesoriere et al., 2001; Sutipornpalangkul et al., 2012; Claster et al., 2009). In addition, this study found that the serum vitamin E of the patients with thalassemia intermedia were higher than those in thalassemia major children (Kassab-Chekir et al., 2003). It could be explained that the clinical symptoms of the patients in the Kassab-Chekir's study were more severe than the symptoms of the patients in this study.

After the patients in the vitamin E group were supplemented with vitamin E at the dose of 10 IU/kg/d for 12 weeks, the patients had higher vitamin E levels reaching the normal range. Vitamin E is a nutrient for antioxidant defense system, which eliminated excessive ROS in the body (Chakraborty and Bhattacharyya, 2001; Cimen, 2008). Excessive free radicals in the thalassemic patients generated lipid peroxidation reaction, which damaged to RBC membranes (Pfeifer et al., 2008). In addition, high levels of ROS lead to inflammation (Grimbles, 1998; Li and Karin, 1999; Taher et al., 2006).

The result in the present study indicated that supplementation with vitamin E in the patients with thalassemia intermedia could improve their vitamin E levels. This result agreed with other previous studies including the study of Tesoriere et al. (2001). They showed that treatment with 600 mg/day of vitamin E in patients with thalassemia intermedia for 9 months significantly increased their vitamin E levels.

Similarly, Das et al. (2004) reported an improvement of vitamin E levels after vitamin E supplementation at dose of 10 mg/kg/day for 4 weeks in patients with β-thalassemia. Moreover, Dissayabutra et al. (2005) evaluated daily supplementation with 100 g of vitamin C and 400 - 600 mg of vitamin E (400 mg in thalassemic children weighted less than 20 kg and 600 mg in the children weighted at least 20 mg) for 3 months. They found that levels of vitamin C and vitamin E in these patients improved when compared with baselines. Sutipornpalangkul et al. (2012) also showed that plasma vitamin E levels in patients with β-thalassemia/Hb E markedly increased after vitamin E supplementation at the dose of 350 mg/d for a month.

Several studies reported that vitamin E supplementation in patients with thalassemia not only improved their vitamin E levels, but also ameliorated their oxidative stress status (Tesoriere et al., 2001; Das et al., 2004; Dissayabutra et al. 2005; Rashidi et al., 2011). There was a study found that low levels of vitamin E in thalassemic patients correlated with high levels of conjugated diene lipid hydroperoxide in LDL, which involved the development of atherogenesis (Liverea et al., 1998). Thus, vitamin E supplementation may be beneficial to patients with thalassemia intermedia in terms of increasing the vitamin E levels and diminishing the oxidative stress that is related to numerous complications.

5.3 Effect of vitamin E supplementation on inflammatory markers

In the present study, inflammatory markers including TNF-α and hs-CRP were evaluated. At baseline, the levels of TNF-α and hs-CRP in the patients were 1.27 ± 0.07 pg/mL and 1.11 ± 0.18 mg/L respectively. Haddy and colleagues (2003) demonstrated that TNF-α concentration in healthy young persons (aged 12 to 20

years) were in the range of 1.0 - 4.5 pg/mL, and hs-CRP concentration were in the range of 0.2 - 1.2 mg/L.

Based on the previous study, baseline TNF-α levels of the patients in the present study were closed to those in healthy young persons (Haddy et al., 2003). The baseline TNF-α levels in this study disagreed with studies of Butthep et al. (2002), Lombardi et al. (1994) and Kyriakou et al. (2001) who found that serum TNF-α levels in thalassemic patients were higher than those in healthy patients. Butthep and colleagues (2002) showed that TNF-α levels in patients with β-thalassemia/Hb E aged 16 - 42 years were 21.2 ± 5.1 pg/ml, while the TNF-α levels in the present study were lower than those levels. Lower TNF-α levels of the patients in this study, compared to thalassemic patients in other studies may be due to the characteristics of the patients recruited in this study. Although they suffered from mild anemia, their appearance and hematological data were closed to those in healthy persons. In addition, they did not have severe clinical symptoms of thalassemia including hepatosplenomegaly and bone marrow expansion. Therefore, inflammation-related complications might not be clearly observed. Age differences of the patients among the studies could be another explanation for different results. Forsey et al. (2003) and Ferrucci et al. (2005) reported that production and secretion of the pro-inflammatory cytokines and the endothelial adhesion molecules was related to aging. Bruunsgarrd et al. (2003) demonstrated that TNF-α levels in healthy men were correlated with age. Most of the patients in the present study were younger than those from the previous study (Kyriakou et al., 2001; Butthep et al., 2002).

High TNF-α levels were shown to induce the expression and release of VCAM-1 (Kallmann et al., 2000). Increasing of soluble adhesion molecule reflects to

endothelial cell activation. The prolonged activation of endothelial cells and the elevated concentration of hs-CRP involved in increased risk for atherogenesis and others cardiovascular complications (Cleland et al., 2000; Zwaka, Hombach and Torzewski, 2001). Taher et al. (2010) demonstrated that increasing age in thalassemia intermedia patients trended toward a higher rate of cardiovascular complications such as thrombosis, and pulmonary hypertension.

At baseline, the hs-CRP levels in the patients were closed to those in the healthy young persons (Haddy et al., 2003). However, the average hs-CRP level in the present study was higher than those in 8- to 12-year-old healthy children, which were 0.7 mg/L (Järvisalo et al., 2002). Ablij and Meinders (2002) reported that CRP concentration was 0.8 mg/L under normal physiological circumstance. This result agreed with the study of Kanavaki et al. (2009) who demonstrated that patients with thalassemia intermedia were endured with low-grade chronic inflammation. They demonstrated high levels of hs-CRP, TNF-α and soluble endothelial adhesion molecules in the thalassemia intermedia patients. Increasing of these inflammatory markers might cause many complications in the thalassemic patients (Zhang and Tracey, 1998).

Although there were studies focusing on inflammation in thalassemia intermedia, the present study could be considered as the first study that evaluated the effect of vitamin E supplementation on levels of TNF-α and hs-CRP in the patients with thalassemia intermedia. The result showed that TNF-α levels did not change in the patients who were supplemented with vitamin E for 12 weeks. This result disagreed with Devaraj et al. (2008) who demonstrated decreased TNF-α levels in patients with metabolic syndrome after 6 weeks of α-tocopherol (800 IU/day)

supplementation. In addition, the unchanged TNF-α levels in the present study may be due to the clinical status of the patients. According to the inclusion criteria, the thalassemia intermedia patients in this study were free from clinical symptoms of inflammation. The TNF-α levels in this study were lower than those in patients with β-thalassemia major and hemoglobin H (Lombardi et al., 1994; Butthep et al., 2002). In addition, relationship of vitamin E and TNF-α levels was not found at the baseline.

In this study, the hs-CRP levels of the patients in the vitamin E group did not change after 10 IU/kg/d of vitamin E supplementation for 12 weeks. This result agreed with a previous study, which reported that vitamin E supplementation at dose of 500 mg/d for 6 weeks in type 2 diabetic patients with low concentration of CRP (0.95 - 2.82 mg/L) did not alter CRP levels of the patients (Wu et al., 2007). However, Aryaeian et al. (2009) showed that daily supplementation of 400 mg of vitamin E in patients with active rheumatoid arthritis for 12 weeks significantly decreased CRP levels. They found high levels of CRP (3.46 - 12.18 mg/L) in the active rheumatoid arthritis patients. In addition, Devaraj et al. (2007) observed the effect of vitamin E on the patients with coronary artery disease who had high levels of CRP (2.6 - 6.4 mg/L). They found that daily supplementation of vitamin E (1,200 IU/d) at least 6 months could significantly reduce CRP concentration. Therefore, no change in the hs-CRP level in the present study was possibly due to the differences of dose and duration between this study and the previous studies. In addition, the thalassemia intermedia patients did not have high baseline hs-CRP concentration as found in patients with active rheumatoid arthritis. Furthermore, this study found no correlation between levels of vitamin E and hs-CRP.

The present study found low levels of TNF-α and hs-CRP in the patients with thalassemia intermedia. It could imply that inflammatory status of the patients with thalassemia intermedia in this study was only at subclinical state. The patients who were included in the study had stable clinical symptoms and were free from inflammation. However, it was reported that the patients with thalassemia intermedia suffered from the low grade chronic inflammation (Kanavaki et al., 2009). Based on the recommendation of the American Heart Association, the patients who have levels of hs-CRP more than 3.00 mg/L are considered to have high risk for cardiovascular disease (Pearson et al., 2003). The present study found that the patients had hs-CRP levels in the normal range of 0.08 - 3.00 mg/L (Pearson et al., 2003). However, the CRP levels in the patients varied among individuals. Hence, CRP concentration in the thalassemia intermedia patients should be monitored because it plays a role in developing of many complications.

5.4 Effect of vitamin E supplementation on hematological parameters

This study evaluated CBC of patients with thalassemia intermedia. At baseline, a positive correlation between levels of vitamin E and RBC was found. Theoretically, vitamin E is a lipophylic antioxidant, which defenses against oxidative damage for RBC (Cimen, 2008). Tesoriere and colleagues (2001) found that vitamin E at the dose of 600 mg/d for 9 months in thalassemia intermedia patients could improve RBC count. They also demonstrated increased RBC resistance to osmotic lysis. Thus, increasing levels of vitamin E should decrease intravascular hemolysis, which brings about improving of hematological parameters.

In the present study, vitamin E treatment did not affect the amount of RBC. The results of this study also showed no effects of 12-week vitamin E supplementation on hematological variables in the thalassemia intermedia patients including RBC, Hb, Hct, and WBC. Although Ngarmpattarangkoon (2010) found that 12-week vitamin E supplementation in the patients with thalassemia intermedia prolonged their RBC lifespan, their hematological variables including RBC, Hb, and Hct did not change. This agreed with Pfeifer et al. (2008) who found that daily supplementation of vitamin E 400 IU in patients with thalassemia intermedia for 3 months did not change Ht and Hct. Dissayabuta et al. (2005) also found no difference in Hb level after co-treatment of vitamin E (400 - 600 mg/day) and vitamin C (100 mg/day) for 3 months in patients with β-thalassemia. In contrast, improving of erythrocyte count, Hb, Hct, and MCH in thalassemia intermedia patients were reported after 9 months of oral vitamin E 600 mg/day supplementation (Tesoriere et al., 2001). Das et al. (2004) also found that Hb levels of thalassemia major patients were improved after vitamin E treatment at dose of 10 mg/kg/day for 4 weeks when compared with those of untreated patients. Perhaps, the effect of vitamin E on CBC depends on many factors including clinical severity of thalassemia and dose and duration of vitamin E treatment, which were different among the studies.

5.5 Effect of vitamin E supplementation on growth and nutritional status

In this study, growth assessment was based on height and weight of the patients. When compared with the national growth reference for Thai healthy children at the same age, the results demonstrated that stunted growth and underweight were found in more than 60% of the patients. In addition, 40% of the patients were

underweight when height and weight of each patient were calculated and classified by BMI. Most of the previous studies considered growth status in patients with thalassemia major (Fuchs et al., 1996; Shalitin et al., 2005; Merchant, Shirodkar and Ahmed, 2011). Fuchs et al. (1996) reported that height and weight of the patients with thalassemia major were less than the averages of healthy children. Moreover, around 60% of transfused-dependent thalassemic patients who aged 13 - 24 years were found to have short stature and delayed puberty (Merchant et al., 2011). However, delayed growth in patients with thalassemia intermedia could also be occurred. Thongkijpreecha et al. (2011) reported that delayed growth development was found in thalassemia intermedia patients. They showed that 63.3% of thalassemia intermedia patients were underweight, and 36.7% of the patients had delayed longitudinal growth.

Growth retardation, a normal clinical feature, is generally found in thalassemic patient. This feature depends on the severity of the disease (Taher et al., 2006). Shalitin et al. (2005) demonstrated that levels of serum ferritin in thalassemia major patients with short stature were higher than those in patients with the normal height. In this study, the patients with thalassemia intermedia also experienced delayed growth as thalassemic major. There were several causes relating to delayed growth development in thalassemic patients. These included chronic anemia, iron overload, and nutrient deficiencies (Shalitin et al., 2005; Fung, 2010).

Most of the patients in this study were underweight. This result accorded with their dietary intakes. A 3-day food record was used to assess average daily food consumption among the patients. Mean energy intake per day of the patients was less than the recommendation for Thai children (1,600 - 1,700 kcal/day). The result agreed

with Thongkijpreecha et al. (2011) who found poor dietary intake in thalassemia intermedia patients. Inadequate energy intake may lead to underweight and cause nutrient deficiencies in the thalassemic patients. Recently, there was a study showing that thalassemic patients had low levels of vitamins and minerals including vitamin A, vitamin C, vitamin D, vitamin E, zinc, and selenium (Claster et al., 2009). Excessive free radicals in the thalassemic patients required antioxidants for detoxifying of the free radical reactions. Imbalance of dietary intake and over requirement of antioxidant nutrients in patients with thalassemia leads to depletion of many antioxidant nutrients. The antioxidant nutrient deficiencies are associated with poor health outcomes in the thalassemic patients (Tesoriere et al., 2001; Claster et al., 2009; Fung et al., 2010).

The present study found that vitamin E treatment at dose of 10 mg/kg/d for 12 weeks significantly improved daily total energy intake of the patients with thalassemia intermedia. Bolton-Smith and colleagues (1991) showed that amount of vitamin E intake was significantly associated with total energy intake in smokers. They also found a positive relationship between level of serum vitamin E and BMI. This study indicated that weight and BMI of some patients were classified into better category after the vitamin E supplementation. Increased dietary intakes may lead to weight gain in these patients. The results were similar to the study of Rashidi et al. (2011). They revealed that BMI of thalassemia major patients were significantly increased from their baseline after vitamin E administration (400 mg/d) for 3 months. Therefore, the vitamin E supplementation may provide a positive effect on increased dietary intake in the patients with thalassemia intermedia, which is important for growth development in the patients.

CHAPTER VI

CONCLUSION

This study evaluated the effect of vitamin E supplementation on the levels of inflammatory markers (TNF-α and hs-CRP) and serum vitamin E, CBC, nutritional and growth status, and amounts of dietary intakes in patients with thalassemia intermedia who did not receive regular blood transfusion at Siriraj Hospital. Thirty-one patients were recruited and assigned into the vitamin E group (daily supplemented with vitamin E at the dose of 10 IU/kg) and the control group. After 12 weeks of the study, serum vitamin E levels in the patients who supplemented with vitamin E were significantly increased. However, the levels of the inflammatory markers did not change. This study showed that total energy and carbohydrate consumptions were significantly improved after vitamin E supplementation. In addition, weight and BMI of some patients ameliorated and classified into better category. The unchanged inflammatory markers may be associated with their subclinical inflammation. However, those should be monitored because the levels of inflammatory markers varied among individuals.

In conclusion, the present study revealed that although vitamin E supplementation did not affect the levels of TNF-α and hs-CRP, it might be beneficial to patients with thalassemia intermedia in terms of improving vitamin E levels and increased dietary intakes, which related to maintain good nutritional status and essential for growth development in the patients.

Recommendations for further study

This is the first study that observed effect of vitamin E supplementation on inflammatory markers in thalassemic patients. For further study, the vitamin E supplementation on inflammatory markers may be studied in patients with thalassemia major who have more severe clinical symptoms and inflammatory status. The effect of vitamin E supplementation should be investigated in longer duration and larger population. Varied doses of vitamin E supplementation may be investigated to clarify the dose of vitamin E that is effective for anti-inflammation. Additionally, the control group may be supplemented with placebo to reduce bias of the study. Healthy patients who age similar to the patients may also be enrolled into the study for comparison.

REFERENCES

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., and Pillais S. 2007. Cytokines. Cellular and Molecular Immunology. 6th ed. Philadephia: Saunder Elsevier.

Ablij, H.C., and Meinders, A.E. 2002. C-reactive protein: history and revival. European Journal of Internal Medicine 13: 412-422.

Aessopos, A., Farmaris, D., and Karagiorga, M. 2001. Cardiac involvement in thalassemia intermedia: a multicenter study. Blood 97: 3411-3416.

Aessopos, A., Kati, M., and Farmakis, D. 2007. Heart disease in thalassemia intermedia: a review of the underlying pathophysiology. Haematologica 92: 658-665.

Aggeli, C., Antoniades, C., Cosma, C., Chrysohoou, C., Tousoulis, D., Ladis, V., et al. 2005. Endothelial dysfunction and inflammatory process in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia major. International Journal of Cardiology 105: 80-84.

Angchaisuksiri, P., Atichartakarn, V., Aryurachai, K., Archararit, N., Chuncharunee, S., Tiraganiana, A., et al. 2007. Hemostatic and thrombotic markers in patients with hemoglobin E/β-thalassemia disease. American Journal of Hematology 82: 1001-1004.

Aryaeian, N., Djalali, M., Shahram, F., Djazayeri, A., Eshragian, M.R., Nadery, N., et al. 2009. The effect of conjugated linoleic acid, vitamin E and their combination on lipid peroxidation in active rheumatoid arthritis. Iranian Journal of Public Health 38(2): 79-89.

Ball, G.F.M. 2004. Vitamin E. Vitamins: Their Role in the Human body. Oxford: Blackwell.

Beg, A.A., Finco, T.S., Nantermet, P.V. and Baldwin, A.S. 1993. Tumor necrosis factor and interleukin-1 lead to phosphorylation and loss of I kappa alpha: a mechanism for NF-kappa B activation. Molecular and Cellular Biology 13(6): 3301-3310.

Bolton-smith, C., Casey, C.E., Gey, K.F., Smith, W.C.S., and Tunstall-Pedoe, H. 1991. Antioxidant vitamin intakes assessed using a food-frequency questionnare: correlation with biochemical status in smokers and non-smockers. British Journal of Nutrition 65: 337-346.

Borga-Pignatti, C., and Galanello, R. 2009. Thalassemias and related disorders: quantitative disorders of hemoglobin synthesis. In J.P. Greer, J. Foerster, G.M. Rodger, F. Paraskevas, B. Glader, D.A. Arber and R.T. Means Jr. (eds.), Wintrobe's Clinical Hematology, pp. 1084-1090. Philadephia: Lippincott Williams and Wilkins.

Bruunsaard, H., Poulsen, H.E., Pederson, B.K., Nyyss nen, K., Kaikkonen, J., and Salonen, J.T. 2003. Long-term combined supplementations with α-tocopherol and vitamin C have no detectable anti-inflammatory effects in healthy men. Journal of Nutrition 133: 1170-1173.

Butthep, P., Rummavas, S., Wisedpanichkij, R., Jindadamrongwech, S., Fucharien, S., and Bunyaratvej, A. 2002. Increased circulating activated endothelial cells, vascular endothelial growth factor, and tumor necrosis factor in thalassemia. American Journal of Hematology 70: 100-106.

Calder, P.C., Alber, R., Antonie, J.M., Blum, S., Bourdet-Sicard, R., Ferns, G.A., et al. 2009. Inflammatory disease processes and interaction with nutrition. British Journal of Nutrition 101: S1-S32.

Centers for Disease Control and Prevention. 2002. About BMI for Children and Teens [Online]. Available from : http://www.cdc.gov/healthyweight/assessing/bmi/childrens_bmi/about_childrens_bmi.html [2012, May 14].

Chakraborty, D., and Bhattacharyya, M. 2001. Antioxidant defense status of red blood cells of patients with β-thalassemia and Eβ-thalassemia. Clinica Chimica Acta 305: 123-129.

Chandra, V., Jasti, J., Kaur, P., Betzel, A.S., and Singh, T.P. 2002. First structural evidence of a specific inhibition of phospholipase A2 by a-tocopherol (vitamin E) and its implications in inflammation. Journal of Molecular Biology 320: 215-222.

Chow, C.K. 2001. Vitamin E. In R. Rucker, J. Suttie, D. McCormick, and L. Machlin, (eds.), Handbook of viamins, pp. 165-189. New York: Marcel Dekker.

Cimen, M.Y. 2008. Free radical metabolism in human erythrocytes. Clinica Chimica Acta 390: 1-11.

Claster, S., Wood, J.C., Noetzli, L., Carson, S.M., Hofstra, T.C., Khanna, R., et al. 2009. Nutritional deficiencies in iron overloaded patients with hemoglobinopathies. American journal of hematology 48 (6): 344-348.

Cleland, S.J., Sattar, N., Petrie, J.R., Forouhi, N.G., Elliott, H.L., and Connell, J.M.C. 2000. Endothelial dysfunction as a possible link between C-reactive protein levels and cardiovascular disease. Clinical Science 98: 531-535.

Combs, G.F. 2008. Vitamin E. The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health. California: Elsevier Academic Press.

Conner, E.M. and Grisham, M.B. 1996. Inflammation, free radicals, and antioxidants. Nutrition 12: 274-277.

Danesh, J., Wheeler, J.G., Hirschfield, G.M., Eiriksdottir, G., Rumley, A., Lowe, G.D.O., et al. 2004. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. The New England Journal of Medicine 305 (14): 1387-1397.

Das, N., Chowdhury, T.D., Chattopadhyay, A., and Datta, A.G. 2004. Attenuation of oxidative stress-induced changes in thalassemic erythrocytes by vitamin E. Polish Journal of Pharmacology 56: 85-96.

DellaPenna, D. 2005. Progress in the dissection and manipulation of vitamin E synthesis. Trends in Plant Science 10 (12): 574-579.

Devaraj, S., and Jialal, I. 1996. The effects of alpha tocopherol supplementation on monocyte function. The Journal of Clinical Investigation 98(3): 756-763.

Devaraj, S., and Jialal, I. 2000. Alpha tocopherol supplementation decreases serum C-reactive protein and monocyte interleukin-6 levels in normal volunteers and type 2 diabetic patients. Free Radical Biology and Medicine 29(8): 790-792.

Devaraj, S., and Jialal, I. 2005. α-tocopherol decreases tumor necrosis factor-α mRNA and protein from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase. Free Radical Biology and Medicine 38: 1212-1220.

Devaraj, S., Leonard, S., Traber, M.G., and Jialal, I. 2008. Gamma-tocopherol supplementation alone and in combination with alpha-tocopherol alters

biomarkers of oxidative stress and inflammation in subjects with metabolic syndrome. Free Radical Biology and Medicine 44: 1203-1208.

Devaraj, S., Tang, R., Huet, B.A., Harris, A., Seenivasan, T., Lemoa, T., et al. 2007. Effect of high-dose α-tocopherol supplementation on biomarkers of oxidative stress and inflammation and carotid atherosclerosis in patients with coronary artery disease. The American Journal of Clinical Nutrition 86: 1392-1398.

Dhamcharee, V., Romyanan, O., and Ninlagarn, T. 2001. Genetic counseling for thalassemia in Thailand problems and solutions. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 32(2): 413-418.

Dissayabutra, T., Tosukhowwong, P., and Seksan, P. 2005. The benefits of vitamin C and vitamin E in children with β-thalassemia with high oxidative stress. Journal of the Medical Association of Thailand 88 (Suppl.4): S317-S321.

Ferguson, L.R. 2010. Chronic inflammation and mutagenesis. Mutation Research 690: 3-11.

Ferrucci, L., Corsi, A., Lauretani, F., Bandinelli, S., Bartali, B., Taub, D.D., et al. 2005. The origins of age-related proinflammatory state. Blood 105: 2294-2299.

Forsey, R.J., Thompson, J.M., Ernerudh, J., Hurst, T.L., Strindhall, J., Johansson, B., et al. 2003. Plasma cytokine profiles in elderly humans. Mechanisms of Ageing and Development 124: 487-493.

Freeman, J.E., Farhat, J.H., Loscalzo, J., and Keaney J.F. Jr. 1996. Alpha-tocopherol inhibits aggregation of human platelets by a protein kinase C-dependent mechanism. Circulation 94: 2434-2440.

Fuchs, G.J., Tienboon, P., Linpisarn, S., Nimsakul, S., Tovanabutra, S., Tubtong, V., et al. 1996. Nutritional Factors and thalassemia major. Archives of Disease in Childhood 74: 224-227.

Fung, E.B. 2010. Nutrition deficiencies in patients with thalassemia. Annals of the New York Academy of Sciences 1202: 188-196.

Gabay, C., and Kushner, I. 1999. Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation. The New England Journal of Medicine 304: 448-454.

Galanello, R., and Origa, R. 2010. Beta-thalassemia. Orphanet Journal of Rare Diseases 5: 1-15.

Ghone, R.A., Kumbar, K.M., Suryakar, A.N., Katkam, R.V., and Joshi, N.G. 2008. Oxidative stress and disturbance in antioxidant balance in beta thalassemia major. Indian Journal of Clinical Biochemistry 23(4): 337-340.

Grimble, R.F. 1998. Nutritional modulation of cytokine biology. Nutrition 14: 634-640.

Gropper, S.S., Smith, J.L., and Groff, J.L. 2005. Advanced nutrition and human metabolism. 4th ed. California: Thomson Wadworth.

Haddy, N., Sass, C., Droesch, S., Zaiou, M., Siest, G., Ponthieux, A., et al. 2003. IL-6, TNF-α and atherosclerosis risk indicators in a healthy family population: the STANISLAS cohort. Atherosclerosis 170: 277-283.

Hathcock, J.N., Azzi, A., Blumberg, J., Bray, T., Dickinson, A., Frei, B., et al. 2005. Vitamin E and C are safe across a broad range of intakes. The American Journal of Clinical Nutrition 81(4): 736-745.

Järvisalo, M.J., Harmoinen, A., Hakanen, M., Paakkunainen, U., Viikari, J., Hartiala, J., et al. 2002. Elevated serum C-reactive protein levels and early arterial

changes in healthy children. Journal of the American Heart Associaction 22: 1323-1328.

Kalantar-Zadeh, K., Block, G., Horwich, T., and Fonarow, G.C. 2004. Reverse epidemiology of conventional cardiovascular risk factors in patients with chronic heart failure. Journal of the American College of Cardiology 43(8): 1439-1444.

Kallmann, B.A., Hummel, V., Lindenlaub, T., Ruprecht, K., Toyka, K.V., and Rieckman, P. 2000. Cytokine-induced modulation of cellular adhesion to human cerebral endothelial cells is mediated by soluble vascular cell adhesion molecule-1. Brain 123: 687-697.

Kanavaki, I., Makrythanasis, P., Lazaropoulou, C., Tsironi, M., Kattamis, A., Rombos, I., et al. 2009. Soluble endothelial adhesion molecules and inflammation markers in patients with β-thalassemia intermedia. Bloods Cells, Molecules, and Diseases 43: 230-234.

Kassab-Chekir, A., Laradi, S., Ferchichi, S., Khelil, A.H., Feki, M., Amri, F., et al. 2003. Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia. Clinica Chimica Acta 338: 79-86.

Koening, W., Sund, M., and Frohlich, M. 1999. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men. Circulation 99: 237-242.

Kyriakou, D.S., Alexandrakis, M.G., Kyriakou, E.S., Liapi, D., Kourelis, T.V., Passam, F., et al. 2001. Activated peripheral blood and endothelial cells in thalassemia patients. Annals of Hematology 80: 577-583.

Leichtle, A., Teupser, D., and Thiery, J. 2006. Alpha-tocopherol distribution in lipoproteins and anti-inflammatory effects differ between CHD-patients and healthy subjects. Journal of the American College of Nutrition 25(5): 420-428.

Li, N., and Karin, M. 1999. Is NF-κB the sensor of oxidative stress?. The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology 13: 1137-1143.

Liverea, M.A., Tesoriere, L., Maggio, A., D'Arpa, D., Pintaudi, A.M., and Pedone, E. 1998. Oxidative modification of low-density lipoprotein and atherogenetic risk in β-thalassemia. Blood 92: 3936-3942.

Lombardi, G., Matera, R., Minervini, M.M., Cascavilla, N., Arcangelo P., Carotenuto, M., et al. 1994. Serum levels of cytokines and soluble antigens in polytransfused patients with β-thalassemia major: Relationship to immune status. Haematologica 79: 406-412.

Mahachoklertwattana, P., Chuansumrit, A., Sirisriro, R., Choubtum, L., Sriphrapradang, A., and Rajatanavin, R. 2003. Bone mineral density, biochemical and hormonal profiles in suboptimally treated children and adolescents with β-thalassaemia disease. Clinical Endocrinology 58(3): 273-279.

Mahjoub, S., Tamaddoni, A., Nikoo, M.Z., and Moghadamnia, A.A. 2007. The effects of beta-carotene and vitamin E on erythrocytes lipid peroxidation in beta-thalassemia patients. Journal of Research in Medical Sciences 12(6): 301-307.

Mann, J., and Truswell, A.S. 2002. Essentials of human nutritions. 2nd ed. New York: Oxford University Press.

Mantovani, A., Dinarello, C.A., and Ghezzi, P. 2000. Pharmacology of Cytokines. New York: Oxford University Press.

Merchant, R.H., Shirodkar, A., and Ahmed, J. 2011. Evaluation of growth, puberty and endocrine dysfunctions in relation to iron overload in multi transfused Indian thalassemia patients. Indian Journal of Pediatric 78 (6): 679-683.

Ngarmpattarangkoon, D. 2010. Effects of vitamin E supplementation on oxidative stress in red blood cell of patients with thalassemia intermedia at Siriraj hospital. Thesis for master of science in pharmacy, Program in food chemistry and medical nutrition, Faculty of Pharmaceutical sciences, Chulalongkorn University.

Ngarmpattarangkoon, D., Meksawan, K., Chanvorachote, P., and Pongtanakul, B. 2010. Effects of α-tocopherol on reactive oxygen species in erythrocyte of thalassemia intermedia patients. Proceedings of NRCT-JSPS Core University Program on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences (The 9th Joint Seminar) Bangkok: 148-149.

Nowak, T.J., and Handford, A.G. 2003. Pathophysiology concepts and applications for health care professionals. 3rd ed. New York: McGrawHill.

Pasceri, V., Willerson, J.T., and Yeh, T.H. 2000. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. Circulation 102: 2165-2168.

Pearson, T.A., Mensah, G.A., Alexander, R.W., Anderson, J.L., Cannon, R.O., Criqui, M., et al. 2003. Markers of inflammation and cardiovascular disease. Circulation 107: 499-511.

Pfeifer, W.P., Degasperi, G.R., Almeida, M.T., Vercesi, A.E., Costa, F.F., and Saad, S.T.O. 2008. Vitamin E supplementation reduces oxidative stress in beta thalassemia intermedia. Acta Haematologica 120: 225-231.

Porth, C.M., and Sommer C. 2009. Inflammation, tissue repair, and wound healing. In C. Porth, and G. Matfin (eds.), Pathophysiology concepts of altered health states, pp. 377-389. New York: Lippincott Williams & Wilkins.

Rashidi, M., Aboomardni, M., Rafraf, M., Arefhosseini, S., Keshtkar, A., and Joshaghani, H. 2011. Effects of vitamin E and Zinc supplementation on antioxidants in beta thalassemia major patients. Iranian Journal of Pediatrics 21(1): 8-14.

Rimbach, G., Moehring, J., Huebbe, P., and Lodge, J.K. 2010. Gene-regulatory activity of α-tocopherol. Molecules 15: 1746-1761.

Rund, D., and Rachmilewitz, E. 2000. New trends in the treatment of β-thalassemia. Critical Reviews in Oncology/Hematology 33: 105-118.

Singh, U., and Jialal, I. 2004. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. Annals of the New York Academy of Sciences 1031: 195-203.

Shalitin, S., Carmi, D., Weintrob, N., Philip, M., Kornreich, L., Zilber, R., et al. 2005. Serum ferritin level as a predictor of impaired growth and puberty in thalassemia major patients. European Journal of Haematology 74 (2): 93-100.

Sigal, L.H., and Ron, Y. 1994. The acute phase response to inflammation. Immunology and Inflammation Basic Mechanism and Clinical Consequences. New York: McGraw-Hill.

Şimşek, F., Öztürk, G., Kemahli, S., Erbaş, D., and Hasanoğlu, A. 2005. Oxidant and antioxidant status in beta thalassemia major patients. Journal of Ankara University Faculty of Medicine 58: 34-38.

Smith, B.J., Lener, M.R., Bu, S.Y., Lucas, E.A., Hanas, J.S., Lightfoot, S.A., et al. 2006. Systemic bone loss and induction of coronary vessel disease in a rat model of chronic inflammation. Bone 38(3): 378-386.

Smith, B.J., Lightfoot, S.A., Lener, M.R., Denson, K.D., Morgan, D.L., Hanas, J.S., et al. 2009. Induction of cardiovascular pathology in a novel model of low-grade chronic inflammation. Cardiovascular Pathology 18: 1-10.

Soliman, A.T., Banna, N.E., Fattah, M.A., EIZalabani, M.M., and Ansari B.M. 1998. Bone mineral density in prepubertal children with β-Thalassemia: Correlation with growth and hormonal data. Metabolism 47(5): 541-548.

Sutipornpalangkul, W., Morales, N.P., Unchern, S., Sanvarinda, Y., Chantharaksri, U., and Fucharoen, S. 2012. Vitamin E supplement improves erythrocyte membrane fluidity of thalassemia: an ESR spin labeling study. Journal of The Medical Association of Thailand 95(1): 29-36.

Suzuki, Y.J., and Packer, L. 1993. Inhibition of NF-κB activation by vitamin E Derivatives. Biochemical and Biophysical Research Communications 193(1): 277-283.

Taher, A.T., Isma'eel, H., and Cappellini, M.D. 2006. Thalassemia intermedia: revisited. Blood Cells, Molecules, and Diseases 37: 12-20.

Taher, A.T., Musallam, K.M., El-Beshlawy, A., Karimi, M., Daar, S., Belhoul, K., et al. 2010. Age-related complications in treatment-naive patients with thalassemia intermedia. British Journal of Haematology 150: 480-497.

Taher, A.T., Otrock, Z.K., Uthman, I., and Cappellini, M.D. 2008. Thalassemia and hypercoagulability. Blood Reviews 22: 283-292.

Tesoriere, L., D'Arpa, D., Maggio, A., Giaccone, V., Pedone, E., and Livrea, M.A. 1998. Oxidation resistance of LDL is correlated with vitamin E status in β-thalassemia intermedia. Atherosclerosis 137: 429-435.

Tesoriere, L., D'Arpa, D., Butera, D., Allergra, M., Renda, D., Maggio, A., et al. 2001. Oral supplements of vitamin E improve measures of oxidative stress in plasma and reduce oxidative damage to LDL and erythrocytes in β-thalassemia intermedia patients. Free Radical Research 34(5): 529-540.

Thongkijpreecha, P., Kangsadalampai, O., Pongtanakul, B., and Meksawan, K. 2011. Nutritional status in patients with thalassemia intermedia. Journal of Hematology and Transfusion Medicine 21(3): 167-176.

Traber, M.G., and Atkinson, J. 2007. Vitamin E, antioxidant, and nothing more. Free Radical Biology & Medicine 43: 4-15.

Walter, P.B., Fung, E.B., Killilea, D.W., Jiang, Q., Hudes, M., Madden, J., et al. 2006. Oxidative stress and inflammation in iron-overloaded patients with β-thalassemia or sickle cell disease. British Journal of Haematology 135(2): 254-263.

Wang, F., Wang, T., Lai, J., Li., M., and Zou, C. 2006. Vitamin E inhibits hemolysis induced by hemin as membrane stabilizer. Biochemical Pharmacology 71: 799-805.

Weatherall, D.J. 2001. The thalassemias. In E. Beutler, M. Lichtman, B. Coller, T. Kipps, and U. Seligsohn (eds.), Williams Hematology, pp. 547-573. New York: McGraw-Hill.

Wu, J.H.Y., Ward, N.C., Indrawan, A.P., Almeida, C., Hodgson, J.M., Proudfoot, J.M., et al. 2007. Effects of α-tocopherol and mixed tocopherol supplementation on markers of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes. Endocrinology and Metabolism 53(3): 511-519.

Yu, H., and Rifai, N. 2000. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerosis: From theory to therapy. Clinical Biochemistry 33(8): 601-610.

Yudkin, J.S., Stehouwer, D.A., Emeis, J.J., and Coppack, S.W. 1999. C-reactive protein in healthy subjects: Associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 19: 972-978.

Zhang, M., and Tracey, K. 1998. Tumor necrosis factor. In A. Thomson, (ed.), The Cytokine Handbook, pp.197-216. London: Academic Press.

Zingg, J.M., and Azzi, A. 2004. Non-antioxidant activities of vitamin E. Current Medicinal Chemistry 11: 1113-1133.

Zwaka, T., Hombach, V., and Torzewski, J. 2001. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophage: Implications for atherosclerosis. Circulation 103: 1194-1197.

Appendices

Appendix A

Certificate of Approval from Siriraj Institutional Review Board,
Faculty of Medicine, Siriraj Hospital

2 PRANNOK Rd. BANGKOKNOI
BANGKOK 10700

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

MAHIDOL UNIVERSITY
Since 1888

Siriraj Institutional Review Board

Certificate of Approval

COA no. Si 250/2011

Protocol Title : Effects of Vitamin E Supplementation on Inflammatory Markers in Patients with Thalassemia Intermedia at Siriraj Hospital

Protocol number : 201/2554(EC3)

Principal Investigator/Affiliation : Miss Watcharee Prapawatwech
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University

Research site : Faculty of Medicine Siriraj Hospital

Approval includes :

1. SIRB Submission Form Amendment 1 dated May 2, 2011
2. Proposal
3. Maternal Handbook
4. Participation Information Sheet
5. Informed Consent Form
6. Participation Information Sheet and Informed Consent Form for child
7. Case Record Form
8. Questionnaire
9. Principle Investigator's curriculum vitae

Approval date : May 4, 2011

Expired date : May 3, 2012

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

Jarupim Soong

(Prof. Jarupim Soongswang, M.D.)
Chairperson

May 6, 2011
date

T. Kulthanan

(Clin. Prof. Teerawat Kulthanan, M.D.)
Dean of Faculty of Medicine Siriraj Hospital

12 MAY 2011
date

หน่วยพิมพ์โรงพยาบาลศิริราช 2341 / 3,000 แผ่น / ก.ย 51 / Mat. 10023252

Appendix B

- Information Sheet for Participants
  - Parents
  - Children
- Informed Consent Form
  - Parents
  - Children

เอกสารหมายเลข 3ก

เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย
(Participant Information Sheet)

ในเอกสารนี้อาจมีข้อความที่ท่านอ่านแล้วยังไม่เข้าใจ โปรดสอบถามหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้แทนให้ช่วยอธิบายจนกว่าจะเข้าใจดี ท่านอาจจะขอเอกสารนี้กลับไปอ่านที่บ้านเพื่อปรึกษาหารือกับญาติพี่น้อง เพื่อนสนิท แพทย์ประจำตัวของท่าน หรือแพทย์ท่านอื่น เพื่อช่วยในการตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย ผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย เภสัชกรหญิงวัชรี ประภาวัฒน์เวช นิสิตระดับปริญญาโท ชั้นปีที่ 2 สาขาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แพทย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ผศ.นพ.บุญชู พงศ์ธนากุล แพทย์ประจำสาขาวิชาโรคโลหิตวิทยาและออนโคโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โทร. (02) 419-5972

สถานที่วิจัย คลินิกโรคเลือด หน่วยตรวจโรคเด็ก (ตึกเจ้าฟ้ามหาจักรี) โรงพยาบาลศิริราช

สถานที่ติดต่อและหมายเลขโทรศัพท์ของหัวหน้าโครงการวิจัยที่ติดต่อทั้งในและนอกเวลาราชการ ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หรือ โทร. 08-9140-9950

ผู้สนับสนุนทุนวิจัย ทุนวิจัยทางเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระยะเวลาการวิจัย 1 เมษายน 2554 ถึง 1 ธันวาคม 2554

โครงการวิจัยนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษา

1. ผลของการเสริมวิตามินอีต่อภาวะการอักเสบ และภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง โดยวิเคราะห์หาระดับตัวชี้วัดการอักเสบ ได้แก่ ซี-รีแอกทีฟโปรตีน (CRP) และ ทูเมอร์ เนโครซีส แฟคเตอร์ อัลฟา (TNF-α) ในเลือด ซึ่งเป็นสารประเภทโปรตีนที่ร่างการสร้างขึ้นเมื่อเกิดการอักเสบ และศึกษาการสร้างอนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไวในเม็ดเลือดแดง การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และ การแตกตัวของเม็ดเลือดแดง เพื่อแสดงถึงภาวะเครียดออกซิเดชัน
2. ภาวะโภชนาการในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง
3. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับตัวชี้วัดการอักเสบกับระดับวิตามินอี ในเลือด และกับภาวะโภชนาการของผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง
4. ผลข้างเคียงของการเสริมวิตามินอีในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันที่โครงการ 301/3554 (EC3)
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2555

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้ข้อมูลผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ซึ่งเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้วางแผนการรักษาหรือนำไปประยุกต์ใช้ในการลดความรุนแรงของภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้

เด็กในปกครองของท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมการวิจัยนี้เพราะ

1. ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง
2. มีระดับฮีโมโกลบิน 7-9 กรัมต่อเดซิลิตร
3. เป็นเพศชายหรือเพศหญิง อายุระหว่าง 5-19 ปี ที่สามารถรับประทานยาเม็ดได้
4. ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความสมัครใจ ได้รับความยินยอมจากผู้ปกครอง และลงนามเป็นลายลักษณ์อักษรในหนังสือยินยอม
5. ไม่ได้รับยาขับเหล็กก่อนเริ่มการศึกษาอย่างน้อย 3 เดือน
6. ไม่ได้รับเลือดแบบมากพอที่จะระงับการรักษาเม็ดเลือดแดงก่อนเริ่มการศึกษา 3 เดือน
7. ไม่ได้รับประทานวิตามินอีก่อนเข้าร่วมการศึกษาอย่างน้อย 3 เดือน
8. ไม่มีภาวะติดเชื้อทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง หรือได้รับการผ่าตัดในช่วง 1 เดือนก่อนเข้าร่วมวิจัย
9. ไม่มีการอักเสบเฉียบพลัน หรือรับประทานยาในกลุ่มต้านการอักเสบ หรือยากดภูมิคุ้มกันในช่วง 1 เดือนก่อนเข้าร่วมวิจัย
10. ไม่มีประวัติภาวะหัวใจล้มเหลว
11. ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ เช่น วิตามินซี และขมิ้นชัน เป็นต้น
12. ผู้ป่วยไม่มีประวัติแพ้วิตามินอี
13. ไม่ได้รับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ เช่น น้ำมันปลา เบต้าแคโรทีน และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

จะมีผู้เข้าร่วมการวิจัยทั้งสิ้นประมาณ 84 คน เมื่อเด็กในปกครองของท่านผ่านการคัดเลือกตามเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างที่กำหนดไว้ เด็กในปกครองของท่านจะถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม คือไม่ได้วิตามินอีเสริม และกลุ่มทดลอง คือได้รับวิตามินอีเสริมเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

หากเด็กในปกครองของท่านตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัยแล้ว จะมีขั้นตอนการวิจัยดังต่อไปนี้คือ

1. ได้รับการชี้แจงข้อมูลเกี่ยวกับการวิจัย ได้รับความยินยอมจากผู้ปกครอง และลงนามเป็นลายลักษณ์อักษรในหนังสือยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย
2. ได้รับการชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง และประเมินภาวะโภชนาการโดยรวม

รับรองโดย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันที่รับรอง - 4 มิ.ย. 2554

3. ได้รับการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำประมาณ 2 ช้อนชา โดยห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลศิริราช เพื่อตรวจนับเม็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ ระดับวิตามินอีในซีรัม ระดับซี-รีแอกทีฟโปรตีน และ ระดับทูเมอร์ เนโครซีส แฟคเตอร์ อัลฟา ในพลาสมา การสร้างอนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไวในเม็ดเลือดแดง การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง ตลอดการวิจัยเด็กในปกครองของท่านจะได้รับการเจาะเลือดทั้งหมด 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 12 สัปดาห์
4. ได้รับคำแนะนำในการบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน
5. ได้รับคำแนะนำเกี่ยวกับโภชนบำบัด พร้อมทั้งได้รับคู่มือดูแลตัวเองสำหรับผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย
6. ได้รับการสัมภาษณ์เพื่อบันทึกในแบบสอบถามต่างๆ ที่ใช้ในการวิจัย
7. ในขณะที่เข้าร่วมการวิจัยเด็กในปกครองของท่านจะได้รับการรักษาตามปกติ โดยในกลุ่มทดลองจะได้รับวิตามินอี 10 ยูนิตสากล/กิโลกรัม/วัน รับประทานยาทุกวันเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ส่วนในกลุ่มควบคุมจะได้รับการรักษาตามปกติโดยไม่ได้รับวิตามินอี รวมระยะเวลาที่เด็กในปกครองของท่านต้องร่วมอยู่ในโครงการวิจัยทั้งสิ้น 12 สัปดาห์ นัดหมาย 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 12 สัปดาห์

ความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้นเมื่อเข้าร่วมการวิจัย

ไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายใดๆ จากการเข้าร่วมโครงการวิจัยครั้งนี้ หรือหากเกิดอาการผิดปกติขึ้นกับเด็กในปกครองของท่านดังที่มีรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้นจากการรับประทานวิตามินอี เช่น เมื่อยล้า อ่อนเพลีย มองเห็นภาพไม่ชัดเจน ปวดหัว ท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน เป็นต้น ซึ่งพบได้น้อยกว่าร้อยละ 1 เด็กในปกครองของท่านจะได้รับการดูแลเบื้องต้นจากผู้วิจัย โดยผู้วิจัยจะเป็นผู้ให้ความช่วยเหลือในการติดต่อประสานงานเพื่อให้เด็กในปกครองของท่านได้เข้ารับการตรวจรักษาจากแพทย์เจ้าของไข้ สำหรับค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายทั้งหมด

กรณีที่เด็กในปกครองของท่านเข้าร่วมการวิจัย จะได้รับการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าทางโลหิตวิทยาเพิ่มขึ้นปริมาณ 10 ซีซี โดยพยาบาลผู้ชำนาญการ ซึ่งจะไม่เป็นอันตรายต่อเด็กในปกครองของท่าน และท่านไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเจาะเลือดเพิ่มเติม โดยผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์หาค่าทางโลหิตวิทยาที่นอกเหนือจากที่แพทย์ผู้รักษาสั่งตรวจตามปกติ และจะได้รับวิตามินอีโดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆ ส่วนค่าใช้จ่ายในการรักษาอื่นๆ เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ ค่ายาและเวชภัณฑ์ ผู้ป่วยหรือผู้ปกครองจะยังคงเป็นผู้รับผิดชอบตามสิทธิ์การรักษาที่มี

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันที่โครงการ 201/2554 (EC3)
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2555

หากเด็กในปกครองของท่านไม่เข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้ เด็กในปกครองของท่านก็จะได้รับการตรวจเพื่อการวินิจฉัยและรักษาโรคของเด็กในปกครองของท่านตามวิธีการที่เป็นมาตราฐานคือ เจาะเลือดเพื่อตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา และพบแพทย์เพื่อรับการรักษาตามปกติ

หากมีข้อข้องใจที่จะสอบถามเกี่ยวข้องกับการวิจัย หรือหากเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการวิจัย ท่านสามารถติดต่อ เภสัชกรหญิงวัชรี ประภาวัฒน์เวช โทรศัพท์ที่ติดต่อได้สะดวกคือ 08-9140-9950

หากมีข้อมูลเพิ่มเติมทั้งด้านประโยชน์และโทษที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะแจ้งให้ทราบโดยรวดเร็วและไม่ปิดบัง

ข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัย จะถูกเก็บรักษาไว้โดยไม่เปิดเผยต่อสาธารณเป็นรายบุคคล แต่จะรายงานผลการวิจัยเป็นข้อมูลส่วนรวมโดยไม่สามารถระบุข้อมูลเป็นรายบุคคลได้ ข้อมูลของผู้เข้าร่วมการวิจัยเป็นรายบุคคลอาจมีคณะบุคคลบางกลุ่มเข้ามาตรวจสอบได้ เช่น ผู้ให้ทุนวิจัย สถาบัน หรือ องค์กรของรัฐที่มีหน้าที่ตรวจสอบ รวมถึงคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน เป็นต้น

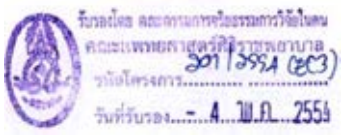
ผู้เข้าร่วมการวิจัยมีสิทธิ์ถอนตัวออกจากโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่ต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า และการไม่ร่วมการวิจัยหรือถอนตัวออกจากโครงการวิจัยนี้ จะไม่มีผลกระทบต่อการบริการและการรักษาที่สมควรจะได้รับตามมาตรฐานแต่ประการใด

หากเด็กในปกครองของท่านได้รับการปฏิบัติที่ไม่ตรงตามที่ได้ระบุไว้ในเอกสารชี้แจงนี้ ท่านสามารถแจ้งให้ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนทราบได้ที่ สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน ตึกอดุลย์เดชวิกรม ชั้น 6 ร.พ.ศิริราช โทร. (02) 419-6406-6 โทรสาร (02) 419-6405

ข้าพเจ้าได้อ่านรายละเอียดในเอกสารนี้ครบถ้วนแล้ว

ลงชื่อ.....ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย / วันที่.....

(.....)



เอกสารหมายเลข 3ข

หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย

(Informed Consent Form)

วันที่..... เดือน..... พ.ศ.....

ข้าพเจ้า..... อายุ.....ปี อาศัยอยู่บ้านเลขที่.....ถนน..... แขวง/ตำบล..... เขต/อำเภอ.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์..... โทรศัพท์ .....

ขอแสดงเจตนายินยอมให้เด็กในปกครองของข้าพเจ้า ชื่อ..... เข้าร่วมโครงการวิจัยเรื่อง ผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

โดยข้าพเจ้าและเด็กในปกครองของข้าพเจ้าได้รับทราบรายละเอียดเกี่ยวกับที่มาและจุดมุ่งหมายในการทำวิจัย รายละเอียดขั้นตอนต่างๆ ที่จะต้องปฏิบัติหรือได้รับการปฏิบัติ ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับของการวิจัย และความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมการวิจัย รวมทั้งแนวทางป้องกันและแก้ไขหากเกิดอันตรายขึ้น ค่าใช้จ่ายที่เด็กในปกครองของข้าพเจ้าจะต้องรับผิดชอบจ่ายเอง โดยได้อ่านข้อความที่มีรายละเอียดอยู่ในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัยโดยตลอด อีกทั้งยังได้รับคำอธิบายและตอบข้อสงสัยจากหัวหน้าโครงการวิจัยเป็นที่เรียบร้อยแล้ว

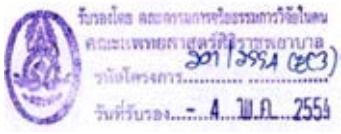
เด็กในปกครองของข้าพเจ้าจึงสมัครใจเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้

หากข้าพเจ้าและเด็กในปกครองของข้าพเจ้า มีข้อข้องใจเกี่ยวกับขั้นตอนของการวิจัย หรือหากเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการวิจัยขึ้นกับเด็กในปกครองของข้าพเจ้า ข้าพเจ้าจะสามารถติดต่อกับ

หัวหน้าโครงการวิจัย เภสัชกรหญิงวัชรี ประภาวัฒน์เวช นิสิตระดับปริญญาโท ชั้นปีที่ 2 สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อยู่ 259/57 ซ.เพชรเกษม 25/2 ถนนเพชรเกษม เขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ 10160 โทรศัพท์ติดต่อ 08-9140-9950

แพทย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัย ผศ.นพ.บุญชู พงศ์ธนากุล แพทย์ประจำสาขาโลหิตวิทยาและออนโคโลยี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โทร. (02) 419-5972

หากเด็กในปกครองของข้าพเจ้า ได้รับการปฏิบัติไม่ตรงตามที่ระบุไว้ในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย ข้าพเจ้าสามารถติดต่อกับประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนได้ที่ สำนักงาน



คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน ตึกอดุลยเดชวิกรม ชั้น 6 ร.พ.ศิริราช โทร. (02) 419-6405-6 โทรสาร (02) 419-6405

ข้าพเจ้าได้ทราบถึงสิทธิ์ที่เด็กในปกครองของข้าพเจ้า จะได้รับข้อมูลเพิ่มเติมทั้งทางด้านประโยชน์และโทษจากการเข้าร่วมการวิจัย และสามารถถอนตัวหรืองดเข้าร่วมการวิจัยได้ทุกเมื่อโดยไม่ต้องแจ้งล่วงหน้าหรือระบุเหตุผล โดยจะไม่มีผลกระทบต่อการบริการและการรักษาพยาบาลที่เด็กในปกครองของข้าพเจ้าจะได้รับต่อไปในอนาคต และยินยอมให้ผู้วิจัยใช้ข้อมูลส่วนตัวของเด็กในปกครองของข้าพเจ้าที่ได้รับจากการวิจัย แต่จะไม่เผยแพร่ต่อสาธารณะเป็นรายบุคคล โดยจะนำเสนอเป็นข้อมูลโดยรวมจากการวิจัยเท่านั้น

ข้าพเจ้าได้เข้าใจข้อความในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย และหนังสือแสดงเจตนายินยอมนี้โดยตลอดแล้ว จึงลงลายมือชื่อไว้

ลงชื่อ.....ผู้ปกครอง/ผู้แทนโดยชอบธรรม/วันที่.....

(.....)

ลงชื่อ.....ผู้ให้ข้อมูลและขอความยินยอม/หัวหน้าโครงการวิจัย/วันที่.....

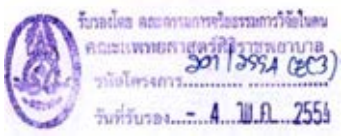
(.....)

ในกรณีผู้เข้าร่วมการวิจัยอ่านหนังสือไม่ออก ผู้ที่อ่านข้อความทั้งหมดแทนผู้เข้าร่วมการวิจัยคือ .....

จึงได้ลงลายมือชื่อไว้เป็นพยาน

ลงชื่อ..... พยาน/วันที่.....

(.....)



เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย
และหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย
(สำหรับเด็ก)

ชื่อโครงการ ผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช

การศึกษาวิจัย คือ โครงการที่วางแผนอย่างละเอียด เพื่อตอบคำถามเกี่ยวกับสุขภาพเพื่อช่วยเหลือผู้อื่นต่อไป

การอักเสบ คือ เป็นกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อสิ่งกระตุ้นต่างๆ ตัวอย่างเช่น สารเคมี เชื้อโรค ที่เข้าสู่ร่างกาย หรือการได้รับบาดเจ็บ เพื่อที่จะกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกายและซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหาย

ตัวชี้วัดการอักเสบ คือ สารประเภทโปรตีนที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อเป็นการตอบสนองต่อการอักเสบที่เกิดขึ้น

หนูได้รับเชิญเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ เนื่องจากพบภาวะเหล่านี้ได้ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง และในเด็กที่มีอายุตั้งแต่ 5 ปีขึ้นไปที่ป่วยเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ที่ไม่ได้รับเลือดแบบมากพอที่จะระงับการสร้างเม็ดเลือดแดงยังไม่เคยมีการศึกษา ซึ่งหนูอยู่ในช่วงอายุนี้พอดี

สิ่งที่ผู้วิจัยจะทำกับหนูคือ ให้คำแนะนำในการบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน วัดสัดส่วนร่างกาย ให้โภชนบำบัดสำหรับผู้ป่วยธาลัสซีเมีย และเจาะเลือดเพื่อตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา โดยใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง

<u>ประโยชน์ที่หนูจะได้รับจากโครงการนี้คือ</u>

1. หนูจะได้รู้ว่าตัวหนูขาดวิตามินอีหรือไม่
2. หนูจะได้รับคำแนะนำเกี่ยวกับอาหารที่เหมาะสมสำหรับหนู
3. โครงการนี้จะเป็นประโยชน์กับหนูและเด็กคนอื่นๆ ที่มีภาวะการอักเสบเกิดขึ้นในร่างกาย โดยการที่ช่วยให้ทราบถึงบทบาทของวิตามินอีในการลดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย เพื่อที่จะนำวิตามินอีมาช่วยลดการอักเสบได้ต่อไป

โปรดอ่านข้อมูลนี้อย่างละเอียดหรือขอให้ผู้อื่นอ่านข้อมูลนี้ให้หนูฟัง และขอให้หนูใช้เวลาทบทวนข้อมูลเหล่านี้กับคุณพ่อคุณแม่ ถ้ามีข้อสงสัยเกี่ยวกับโครงการนี้ หนูสามารถโทรศัพท์ติดต่อ เภสัชกรหญิงวัชรี ประภาวัฒน์เวช ได้ที่เบอร์ 089-1409950

หนูไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการถ้าหนูไม่ต้องการ จะไม่มีใครบังคับหนู-ขึ้นอยู่กับหนูโดยสิ้นเชิง หนูจะมีเวลาอย่างเหลือเฟือในการถามคำถาม การที่หนูสามารถเข้าใจคำตอบได้เป็นสิ่งสำคัญ ถ้าหนูตกลงเข้าร่วมโครงการ เราจะขอให้หนูลงลายมือชื่อใน**หนังสือแสดงความสมัครใจ** ฉบับนี้ จะมีการขอให้บิดามารดา ผู้ปกครอง หรือผู้แทนตามกฎหมายของหนูลงลายมือชื่อในแบบฟอร์มเพื่อให้อนุญาตด้วย เฉพาะกรณีที่หนูสบายใจเกี่ยวกับโครงการวิจัยนี้เท่านั้น

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันโครงการ 30/1/2554 (ฉบับ3)
วันที่รับรอง 4 มี.ค. 2554

หนูสามารถหยุดการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ได้**ทุกเมื่อ** ก่อนหรือหลังจากที่โครงการวิจัยนี้ได้เริ่มขึ้นแล้ว หนูไม่จำเป็นต้องให้เหตุผล และถ้าหนูตอบปฏิเสธจะไม่มีใครโกรธ ผลการตรวจของหนูจะถูกเก็บเป็นความลับ และจะแจ้งผลให้หนูกับคุณพ่อคุณแม่ทราบเท่านั้น

งานวิจัยนี้มีผู้ตรวจสอบว่างานวิจัยดีพอที่จะทำได้คือ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ตรวจสอบการศึกษาวิจัยอย่างละเอียดแล้ว พวกเขาได้อ่านทุกอย่างที่เกี่ยวกับการศึกษาวิจัย และได้อนุญาติให้ดำเนินโครงการวิจัยได้ โครงการวิจัยนี้จะมีเด็กจำนวนประมาณ 58 คน เข้าร่วมโครงการวิจัย ซึ่งมีอายุตั้งแต่ 5-19 ปี

หนู ชื่อ.....อายุ.....ปี

อยู่บ้านเลขที่.....

ผู้วิจัยได้อธิบายข้อมูลและขั้นตอนต่างๆในการตรวจข้างต้นให้ฟังแล้ว และหนูทราบว่าจะยินดีเข้าร่วมการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อการดูแลรักษาพยาบาลของหนู

หนูเข้าใจโครงการนี้ และโดยความเห็นชอบของผู้ปกครองของหนู จึงได้ตกลงเข้าร่วมการวิจัยโครงการนี้

.....	.....
(.....)	(.....)
เด็กที่เข้าร่วมโครงการวิจัย	เภสัชกรหญิงวัชรี ประภาวัฒน์เวช
วันที่.....	ผู้ชี้แจงและเชิญให้เข้าร่วมโครงการวิจัย
	วันที่.....

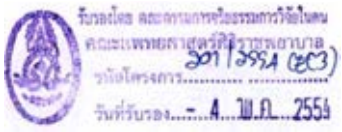
.....

(.....)

พยาน

หมายเหตุ 1. พยานจะต้องมีเฉพาะในกรณีที่มีผู้อ่านเอกสารชี้แจงนี้ให้เด็กฟังเท่านั้น

2. บิดาหรือมารดาหรือผู้ปกครองของเด็กต้องลงนามใน Consent form ต่างหาก



Appendix C

- Case Record Form
- Questionnaire

แบบบันทึกข้อมูลสำหรับการวิจัย (Case record form)

ประกอบด้วย

ส่วนที่ 1 แบบบันทึกประวัติผู้ป่วย

ส่วนที่ 2 แบบคัดกรองภาวะโภชนาการ

ส่วนที่ 3 แบบประเมินภาวะโภชนาการโดยการวัดสัดส่วนของร่างกาย

ส่วนที่ 4 แบบบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
301/2554 (EC3)
วันที่โครงการ.....
วันที่รับรอง - 4 พ.ค. 2554

(ส่วนที่ 1)

เลขที่บันทึก/แบบสอบถาม.....

วันที่บันทึก.....

โครงการวิจัยเรื่อง “ผลของการเสริมวิตามินอีต่อตัวชี้วัดการอักเสบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงปานกลาง ณ โรงพยาบาลศิริราช”

ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

รหัสประจำตัว.....

เพศ ☐ หญิง ☐ ชาย อายุ.....ปี น้ำหนัก.....กิโลกรัม ส่วนสูง.....เซนติเมตร

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
รหัสโครงการ 301/3554 (EC3)
วันที่รับรอง 4 มิ.ย. 2554

เลขที่บันทึก/แบบสอบถาม.....
วันที่บันทึก.....

แบบบันทึกประวัติผู้ป่วย

1. ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคธาลัสซีเมียเป็นระยะเวลา.....ปี
2. ประวัติแพ้ยา ☐ ไม่มี ☐ มี..... อาการ.....
3. ประวัติการแพ้อาหาร ☐ ไม่มี ☐ มี..... อาการ.....
4. ประวัติการเจ็บป่วยหรือการผ่าตัด.....
5. โรคประจำตัวอื่นๆ.....
6. อาการเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นเป็นประจำ.....
7. ประวัติการรักษาโรคธาลัสซีเมีย (เก็บข้อมูลย้อนหลัง 3 ครั้งก่อนการวิจัยและระหว่างการวิจัย)

วัน เดือน ปี	ยาและขนาดยาที่ได้รับ	หมายเหตุ
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
201/2554 (EC3)
วันที่โครงการ.....
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2554

8. ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ข้อมูล	ค่าปกติ	ช่วงก่อนการวิจัย			สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 12
วันนัดตรวจ (วัน/เดือน/ปี)						
ความดันโลหิต (mmHg)	< 130/80					
RBC (x 10^6/µl)	4.2-5.4					
Hb (g/dl)	12-18					
Hct (%)	37-52					
MCV (fl)	80-99					
MCH (pg)	27-31					
MCHC (g/dl)	31-35					
WBC (x 10^3/µl)	4-11					
Platelet (x 10^3/µl)	150-440					
% Neutophil	40-74					
% Lymphocyte	19-48					
% Monocyte	3.4-9					
% Eosinophil	0-7					
% Basophil	0-1.5					

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
วันที่รับรอง - 4 มิ.ย. 2556

(ส่วนที่ 2)

เลขที่บันทึก/แบบสอบถาม.....

วันที่บันทึก.....

แบบคัดกรองภาวะโภชนาการ

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

ข้อมูลผู้ป่วย โรค.....

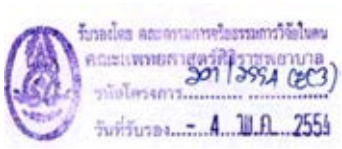
☐ หอผู้ป่วย.....☐ OPD.....

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

น้ำหนักเดิม.....กก. เมื่อ.....☐ เดือน ☐ สัปดาห์ที่ผ่านมา

ประเมินน้ำหนักโดยการ ☐ ชั่ง ☐ ซักถาม ☐ประมาณ

ผู้ประเมิน..... ☐ พยาบาล ☐ แพทย์ / วันที่ประเมิน.....



7-point Subject Global Assessment		วันที่ประเมิน		
1. ประวัติน้ำหนักตัวเปลี่ยนแปลง (2 สัปดาห์ ถึง 6 เดือนที่ผ่านมา)				
– น้ำหนักเพิ่ม คงที่ หรือลดลงเล็กน้อย (> 0.5 กก. แต่ < 1 กก.)	score 1-2			
– น้ำหนักลดปานกลาง (≥ 1 กก. แต่ < 5%)	score 3-5			
– น้ำหนักลดมาก (≥ 5%)	score 6-7			
2. การรับประทานอาหารที่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติ				
– ไม่เปลี่ยนแปลง หรือลดลงเล็กน้อยในช่วงสั้นๆ	score 1-2			
– ปริมาณการรับประทานก้ำกึ่ง และปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงหลัง	score 3-5			
– ปริมาณการรับประทานก้ำกึ่ง หรือปริมาณลดลงในช่วงหลังหรือกินเล็กน้อย	score 6-7			
3. อาการทางระบบอาหารที่ผิดปกติ				
– ไม่มีอาการ หรือมีอาการเล็กน้อย เป็นๆหายๆ	score 1-2			
– มีอาการบ้าง มากกว่า 2 สัปดาห์ หรืออาการมากแต่เริ่มดีขึ้น	score 3-5			
– มีอาการทุกวัน หรือบ่อยมานานมากกว่า 2 สัปดาห์	score 6-7			
4. ความสามารถในการประกอบกิจวัตรประจำวัน				
– ปกติ หรือลดลงเล็กน้อย แต่เริ่มดีขึ้น	score 1-2			
– กิจวัตรประจำวันลดลงเล็กน้อย หรือลดลงมากแต่เริ่มดีขึ้น	score 3-5			
– กิจวัตรประจำวันลดลงมากหรือต้องนอนบนเตียงตลอด	score 6-7			
5. Wasting of subcutaneous fat (ผอมซูบ ดูจากไขมันบริเวณแขน/ขา หน้าอก)				
– ไม่มี หรือมีเพียงเล็กน้อย	score 1-2			
– ปานกลางทั่วๆ ทุกบริเวณ	score 3-5			
– มากหรือรุนแรงในบางบริเวณ หรือส่วนใหญ่	score 6-7			
6. Wasting of muscle (กล้ามเนื้อลีบเล็กลง)				
– ไม่มี หรือมีเพียงเล็กน้อย	score 1-2			
– ปานกลางทั่วๆ ทุกบริเวณ	score 3-5			
– มากหรือรุนแรงในบางบริเวณ หรือส่วนใหญ่	score 6-7			
7. Edema (บวมบริเวณขา เท้า ก้นกบ)				
– ไม่มี หรือมีเพียงเล็กน้อย	score 1-2			
– ปานกลาง	score 3-5			
– มาก หรือรุนแรง	score 6-7			
รวมคะแนน				

<u>ผลการประเมิน</u>	1-14 คะแนน	ปกติ,	ติดตามการประเมินสัปดาห์ละครั้ง
	15-35 คะแนน	ขาดอาหารเล็กน้อยถึงปานกลาง,	ติดตามการประเมินภายใน 3 วัน
	36-49 คะแนน	ขาดอาหารรุนแรง,	ให้โภชนบำบัดทันที

Weight loss score

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

น้ำหนักก่อนที่ลดลง (กก.)	น้ำหนักที่ลดลง (กก.) น้ำหนักลดลง 5 %	น้ำหนักที่ลดลง (กก.) น้ำหนักลดลง 5-10 %	น้ำหนักที่ลดลง (กก.) น้ำหนักลดลง < 10 %
82 kg	<4.10	4.10-8.20	>8.20
84 kg	<4.20	4.20-8.40	>8.40
86 kg	<4.30	4.30-8.60	>8.60
88 kg	<4.40	4.40-8.80	>8.80
90 kg	<4.50	4.50-9.00	>9.00
92 kg	<4.60	4.60-9.20	>9.20
94 kg	<4.70	4.70-9.40	>9.40
96 kg	<4.80	4.80-9.60	>9.60
98 kg	<4.90	4.90-9.80	>9.80
100 kg	<5.00	5.00-10-00	>10.00
102 kg	<5.10	5.10-10.20	>10.20
104 kg	<5.20	5.20-10.40	>10.40
106 kg	<5.30	5.30-10.60	>10.60
108 kg	<5.40	5.40-10.80	>10.80
110 kg	<5.50	5.50-11.00	>11.00
112 kg	<5.60	5.60-11.20	>11.20
114 kg	<5.70	5.70-11.40	>11.40
116 kg	<5.80	5.80-11.60	>11.60
118 kg	<5.90	5.90-11.80	>11.80
120 kg	<6.00	6.00-12.00	>12.00
122 kg	<6.10	6.10-12.20	>12.20
124 kg	<6.20	6.20-12.40	>12.40
126 kg	<6.30	6.30-12.60	>12.60

รับรองโดย คณะกรรมการด้านจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
2011 3554 (EC3)
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2554

(ส่วนที่ 3)

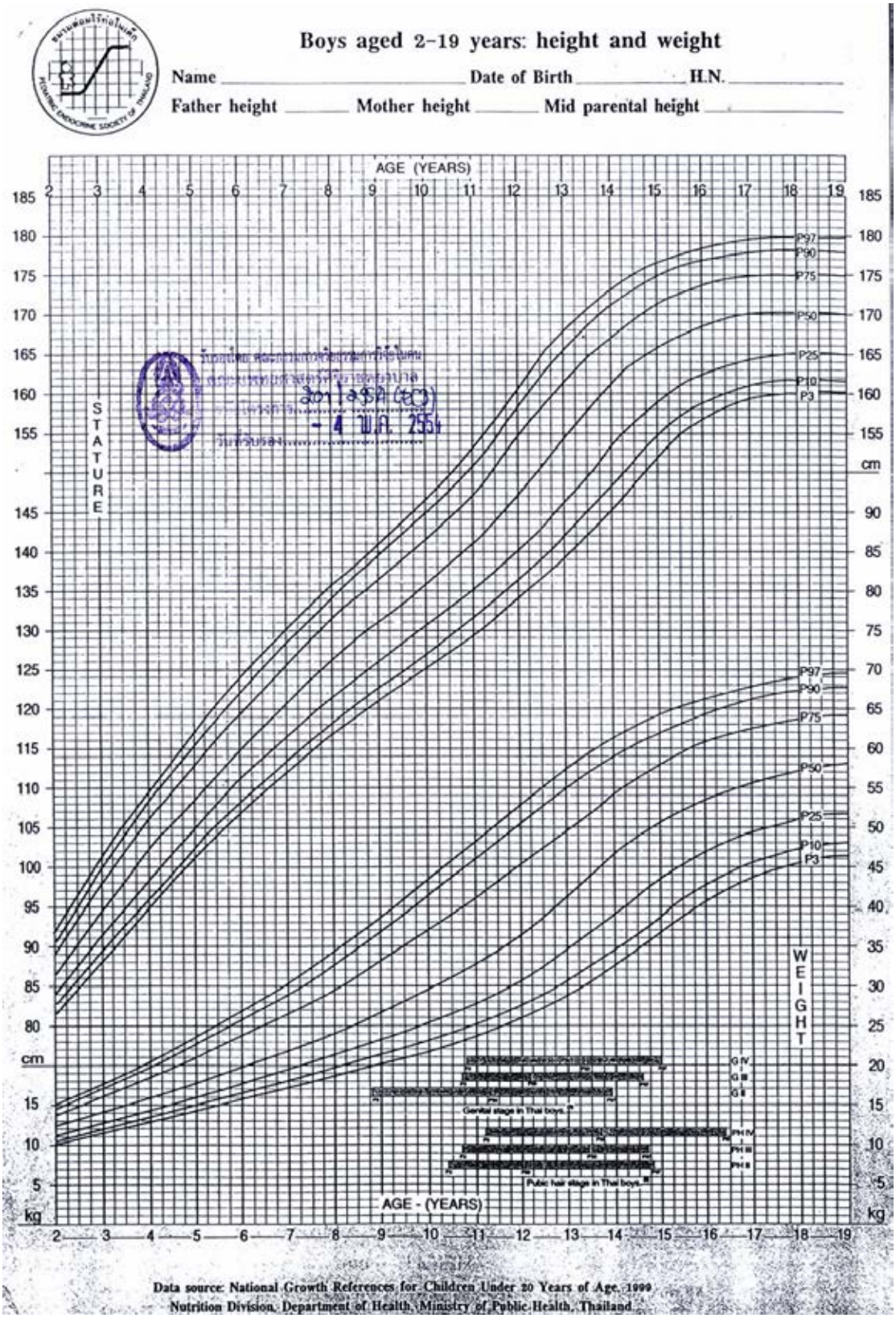
เลขที่บันทึก/แบบสอบถาม.....

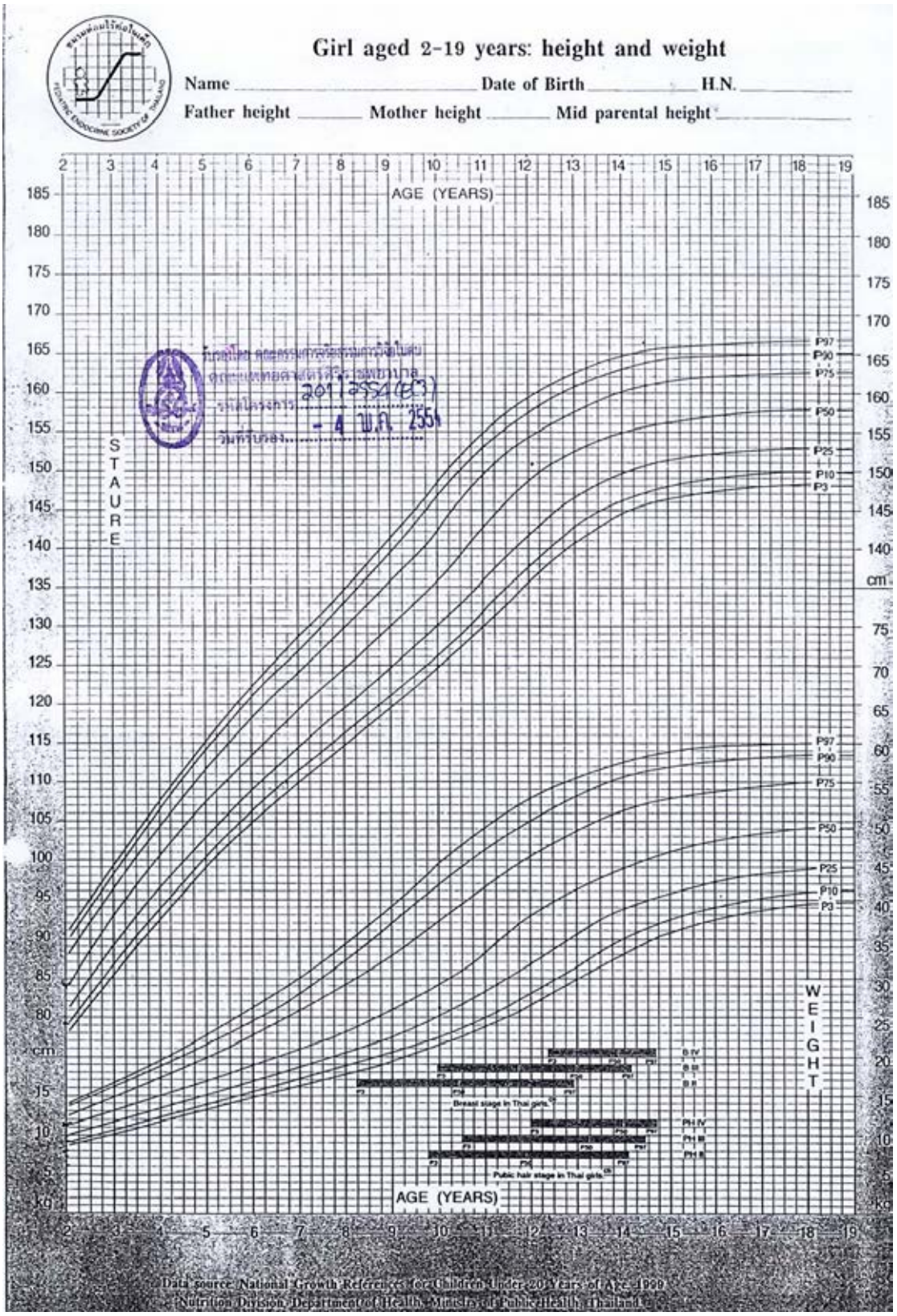
วันที่บันทึก.....

แบบประเมินภาวะโภชนาการโดยการวัดสัดส่วนของร่างกาย

ค่าที่วัด	ค่าที่วัดได้	
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 12
น้ำหนักตัว (กิโลกรัม) **ส่วนสูง** (เซนติเมตร) **ค่าดัชนีมวลกาย** (body mass index; BMI) [น้ำหนัก (กก.)/ความสูง(ม.^{2})] **ภาวะโภชนาการอยู่ในเกณฑ์** < 18.5 = ผอมเกินไป 18.5-22.9 = น้ำหนักปกติ 23-24.9 = น้ำหนักตัวเกิน > 25 = โรคอ้วน		

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
วันที่รับรอง - 4 มิ.ย. 2554


Boys aged 2–19 years: height and weight
Name
Date of Birth
H.N.
Father height
Mother height
Mid parental height
AGE (YEARS)
STATURE
WEIGHT
cm
kg
P97
P90
P75
P50
P25
P10
P3
Genital stage in Thai boys
Pubic hair stage in Thai boys
AGE - (YEARS)
Data source: National Growth References for Children Under 20 Years of Age, 1999
Nutrition Division, Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand


Girl aged 2-19 years: height and weight
Name
Date of Birth
H.N.
Father height
Mother height
Mid parental height
AGE (YEARS)
STAURE
WEIGHT
cm
kg
P97
P90
P75
P50
P25
P10
P3
Breast stage in Thai girls
Public hair stage in Thai girls
Data source: National Growth References for Children Under 20 Years of Age, 1990
Nutrition Division, Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand

(ส่วนที่ 4)

เลขที่บันทึก/แบบสอบถาม.....
วันที่บันทึก.....

แบบบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน

คำชี้แจง ผู้วิจัยขอความร่วมมือจากท่าน กรุณาบันทึกข้อมูลตามความเป็นจริง

ข้อมูลที่สำคัญของการจดบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน ประกอบด้วย

1. **<u>ชนิดของมื้ออาหาร</u>**: ทำการบันทึกมื้ออาหารที่รับประทานพร้อมทั้งระบุเวลาที่รับประทานโดยประมาณ เช่น เช้า-กลางวัน-เย็น-อาหารว่าง เป็นต้น
2. **<u>รายการอาหารและเครื่องดื่ม</u>**: ทำการบันทึกรายการอาหาร รวมทั้งเครื่องดื่มทุกชนิดที่รับประทานตั้งแต่ตื่นนอนจนกระทั่งเข้านอน ต่อเนื่องกัน 3 วัน เช่น ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กลูกชิ้นปลา น้ำมะตูม เป็นต้น
3. **<u>ส่วนประกอบ</u>**: ทำการบันทึกส่วนประกอบต่างๆ ของอาหารและเครื่องดื่มที่รับประทาน เช่น ข้าวต้มปลา มีส่วนประกอบด้วย ข้าวสวย เนื้อปลาสด ผักชี หัวหอม กระเทียม เป็นต้น
4. **<u>ปริมาณที่รับประทาน</u>**: ระบุปริมาณอาหารและเครื่องดื่มที่รับประทานโดยประมาณ เช่น ข้ามต้มปลา ประกอบด้วย ข้าวสวย 1 ถ้วยตวง เนื้อปลาสด 2 ช้อนโต๊ะ โดยกำหนดปริมาณอาหารและเครื่องดื่ม เช่น

1 ถ้วยตวง = 240 มิลลิลิตร	1 ช้อนชา = 5 มิลลิลิตร
2 ช้อนโต๊ะ = 30 กรัม	1 ช้อนโต๊ะ = 15 มิลลิลิตร
3 ช้อนชา = 1 ช้อนโต๊ะ	16 ช้อนชา = 1 ถ้วยตวง

5. **<u>วิธีการเตรียมหรือวิธีการปรุงอาหารและเครื่องดื่ม</u>**: ระบุวิธีการประกอบอาหารและเครื่องดื่มที่รับประทาน ตัวอย่างเช่น ต้ม ตุ๋น ผัด ลวก ทอด ปิ้ง ย่าง แกง แช่แข็ง รับประทานสด อาหารกระป๋อง เป็นต้น
6. **<u>สถานที่รับประทานอาหารและเครื่องดื่ม</u>**: ระบุสถานที่รับประทานอาหารและเครื่องดื่ม เช่น บ้าน ที่ทำงาน ร้านอาหาร เป็นต้น
7. **<u>ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร</u>**: ระบุผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่รับประทาน เช่น วิตามิน แร่ธาตุ พร้อมทั้งระบุจำนวน เวลา และวิธีการรับประทาน

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2556

ตัวอย่างการจดบันทึกรายการอาหารและเครื่องดื่ม

<u>บันทึกวันที่ 1</u>

รายการอาหารที่รับประทาน วันที่.....20……เดือน.....**เมษายน**.....ปี.....2554…….

มื้ออาหาร/ เวลา	รายการอาหาร/ เครื่องดื่ม	ส่วนประกอบ (คร่าวๆ)	ปริมาณที่รับประทาน	วิธีการเตรียม/ปรุงอาหาร	สถานที่รับประทาน
เช้า/ 8.00 น.	- ข้าวต้มไก่	- ข้าวสวย - เนื้อไก่ไม่มีหนังติด	- 2 ทัพพี - 2 ช้อนโต๊ะ	ต้ม	บ้าน
	- นมพร่องมันเนย	- นมพร่องมันเนย	- 240 มล. (1 กล่อง)	กล่อง	บ้าน
กลางวัน/ 12.00 น.	- มักกะโรนีน้ำหมูสับ	- เส้นมักกะโรนี - เนื้อหมูสับไม่ติดมัน - น้ำซุบ	- 2 ก้อน - 2 ช้อนโต๊ะ - 1 ถ้วยตวง	ต้ม	บ้าน
	- ส้มเขียวหวาน	- ส้มเขียวหวาน	- 1 ผลกลาง	สด	บ้าน
	- น้ำเปล่า	- น้ำเปล่า	- 240 มล. (1 แก้วน้ำ)	-	บ้าน
อาหารว่าง/ 15.00 น.	- ขนมปังขาว	- ขนมปังขาว (ไม่ใส่แยม)	- 2 แผ่น	ซื้อ (ยี่ห้อ: ฟาร์มเฮาส์)	บ้าน
	- น้ำสับปะรดปั่น	- น้ำสับปะรดปั่นสด ไม่ใส่เกลือ	- 120 มล. (1/2 แก้วน้ำ)	ปั่น	บ้าน
เย็น/ 18.00 น.	- ข้าวสวย	- ข้าวสวย	- 2 ทัพพี	หุง	บ้าน
	- ผัดผักกาดขาวใส่หมูสับ	- ผักกาดขาว - เนื้อหมูสับไม่ติดมัน - น้ำมันถั่วเหลือง - ซีอิ้วขาวถั่วเหลือง	- 1/2 ถ้วยตวง - 2 ช้อนโต๊ะ - 1 ช้อนโต๊ะ - 1 ช้อนชา	ผัด	บ้าน
	- แอปเปิ้ล	- แอปเปิ้ล	- 1 ผล	สด	บ้าน

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร.....ไม่มี.....

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันที่โครงการ.....
วันที่รับรอง.....

แบบบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน

<u>บันทึกวันที่ 1</u>

วันที่.....เดือน.....ปี..... (เลือกบันทึกวันใดวันหนึ่งในช่วง<u>วันจันทร์ถึงศุกร์</u>)

มื้ออาหาร/เวลา	รายการอาหาร/เครื่องดื่ม	ส่วนประกอบ (คร่าวๆ)	ปริมาณที่รับประทาน	วิธีการเตรียม/ปรุงอาหาร	สถานที่รับประทาน

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร.....

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
ลำดับโครงการ 201/2554 (EC3)
วันที่รับรอง 4 ม.ค. 2554

แบบบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน

<u>บันทึกวันที่ 2</u>

วันที่.....เดือน.....ปี..... (เลือกบันทึกวันใดวันหนึ่งในช่วง<u>วันจันทร์ถึงศุกร์</u>)

มื้ออาหาร/เวลา	รายการอาหาร/เครื่องดื่ม	ส่วนประกอบ (คร่าวๆ)	ปริมาณที่รับประทาน	วิธีการเตรียม/ปรุงอาหาร	สถานที่รับประทาน

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร.....

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันโครงการ..... 201/2554 (EC3)
วันที่รับรอง..... 4 ม.ค. 2554

แบบบันทึกการบริโภคอาหาร 3 วัน

<u>บันทึกวันที่ 3</u>

วันที่.....เดือน.....ปี..... (เลือกบันทึกวันใดวันหนึ่ง<u>วันเสาร์ถึงอาทิตย์</u>)

มื้ออาหาร/เวลา	รายการอาหาร/เครื่องดื่ม	ส่วนประกอบ (คร่าวๆ)	ปริมาณที่รับประทาน	วิธีการเตรียม/ปรุงอาหาร	สถานที่รับประทาน

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร.....

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
301/3554 (E3)
วันที่โครงการรับรอง
วันที่รับรอง - 4 มิ.ย. 2554

แบบสอบถามสำหรับการวิจัย (Questionnaire)

ประกอบด้วย

ส่วนที่ 1 แบบสอบถามข้อมูลทั่วไป

ส่วนที่ 2 แบบสอบถามแบบแผนการบริโภคอาหารและการออกกำลังกาย

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
ใบโครงการ 201/2554 (EC3)
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2554

(ส่วนที่ 1) เลขที่บันทึก/แบบสอบถาม.....

วันที่บันทึก.....

แบบสอบถามข้อมูลทั่วไป

1. เพศ

☐ 1. ชาย ☐ 2. หญิง

2. อายุ

☐ 1. 5-10 ปี ☐ 2. 11-15 ปี ☐ 3. 16-20 ปี

3. นับถือศาสนา

☐ 1. พุทธ ☐ 2. คริสต์

☐ 3. อิสลาม ☐ 4. อื่นๆ (ระบุ).....

4. ปัจจุบันอาศัยอยู่กับ

☐ 1. บิดา/ มารดา ☐ 2. ญาติ/ ผู้ปกครอง

☐ 3. หอพัก /บ้านเช่า ☐ 4. อื่นๆ (ระบุ).....

5. ระดับการศึกษาของบิดา

☐ 1. ไม่ได้เรียนหนังสือ ☐ 2. ประถมศึกษา

☐ 3. มัธยมศึกษา ☐ 4. ปวช./ ปวส./ อนุปริญญา

☐ 5. ปริญญาตรี/ สูงกว่าปริญญาตรี

6. ระดับการศึกษาของมารดา

☐ 1. ไม่ได้เรียนหนังสือ ☐ 2. ประถมศึกษา

☐ 3. มัธยมศึกษา ☐ 4. ปวช./ ปวส./ อนุปริญญา

☐ 5. ปริญญาตรี/ สูงกว่าปริญญาตรี

7. อาชีพของบิดา

☐ 1. ไม่ได้ประกอบอาชีพ ☐ 2. รับราชการ

☐ 3. พนักงานรัฐวิสาหกิจ ☐ 4. ค้าขาย/ ธุรกิจส่วนตัว

☐ 5. อื่นๆ โปรดระบุ.....

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
201/3554 (EC3)
วันโครงการ.....
วันที่รับรอง 4 มี.ค. 2554

8. อาชีพของมารดา

☐ 1. ไม่ได้ประกอบอาชีพ ☐ 2. รับราชการ

☐ 3. พนักงานรัฐวิสาหกิจ ☐ 4. ค้าขาย/ ธุรกิจส่วนตัว

☐ 5. อื่นๆ โปรดระบุ.....

9. รายได้เฉลี่ยของครอบครัว

☐ 1. ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5,000 บาท ☐ 2. 5,001 – 10,000 บาท

☐ 3. 10,001 – 20,000 บาท ☐ 4. 20,001 - 30,000 บาท

☐ 5. มากกว่า 30,000 บาท

10. สิทธิการรักษา

☐ 1. ชำระเงินเอง ☐ 2. เบิกต้นสังกัด/โครงการเบิกจ่ายตรง

☐ 3. ประกันสังคม ☐4. โครงการหลักประกันสุขภาพถ้วนหน้า

☐ 5. อื่นๆ โปรดระบุ.....

11. ท่านเคยได้รับความรู้เกี่ยวกับโรคธาลัสซีเมียหรือไม่

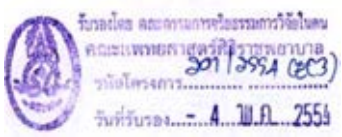
☐ 1. เคย ☐ 2. ไม่เคย

12. ท่านเคยได้รับความรู้เกี่ยวกับคำแนะนำทางด้านโภชนาการหรือไม่

☐ 1. เคย ☐ 2. ไม่เคย

13. ท่านรับประทานยา อาหารเสริม หรือวิตามินอะไรเป็นประจำหรือไม่

☐ 1. ไม่มี ☐ 2. มี (ระบุ).....



(ส่วนที่ 2) เลขที่บันทึก/แบบสอบถาม.....

วันที่บันทึก.....

แบบสอบถามแบบแผนการบริโภคอาหารและการออกกำลังกาย

ส่วนที่ 2.1 **แบบสอบถามแบบแผนการริโภคอาหาร**

1. ส่วนใหญ่ท่านรับประทานอาหารแบบใด

☐ 1. ทำรับประทานที่บ้าน

☐ 2. ซื้ออาหารถุงสำเร็จรูป รับประทานที่บ้าน

☐ 3. ซื้ออาหารปรุงสำเร็จรูป รับประทานนอกบ้าน

☐ 4. อื่นๆ.....

2. ปกติท่านรับประทานอาหาร**มื้อหลักวันละกี่มื้อ**

☐ 1. ครบ 3 มื้อ ☐ 2. 2 มื้อ งดมื้อเช้า

☐ 3. 2 มื้อ งดมื้อกลางวัน ☐ 4. 2 มื้อ งดมื้อเย็น

☐ 5. เพียง 1 มื้อเท่านั้น ☐ 6. มากกว่า 3 มื้อ

3. ปกติท่านชอบรับประทานอาหาร**รสชาติใดมากที่สุด**

☐ 1. จืด ☐ 2. หวาน ☐ 3. เค็ม

☐ 4. เผ็ด ☐ 5. เปรี้ยว ☐ 6. อื่นๆ ระบุ

4. ปกติท่านชอบรับประทานอาหาร**ที่ปรุงด้วยวิธีใดมากที่สุด**

☐ 1. ต้มหรือลวกสุก ☐ 2. ตุ๋น ☐ 3. ผัด

☐ 4. ทอด ☐ 5. ลวกแบบสุกๆดิบๆ ☐ 6. นึ่ง

☐ 7. ปิ้งย่าง ☐ 8. อื่นๆ ระบุ.....

5. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทานอาหาร**กลุ่มเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์** เช่น ไข่ เนื้อสัตว์ เครื่องในสัตว์ เบคอน กุนเชียง เป็นต้น โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2556

6. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทานอาหาร**กลุ่มอาหารไขมันสูง** ได้แก่ อาหารที่ปรุงด้วยวิธีการผัด ทอด แกงที่ปรุงด้วยกะทิ ขนมเบเกอรี่ เช่น ขนมเค้ก โดนัท คุกกี้ เป็นต้น โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

7. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทานอาหาร**กลุ่มขนมสำหรับกินเล่นหรือขนมกรุบกรอบ** โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

8. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทานอาหาร**กลุ่มอาหารประเภทจานด่วน** เช่น พิซซ่า แซนวิช แฮมเบอร์เกอร์ เป็นต้น โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

9. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทานอาหาร**กลุ่มผักและผลไม้** โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

10. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทานอาหาร**กลุ่มผลไม้แปรรูป** เช่น ผลไม้เชื่อม กวน แช่อิ่ม ดอง เป็นต้น โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล
วันที่รับรอง 4 มิ.ย. 2556

11. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทานเครื่องดื่มประเภท**น้ำอัดลมและเครื่องดื่มที่มีรสหวาน** เช่น โกโก้ น้ำผลไม้ที่ใส่น้ำตาล เป็นต้น โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

12. ในระหว่าง 1 เดือน ก่อนวันสัมภาษณ์ ท่านได้รับประทาน**อาหารแปรรูปต่าง ๆ** ได้แก่ อาหารประเภทแปรรูปประเภทใส่เกลือเป็นหลัก เช่น เนื้อเค็ม หมูเค็ม ปลาร้า บูดู เป็นต้น โดยเฉลี่ยสัปดาห์ละกี่วัน

☐ 1. ไม่รับประทานเลย ☐ 2. 1-2 วันต่อสัปดาห์

☐ 3. 3-4 วันต่อสัปดาห์ ☐ 4. 5-6 วันต่อสัปดาห์

☐ 5. ทุกวัน

13. ผักที่ท่านรับประทานส่วนใหญ่ปรุงด้วยวิธีใด <u>ให้ใส่ตัวเลข 1-4 ลงใน เรียงลำดับที่รับประทานบ่อยจากมาก – น้อย (บ่อยมาก = 1 น้อย = 4)</u>

☐ 1. ต้ม ☐ 2. ลวก

☐ 3. ผัด ☐ 4. สด

14. ส่วนใหญ่ท่านเก็บรักษาผักสดโดยวิธีใด

☐ 1. เก็บในตู้เย็น ☐ 2. เก็บนอกตู้เย็น

☐ 3. อื่นๆ ระบุ.....

15. ส่วนใหญ่ท่านเก็บรักษาผักสดไว้ได้นานเท่าใด

☐ 1. รับประทานหมดภายใน 1 วัน ☐ 2. 2-3 วัน

☐ 3. 4-7 วัน ☐ 4. มากกว่า 1 สัปดาห์

16. ท่านรับประทานอาหารเจ หรือมังสาวิรัติหรือไม่

☐ 1. ไม่รับประทาน

☐ 2. รับประทานเดือนละ 1 ครั้ง

☐ 3. รับประทานมากกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์

☐ 4. รับประทานทุกวัน

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
วันโครงการ 321/2554 (EC3)
วันที่รับรอง - 4 ม.ค. 2554

17. โดยปกติ ท่าน**ดื่มน้ำ** (ยกเว้น ชา นมถั่วเหลือง) วันละประมาณเท่าไร

☐ 1. น้อยกว่า 8 แก้วต่อวัน ☐ 2. มากกว่า 8 แก้วต่อวัน

18. ท่าน**ดื่มชา**หรือไม่

☐ 1. ไม่ดื่ม ☐ 2. ดื่ม ประมาณ.....แก้วต่อวัน

19. ท่าน**ดื่มนมถั่วเหลือง**หรือไม่

☐ 1. ไม่ดื่ม ☐ 2. ดื่ม ประมาณ.....แก้วต่อวัน

20. ท่านชอบเล่นกีฬา หรือออกกำลังกายหรือไม่

☐ 1. ชอบ (ระบุ)

☐ ทุกวัน ☐ สัปดาห์ละ 5-6 ครั้ง

☐ สัปดาห์ละ 3-4 ครั้ง ☐ สัปดาห์ละ 1-2 ครั้ง

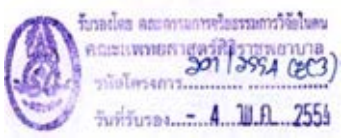
☐ 2. ไม่ชอบ (ออกกำลังกายน้อยกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์)

21. เวลาว่างท่านชอบทำอะไรมากที่สุด

☐ 1. ดูโทรทัศน์/ เล่นเกมคอมพิวเตอร์ ☐ 2. เล่นกีฬา (ระบุ).....

☐ 3. อ่านหนังสือ ☐ 4. อื่นๆ (ระบุ).....

หมายเหตุ: ดัดแปลงมาจากแบบสอบถามพฤติกรรมการบริโภคอาหาร สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2549



Appendix D

Dietary Handbook for Patients with Thalassemia

รับรองโดย คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
201/3554 (EC3)
วันโครงการ.....
วันที่รับรอง...-4 ม.ค. 2554

คู่มือแนะนำโภชนาการ สำหรับผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

จัดทำโดย

ภญ. วัชรี ประภาวัฒน์เวช

นิสิตปริญญาโท สาขาวิชาอาหารเคมีและโภชนศาสตร์ทางการแพทย์

ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ธาลัสซีเมียเป็นโรคโลหิตจางชนิดหนึ่งที่มีผลทำให้ผู้ป่วยเด็กธาลัสเมียมีน้ำหนักและส่วนสูงต่ำกว่าค่ามาตรฐานเมื่อเปรียบ เทียบกับเด็กวัยเดียวกัน รูปร่างผอมแขนขาลีบ และการเจริญเติบโตไม่สมวัย ดังนั้นการมีภาวะโชนาการที่ดี คือการรับประทานอาหารอย่างครบถ้วนและเพียงพอ จะช่วยให้ผู้ป่วยมีร่างกายแข็งแรง มีการเจริญเติบโตและการพัฒนาที่เหมาะสมตามวัย

ผู้ป่วยธาลัสซีเมียจะมีระดับวิตามินและแร่ธาตุ เช่น โฟเลต วิตามินบี 12 วิตามินดี แคลเซียม ทองแดง สังกะสี ซีลีเนียม รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินอี วิตามินซี น้อยกว่าปกติ แต่สำหรับผู้ที่ได้รับเลือดเป็นประจำจะมีธาตุเหล็กในร่างกายเกิน ซึ่งการที่มีระดับสารอาหารขาดหรือเกินนั้นจะส่งผลกระทบต่อภาวะโภชนาการของผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้

การได้รับสารอาหารที่จำเป็น ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุ อย่างครบถ้วนในปริมาณที่เหมาะสม จะช่วยให้ผู้ป่วยมีภาวะโภชนาการที่ดี มีการเจริญเติบโตและพัฒนาการที่ดี ซึ่งอาหารที่รับประทานมีมากมายหลายชนิด ดังนั้นผู้ป่วยควรเลือกรับประทานอาหารให้ครบ 5 หมู่

อาหารหลัก 5 หมู่

หมู่ที่ 1 เนื้อสัตว์ ไข่ นม ถั่วเมล็ดแห้ง และงา
อาหารหมู่นี้เป็นแหล่งโปรตีนที่ช่วยให้ร่างกายเจริญเติบโตแข็งแรง และช่วยซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ

หมู่ที่ 2 ข้าว แป้ง น้ำตาล
เป็นหมู่อาหารที่เป็นแหล่งพลังงานหลักแก่ร่างกาย

หมู่ที่ 3 น้ำมัน และไขมัน จากพืช และสัตว์
เป็นอาหารที่ให้พลังงานสูงและเป็นแหล่งของกรดไขมันจำเป็นแก่ร่างกาย

หมู่ที่ 4 พืชผักต่าง ๆ
เป็นอาหารที่อุดมไปด้วยวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นแก่ร่างกาย ช่วยให้ร่างกายแข็งแรง ต้านทางเชื้อโรค และทำให้การทำงานของอวัยวะต่างๆเป็นปกติ

หมู่ที่ 5 ผลไม้ต่าง ๆ
เป็นหมู่อาหารที่เป็นแหล่งของวิตามินและแร่ธาตุเช่นกัน อีกทั้งยังมีกากใยอาหารสูง ซึ่งมีผลช่วยในการขับถ่าย กระตุ้นลำไส้ให้ทำงานเป็นปกติ

การบริโภคใน 1 วัน ควรรับประทานอาหารให้มีความหลากหลาย ได้สัดส่วนในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อให้ได้พลังงานและสารอาหารเพียงพอสำหรับร่างกาย โดยรับประทานอาหารตามหลัก **ธงโภชนาการ** ของกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข

โภชนาการและธาลัสซีเมีย

อาหารในหมู่ต่างๆ จะให้สารอาหารที่จำเป็นต่อการทำงานตามปกติของร่างกาย อาหารเหล่านี้ประกอบด้วยสารอาหารที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในเด็กที่เป็นโรคธาลัสซีเมีย

โปรตีน

เป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อร่างกาย แหล่งของโปรตีนจากอาหารได้มาจากทั้งสัตว์และพืช ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อสัตว์ ไข่ นม และ ธัญพืช โดยปริมาณโปรตีนที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับเด็กอายุ 6-8 ปี คือประมาณ 28 กรัมต่อวัน และเด็กอายุ 9-15 ปี ประมาณวันละ 40-63 กรัมต่อวัน สำหรับผู้ใหญ่ คือ 1 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

คาร์โบไฮเดรต

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

ไขมัน

ให้พลังงาน ช่วยในการดูดซึมและขนส่งวิตามินที่ละลายในไขมันไปยังอวัยวะต่างๆ อีกทั้งยังให้กรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย แหล่งของไขมัน ได้แก่ น้ำมันจากพืชและสัตว์ เช่น น้ำมันถั่วเหลือง กะทิ เนย และไข่แดง เป็นต้น ปริมาณไขมันที่แนะนำต่อวันคิดเป็นร้อยละ 30 ของพลังงานทั้งหมดที่ได้รับต่อวัน (2,000 กิโลแคลอรี)

วิตามินและแร่ธาตุ

วิตามินซี

เป็นวิตามินที่ละลายน้ำ มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เกี่ยวข้องกับการสร้างคลอลาเจนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของกระดูก มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยส่งเสริมการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว และเพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็ก

เด็กอายุ 1-8 ปี ต้องการวิตามินซีวันละ 40 มิลลิกรัม อายุ 9-12 ปี ต้องการวันละ 45 มิลลิกรัม วัยรุ่นชายอายุ 13-15 ปี ต้องการวันละ 75 มิลลิกรัม ขณะที่วัยรุ่นหญิงต้องการวันละ 65 มิลลิกรัม เมื่ออายุ 16 ปีขึ้นไป ผู้ชายต้องการวันละ 90 มิลลิกรัม และผู้หญิงต้องการวันละ 75 มิลลิกรัม

อาหารที่มีวิตามินซีเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ส้ม มะนาว มะขามป้อม ฝรั่ง มะเขือเทศ บร็อคโคลี่ การขาดวิตามินซีจะทำให้เป็นโรคลักปิดลักเปิด

วิตามินอี

วิตามินอีเป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน มีบทบาทเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งช่วยรักษาสภาพของผนังเซลล์ ถ้าร่างกายขาดจะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ง่าย เกิดภาวะโลหิตจาง ระบบประสาทผิดปกติ โดยทั่วไปร่างกายมีความต้องการ 15 มิลลิกรัมต่อวัน

อาหารที่อุดมด้วยวิตามินอี ได้แก่ น้ำมันพืช เมล็ดดอกทานตะวัน อัลมอนด์ เนยถั่ว

โฟเลต

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

หากขาดจะทำให้เกิดความผิดปกติ ได้แก่ การเจริญเติบโตของเซลล์สร้างเม็ดเลือดแดงในไขกระดูกหยุดชะงัก การสร้างเม็ดเลือดแดงผิดปกติ เบื่ออาหาร และติดเชื้อได้ง่าย

อาหารที่อุดมไปด้วยโฟเลต ได้แก่ ผักใบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง ข้าว ถั่วเขียว อย่างไรก็ตามอาหารที่มี โฟเลตสูงบางชนิดมีเหล็กในปริมาณที่สูงด้วย จึงต้องระมัดระวังในการเลือกชนิดอาหารที่เหมาะสม

วิตามินบี 12

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

วิตามินดี

มีบทบาทเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในทางเดินอาหาร ทำให้กระดูกแข็งแรง โดยร่างกายสามารถสังเคราะห์วิตามินดีได้โดยมีแสงแดดเป็นตัวกระตุ้น และได้รับจากอาหารที่พบมากในนม ธัญหารสำเร็จรูป ปริมาณที่แนะนำสำหรับเด็กจนถึงผู้ใหญ่อายุ 50 ปี คือ 200 หน่วยสากลต่อวัน

เหล็ก

ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ได้รับเลือดเป็นประจำจะมีธาตุเหล็กในร่างกายเกิน ดังนั้นควรหลีกเลี่ยงการรับประทานอาหารที่มีธาตุเหล็กสูงในกลุ่มเนื้อสัตว์ และไม่รับประทานพืชผักที่มีธาตุเหล็กสูงร่วมกับอาหารที่เพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็ก แต่สามารถกินแยกกันได้และควรรับประทานอาหารที่ลดการดูดซึมธาตุเหล็ก

ความต้องการธาตุเหล็กใน 1 วัน (กองโภชนาการ กรมอนามัย)

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

ตัวอย่างอาหารที่มีธาตุเหล็กสูง

กลุ่มอาหาร	ตัวอย่างอาหาร
	เครื่องในสัตว์ เช่น ตับ หัวใจ เลือด ไส้ไข่กุ้ง ปลากระบอก ปลิงทะเล กุ้งแห้ง หอยแครง หอยแมงภู่ ไข่แดง หมูหยอง กะปิ ลูกชิ้นเนื้อวัว
ถั่วและธัญพืช	กลอย งา ฟองเต้าหู้ ถั่วแดงหลวง ถั่วดำ เมล็ดฟักทอง เมล็ดบัว (แห้ง) เผือก มันเทศ
พืชผัก	สาหร่ายทะเล ต้นหอม ใบชะพลู หน่อไม้ฝรั่ง ผักกาดเขียว ผักกาดดอง ผักกูด เห็ดหูหนู มะเขือพวง ดอกโสน

อาหารที่เพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็ก	เซอรี่ แคนตาลูป สตรอเบอรี่ มะปราง มะไฟ มะม่วงหิมพานต์ บร็อคโคลี่ พริกไทย มะเขือเทศ ไวน์ขาว

อาหารที่ลดการดูดซึมธาตุเหล็ก	ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง เช่น เต้าหู้ นม ถั่วเหลือง ชา กาแฟ มันฝรั่ง ไวน์แดง

ตัวอย่างอาหารที่มีธาตุเหล็กสูง

- แกงจืดเลือดหมู
- ผัดถั่งงอกกับเลือดและตับหมู
- ผัดเปรี้ยวหวานตับหมู
- ก๋วยจั๊บเครื่องใน
- แกงคั่วสับปะรดกับหอยแมลงภู่แห้ง
- ต้มซี่โครงหมู
- ตับหวาน

- ก๋วยเตี๋ยวน้ำตก
- ก๋วยเตี๋ยวใส่เครื่องใน
- ผัดเผ็ดหอยลาย
- ผัดกะเพราเครื่องใน
- ปลิงทะเลน้ำแดง
- ผัดหน่อไม้ฝรั่ง
- ยำผักกาดดอง
- ยำกุ้งแห้ง
- แกงจืดสาหร่ายทะเล
- กลอยทอด
- หอยทอด

แร่ธาตุสำหรับผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

แร่ธาตุ	ประโยชน์	อาการขาด	แหล่งอาหาร
แคลเซียม	มีบทบาทต่อกระดูกและฟันและระบบอื่นๆ	โรคกระดูกอ่อน หงุดหงิดง่าย มือเท้าชา เป็นตะคริวบ่อย	นม โยเกิร์ต ปลากรอบที่กินได้ทั้งกระดูก กุ้งแห้ง ผักคะหน้า ผักกวางตุ้ง ผักหวาน ตำลึง ใบกระเพรา
สังกะสี	สารต้านอนุมูลอิสระ เกี่ยวข้องกับกระ บวนการเผาผลาญสารอาหาร	การเจิญเติบโตช้า ผิวหนังอักเสบ แผลหายช้า ภูมิต้านทานต่ำ	หอยนางรม เนื้อแดง อาหารทะเล ถั่วและธัญพืชต่างๆ
แมกนีเซียม	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเส้นประสาทและการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ	กล้ามเนื้ออ่อนแรง ชัก ความดันโลหิตต่ำ และหมดสติ	ถั่ว ธัญพืชไม่ขัดสี ผักใบเขียว ผลไม้
ซีลีเนียม	สารต้านอนุมูลอิสระ	กล้ามเนื้ออ่อนแรง กล้ามเนื้อหัวใจผิดปกติ	ธัญพืชไม่ขัดสี อาหารทะเล ปลาทูน่า

สรุปข้อควรปฏิบัติ

☺ รับประทานอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วนในปริมาณที่เหมาะสม เช่น เนื้อสัตว์ ไข่ นม ผักสด และผลไม้ชนิดต่างๆ

☺ หลีกเลี่ยงอาหารที่มีธาตุเหล็กสูง เช่น เลือด และเครื่องในสัตว์เป็นต้น

☺ เครื่องดื่มประเภท นมถั่วเหลือง น้ำชา สามารถช่วยลดการดูดซึมธาตุเหล็กได้

☺ ห้ามรับประทานยาบำรุงเลือดที่มีธาตุเหล็กทุกชนิด เพราะจะทำให้มีธาตุเหล็กสะสมในร่างกายมากและเร็วกว่าที่ควร

☺ รักษาสุขอนามัยในช่องปาก โดยทำความสะอาดปากและฟันหลังอาหารทุกมื้อ และควรตรวจฟันทุก 6 เดือน เนื่องจากฟันผุได้ง่าย

☺ หลีกเลี่ยงการทำงานหนัก หรือการเล่นกีฬาที่รุนแรง

☺ ไม่ควรซื้อผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร วิตามิน และแร่ธาตุมารับประทานเองโดยไม่ปรึกษาแพทย์หรือเภสัชกร เพราะอาจมีส่วนประกอบของเหล็กประกอบอยู่

ตัวอย่างอาหาร

มื้อเช้า	มื้อกลางวัน	มื้อเย็น
วันที่ 1 ข้าวต้มกล้อง ผัดผักบุ้งไฟแดง ปลานึ่งซีอิ้วเห็ดหอม ชมพู่	ก๋วยเตี๋ยวราดหน้าปลาฝรั่ง	ข้าวกล้อง ผัดผักรวมมิตรใส่ไก่แคนตาลูป
วันที่ 2 นมรสจืด โจ๊กหมูสับ แก้วมังกร	ข้าวอบสับประรด ชมพู่	ข้าวกล้อง แกงจืดเต้าหู้หมูสับ ไข่เจียว ส้ม
วันที่ 3 ข้าวต้มปลากะพง นมเปรี้ยวรสส้ม มะละกอ	ก๋วยเตี๋ยวบะหมี่น้ำหมูไอศกรีมมะพร้าวอ่อน	ข้าวกล้อง เต้าหู้ทรงเครื่อง แกงจืดไข่น้ำส้ม

เอกสารอ้างอิง

1. คณะกรรมการจัดทำข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2546. ปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย พ.ศ. 2546 ปรับปรุงครั้งที่ 3. [Online]. Available from :http://nutrition.anamai.moph.go.th/dri/1.pdf [2010,December 31]

2. บุญชู พงศ์ธนากุล, กุลวรา เมฆสวรรค์. โภชนาการในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย. กรุงเทพฯ: หจก.มีเดียแมท.

3. ประสงค์ เทียนบุญ. 2549. การเสริมวิตามิน – แร่ธาตุ และ CRN ในปิริมิด. วารสารโภชนบำบัด 17(2): 73-85.

4. สุพิสชา ธีรศาสวัต, กนกนันท์ ศรีจันทร์ และธันยชัย สุระ. 2548. กินอย่างไร ...เมื่อท่านเป็นธาลัสซีเมีย. จุลสารชมรมโรคโลหิตจางธาลัสซีเมียแห่งประเทศไทย 14(1): 11-12.

5. อุมาพร สุทัศน์วรวุฒิ. 2542. วิตามินและแร่ธาตุ : บทบาทในร่างกายและแนวทางการเลือกใช้. ใน โภชนบำบัด 2000. อรอนงค์ กังสดาลอำไพ (บรรณาธิการ). หน้า 121-130. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดมาฉลองคุณ.

NOTE

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

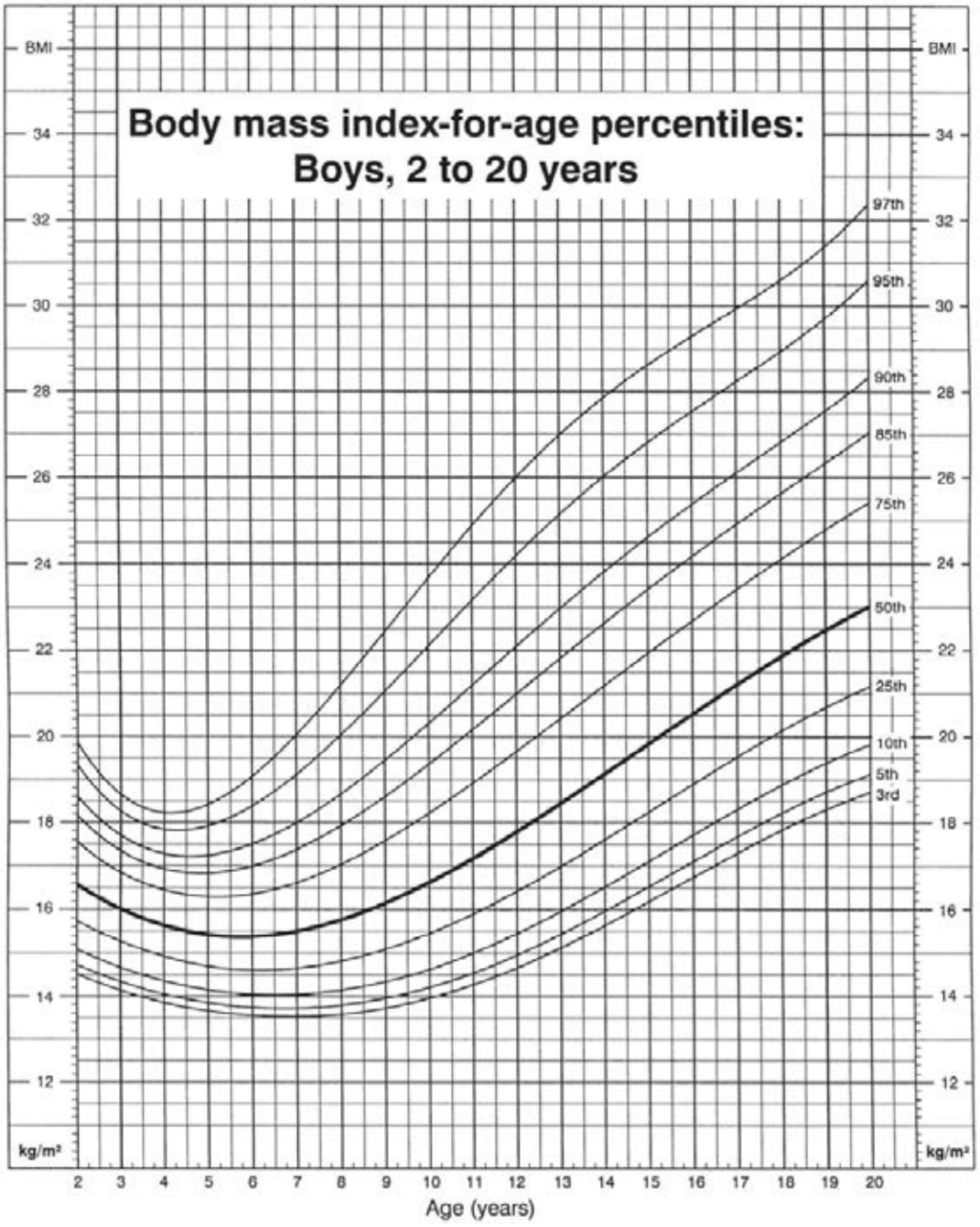
.....

ธาลัสซีเมียเป็นโรคโลหิตจางเรื้อรังชนิดหนึ่ง

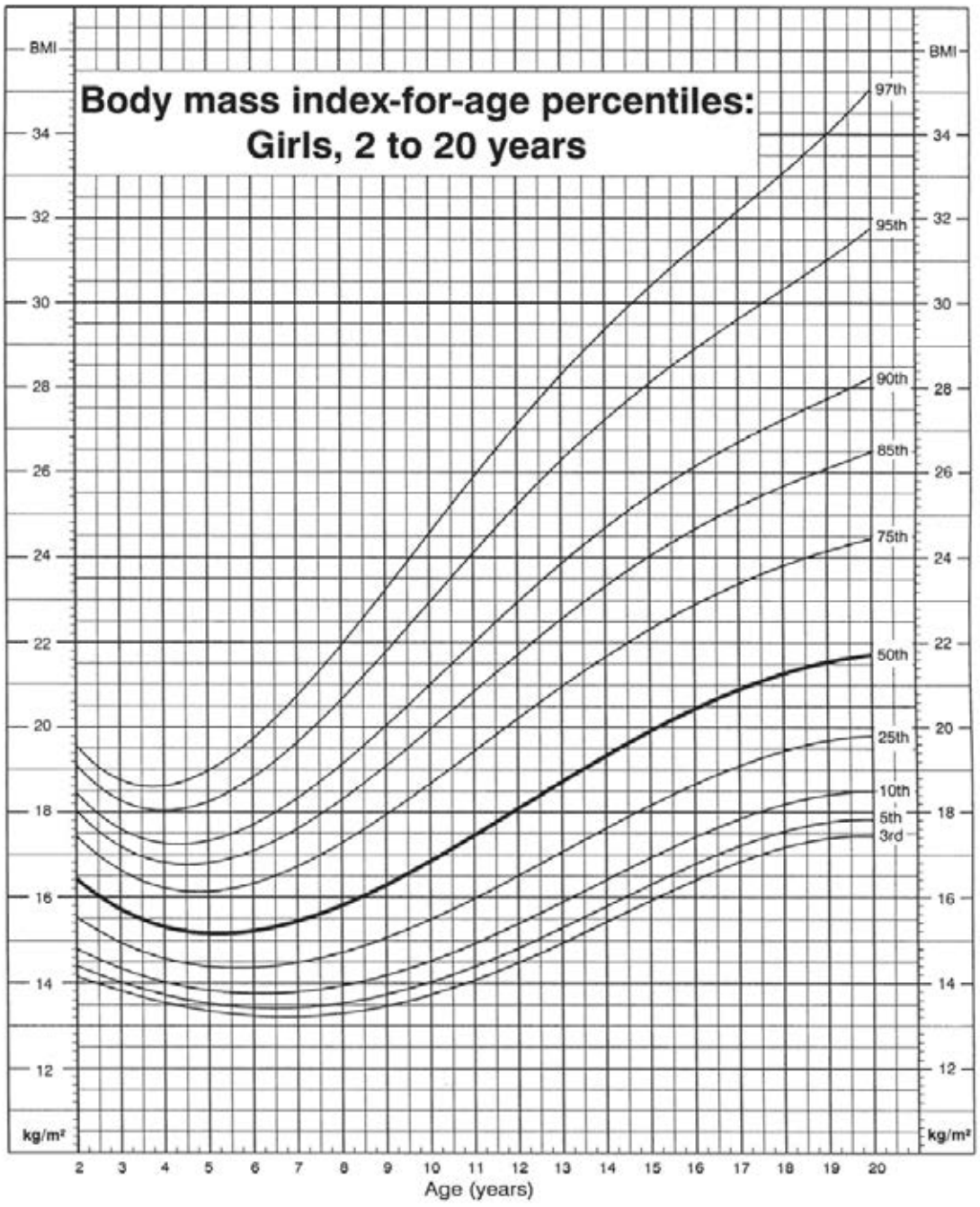
การเลือกรับประทานอาหารที่เหมาะสม
จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยให้ผู้ป่วยมีสุขภาพที่ดี

Appendix E

Gragh of BMI-for-age and gender



Body mass index for age (BMI-for-age) of boys 2-20 years



Body mass index for age (BMI-for-age) of girls 2-20 years

Appendix F

Statistical Analysis

Statistical analysis

Chi-square test was used to compare the difference of characteristics of the subjects at baseline between the vitamin E group and the control group. Shapiro-Wilk test is a statistical test used to assess the normality of data distribution. The test is suitable for small samples sizes ($n < 50$). The statistics for comparing each variable between the vitamin E group and the control group were Independent t-test (parametric test) and Mann-Whitney test (nonparametric test). Paired t-test (parametric test) and Wilcoxon signed ranks test (nonparametric test) were applied to compare means and medians of variables within group. In addition, correlations between variables were analyzed by Pearson correlation and Spearman's rank correlation for parametric and nonparametric data respectively. The level of statistical significant was considered when *p*-value was under 0.05.

Normal distribution test

Each continuous variable was assessed for normal distribution by the Shapiro-Wilk test. The results were presented in **Table F-1**. Distribution of a variable was normal when *p*-value was above 0.05. Parametric statistic could be used to compare mean of variables. On the other hand, *p*-value of a variable was less than 0.05. Median of the data was considered and analyzed by non-parametric method.

Table F-1 The normal distribution test of variables by Shapiro-Wilk test

Variables	groups	statistic	df	*p*-value
TNF-α (pg/dL)	Vitamin E (before)	0.926	16	0.208
	Vitamin E (after)	0.950	16	0.483
	Control (before)	0.927	15	0.242
	Control (after)	0.944	15	0.437
hs-CRP (mg/L)	Vitamin E (before)	0.855	16	0.016
	Vitamin E (after)	0.803	16	0.003*
	Control (before)	0.729	15	0.001*
	Control (after)	0.674	15	0.000*
Vitamin E (μg/dL)	Vitamin E (before)	0.921	16	0.173
	Vitamin E (after)	0.955	16	0.573
	Control (before)	0.963	15	0.747
	Control (after)	0.954	15	0.589
RBC (10^6/mL)	Vitamin E (before)	0.958	16	0.621
	Vitamin E (after)	0.971	16	0.851
	Control (before)	0.964	15	0.760
	Control (after)	0.940	15	0.380
Hb (g/dL)	Vitamin E (before)	0.931	16	0.248
	Vitamin E (after)	0.903	16	0.089
	Control (before)	0.908	15	0.126
	Control (after)	0.867	15	0.031
Hct (%)	Vitamin E (before)	0.841	16	0.010*
	Vitamin E (after)	0.930	16	0.248
	Control (before)	0.969	15	0.848
	Control (after)	0.823	15	0.007*

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

TNF-α = tumor necrosis factor-α; hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein; RBC = red blood cell; Hb = hemoglobin; Hct = hematocrit; pg/mL = pictogram per milliliter mg/L = milligram per liter; μg/dL = microgram per deciliter; 10^6/mL = 1,000,000 per milliliter; g/dL= gram per deciliter

Table F-1 The normal distribution test of variables by Shapiro-Wilk test (continued)

Variables	groups	statistic	df	*p*-value
WBC (10^3/μL)	Vitamin E (before)	0.653	16	0.000*
	Vitamin E (after)	0.482	16	0.000*
	Control (before)	0.626	15	0.000*
	Control (after)	0.531	15	0.000*
%W/A	Vitamin E (before)	0.814	16	0.004*
	Vitamin E (after)	0.800	16	0.003*
	Control (before)	0.905	15	0.115
	Control (after)	0.939	15	0.373
%H/A	Vitamin E (before)	0.943	16	0.386
	Vitamin E (after)	0.970	16	0.833
	Control (before)	0.911	15	0.140
	Control (after)	0.916	15	0.165
%W/H	Vitamin E (before)	0.853	16	0.015
	Vitamin E (after)	0.841	16	0.100
	Control (before)	0.912	15	0.144
	Control (after)	0.932	15	0.296
Energy (kcal/d)	Vitamin E (before)	0.974	16	0.897
	Vitamin E (after)	0.939	16	0.337
	Control (before)	0.965	15	0.785
	Control (after)	0.949	15	0.501
Protein (g/d)	Vitamin E (before)	0.954	16	0.556
	Vitamin E (after)	0.966	16	0.773
	Control (before)	0.916	15	0.166
	Control (after)	0.927	15	0.244

* Data were not normally distributed ($p < 0.05$)
WBC = white blood cell; %W/A = percentage of weight for age; %H/A = percentage of height for age; %W/H = percentage of weight for height; 10^3/μL = 1,000 per milliliter; kcal/day = kilocalories per day; g/d = gram per day

Table F-1 The normal distribution test of variables by Shapiro-Wilk test (continued)

Variables	groups	statistic	df	*p*-value
Protein (kcal/d)	Vitamin E (before)	0.954	16	0.556
	Vitamin E (after)	0.966	16	0.773
	Control (before)	0.916	15	0.166
	Control (after)	0.927	15	0.244
Protein (g/kg/d)	Vitamin E (before)	0.906	16	0.101
	Vitamin E (after)	0.859	16	0.019*
	Control (before)	0.831	15	0.009*
	Control (after)	0.932	15	0.294
% Protein of total energy	Vitamin E (before)	0.948	16	0.455
	Vitamin E (after)	0.969	16	0.816
	Control (before)	0.889	15	0.066
	Control (after)	0.909	15	0.133
Fat (g/d)	Vitamin E (before)	0.748	16	0.001*
	Vitamin E (after)	0.865	16	0.023*
	Control (before)	0.949	15	0.513
	Control (after)	0.931	15	0.281
Fat (kcal/d)	Vitamin E (before)	0.748	16	0.001*
	Vitamin E (after)	0.865	16	0.023*
	Control (before)	0.949	15	0.513
	Control (after)	0.931	15	0.281
%Fat of total energy	Vitamin E (before)	0.911	16	0.123
	Vitamin E (after)	0.912	16	0.124
	Control (before)	0.958	15	0.666
	Control (after)	0.970	15	0.857

* Data were not normally distributed ($p < 0.05$)
kcal/day = kilocalories per day; g/kg/day = gram per kilogram per day; g/d = gram per day

Table F-1 The normal distribution test of variables by Shapiro-Wilk test (continued)

Variables	groups	statistic	df	*p*-value
Carbohydrate (g/d)	Vitamin E (before)	0.991	16	1.000
	Vitamin E (after)	0.958	16	0.628
	Control (before)	0.929	15	0.265
	Control (after)	0.983	15	0.984
Carbohydrate (kcal/d)	Vitamin E (before)	0.991	16	1.000
	Vitamin E (after)	0.958	16	0.628
	Control (before)	0.929	15	0.265
	Control (after)	0.983	15	0.984
%Carbohydrate of total	Vitamin E (before)	0.933	16	0.271
energy	Vitamin E (after)	0.945	16	0.408
	Control (before)	0.939	15	0.369
	Control (after)	0.976	15	0.935

* Data were not normally distributed ($p < 0.05$)
g/d = gram per day; kcal/day = kilocalories per day

BIOGRAPHY

NAME	Miss Watcharee Prapawatwech
DATE OF BIRTH	January 9, 1985
PLACE OF BIRTH	Bangkok, Thailand
INSTITUTIONS ATTENDED	Silpakorn University, 2003-2008; Bachelor of Science in Pharmacy Chulalongkorn University, 2009-2011; Master of Science in Pharmacy (Food Chemistry and Medical Nutrition)
OCCUPATIONS	Pharmacist at Rajavithi Hospital, 2008-2009
ADDRESS	259/57 Soi. Petchkasem 25/2, Petchkasem Rd. Pak Klong Phasi Charoen Phasi Charoen Bangkok, Thailand 10160