บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โฟเลต

โฟเลต หรือกรดโฟลิก เป็นวิตามินในกลุ่มวิตามินบีชนิดหนึ่ง มีความสำคัญในการเจริญเติบโตของมนุษย์ สัตว์ และจุลชีพ ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1937 โดย Dr. Lucy Wills ได้สกัดสารจากยีสต์ให้ชื่อว่า " Will factor " ซึ่งสารสกัดนี้สามารถรักษาสตรีตั้งครรภ์ที่ป่วยเป็นโรคโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงมีขนาดโตกว่าปกติ (macrocytic anemia หรือ megaloblastic anemia) ในประเทศอินเดียได้ [35]

ในปี ค.ศ. 1940 - 1941 Mitchell และคณะได้แยกสารสกัดชนิดเดียวกับ Will factor จากยีสต์ alfalfa และ spinach และพบว่าเป็นสารที่ช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus casei.* ได้ดี และตั้งชื่อสารสกัดนี้ว่า " folic acid " มาจากภาษาลาตินว่า " folium " แปลว่า leaf (ใบ) [36] ต่อมาปี ค.ศ. 1945 Angier และคณะได้สังเคราะห์กรดโฟลิกขึ้นเป็นครั้งแรก [37]

โฟเลต หรือกรดโฟลิก มีชื่อพ้องหลายชื่อได้แก่ โฟลาซิน (folacin) วิตามินบี 10 วิตามินบี 11 แฟกเตอร์ยู (factor U) และพ์เทอโรอิลกลูตามิกแอซิด (pteroylglutamic acid) เพื่อให้เรียกได้ตรงกัน คณะกรรมการกำหนดชื่อสากล IUPAC – IUB commission กำหนดให้ใช้คำว่า " folic acid " เป็นคำที่ใช้เป็นทางการของ pteroylglutamic acid เพียงอย่างเดียว และใช้คำว่า " folacin " หรือ " folate " สำหรับใช้เรียกกลุ่มของสารที่มีคุณสมบัติทางชีววิทยาและทางเคมีเหมือนโฟเลต โดยประกาศใช้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1966 เป็นต้นมา [38]

ในปี ค.ศ. 1969 Blakley ได้รวบรวมชีวเคมีของกรดโฟลิกและตีพิมพ์ลงในหนังสือ Blakley' s book โฟเลตจึงเป็นที่รู้จักกันกว้างขวางมากขึ้นจนถึงปัจจุบัน [39]

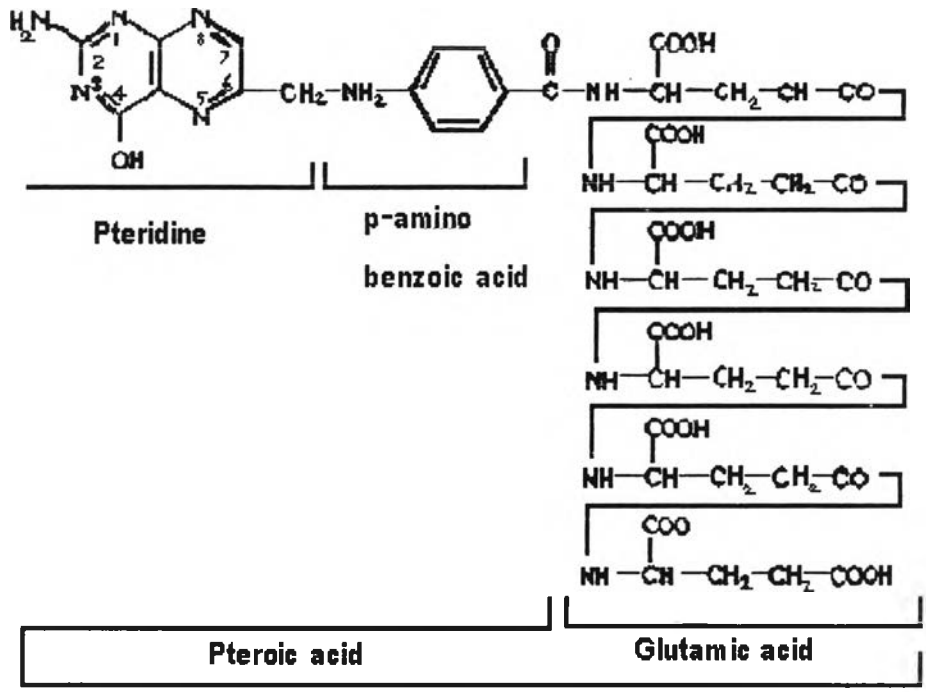
สูตรเคมีและคุณสมบัติ

โฟเลต หรือ กรดโฟลิก ประกอบด้วย pteridine nucleus, p-aminobenzoic acid (PABA), L-glutamic acid และหมู่แทนที่ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอนอะตอมเดี่ยว (single carbon substitution group) เช่น formyl, methyl, methylene

วงแหวน pteridine และ PABA เป็นส่วนประกอบของ pteroic acid ทำหน้าที่เป็นสารประกอบตั้งต้นให้โมเลกุลของกรดกลูตามิก (L-glutamic acid) มาจับ สำหรับ pteridine nucleus ประกอบด้วย pyrimidine ring และ pyrazine ring ดังแสดงในภาพ ที่ 1 [40]

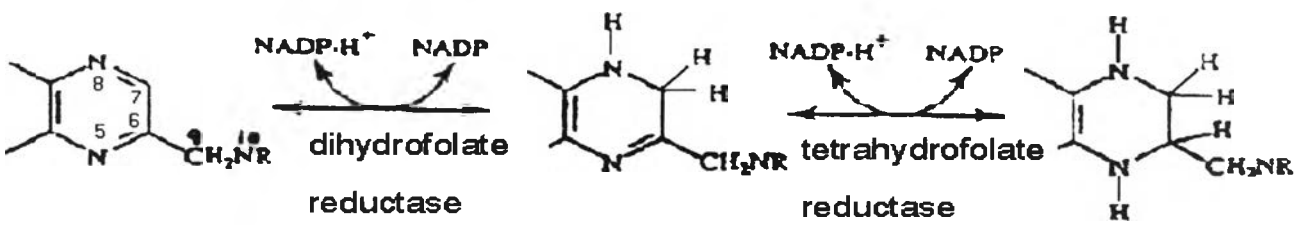
pyrazine ring มีบทบาทในการทำให้เกิดรูปแบบรีดิวซ์ (reduction form) ของ dihydropteroyl glutamic acid และ tetrahydropteroyl glutamic acid กลุ่มที่มาแทนที่จะจับอยู่บนตำแหน่งของ N^5, N^{10} หรือทั้ง N^5 และ N^{10} ของ pyrazine ring ดังแสดงในภาพที่ 2 [40]

โฟเลต หรือ กรดโฟลิกในธรรมชาติจะมีกรดกลูตามิกมาจับด้วยพันธะเปปไทด์ที่หมู่ของ gamma carboxylic group ของกรดกลูตามิก พบกรดโฟลิกในรูปแบบต่าง ๆ มากกว่า 150 ชนิด ดังแสดงในภาพที่ 3 [36]



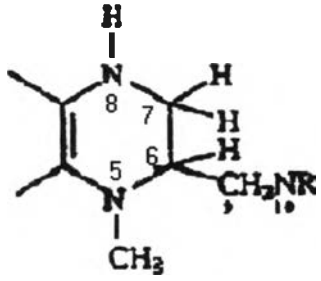
Pteroylhexaglutamic acid

ภาพที่ 1 สูตรเคมีของกรดโฟลิก [40]

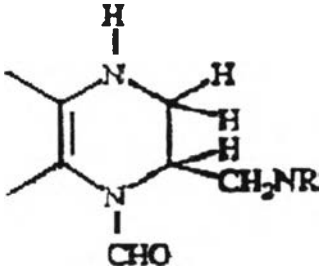


ภาพที่2 การสังเคราะห์ tetrahydrofolate (FH_4) [40]

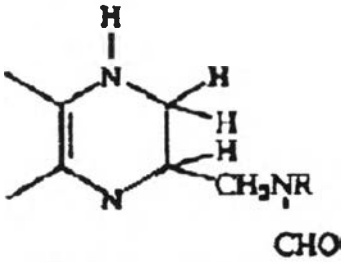
(R = p-aminobenzoyl glutamic acid)



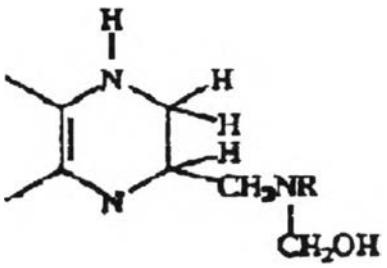
N^5-methyl FH_4



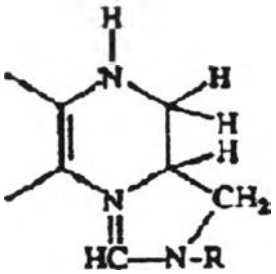
N^5-formyl FH_4



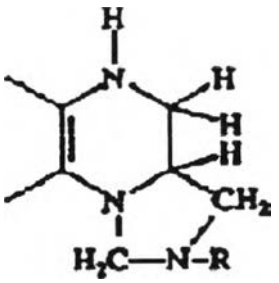
N^{10}-formyl FH_4



N^{10}-hydroxymethyl FH_4



N^5N^{10}-methenyl FH_4



N^5N^{10}-methylene FH_4

ภาพที่ 3 Tetrahydrofolic acid (FH_4) ทำหน้าที่ในการขนส่งคาร์บอนอะตอมเดี่ยว ในรูปแบบต่าง ๆ [40]

คุณสมบัติทางเคมี

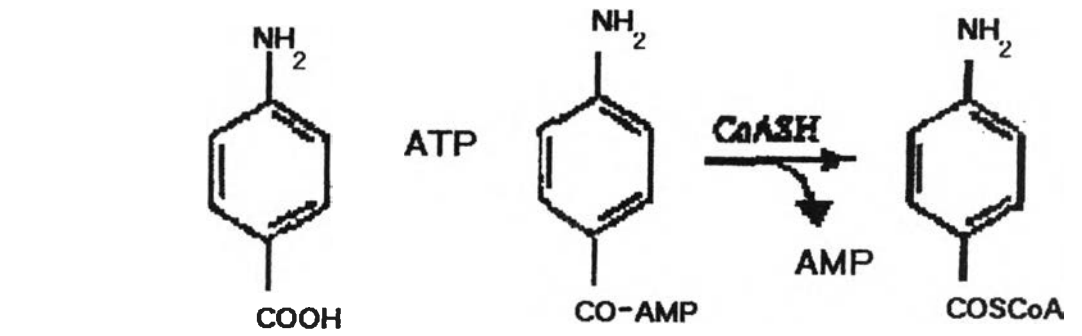
กรดโฟลิกเป็นผลึกสีเหลืองไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนเกลือโซเดียมของกรดโฟลิกละลายน้ำได้ดี การหุงต้ม การบรรจุภาชนะหรือเก็บไว้นาน กรดโฟลิกถูกทำลายได้ถึงร้อยละ 50-95 กรดโฟลิกสลายง่ายที่พีเอชต่ำกว่า 4 และถ้าอยู่ในพีเอชต่ำกว่า 5 สามารถทนความร้อนได้ถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยไม่มีการสลาย กรดโฟลิกเมื่อสลายแล้วจะได้ pteridine กับ para-aminobenzoyl glutamate ส่วนกรดโฟลิกที่เหลือที่อยู่ในสภาพออกซิไดซ์จะไม่สามารถทำหน้าที่ส่งคาร์บอนอะตอมเดี่ยวได้ [3]

แหล่งกำเนิด

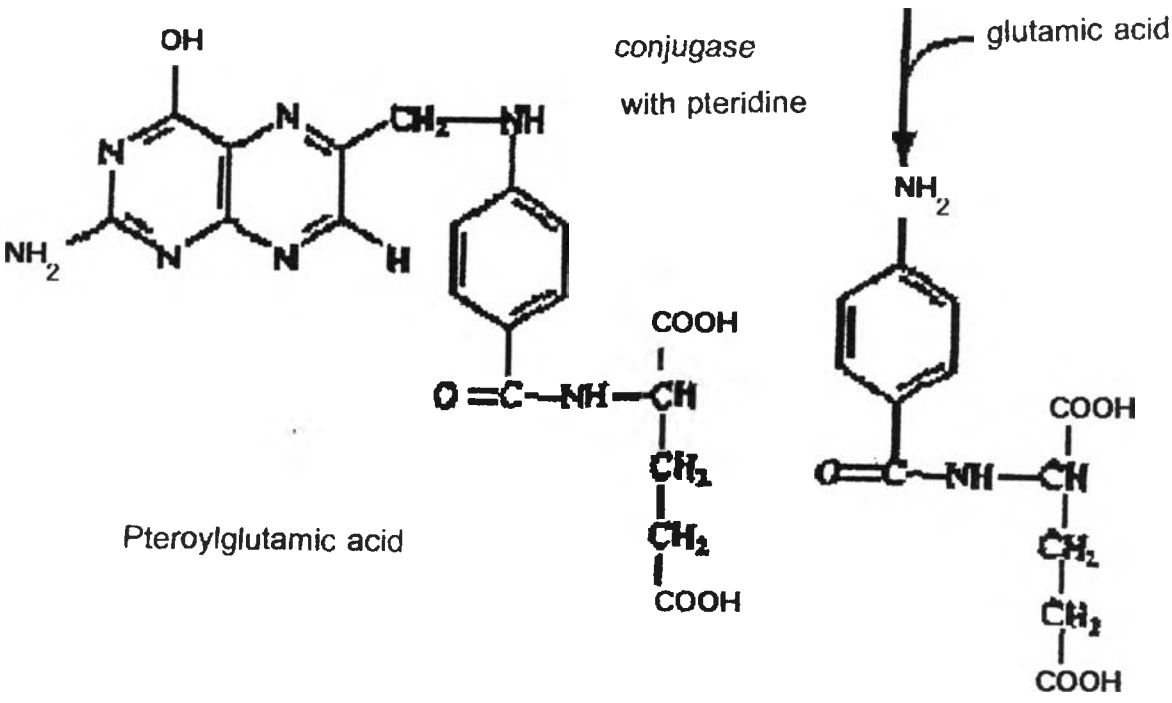
พบกรดโฟลิกในอาหารธรรมชาติ พืชและจุลชีพสามารถสังเคราะห์ได้ สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ได้เพราะขาดขั้นตอนการรวม PABA เข้ากับ pteridine ring ในการสังเคราะห์ pteroic acid ดังแสดงในภาพที่ 4 แต่สัตว์จะได้รับจากการสังเคราะห์ของพืชและจุลชีพ [8, 9]

กรดโฟลิกพบมากในตับ เครื่องในสัตว์ พืชผักใบสีเขียว ถั่วต่าง ๆ และยีสต์ ส่วนในเนื้อสัตว์ ผลไม้ และพืชผักที่ไม่มีใบสีเขียวจะมีกรดโฟลิกน้อยมาก กรดโฟลิกหรือโฟเลตในอาหารอยู่ในรูปแบบ pteroylpolyglutamate และ pteroylmonoglutamate โดยอยู่ในรูปของ 5-methyl และ 10-formyl FH_4 เป็นส่วนใหญ่ ในตับและไตก็เช่นเดียวกันอยู่ในรูปของ 5-methyl และ 10-formyl FH_4 และประมาณร้อยละ 40 จะอยู่ในรูปของ methyl FH_4 pentaglutamate

ส่วนในผักและผลไม้ เช่น ส้ม กะหล่ำปลีมีกรดโฟลิกอยู่ในรูป 5-formyl FH_4 ถั่วต่าง ๆ อยู่ในรูปอนุพันธ์ของ 5-formyl และ 10-formyl ซึ่งเป็น pteroylmonoglutamate และสารชีวภาพในร่างกาย เช่น เลือดมีกรดโฟลิกอยู่ในรูป 5-methyl FH_4 เป็นส่วนใหญ่ [8, 9]



ρ -aminobenzoic acid ρ-aminobenzoyl AMP ρ-aminobenzoyl CoA



Pteroylglutamic acid

ρ-aminobenzoyl glutamic acid

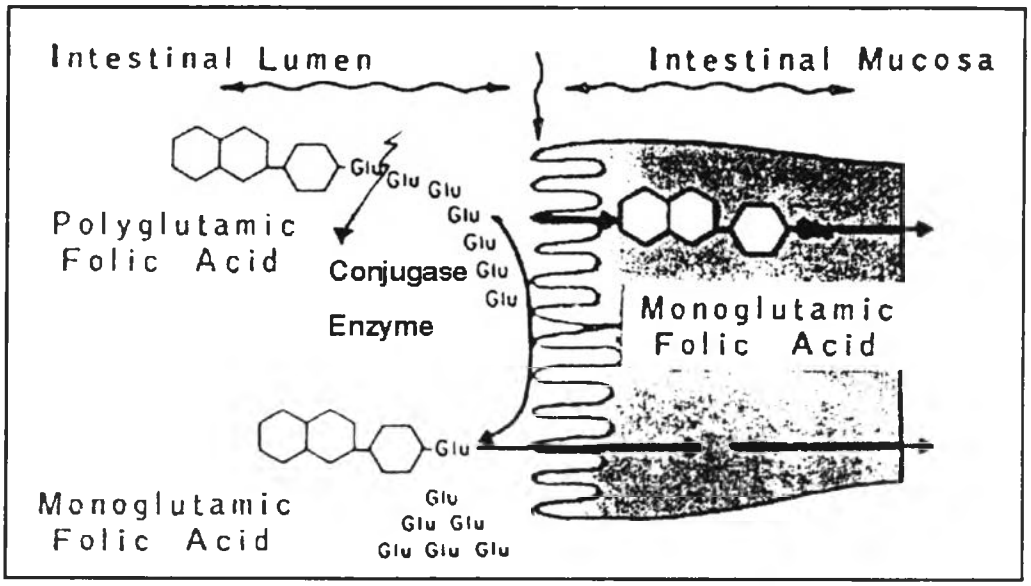
ภาพที่ 4 การสังเคราะห์กรดโฟลิกในพืชและจุลชีพ [40]

การดูดซึมและการขนส่ง

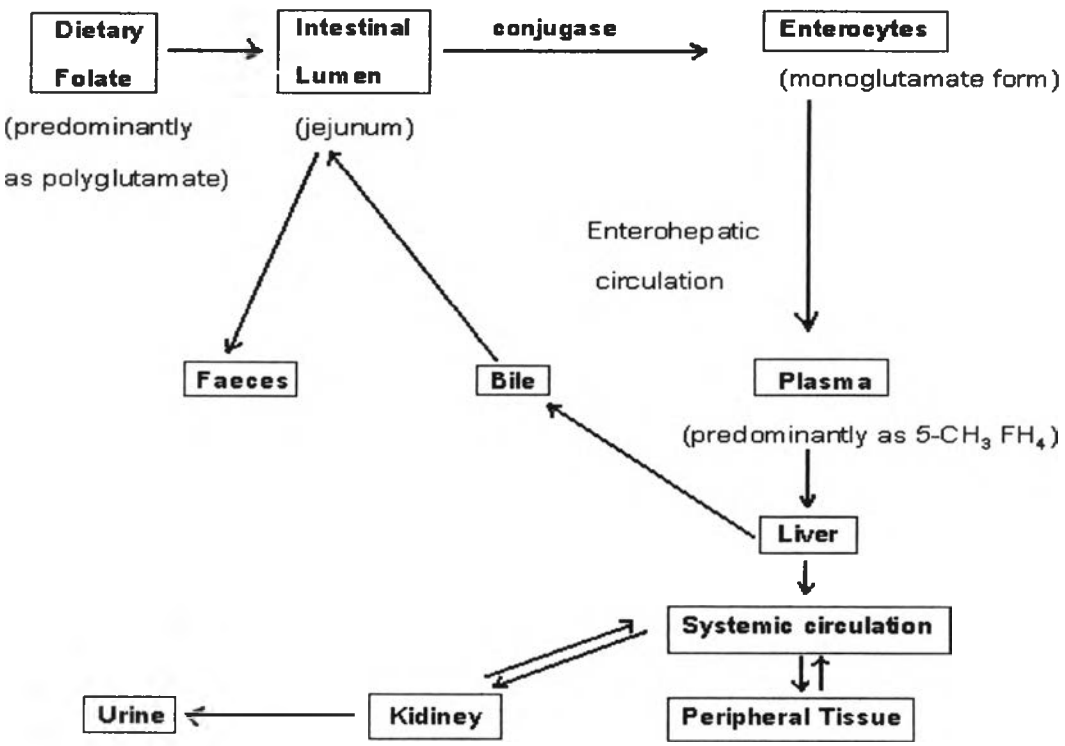
เนื่องจากโฟเลตที่อยู่ในอาหารธรรมชาติจะอยู่ในรูปแบบโพลีกลูตาเมตเป็นส่วนใหญ่ ร่างกายจะสามารถดูดซึมไปใช้ได้ต้องผ่านการย่อยด้วย hydrolytic enzyme หรือ เอนไซม์คอนจูเกส (conjugase) คือ pteroylgammaglutamyl carboxypeptidase หรือ pteroylpolyglutamate hydrolase มาย่อยสลายโฟเลตในรูปแบบโพลีกลูตาเมตให้อยู่ในรูปแบบโมโนกลูตาเมต ดังแสดงในภาพที่ 5 [9] และเปลี่ยนโฟเลตให้อยู่ในสภาพรีดิวส์ (FH_4) จึงออกฤทธิ์ได้โดยอาศัยเอนไซม์สองชนิด คือ NADPH-dependent dihydrofolate reductase และ tetrahydrofolate reductase ต่อจากนั้น โมโนกลูตาเมตที่อยู่ในรูปแบบรีดิวซ์จะถูกดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็กไปโดยกลไกอาศัยพลังงาน (energy-dependent active transport) ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) เข้าสู่กระแสโลหิตไปยังตับและเนื้อเยื่ออื่น ๆ ในรูปของโมโนกลูตาเมตที่อยู่ในรูปแบบรีดิวซ์ที่จับกับ albumin และ folate binding protein (FBP) ซึ่ง FBP นี้พบได้ในตับและบริเวณ brush border ของลำไส้เล็ก นอกจากนี้ยังพบโปรตีนชนิดนี้ในน้ำนม พลาสมา น้ำไขสันหลัง และผนังเซลล์ [40]

FBP มีความสัมพรรคภาพ (affinity) ต่อโฟเลตในรูปแบบรีดิวซ์ (reduced folate) มากกว่ารูปแบบออกซิไดส์ (oxidized folate) ประมาณ100 เท่า โฟเลตที่อยู่ในระบบไหลเวียนโลหิตส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ 5-methyl FH_4 เนื่องจากโฟเลตจะถูกเปลี่ยนเป็น FH_4 ที่ผนังเซลล์ของลำไส้เล็กเป็นส่วนใหญ่ เมื่อมาถึงตับก็จะปล่อยออกสู่ทางเดินน้ำดีทันที และเข้าสู่ระบบหมุนเวียนผ่านลำไส้และตับ (enterohepatic circulation) ดังแสดงในภาพที่ 6 และประมาณร้อยละ 50 ของโฟเลตทั้งหมดแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อส่วนปลายต่าง ๆ (peripheral tissue) [36]

ระบบหมุนเวียนของโฟเลตจากลำไส้ไปสู่ตับนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในการรักษาระดับโฟเลตในพลาสมา เมื่อโฟเลตในรูปแบบ 5-methylmonoglutamate folate เข้าสู่เซลล์แล้วจะถูกเปลี่ยนเป็นโพลีกลูตาเมตอีกครั้งหนึ่งซึ่งเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่กว่าโมโนกลูตาเมต สารนี้จึงอยู่ในเนื้อเยื่อได้นานกว่าโมโนกลูตาเมต และตับจะสร้างเก็บสำรองไว้ได้ประมาณร้อยละ 50 ของปริมาณที่มีอยู่ในร่างกาย ตับจึงมีปริมาณของวิตามินนี้มากกว่าอวัยวะอื่น ๆ [40]



ภาพที่ 5 กลไกการดูดซึมของกรดโฟลิก [7]



ภาพที่ 6 แสดงการดูดซึมและการขนส่งโฟเลตจากอาหาร [40]

เมตาบอลิซึมและการขับถ่าย

โฟเลตในรูปโมโนกลูตาเมตจะถูกดูดซึมได้ดีที่ลำไส้เล็ก เมื่อเข้าสู่ร่างกายส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนเป็น Tetrahydrofolate (FH_4) หรือ Dihydrofolate (FH_2) ซึ่ง FH_4 จะอยู่ในรูป 5-methyl FH_4 จับกับไกลโคโปรตีนในเลือด หลังจากนั้นจะถูกขนส่งไปยังเซลล์ต่าง ๆ เช่น ไขกระดูก ตับ น้ำหล่อเลี้ยงสมองและไขสันหลัง และหลอดไตฝอยโดยการพาแบบอาศัยพลังงาน (active transport) และอาศัยอัลบูมิน และ folate binding protein เป็นตัวพา (carrier) ไปยังเซลล์ต่าง ๆ [40]

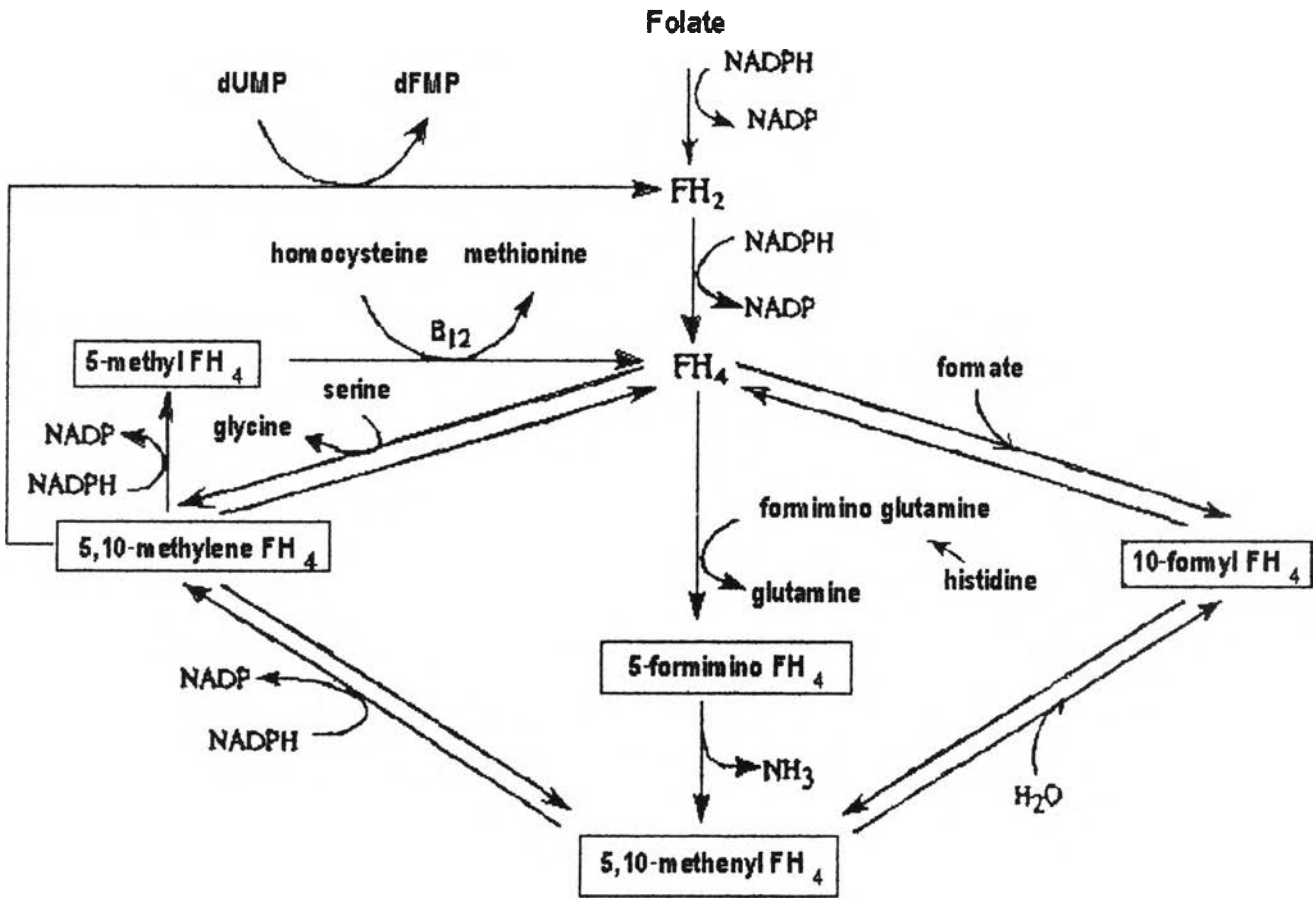
ร่างกายมีโฟเลตสะสมประมาณ 5-10 มิลลิกรัม โดยครึ่งหนึ่งจะเก็บสะสมไว้ที่ตับในรูปแบบของโพลีกลูตาเมต ประมาณ 0.1 มิลลิกรัมของโฟเลตจะอยู่ในระบบหมุนเวียนผ่านลำไส้และตับในแต่ละวัน ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของโฟเลตที่มีอยู่ในซีรัม [40]

โฟเลตจะถูกขับออกมาทางน้ำดี และทางปัสสาวะ ส่วนที่ขับออกมาในน้ำดีส่วนใหญ่จะถูกดูดซึมกลับไประบบหมุนเวียนผ่านลำไส้และตับ ส่วนที่ขับออกทางปัสสาวะส่วนใหญ่จะเป็นสารที่ได้จากเมตาบอไลต์อื่น ๆ (side metabolite) ซึ่งละลายน้ำได้ดี เช่น *p*-acetaminobenzoate และ *p*-acetamidobenzoylglutamate และเป็นสารเมตาบอไลต์ที่ไม่มีฤทธิ์ (inactive metabolite) ซึ่งเกิดจากปฏิกริยาออกซิเดชั่นแยกโมเลกุลโฟเลตที่ตำแหน่ง 9-10 ปริมาณสารเมตาบอไลต์ที่ไม่มีฤทธิ์ที่ขับออกมาทางปัสสาวะน้อยมาก ส่วนสารเมตาบอไลต์ที่ขับออกทางอุจจาระมาจากการสังเคราะห์โดยจุลชีพในลำไส้ใหญ่ [40]

หน้าที่

รูปแบบของโฟเลตที่ออกฤทธิ์ (active form) จะอยู่ในสภาพรีดิวซ์ คือ tetrahydrofolate (FH_4) และส่วนที่ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์อยู่ที่ N_5 และ N_{10} ของ pteridine ring ซึ่งเป็นอะตอมของไนโตรเจนที่มีคุณสมบัติในการขนส่งหน่วยคาร์บอนอะตอมเดี่ยวที่อยู่ในสภาวะออกซิไดซ์ เช่น methyl ($-CH_3$) เป็นหน่วยคาร์บอนอะตอมเดี่ยวที่มีสภาพออกซิไดซ์อ่อนที่สุดและ methylene (CH_2-) เป็นหน่วยคาร์บอนอะตอมเดี่ยวที่มีสภาพออกซิไดซ์ที่แรงขึ้น นอกจากนี้ยังมีหน่วยคาร์บอนอะตอมเดี่ยวอื่น ๆ เช่น formimino (-CH=NH), formyl (-CH=O) และ methenyl (-CH=) ส่วน carboxyl (O=C-O-) มีสภาพออกซิไดซ์แรงสุดจะต้องใช้ไบโอตินมาช่วยในการขนส่งไปให้กับสารอื่น ๆ

ปฏิกิริยาในการขนส่งหน่วยของคาร์บอนอะตอมเดี่ยวของโฟเลตจะเป็นปฏิกิริยาแบบผันกลับ (interconvertible reaction) ยกเว้นในปฏิกิริยาการเปลี่ยน 5,10-methylene FH_4 ไปเป็น N_5-methyl FH_4 ที่เป็นปฏิกิริยาไปทางเดียวย้อนกลับไม่ได้ดังแสดงในภาพที่ 7 [9]



ภาพที่ 7 การผันกลับของโฟเลตในรูปแบบต่าง ๆ (interconversion) [9]

การทำหน้าที่ของโฟเลตในการขนส่งหน่วยคาร์บอนอะตอมเดี่ยวนี้มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ nucleic acid base และเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโน [1, 2] ได้แก่

1. การสังเคราะห์ nucleic acid base [9]

ใน purine base เช่น adenine, guanine และใน pyrimidine base เช่น thymine เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกรดนิวคลีอิก ซึ่งโฟเลตมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกดังกล่าวและเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ดังแสดงในภาพที่ 8

2. การสังเคราะห์ thymidine [9]

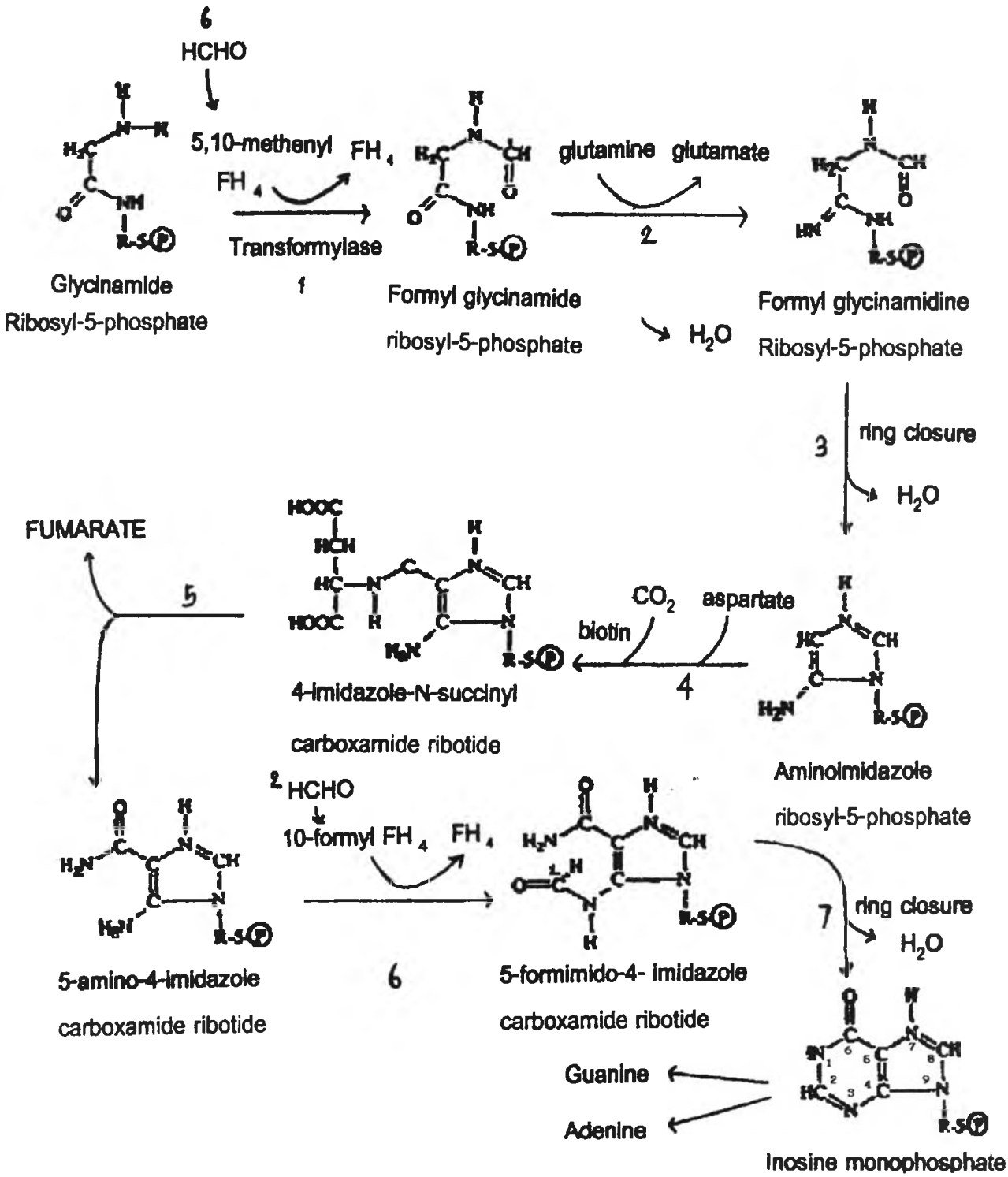
ในขบวนการสังเคราะห์ thymidine โดยมี deoxyuridine เป็นสารตั้งต้นและใช้เอนไซม์ thymidilate synthetase ร่วมกับ 5,10-methyl FH_4 ซึ่งเป็นตัวส่งคาร์บอนอะตอมเดี่ยวให้กับ deoxyuridine และเป็นตัวที่ริดิวซ์ methylene carbon ให้เป็น methyl carbon ดังแสดงในภาพที่ 9

3. การสังเคราะห์ methionine [9]

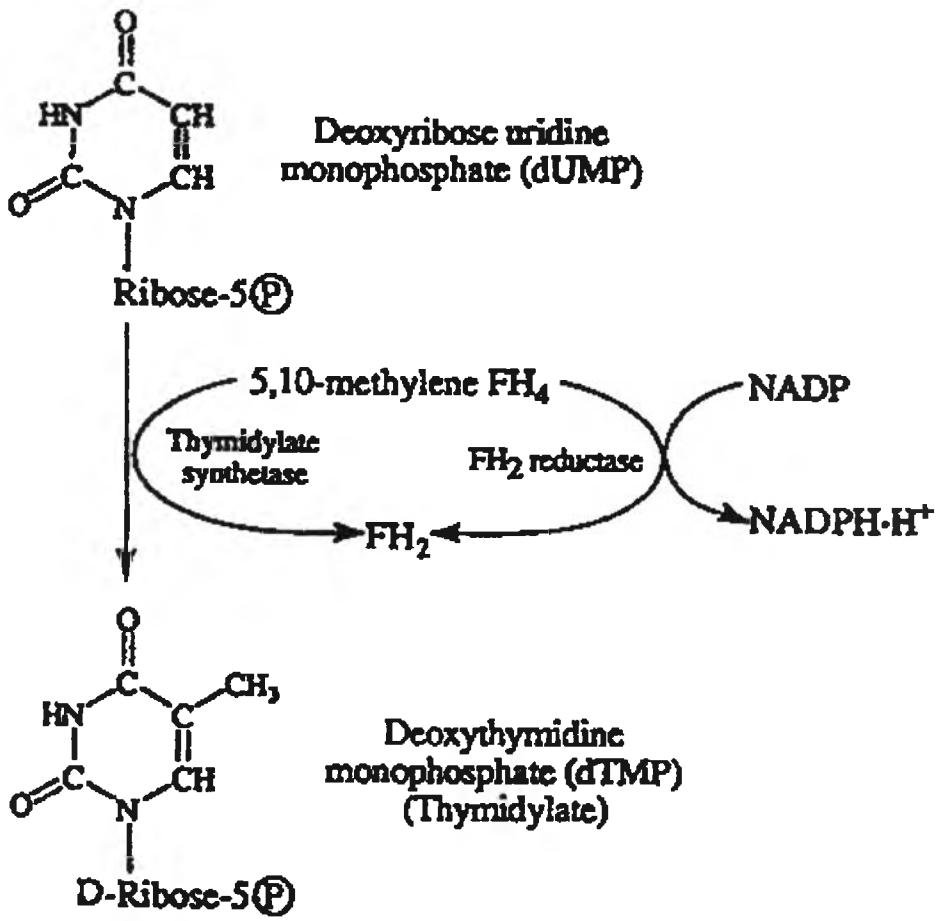
เมื่อร่างกายได้รับโฟเลตจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น 5-methyl FH_4 และเก็บไว้ที่ตับ จากนั้น 5-methyl FH_4 จะเปลี่ยนกลับไปเป็น FH_4 โดยเอนไซม์ B_{12}-dependent methionine synthetase ก่อนที่จะเข้าสู่แหล่งสะสมในเซลล์ (cellular pool) ซึ่งมีแต่โฟเลตที่ออกฤทธิ์ (active folate)

ในขบวนการนี้ methyl FH_4 จะส่งหมู่ methyl ($-CH_3$) ให้กับ homocysteine เพื่อสังเคราะห์เป็น methionine และได้ FH_4 คืนมา

ดังนั้นในคนที่ขาดวิตามินบี 12 จะทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของโฟเลตและ methionine ผิดปกติไปด้วย โฟเลตจะอยู่ในรูป methyl folate ซึ่งไม่สามารถทำหน้าที่ได้ต่อไป ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า methyl trapping จึงทำให้ร่างกายขาดโฟเลตได้เมื่อขาดวิตามินบี 12



ภาพที่ 8 แสดงบทบาทในการสังเคราะห์ purine [40]



ภาพที่ 9 บทบาทของโฟเลตในการสังเคราะห์ thymidine [40]

4. <u>ปฏิกิริยาการเปลี่ยนระหว่างกรดอะมิโน (Interconversion)</u> [9]

ในการเปลี่ยนกรดอะมิโน serine ไปเป็น glycine ใช้เอนไซม์ serine hydroxy methyl transferase ซึ่งเป็น pyridoxal phosphate (PLP)-dependent enzyme มาช่วยในปฏิกิริยาการย้ายกลุ่ม formaldehyde จาก serine มาให้กับ FH_4 เปลี่ยนเป็น 5,10-methylene FH_4 และ glycine ดังนี้

$$\text{serine} + FH_4 \xrightarrow[\text{Serine hydroxy methyl transferase}]{\text{PLP}} \text{glycine} + \text{5,10-methylene } FH_4$$

การเปลี่ยน FH_4 กลับไปเป็น 5,10-methylene FH_4 ยังเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาอื่น ๆ อีก เช่น การสังเคราะห์ pyrimidine และ methionine สารที่เป็นอนุพันธ์ (derivatives) ของ FH_4 จะถูกออกซิไดซ์ได้โดย NADP ไปเป็น 5,10-methenyl FH_4 เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ purine ต่อไป

โฟเลตเป็นโคเอนไซม์ที่สำคัญในเมตาบอลิซึมของ formiminoglutamate โดยใช้ formimino transferase ไปย้ายกลุ่ม formimino ของกรดอะมิโน histidine ไปให้กับ FH_4 แล้วเปลี่ยนไปเป็น glutamate และ 5-formimino FH_4 จากนั้น 5-formimino FH_4 เปลี่ยนไปเป็น 5,10-methenyl FH_4 ได้โดยใช้ปฏิกิริยาการดึงหมู่เอมีน (deamination) [9] ดังนี้

FH_4

histidine ---→ formiminoglutamate ----------→ glutamate + formimino FH_4

formimino transferase

ความต้องการของร่างกาย

Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. National Academy of Sceinces. ได้กำหนดปริมาณโฟเลตที่ควรได้รับในแต่ละวัน (Recommended Dietary Allowances.1998, US.RDAs.1998) [31] ส่วนปริมาณโฟเลตที่ควรได้รับในแต่ละวันของไทยใช้ข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย พ.ศ. 2532 (THAI. RDAs. 1989) [34] ดังแสดงในตารางที่1

ตารางที่ 1 ปริมาณโฟเลตที่ควรได้รับในแต่ละวัน [31, 34]

กลุ่มอายุ	ปริมาณโฟเลตที่ควรได้รับในแต่ละวัน (ไมโครกรัมต่อวัน)	
	US.RDAs. 1998 [31]	THAI.RDAs. 1989 [34]
ทารก *		
0-6 เดือน	65	25
7-12 เดือน	80	30
เด็ก		
1-3 ปี	150	40
4-8 ปี	200	50-65
ผู้ชาย อายุตั้งแต่ 9 ปีขึ้นไป	400	90-175
ผู้หญิง อายุตั้งแต่ 9 ปีขึ้นไป	400	95-150
สตรีมีครรภ์	600	500
สตรีให้นมบุตร	500	250

* ข้อกำหนดปริมาณโฟเลตที่ควรได้รับในแต่ละวันสำหรับกลุ่มทารก ยังไม่กำหนดเป็น Recommended Dietary Allowances (RDAs.) แต่กำหนดเป็น Dietary reference Intakes. (DRIs.)ในปี ค.ศ. 1998. [31]

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การประเมินภาวะโภชนาการของโฟเลตในร่างกาย

การประเมินภาวะโภชนาการของโฟเลตมีหลายวิธี ดังนี้

1. <u>การวัดปริมาณโฟเลตในเซลล์เม็ดเลือดแดง</u> วิธีนี้ได้รับความนิยมเนื่องจากค่าที่ได้นี้แสดงถึงการสะสมโฟเลตในร่างกายระดับโฟเลตในเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนปกติอยู่ในช่วง 160-640 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ถ้ามีปริมาณต่ำกว่า 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร (226 นาโนโมล/ลิตร) แสดงว่าการสะสมโฟเลตในร่างกายลดลงอาจเกิดภาวะการขาดโฟเลตขึ้นได้ โดยช่วงชีวิตของเซลล์เม็ดเลือดแดงจะสอดคล้องกับเวลาที่ตับจะเก็บสะสมโฟเลตไว้ คือ ประมาณ 4 เดือน หรือ 120 วัน เมื่อเกิดภาวะขาดโฟเลตในร่างกายเซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีรูปร่างที่ผิดปกติ คือ เซลล์ใหญ่กว่าปกติ (macrocytics) อาจเกิดภาวะโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงใหญ่ (macrocytic anemia หรือ megaloblastic anemia) ถ้าขาดโฟเลตเป็นระยะเวลานานออกไปอีก [2]

2. <u>การวัดปริมาณโฟเลตในซีรัม</u> วิธีนี้นิยมเช่นเดียวกับวิธีแรก โดยปริมาณโฟเลตในซีรัมบ่งบอกถึงปริมาณโฟเลตที่ได้รับจากอาหารในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดมาวิเคราะห์แต่ไม่ได้บอกถึงภาวะการสะสมโฟเลตของร่างกายและไม่สามารถแยกได้ว่าการขาดโฟเลตที่เกิดขึ้นเป็นการขาดชนิดที่เป็นมาอย่างเรื้อรังหรือเป็นการขาดที่เพิ่งจะเกิดขึ้น ระดับโฟเลตในซีรัมคนปกติอยู่ในช่วง 6-20 นาโนกรัม/มิลลิลิตร เมื่อระดับโฟเลตในซีรัมลดลงต่ำกว่า 3 นาโนกรัม/มิลลิลิตร (7 นาโนโมล/มิลลิลิตร) แสดงถึงการขาดโฟเลตที่เกิดขึ้นขณะที่เก็บตัวอย่างเลือดนั้นมาวิเคราะห์ [2]

3. <u>การประเมินภาวะโฟเลตโดยการนับจำนวนเม็ดเลือดที่มีความผิดปกติ</u> คือ จำนวน polymorphonuclear (PMN) leucocyte lobe เมื่อร่างกายขาดโฟเลตประมาณ 7 สัปดาห์ ในไขกระดูกและในเม็ดเลือดแดงจะพบ neutrophil จะมีจำนวนกลีบ (segment) มากกว่าปกติ (hypersegmented neutrophil) โดยเฉลี่ยมี 3-4 กลีบ ประเมินได้จากการนับจำนวน PMN leucocyte ในเลือดที่นำมาเกลี่ยป้าย (peripheral blood smear) [41]

เม็ดเลือดแดงจะมีขนาดและรูปร่างเปลี่ยนแปลงไปมีลักษณะเป็น macroovalocytes คือ มีขนาดใหญ่ขึ้นและเป็นรูปไข่ ซึ่งความผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือดแดงอาจมีสาเหตุมาจากการขาดวิตามินบี 12 ได้

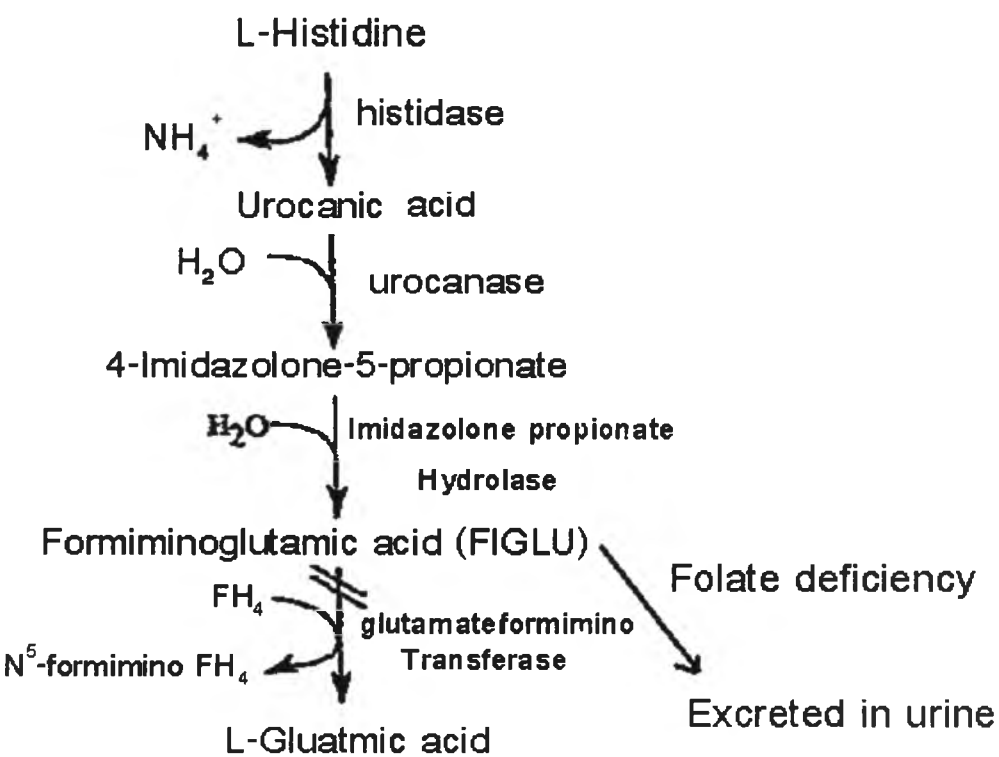
ในการประเมินภาวะโภชนาการของโฟเลตโดยวิเคราะห์ปริมาณโฟเลตในซีรัมและในเม็ดเลือดแดง และควรวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 12 ในซีรัม หรือทราบภาวะโภชนาการของวิตามินบี 12 ด้วย เพื่อที่จะแยกปัญหาการขาดวิตามินบี 12 ออกไป ในภาวะที่มีการขาดวิตามินบี 12 จะมีผลขัดขวางการสร้างสารมัธยันตร์ของโฟเลต (folate intermediates) ซึ่งอาจทำให้ระดับโฟเลตในซีรัมอยู่ในเกณฑ์ปกติหรือสูงก็ได้ แต่ระดับโฟเลตในเม็ดเลือดแดงจะต่ำเพราะมีการขัดขวางการนำเอาโฟเลตเข้าไปใช้ในเซลล์หรือเนื้อเยื่อ [41]

4. วิธี histidine load test เป็นวิธีการวัดสารที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของ histidine ที่ขับออกมาทางปัสสาวะ คือ formiminoglutamic acid (FIGLU) สารประกอบที่ได้นี้จะทำปฏิกริยากับ FH_4 เปลี่ยนเป็นกรดกลูตามิก ดังแสดงในภาพที่10 ถ้าร่างกายขาดโฟเลต FIGLU ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นกรดกลูตามิกจึงถูกขับออกมาทางปัสสาวะ ถ้าปริมาณที่ขับถ่ายออกมามากกว่า 200 ไมโครโมลต่อปริมาณปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (หรือ > 100 ไมโครโมลต่อปริมาณปัสสาวะใน 8 ชั่วโมง) ภายหลังจากที่ได้รับ histidine 5 กรัม (histidine load) แสดงว่าร่างกายขาดโฟเลต

การแปรผลของภาวะโฟเลตในร่างกายจากการวิเคราะห์หาปริมาณในซีรัมและในเม็ดเลือดแดง และ histidine load test แสดงในตารางที่ 2 [2, 42]

ตารางที่ 2 การแปรผลการประเมินภาวะโฟเลตทางชีวเคมี

ดัชนีชี้วัด	ระดับที่ขาด	ระดับที่เพียงพอ	อ้างอิง
ระดับโฟเลตในซีรัม (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)	< 3	> 6	WHO [2, 43]
ระดับโฟเลตในเม็ดเลือดแดง (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)	< 100	> 160	WHO [2, 43]
ปริมาณ FIGLU ที่ขับออกหลังจากทำ histidine load test	> 200 (โมลต่อปริมาณปัสสาวะ 24 ชั่วโมง)	< 200 (โมลต่อปริมาณปัสสาวะ 24 ชั่วโมง)	Lacelles, P.T. [42]

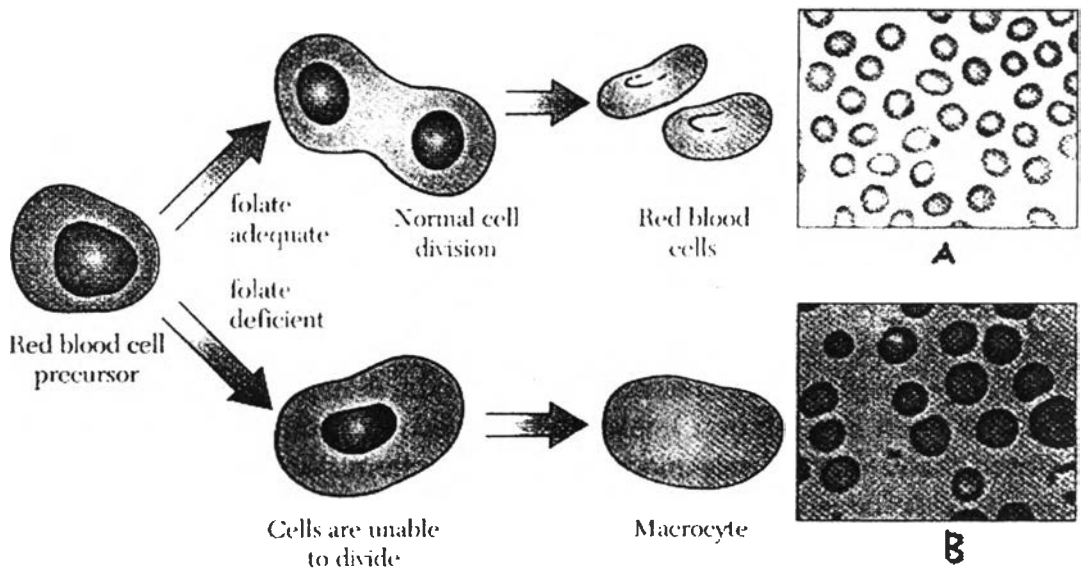


ภาพที่ 10 เมตาบอลิซึมของ histidine ที่ต้องใช้โฟเลต [8]

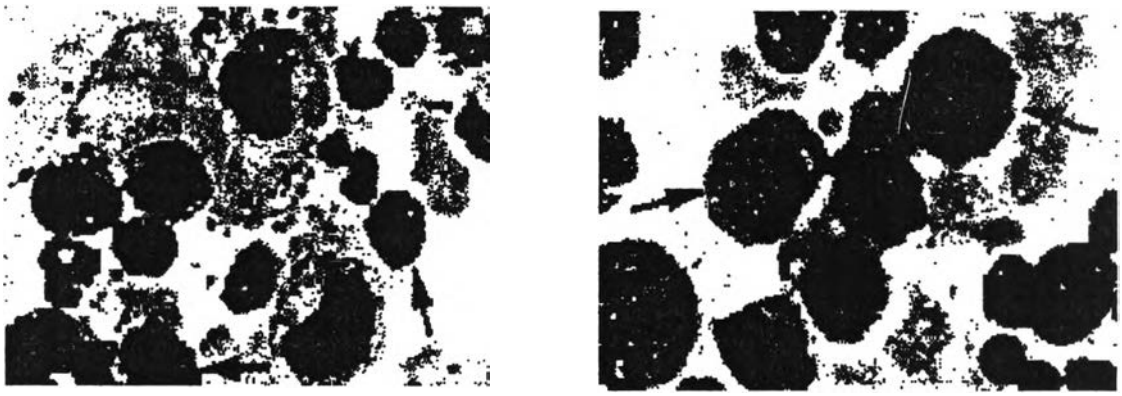
ภาวะการขาดโฟเลต

การขาดโฟเลตทำให้การสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกน้อยลง และมีผลต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ซึ่งเป็นสาเหตุให้การเจริญของนิวเคลียสและการแบ่งตัวของเซลล์ช้ากว่าปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์ที่มีการแบ่งตัวเร็วจะถูกกระทบกระเทือนมาก ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร เซลล์ดังกล่าวจะมีชีวิตอยู่ได้สั้นกว่าปกติ เนื่องจากเซลล์เหล่านี้ไม่สมบูรณ์จึงทำให้ผู้ที่ขาดวิตามินนี้เป็นโรคโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงใหญ่ (megaloblastic anemia) โดยพบเม็ดเลือดแดงมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ (megaloblast) ในไขกระดูก เม็ดเลือดแดงไหลเวียนมีจำนวนน้อยลงแต่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีปริมาณโปรโตปลาสซึมของเซลล์เพิ่มขึ้นและมีอายุสั้นกว่าเม็ดเลือดแดงคนปกติ [3]

อาการของคนที่เป็นโรคโลหิตจางจากการขาดโฟเลต คือ เหนื่อยหอบ ผิวซีด มีความผิดปกติของลักษณะเซลล์เม็ดเลือดแดงก่อนที่จะแสดงอาการโลหิตจางออกมา คือ เม็ดเลือดแดงจะมีขนาดโตขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 11 ก และ 11 ข) หรืออาการเริ่มแรกที่ขาดโฟเลตพบว่าลักษณะของ neutrophil จะมีจำนวนกลีบ (lobe) เพิ่มขึ้น เช่น เพิ่มไปเป็น 5 กลีบหรือมากกว่า (ปกติมีจำนวน 3-4 กลีบ) และมีสีเข้มมากขึ้น ขณะที่ปริมาณฮีโมโกลบินไม่เปลี่ยนแปลง [45]



ภาพที่ 11 ก การเปรียบเทียบเม็ดเลือดแดงปกติและเม็ดเลือดแดงที่เกิดจากภาวะขาดโฟเลต (ภาพจำลอง) [3]



A : เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ **B** : เซลล์เม็ดเลือดแดงขนาดใหญ่กว่าปกติ

ภาพที่ 11 ข การเปรียบเทียบลักษณะเม็ดเลือดแดงปกติและเม็ดเลือดแดงจากภาวะการขาดโฟเลต (ภาพจริง) [3]

ในคนที่ขาดโฟเลตพบอาการผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร คือ ลิ้นและปากอักเสบ ท้องเดิน ปวดท้อง กรดในกระเพาะอาหารน้อยลง และเบื่ออาหาร [3, 6]

อาการของการขาดโฟเลตกับการขาดวิตามินบี 12 จะไม่แตกต่างกันในทางโลหิตวิทยา แต่ในคนที่ขาดวิตามินบี 12 จะมีความผิดปกติเกี่ยวข้องกับระบบประสาทซึ่งไม่พบในคนที่ขาดโฟเลต

การขาดโฟเลตสามารถแบ่งได้ 2 แบบตามระยะเวลาที่เกิดขึ้น คือ

1. <u>แบบเฉียบพลัน</u> เกิดขึ้นเมื่อได้รับยาต่างๆ เช่น ยาต้านโฟเลต (folate antagonists) ได้แก่ methotrexate (ยารักษามะเร็ง), trimethoprim และ pyrimethamine (ยารักษาโรคมาลาเรียและรักษาการติดเชื้อโปรโตซัว) methotrexate และ trimethoprim ออกฤทธิ์โดยแย่งจับกับ dihydrofolate reductase ส่วน pyrimethamine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของยากลุ่ม sufonamides จะไปแย่งจับกับ PABA ทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์โฟเลต นอกจากนี้ยาต้านชักหลายชนิด เช่น phenytoin, primidone จะยับยั้งการทำงานของโฟเลตผ่านทาง cytochrome P 450 ทำให้เกิดการขาดโฟเลตและมีอาการชักเกิดมากขึ้น อาการที่พบในภาวะการขาดโฟเลตแบบเฉียบพลัน คือ คลื่นไส้อาเจียน เบื่ออาหาร ท้องร่วง เป็นแผลในปาก และหลอดอาหาร ผมร่วง ผิวหนังอักเสบ เลือดออกเป็นจ้ำ ๆ [3, 6]

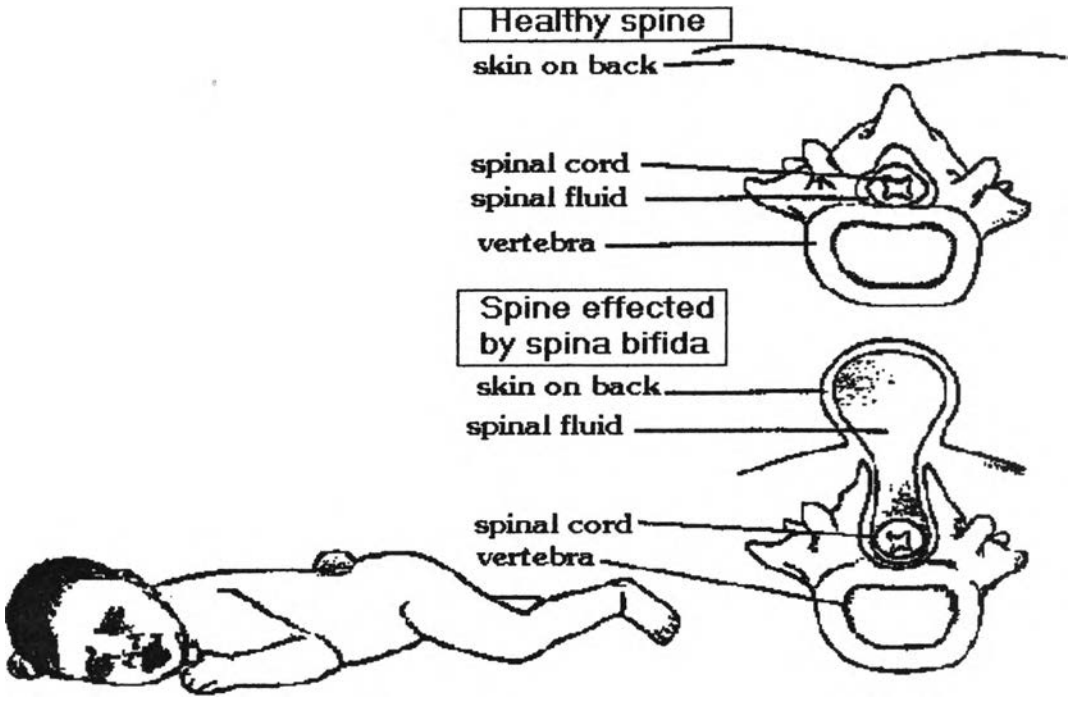
2. <u>แบบเรื้อรัง</u> เกิดจากภาวะโภชนาการไม่ดี หรือโรคบางโรคที่ทำให้การดูดซึมโฟเลตน้อยลง เช่น Tropical sprue, Crohn's disease หรือในคนสูงอายุ อายุที่มากขึ้นทำให้ประสิทธิภาพของระบบการดูดซึมลดลง อาการที่พบ คือ อ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย เจ็บปากและลิ้น การเจริญเติบโตช้า การเปลี่ยนวัยเป็นหนุ่มเป็นสาวช้าลง เกิดโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงใหญ่ (megaloblastic anemia) [3, 6]

กลุ่มประชากรที่พบการขาดโฟเลตได้สูง คือ กลุ่มสตรีตั้งครรภ์ เนื่องจากร่างกายมีความต้องการเพิ่มขึ้นในการแบ่งเซลล์ การเพิ่มขนาดและการเจริญเติบโตของทารก และมีการขับออกของเมตาบอไลต์ของโฟเลตมากขึ้น โดยเฉพาะในไตรมาสที่ 2 และ 3 ของการตั้งครรภ์ [11]

จากการศึกษาของ McPartlin ในปี 1993 [11] พบว่าในสตรีตั้งครรภ์ไตรมาสที่ 2 และ 3 จำนวน 6 คน มีการขับออกของสารเมตาบอไลต์ของโฟเลตมากกว่าสตรีไม่ตั้งครรภ์ (จำนวน 6 คน) ประมาณ 200 ไมโครกรัมต่อวัน [11]

กลุ่มสตรีตั้งครรภ์ที่ขาดโฟเลตจะมีภาวะโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงใหญ่ (megaloblastic anemia) ร้อยละ 2.8-24 โดยพบภาวะโฟเลตในซีรัมและเซลล์เม็ดเลือดแดงต่ำกว่าปกติ [3, 6, 45] และที่สำคัญอาจเกิดหลอดประสาทพิการในทารก (neural tube defect; NTD) เกิดบริเวณสมองและไขสันหลัง [2, 4-7] ทำให้ทารกเกิดความพิการทางสมองและเสียชีวิตเร็วขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 12 หลอดประสาทบริเวณไขสันหลัง (neural tube) ปิดไม่สมบูรณ์ทำให้น้ำไขสันหลังดันหนังหุ้มให้พองปูดออกมาสามารถสังเกตเห็นจากภายนอกได้ชัดเจน[2, 4-9]

มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างภาวะโภชนาการของโฟเลตในเม็ดเลือดแดงต่ำกับความเสี่ยงต่อการเกิด NTD ของทารกในหลายประเทศ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา เม็กซิโก และไอร์แลนด์ พบความเสี่ยงต่อการเกิด NTD ของทารกที่เกิดจากมารดาที่มีภาวะโภชนาการของโฟเลตในเม็ดเลือดแดงต่ำกว่าปกติในอัตรา 6 คน [8] 3.9 คน [8] และ 1.9 คน[6] ต่อทารกเกิดมีชีพ 1,000 คน ตามลำดับ

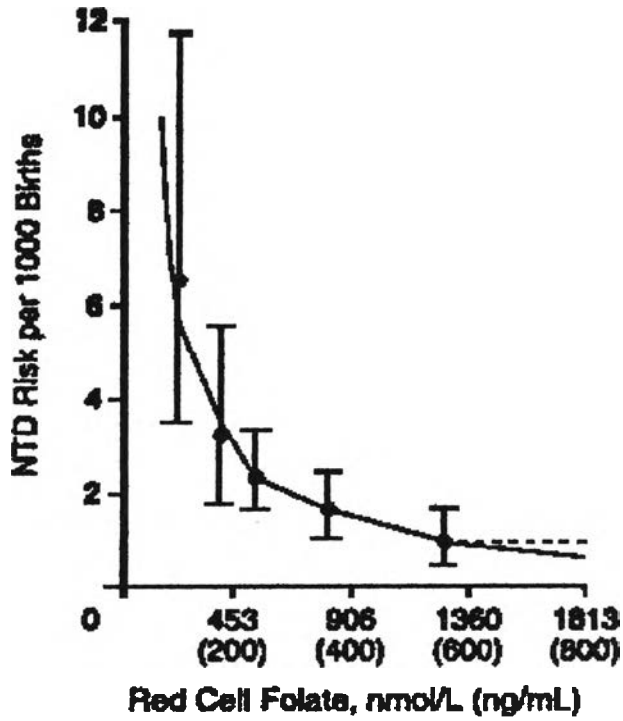


ภาพที่ 12 การเกิดความพิการของหลอดประสาทบริเวณไขสันหลัง (Neural tube defect) [2]

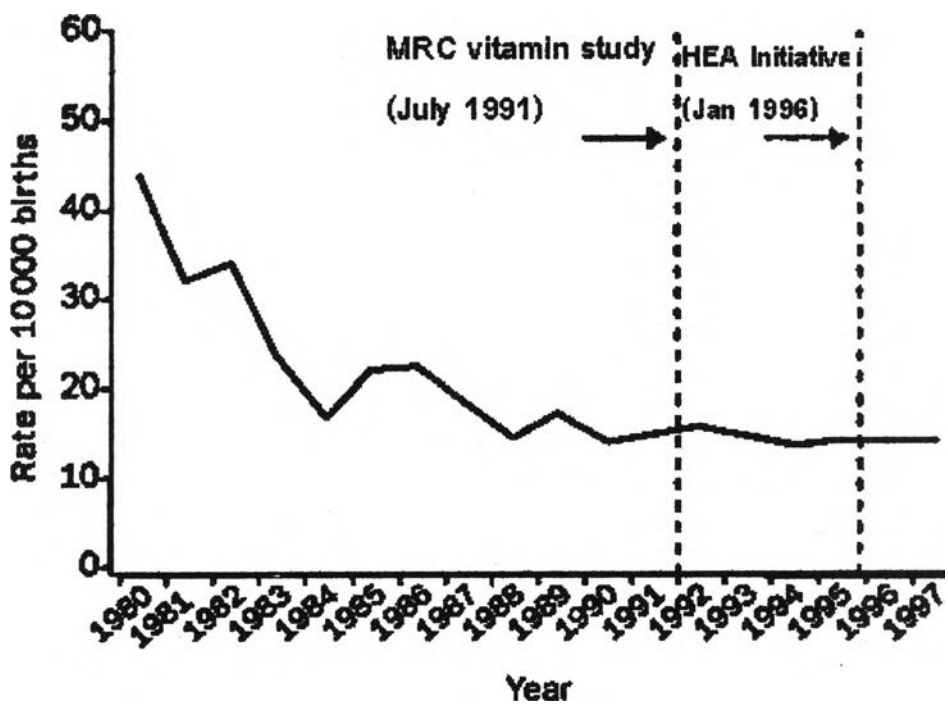
McPartlin ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเสี่ยงของการเกิด NTD ต่อระดับโฟเลตในเม็ดเลือดแดง (ในภาพที่ 13) พบว่าเมื่อระดับโฟเลตในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ความเสี่ยงต่อการเกิด NTD จะลดลง แสดงให้เห็นว่าการมีระดับโฟเลตในร่างกายเพิ่มสูงขึ้นจะสามารถลดความเสี่ยงหรือป้องกันการเกิด NTD ในทารกได้ [11]

ในประเทศไทยกระทรวงสาธารณสุขรายงานการกำเนิดทารกที่มีภาวะ NTD ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 จนถึง ปี พ.ศ.2541 จำนวน 1, 35, 26, และ 4 คน ในแต่ละปีตามลำดับ [47-49]

ประเทศอังกฤษได้ศึกษาติดตามอัตราการเกิด NTD ต่อเด็กเกิดมีชีพ 10,000 คน โดย Medical Research Council Vitamins Study (MRC) และ Health Education Authority (HEA) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 [20-22] เป็นต้นมา พบอัตราการเกิด NTD ลดต่ำลงเรื่อย ๆ และคงที่ตั้งแต่ปี ค.ศ.1989 (แสดงในภาพที่ 14) [21] ซึ่งเป็นปีที่เริ่มกำหนดปริมาณโฟเลตที่ควรได้รับในแต่และวัน (RDAs. 1989.) [50]



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเสี่ยงของการเกิด NTD กับระดับโฟเลต ในเม็ดเลือดแดง [23]



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเกิด NTD ต่อเด็กเกิดมีชีพ 10,000 คน ในประเทศอังกฤษตั้งแต่ปี 1980 ถึง ปี 1997 [21]

การป้องกันภาวะการขาดโฟเลตในสตรีตั้งครรภ์

ปี ค.ศ. 1997. American College of Obstetricians and Gynecologists และ American Academy of Pediatrics Committee. สหรัฐอเมริกาได้เสนอให้สตรีตั้งครรภ์ได้รับการเสริมกรดโฟลิกปริมาณ 0.4 มิลลิกรัมต่อวัน เพื่อป้องกันความเสี่ยงต่อการให้กำเนิดทารกที่มีภาวะ NTD โดยเสริมก่อนตั้งครรภ์ 4 สัปดาห์ และต่อเนื่องไปตลอดอย่างน้อยไตรมาสแรกของการตั้งครรภ์ [26] จากความต้องการปริมาณโฟเลตที่เพิ่มสูงขึ้นต่อมาในปี ค.ศ. 1998 FDA และ WHO จึงได้กำหนดปริมาณโฟเลตที่ควรได้รับในแต่ละวัน (ใน RDAs. ค.ศ.1998.) [31] เท่ากับ 600 ไมโครกรัม/วัน ซึ่งเป็นปริมาณเพียงพอที่จะทำให้ระดับโฟเลตในซีรัมของสตรีตั้งครรภ์อยู่ในระดับปกติ (ไม่ต่ำกว่า 3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนสตรีที่มีประวัติการให้กำเนิดทารกที่มีภาวะ NTD ควรเสริมกรดโฟลิกเพิ่มเป็น 4 มิลลิกรัมต่อวัน [26]

ในปี ค.ศ.1996 คณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (US.FDA.) ได้ออกข้อกำหนดให้มีการเติมกรดโฟลิกที่ได้จากการสังเคราะห์ลงในผลิตภัณฑ์จากธัญพืชในปริมาณ 140 ไมโครกรัมต่อปริมาณผลิตภัณฑ์จากธัญพืช 100 กรัม เพื่อลดอุบัติการณ์การเกิด NTD ให้มากกว่าร้อยละ 20 โดยประกาศใช้ตั้งแต่ วันที่ 1 มกราคม 1998 เป็นต้นมา [26]

ผลของการรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดต่อภาวะโภชนาการของโฟเลตในร่างกาย

Streiff [17] ได้ศึกษาผลการรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดต่อภาวะโภชนาการของโฟเลตในสตรีที่รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดติดต่อกันนานกว่า 1 ปี 6 เดือน จำนวน 7 คน พบสตรี 1 คน มีระดับโฟเลตในซีรัมต่ำกว่า 1.6 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าฮีมาโตคริต เท่ากับ 13 % ในขณะที่มีปริมาณวิตามินบี 12 และธาตุเหล็กอยู่ในระดับปกติ สตรีผู้นี้ป่วยเป็นโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงใหญ่ (megaloblastic anemia) จากการขาดโฟเลตซึ่งสามารถรักษาให้หายได้ด้วยการรับประทานกรดโฟลิกในรูปแบบโมโนกลูตาเมตขนาด 250 ไมโครกรัม/วัน และได้มีการเพิ่มขนาดกรดโฟลิกขึ้นเรื่อย ๆ ผู้ป่วยมีการตอบสนองต่อการเพิ่มระดับโฟเลตในร่างกายได้ดีจนถึงวันที่ 4 ของการรักษา ได้เพิ่มขนาดกรดโฟลิกให้กับผู้ป่วยถึง 5 มิลลิกรัมต่อวัน จนผู้ป่วยมีระดับโฟเลตปกติและหายจากโรคโลหิตจางดังกล่าว สตรีอีก 4 คนมีระดับของโฟเลตในซีรัมต่ำกว่าปกติแต่ยังไม่เกิดภาวะโลหิตจางเช่นสตรีคนแรก สตรีทั้ง 4 คนนี้ได้รับการรักษาเช่นเดียวกับสตรีคนแรก พบว่าสามารถเพิ่มระดับโฟเลตในซีรัมโดยการรับประทานกรดโฟลิกรูปแบบโมโนกลูตาเมตแต่ไม่สามารถเพิ่มระดับโฟเลตในซีรัมจากการรับประทานกรดโฟลิกในรูปแบบโพลีกลูตาเมต ส่วนสตรีที่เหลือ 2 คน

มีระดับโฟเลตในซีรัมปกติ จากการศึกษานี้ Streiff จึงตั้งสมมุติฐานว่าสตรีที่รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดนี้อาจมีปัญหาการดูดซึมโฟเลตในรูปแบบโพลีกลูตาเมต [17]

จากการศึกษาผลของการรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดต่อการดูดซึมโฟเลตในสตรีที่รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิด 9 คน และไม่รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิด 9 คน [17] สตรีทั้ง18 คน มีสุขภาพดี ไม่มีผู้ใดป่วยเป็นโรคโลหิตจาง มีระดับโฟเลตในซีรัมปกติ ให้สตรีทั้งหมดรับประทานกรดโฟลิกในรูปแบบโมโนกลูตาเมต ขนาด 200 ไมโครกรัมต่อวัน และวิเคราะห์หาปริมาณโฟเลตในซีรัมที่เวลาต่างๆ ใน 2.5 ชั่วโมง หลังจากนั้นพักการเสริมกรดโฟลิกเป็นเวลา 3 วัน หลังจากการทดลองเพื่อให้ระดับโฟเลตเข้าสู่ปกติ จากนั้นให้สตรีทุกคนรับประทานกรดโฟลิกในรูปแบบโพลีกลูตาเมตซึ่งมีปริมาณสมมูลกับปริมาณที่ได้รับในครั้งแรกคือ 200 ไมโครกรัมต่อวัน และวิเคราะห์หาปริมาณโฟเลตในซีรัมเช่นเดียวกับครั้งแรก

พบว่าเมื่อให้รับประทานกรดโฟลิกในรูปแบบโพลีกลูตาเมต กลุ่มสตรีที่รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดมีระดับโฟเลตในซีรัมต่ำกว่ากลุ่มสตรีที่ไม่ได้รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่มสตรีที่รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดมีการดูดซึมกรดโฟลิกในรูปแบบโพลีกลูตาเมตจากการรับประทานได้เพียงร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับกลุ่มสตรีที่ไม่ได้รับประทานยาเม็ดคุมกำเนิด ส่วนการรับประทานกรดโฟลิกในรูปแบบโมโนกลูตาเมตพบว่าระดับโฟเลตในซีรัมในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน แสดงว่าการรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดมีผลยับยั้งการดูดซึมโฟเลตในรูปแบบโพลีกลูตาเมตจากอาหาร [17]

การศึกษาผลของการรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดต่อภาวะโฟเลตในร่างกายของ Shojania [18] พบว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนในยาเม็ดคุมกำเนิดทำให้ร่างกายมีความต้องการโฟเลตสูงขึ้นปริมาณโฟเลตในซีรัมและในเม็ดเลือดแดงจึงลดต่ำลงร้อยละ 30 และมีการขับออกของเมตาบอไลต์ของโฟเลตมากขึ้น และการศึกษาของ Streiff [17] พบว่าการรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิดยับยั้งการดูดซึมโฟเลตในรูปแบบโพลีกลูตาเมต ซึ่งเป็นรูปแบบที่พบส่วนใหญ่ในอาหาร โดยยาเม็ดคุมกำเนิดจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอนจูเกสทำให้ร่างกายดูดซึมโฟเลตได้น้อยลง อาจนำไปสู่ภาวะการขาดโฟเลตได้ถ้าการบริโภคไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย