

การศึกษาความสามารถของระดับซีทรูลิเนตฮีสโตนเฮกซ์ทรีในน้ำล้างหลอดลมและน้ำเหลืองในการแยก
สาเหตุกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Bronchoalveolar lavage and serum citrullinated histone H3 concentrations
differentiate patients with sepsis versus non-sepsis-induced acute respiratory distress
syndrome



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine

Department of Medicine

FACULTY OF MEDICINE

Chulalongkorn University

Academic Year 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความสามารถของระดับซีทรูลิเนตฮีสโตนเฮชเทรี ในน้ำล้างหลอดลมและน้ำเหลืองในการแยกสาเหตุกลุ่ม อาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ
โดย	น.ส.นันทน์ช วุฒิไกรวิทย์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ศาสตราจารย์ นายแพทย์ณัฐพงษ์ เจียมจริยธรรม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	แพทย์หญิงมนวสิ ปาจีนบุรวรรณ์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันทชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์พิสุทธ์ กตเวทิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ณัฐพงษ์ เจียมจริยธรรม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(แพทย์หญิงมนวสิ ปาจีนบุรวรรณ์)

..... กรรมการ
(นายแพทย์ยุทธชัย ลิขิตเจริญ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์นัฐพล ฤทธิชัย)

นันทน์ ภูฒิไกรวิทย์ : การศึกษาความสามารถของระดับซิทรูลินเดอฮีสโตนเฮกซารีในน้ำล้างหลอดลมและน้ำเหลืองในการแยกสาเหตุกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ. (Bronchoalveolar lavage and serum citrullinated histone H3 concentrations differentiate patients with sepsis versus non-sepsis-induced acute respiratory distress syndrome) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ศ. นพ.ณัฐพงษ์ เจียมจริยธรรม, อ.ที่ปรึกษาร่วม : พญ.มณฑิ ปาจิณบุรธรรม

ที่มาและความสำคัญ ภาวะกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันสาเหตุจากการติดเชื้อมีความสัมพันธ์กับอัตราการเสียชีวิตในโรงพยาบาลที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จากหลักฐานเชิงประจักษ์ในปัจจุบันมีการค้นพบกระบวนการทำงานในรูปแบบโครงสร้างเส้นใยร่างแหภายนอกเซลล์นิวโทรฟิล หรือ neutrophil extracellular traps (NETs) ว่ามีบทบาทสำคัญในการเกิดการบาดเจ็บของถุงลมและหลอดเลือดฝอย นำไปสู่การบาดเจ็บของปอดระยะเฉียบพลัน Citrullinated histone H3 (CitH3) เป็นส่วนประกอบหนึ่งที่สำคัญในกระบวนการสร้าง NETs ซึ่งตรวจพบว่ามีความเข้มข้นของ CitH3 ที่สูงขึ้นในน้ำเหลืองของผู้ป่วยที่ภาวะช็อกจากการติดเชื้อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มีภาวะช็อกจากสาเหตุอื่น

วัตถุประสงค์ของการศึกษา เพื่อศึกษาความสามารถของระดับ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมในการวินิจฉัยแยกกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อกับกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ

วิธีการศึกษา ทำการศึกษาในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2564 ถึง กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 โดยทำการเก็บน้ำล้างหลอดลมและถุงลม เลือด และข้อมูลทางคลินิกจากผู้ป่วยใส่ท่อช่วยหายใจที่ได้รับการวินิจฉัยเข้าได้กับกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันอ้างอิงตามเกณฑ์ Berlin จากนั้นนำน้ำล้างหลอดลมและถุงลมและเลือดมาตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ CitH3 โดยวิธีอีไลซา (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) การวินิจฉัยสาเหตุของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันว่าเป็นจากการติดเชื้อหรือเหตุอื่นอ้างอิงตามหลักฐานทางจุลชีววิทยาและการวินิจฉัยของแพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วย

ผลการศึกษา ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาจำนวน 12 ราย เป็นผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อจำนวน 5 ราย ผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อจำนวน 7 ราย ระดับความเข้มข้นของ CitH3 ทั้งในน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสองกลุ่ม [ค่ามัธยฐาน (ค่าที่สี่ระหว่างควอไทล์): CitH3 ในน้ำเหลือง 118.4 ng/ml (63.13-215.57) เปรียบเทียบกับ 63.3 ng/ml (38.86-89.4), $p=0.15$; CitH3 ในน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลม 61.92 ng/ml (42.22-106.98) เปรียบเทียบกับ 41.25 ng/ml (28.19-50.1), $p=0.23$] ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม ตรวจพบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r_s = 0.77, p = 0.005$) อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและความรุนแรงของการบาดเจ็บของปอดนิยามโดยใช้สัดส่วนระหว่างความดันของออกซิเจนในเลือดแดงเทียบกับสัดส่วนออกซิเจนที่หายใจ ($PaO_2:FiO_2, P:F$ ratio) ที่ลดลง ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและดัชนีชี้วัดความรุนแรงของโรคทั้ง APACHE score (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation score) และ SOFA score (Sequential Organ Failure Assessment score)

สรุปผลการศึกษา ในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อมีแนวโน้มว่าจะมีความเข้มข้นของ CitH3 ทั้งในน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลมสูงกว่าผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากสาเหตุอื่นอย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้ยังไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นเพราะจำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษามีจำนวนน้อยทำให้การแปลผลการศึกษามีข้อจำกัด จำเป็นต้องมีการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยขนาดใหญ่เพิ่มเติมในอนาคตต่อไป

สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิติ
ปีการศึกษา	2564	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

6370122230 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: Citrullinated histone H3, NETosis, Acute respiratory distress syndrome, Sepsis

Nuntanuj Vutthikraivit : Bronchoalveolar lavage and serum citrullinated histone H3 concentrations differentiate patients with sepsis versus non-sepsis-induced acute respiratory distress syndrome.

Advisor: Prof. NUTTAPONG CHAIMJARIYATAM, M.D. Co-advisor: Monvasi Pachinburavan, M.D.

Background: Sepsis-induced acute respiratory distress syndrome (sepsis-induced ARDS) is associated with significant in-hospital mortality. According to current evidence, neutrophil extracellular traps (NETs) mediate alveolar-endothelial damage, leading to acute lung injury. Citrullinated histone H3 (CitH3), which is increased in patients with septic shock, is highly involved in a program for formation of NETs. We aim to differentiate patients with sepsis versus non-sepsis- induced ARDS by using CitH3 in serum and bronchoalveolar lavage (BAL).

Methods: Retrospective analysis of prospectively collected samples including clinical data and laboratory characteristics was conducted between June 2021 and February 2022. Intubated patients with ARDS defined by Berlin criteria were enrolled. Levels of CitH3 in both serum and BAL were performed with Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) developed in house. The etiology of ARDS was based on microbiological evidence and primary physician's diagnosis.

Results: There was no significant difference of both serum and BAL CitH3 concentration between sepsis-induced ARDS and non-sepsis-induced ARDS patients [median (IQR): serum CitH3 118.4 ng/ml (63.13-215.57) vs 63.3 ng/ml (38.86-89.4), $p=0.15$; BAL CitH3 61.92 ng/ml (42.22-106.98) vs 41.25 ng/ml (28.19-50.1), $p=0.23$]. There was positive correlation between levels of CitH3 in serum and BAL ($r_s = 0.77$, $p = 0.005$). No correlation was observed between levels of CitH3 in serum and severity of lung injury defined by P:F ratio, APACHE score and SOFA score.

Conclusion: This finding suggests that levels of CitH3 in both serum and BAL tend to be higher in the patients with sepsis-induced ARDS. However, the levels did not reach statistical significance. Additionally, serum CitH3 concentration is positively correlated with BAL CitH3 concentration. Data interpretation was limited due to small sample size resulting in reduced power of the study. Future investigations with greater sample size are required to evaluate CitH3 patterns of BAL in the patients with ARDS.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2021

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เพราะได้รับความกรุณา แนะนำ ช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ศ.นพ.ณัฐพงษ์ เจียมจริยธรรม และ อ.พญ.มนวสิ ปาจินบุรวรรณ์ หน่วยโรคระบบการหายใจและวิกฤตโรคระบบการหายใจ สาขาวิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ซึ่งผู้ศึกษารู้สึกซาบซึ้งและเป็นพระคุณอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ผู้ศึกษาขอขอบพระคุณ ผศ.พญ.เลลानी ไพฑูรย์พงษ์ หน่วยโรคติดเชื้อ สาขาวิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้กรุณาให้แนวคิด ข้อเสนอแนะหลายประการ ทำให้งานวิจัยฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ.นพ.ดร.อัษฎาศรี ลิฬหนิชกุล และนายอวิรุทธ์ เจริญสรรพกิจ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางการวิจัยแบบปริวรรตในโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และโรคทางระบบภูมิคุ้มกัน วิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาช่วยเหลืออุปกรณ์ศึกษาทดลองในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณกองทุนรัชดาภิเษกสมโภชที่ให้การสนับสนุนงบประมาณรายจ่าย
สุดท้ายขอขอบคุณผู้ป่วยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จสมบูรณ์

นันทนัช วุฒิไกรวิทย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 คำถามการวิจัย (Research questions).....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.4 สมมุติฐาน (HYPOTHESIS).....	3
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (CONCEPTUAL FRAMEWORK).....	3
1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ.....	3
1.7 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม.....	4
1.8 ข้อจำกัดทางการวิจัย (LIMITATION).....	5
1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (EXPECTED BENEFIT AND APPLICATION).....	5
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	6
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	9
3.1 รูปแบบการวิจัย (RESEARCH DESIGN).....	9

ประชากร	9
ประชากรเป้าหมาย (Target population).....	9
ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (Study population).....	9
เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษา (Inclusion criteria)	9
เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria).....	9
3.2 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational definitions).....	10
3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง	10
3.4 การดำเนินการวิจัย.....	11
การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพที่เหลือ	12
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis and Statistics).....	12
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	13
4.1 ข้อมูลทั่วไปและลักษณะพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย	13
4.2 ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของ CitH3 (CitH3 concentration) ในน้ำเหลือง (serum) และในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม (BAL)	15
4.3 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม	16
4.4 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและความรุนแรงของการบาดเจ็บของปอดนิยามโดยใช้สัดส่วนระหว่างความดันของออกซิเจนในเลือดแดงเทียบกับสัดส่วนออกซิเจนที่หายใจ (PaO ₂ :FiO ₂ , P:F ratio) ที่ลดลง	17
4.5 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและ APACHE score	18
4.6 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและ SOFA score	19
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	20
5.1 สรุปผลการวิจัย	20

5.2 อภิปรายผลการวิจัย	20
5.3 ข้อเสนอแนะ	22
5.4 ประโยชน์ในการนำไปใช้	22
บรรณานุกรม.....	23
ประวัติผู้เขียน.....	27



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

	หน้า
Table 1 แสดงข้อมูลทั่วไปและลักษณะพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย	14
Table 2 แสดงรายละเอียดวินิจฉัยสุดท้ายและจำนวนผู้ป่วยในแต่ละวินิจฉัย	14
Table 3 แสดงปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน	14



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
Figure 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย	3
Figure 2 แสดงการคำนวณจำนวนตัวอย่างที่ต้องการในการศึกษา.....	10
Figure 3 แสดงระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบาก เฉียบพลันจากการติดเชื้อและผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ	15
Figure 4 แสดงระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม ในผู้ป่วยกลุ่มอาการ หายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติด เชื้อ.....	16
Figure 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและระดับความ เข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม.....	17
Figure 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและความรุนแรง ของการบาดเจ็บของปอดนิยามโดย P:F ratio ที่ลดลง	17
Figure 7 แสดงอัตราส่วนระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองต่อ P:F ratio	18
Figure 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลือง และ APACHE score.....	19
Figure 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและ SOFA score	19

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผู้ป่วยที่มีกลุ่มอาการหายใจลำบาก (Acute respiratory distress syndrome) จำเป็นต้องใส่เครื่องช่วยหายใจ (Mechanical ventilation) ถือได้ว่าอยู่ในภาวะเจ็บป่วยวิกฤต (Critical illness) ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการเสียชีวิตในโรงพยาบาล (Hospital mortality) 46.1% ในกรณีที่มีระดับรุนแรงมาก (Severe ARDS) และ 34.9% ในกรณีที่ระดับรุนแรงน้อย (Mild ARDS)⁽¹⁾ สาเหตุของภาวะนี้สามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุโดยสามารถแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มหลักคือ สาเหตุจากการติดเชื้อ (Sepsis-induced ARDS) หรือสาเหตุที่ไม่ใช่จากการติดเชื้อ (Non-sepsis-induced ARDS) เช่นจากการอักเสบของหลอดเลือดฝอยในปอด (Pulmonary vasculitis) เกิดเลือดออกในเนื้อปอดแบบแพร่กระจาย (Diffuse alveolar hemorrhage) การบาดเจ็บ (Trauma) จมน้ำ (Drowning) การได้รับเลือดและส่วนประกอบของเลือด (Blood transfusion) ยาและสารเคมี (Drug overdose and inhalation) การแพร่กระจายของมะเร็ง (Metastatic cancer) โรคโอแอลดี (Interstitial lung disease, ILD) เป็นต้น จากการศึกษา The Large Observational Study to Understand the Global Impact of Severe Acute Respiratory Failure (LUNG SAFE)⁽¹⁾ พบว่ากลุ่มอาการหายใจลำบากที่เกิดจากสาเหตุการติดเชื้อในปอด (Pneumonia) 59.4% และสาเหตุการติดเชื้อนอกปอด (Extrapulmonary sepsis) 16.0% รวมเป็น 75.4% การวินิจฉัยแยกสาเหตุกลุ่มอาการหายใจลำบากจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ อาศัยจากการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจากน้ำล้างหลอดลมและถุงลม (Bronchoalveolar lavage, BAL) ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจากเลือดและน้ำเหลือง (Blood and serum) ผลตรวจทางเซรุ่มวิทยา (Serology)

ปัจจุบันยังไม่มีตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biomarker) ที่ใช้วินิจฉัย (Diagnosis) แยกผู้ป่วยสองกลุ่มนี้ออกจากกันได้อย่างรวดเร็ว รวมถึงตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่สามารถบอกพยากรณ์โรค (Prognosis) เพื่อนำไปสู่การวินิจฉัย รักษาและป้องกันการบาดเจ็บของปอดที่จะเกิดขึ้นในเวลาต่อมาอย่างมีประสิทธิภาพ จึงเป็นที่มาของการศึกษาการทำงานของเซลล์นิวโทรฟิล (Neutrophil) ซึ่งเป็นเซลล์ด่านแรกในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการบาดเจ็บของปอดระยะเฉียบพลัน (Acute lung injury)^(2, 3) เพื่อหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพใช้สำหรับวินิจฉัยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อ

1.2 คำถามการวิจัย (Research questions)

คำถาม (หลัก)

ระดับ Cith3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันสามารถแยกสาเหตุการเกิดกลุ่มอาการนี้ว่าสาเหตุเป็นจากการติดเชื้อได้หรือไม่

คำถาม (รอง)

1. ระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันสามารถแยกสาเหตุการเกิดกลุ่มอาการนี้ว่าสาเหตุเป็นจากการติดเชื้อได้หรือไม่
2. ระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองและระดับ Cith3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อมีความสัมพันธ์ไปในแนวทางเดียวกันหรือไม่
3. ระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันตาม Berlin definition หรือไม่
4. ระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคโดยการประเมินด้วย Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score หรือไม่
5. ระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคโดยการประเมินด้วย Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์(หลัก)

เพื่อศึกษาความสามารถของระดับ Cith3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมในการวินิจฉัยแยกกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อมีความสัมพันธ์กับกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ

วัตถุประสงค์(รอง)

1. เพื่อศึกษาความสามารถของระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองในการวินิจฉัยแยกกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อมีความสัมพันธ์กับกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองและระดับ Cith3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมว่ามีความสัมพันธ์ไปในแนวทางเดียวกันหรือไม่
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ Cith3 ในน้ำเหลืองกับความรุนแรงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันตาม Berlin definition ⁽⁴⁾

4. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ CitH3 ในน้ำเหลืองกับความรุนแรงของโรคโดยการประเมินด้วย Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score
5. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ CitH3 ในน้ำเหลืองกับความรุนแรงของโรคโดยการประเมินด้วย Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score

1.4 สมมุติฐาน (HYPOTHESIS)

ระดับ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันสามารถแยกสาเหตุการเกิดกลุ่มอาการนี้ว่าสาเหตุเป็นจากการติดเชื้อได้

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (CONCEPTUAL FRAMEWORK)

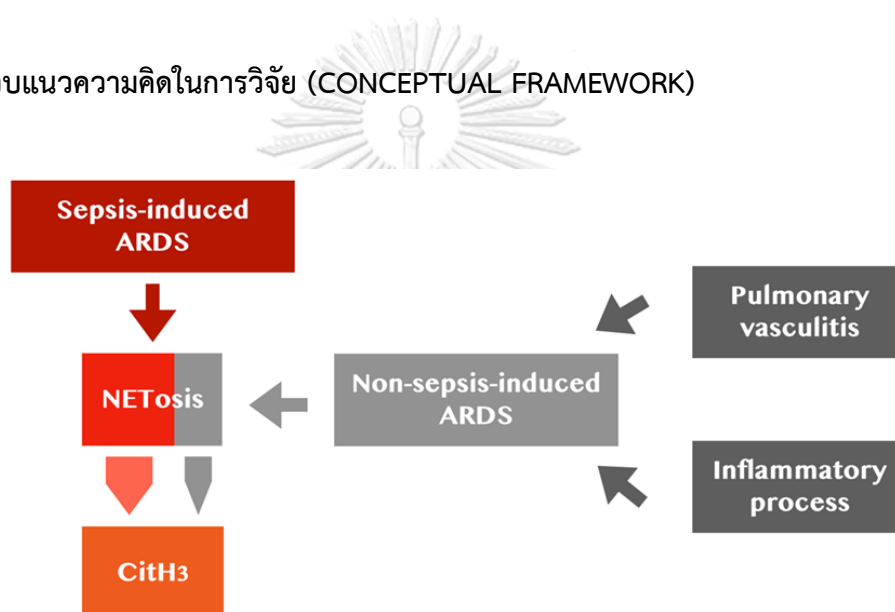


Figure 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การศึกษาทั้งหมดจะต้องผ่านกระบวนการขอความยินยอมให้เข้าร่วมการวิจัย (Informed consent) จึงเข้าสู่การศึกษา โดยจะมีการบันทึกข้อมูลทางประชากรและตัวแปรทางคลินิก (Demographics and clinical and laboratory variables) ที่สำคัญตามแบบฟอร์มสำหรับบันทึกข้อมูล (Case record form) น้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของผู้ป่วย Sepsis-induced ARDS และ Non-sepsis-induced ARDS ทั้ง 2 กลุ่ม กลุ่มละ 16 คนจะถูกนำมาตรวจสอบปริมาณ CitH3 โดยวิธีอีไลซา (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) โดยในการเก็บน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของผู้ป่วยจะปฏิบัติตามวิธีการมาตรฐาน^(5, 6)

1. Wedge กล้องส่องทางเดินหายใจที่หลอดลมส่วนที่ต้องการเก็บสิ่งส่งตรวจ (Wedge the bronchoscopy in the affected segment)
2. ใส่ sterile saline solution ปริมาณ 40 มิลลิลิตร (Instill 40 mL of sterile saline solution)
3. ดูดน้ำล้างหลอดลมและถุงลมอย่างระมัดระวัง (Manually aspirate the bronchoalveolar lavage fluid gently)
4. ใส่ saline solution ครั้งละ 20 มิลลิลิตร ดูดน้ำล้างหลอดลมและถุงลมหลังใส่ solution แต่ละครั้ง จนครบ 120 มิลลิลิตร (Instill saline solution in 20 mL aliquots, aspirating after each aliquot, until 120 mL are instilled)
5. ในกรณีที่น้ำล้างที่เก็บได้น้อยกว่า 40 มิลลิลิตร ให้ใส่ saline solution ครั้งละ 20 มิลลิลิตร จนได้น้ำล้างหลอดลมและถุงลม 40 มิลลิลิตร โดยที่ไม่ใส่ saline solution เกิน 200 มิลลิลิตร (If < 40 mL of effluent are retrieved up to a maximum of 200 mL instilled)

1.7 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

1. หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person)

ผู้วิจัยขอความยินยอมจากอาสาสมัครที่เข้าร่วมในการวิจัยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมกรณีที่อาสาสมัครไม่สามารถตัดสินใจเองได้ ผู้วิจัยจะเคารพในการเก็บรักษาความลับของอาสาสมัคร ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา รวมทั้งประวัติของผู้ป่วยจะถูกเก็บรักษาเป็นความลับโดยคำนึงถึงสิทธิผู้ป่วยเป็นสำคัญ และการนำเสนอผลการศึกษาก็จะเป็นภาพรวมของการศึกษาทั้งหมด ซึ่งจะไม่นำเสนอข้อมูลรายบุคคล โดยอาสาสมัครหรือผู้แทนโดยชอบธรรมที่อาสาสมัครไม่สามารถตัดสินใจเองได้ จะได้รับข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับงานวิจัย วัตถุประสงค์และประโยชน์ที่ได้รับจากการเข้าร่วมงานวิจัย รวมถึงขั้นตอนในการเก็บน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลม ภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้ระหว่างการทำการหัตถการ อาสาสมัครหรือผู้แทนโดยชอบธรรมที่อาสาสมัครไม่สามารถตัดสินใจเองได้ ได้ตัดสินใจการเข้าร่วมโครงการวิจัย ซึ่งตรงกับหลักความเคารพในบุคคล

2. หลักการให้ประโยชน์ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence)

การวิจัยนี้มีความเสี่ยงจากการทำการหัตถการส่องกล้องทางเดินหายใจ อย่างไรก็ตามหัตถการที่ทำนี้เป็นส่วนหนึ่งในมาตรฐานการดูแลรักษาอาสาสมัครตามข้อบ่งชี้ทางการแพทย์ปัจจุบัน จึงไม่ถือว่าการเก็บวิจัยของโครงการนี้ได้เพิ่มความเสี่ยงโดยไม่จำเป็นแก่อาสาสมัคร ตรงกับหลักการไม่ก่อให้เกิดอันตราย สำหรับหลักการให้ประโยชน์ อาสาสมัครที่เข้าร่วมในการวิจัยจะได้รับการ

ตรวจหาปริมาณของ CitH3 ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ และความรุนแรงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน นำไปสู่การรักษาที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพต่อไป

3. หลักความยุติธรรม (Justice)

คือมีเกณฑ์การคัดเข้าและออกที่ชัดเจนดังที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น มีการพิจารณาถึงความเสี่ยงและประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการวิจัย และอาสาสมัครจะได้รับประโยชน์จากการวิจัย

1.8 ข้อจำกัดทางการวิจัย (LIMITATION)

จำนวนกลุ่มตัวอย่างไม่ได้ตามเป้าหมาย อาจดำเนินการโดยขยายระยะเวลาการเก็บข้อมูลให้นานขึ้น

1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (EXPECTED BENEFIT AND APPLICATION)

แนวทางพัฒนาการศึกษาเกี่ยวกับ CitH3 และการตรวจระดับ CitH3 ทางห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ นำไปสู่การวินิจฉัยสาเหตุแยกกลุ่มที่เกิดจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ การรักษาและป้องกันการบาดเจ็บของปอดที่จะเกิดขึ้นในเวลาต่อมาต่อไป



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การตอบสนองของเซลล์นิวโทรฟิลกระตุ้นให้เกิดกระบวนการอักเสบ (Inflammatory process) เกิดการบาดเจ็บของถุงลม (Alveolar damage) และเกิดการบาดเจ็บของหลอดเลือดฝอย (Endothelial injury) ตามมา กระบวนการนี้สามารถเกิดได้ผ่านทั้งทางโปรตีนที่ใช้ในการสื่อสารภายในระบบภูมิคุ้มกันที่เรียกว่าไซโตไคน์ (Cytokines) เช่น TNF, IL-1, IL-6, IL-8 โปรตีนแกรนูล (Granules protein) โมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการยึดกันของเซลล์ (Cell adhesion molecules) ⁽³⁾ จากการศึกษาที่ผ่านมา⁽⁷⁾ ยังไม่มีไซโตไคน์หรือโปรตีนใดที่สามารถใช้วินิจฉัยและแยกสาเหตุการเกิดกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อได้ อย่างไรก็ตามปัจจุบันได้มีการค้นพบกระบวนการที่ทำให้เกิดภาวะการบาดเจ็บของปอดจากเซลล์นิวโทรฟิลผ่านการสร้าง Neutrophil extracellular traps (NETs) ⁽²⁾

Neutrophil extracellular traps (NETs) คือโครงสร้างที่อยู่ภายนอกเซลล์ (Extracellular) ลักษณะคล้ายตาข่าย ประกอบไปด้วยส่วนของไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) และ โปรตีนแกรนูล (Granule proteins) โดยมีแกนกลางเป็นโครมาตินที่ผ่านการคลายตัวแล้ว (Decondensed chromatin) ⁽⁸⁾ การเกิด NETs ส่วนใหญ่เกิดจากกลไกที่เรียกว่า NETosis เป็นกลไกการตายของเซลล์นิวโทรฟิล (Neutrophil) อย่างเป็นระบบ (Programmed cell death) ทำให้เกิดการแยกส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane) และหลัง NETs ออกมานอกเซลล์ ⁽⁹⁾ นอกจากนี้ NETs ส่วนน้อยสามารถเกิดได้จากกลไกการสลายของนิวโทรฟิลที่ยังมีชีวิต (Non-lytic NETosis, rapid release from live cells) และประกอบขึ้นเป็น NETs บริเวณนอกเซลล์ในภายหลัง ^(10, 11)

จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่า NETs เป็นส่วนหนึ่งในการเกิดพยาธิสภาพหลายอย่างที่สำคัญในร่างกาย (NET-mediated pathology) ในด้านการติดเชื้อ NETs ยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย (Bacteria) เชื้อรา (Fungi) รวมถึงเชื้อไวรัส (Viruses) แต่ในขณะเดียวกัน NETs เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบในภาวะติดเชื้อ (Sepsis) ⁽¹²⁾ โดยการศึกษา NETosis ในสัตว์ส่วนที่เพิ่มขึ้นส่งเสริมให้มีการทำลายอวัยวะในภาวะติดเชื้อแบคทีเรีย (Sepsis-associated organ dysfunction) เช่น การบาดเจ็บทางปอดเฉียบพลัน (Acute lung injury) ภาวะไตวายเฉียบพลัน (Acute kidney injury) ส่งผลต่ออัตราการเสียชีวิต (Mortality) ⁽¹³⁻¹⁷⁾ ในกรณีการเกิดภาวะภูมิคุ้มกันต้านทานเนื้อเยื่อตนเอง NETs อาจเป็นต้นกำเนิดแอนติเจนร่างกายตนเอง (Source of self-antigen) นำไปสู่การเกิดโปรตีนที่ทำปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อตนเองหรือที่เรียกว่า ออโตแอนติบอดี

(Autoantibody) โดยเฉพาะอโตแอนติบอดีที่สัมพันธ์กับโปรตีนจากนิวโตรฟิล (Autoantibodies against neutrophil-derived proteins) มีหลักฐานพบการสะสมของ NET (NET deposition) ที่ชิ้นเนื้อไต (Kidney biopsy samples) จากผู้ป่วยวินิจฉัย Antineutrophil cytoplasmic autoantibody (ANCA) -associated vasculitis ซึ่งมีอโตแอนติบอดีต่อโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของ NETs คือ Myeloperoxidase และ Proteinase 3^(18, 19) นอกจากนี้ NETs ยังเกี่ยวข้องกับการเกิดลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือด (Thrombosis) การเกิดการบาดเจ็บจากการไหลย้อนของเลือดภายหลังการขาดเลือด (Ischemia-reperfusion injury) การแพร่กระจายของมะเร็ง (Tumor metastasis)⁽¹²⁾ กลไกควบคุม NETosis ในระดับโมเลกุล (Molecular mechanisms regulating NETosis) เกิดจากการจับกันของตัวรับ (Receptors) และสิ่งกระตุ้นที่มีความหลากหลายทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อไวรัส สารเชิงซ้อนทางภูมิคุ้มกัน (Immune complexes) ส่งสัญญาณไปปลายทางผ่านโปรตีนปฏิบัติงาน (Effector proteins) หลายชนิด หลายเส้นทาง (Pathway) แตกต่างกันไปตามสิ่งที่มีมากระตุ้น นำไปสู่กระบวนการคลายตัวของโครมาติน (Chromatin decondensation) การดัดแปลงโครมาติน (Chromatin modification) การเกิดการเชื่อมโยงของโปรตีน (Crosslink NET proteins) และการคงตัวของ NET (NET stability) ในกรณีที่เกิดการติดเชื้อการดัดแปลงโครงสร้างโครมาตินเกิดผ่านการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโน (Amino acid) จากอาร์จินีน (Arginine) เป็นซิทรูลีน (Citrulline) ของโปรตีนฮิสโตน (Histone) ที่เรียกว่า Histone deamination หรือ citrullination เป็นหลักซึ่งกระบวนการนี้ขับเคลื่อนด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา Protein-arginine deiminase type 4 (PAD4)^(12, 20) เกิดเป็นโมเลกุลที่สำคัญในกลไก NETosis^(8, 21-23) ชื่อ Citrullinated histone H3 (CitH3) โดยในผู้ป่วยติดเชื้อโปรตีนฮิสโตนที่ไหลเวียนอย่างอิสระในกระแสเลือดถือเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxic) เนื่องจากมีคุณสมบัติทำลายความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane integrity)^(24, 25)

จากการศึกษาโปรตีนหลายชนิดที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ NETosis พบข้อมูลเฉพาะระดับปริมาณของ CitH3 ในน้ำเหลือง (Serum) ที่สูงขึ้นในภาวะที่มีการติดเชื้อมีหลักฐานแสดงความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค การบาดเจ็บทางปอดเฉียบพลันและอัตราการเสียชีวิต^(14, 15, 26) ได้มีการศึกษาในหนูทดลองที่ถูกกระตุ้นให้เกิดภาวะติดเชื้อและการบาดเจ็บทางปอดด้วย lipopolysaccharide (LPS) พบว่ากระบวนการอักเสบลดลงหลังจากยับยั้งการทำงานของ CitH3 ทั้งโดยวิธีการยับยั้งตัวเร่งปฏิกิริยา Protein-arginine deiminase (PAD) ที่สำคัญต่อกระบวนการ citrullination หรือการให้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (Monoclonal antibody) ต่อ CitH3 ส่งผลให้การบาดเจ็บของปอดและอัตราการเสียชีวิตของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด

การติดเชื้อลดลง^(27, 28) ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลการศึกษาระดับ CitH3 ทั้งในน้ำเหลืองและน้ำล้าง
หลอดลมและถุงลม (Serum and BAL) ในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติด
เชื้อและไม่ติดเชื้อ จึงเป็นที่มาของการศึกษาความสามารถของระดับซีทรูลินเนตฮีสโตนเฮกซารีใน
น้ำล้างหลอดลมและน้ำเหลืองในการแยกสาเหตุกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติด
เชื้อและไม่ติดเชื้อ



บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (RESEARCH DESIGN)

การวิเคราะห์ย้อนหลังของข้อมูล ตัวอย่างน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลมที่เก็บรวบรวมไปข้างหน้าจากการศึกษาเชิงสังเกต (Retrospective analysis of prospectively collected data and BAL samples and serum samples obtained during a consecutive enrollment, observational cohort study)

ประชากร

ประชากรเป้าหมาย (Target population)

ผู้ป่วยทุกรายที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤต (Intensive care unit) โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (Study population)

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันตาม Berlin definition กรณีที่เป็น Sepsis-induced ARDS นิยามการวินิจฉัย Sepsis อ้างอิงตาม Sepsis-3 ⁽²⁹⁾

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าการศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 18 ปี ถึงอายุ 80 ปี
2. ผู้ป่วยที่ใส่ท่อช่วยหายใจและใช้เครื่องช่วยหายใจ (Tracheal intubation and mechanical ventilation) ภายใน 7 วันนับจากการเข้าอนโรพยาบาลในหอผู้ป่วยวิกฤต

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยตั้งครรภ์
2. ผู้ป่วยที่มีประวัติปลูกถ่ายไขกระดูกหรืออวัยวะ
3. ผู้ป่วยที่มีสัญญาณชีพไม่คงที่ (Hemodynamic instability)
4. ผู้ป่วยที่ใช้ความเข้มข้นของออกซิเจน (Fraction of inspired oxygen, FiO₂) มากกว่า 0.8 หรืออยู่ในระหว่างการรักษาโดยจัดท่านอนคว่ำ (Prone position)
5. ผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกง่ายที่รุนแรงและไม่สามารถแก้ไขได้ (Severe coagulopathy)

3.2 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational definitions)

1. Acute respiratory distress syndrome, ARDS อ้างอิงตาม Berlin Definition
2. Sepsis อ้างอิงตาม The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock

3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

สำหรับจำนวนของกลุ่มตัวอย่างนั้นได้คำนวณจากจำนวนของผู้ป่วยตามสถิติจากห้องส่องกล้องทางเดินหายใจ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทยที่สามารถเก็บข้อมูลครบได้ภายใน 6 เดือนร่วมกับข้อมูลจากการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับความสามารถของการใช้ CitH3 ในน้ำเหลืองจำแนกผู้ป่วยที่มีภาวะช็อกจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อและความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค (Serum citrullinated histone H3 concentrations differentiate patients with septic versus non-septic shock and correlate with disease severity) ⁽²⁶⁾ ซึ่งพบว่าระดับ CitH3 ในน้ำเหลืองเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในการจำแนกผู้ป่วยที่มีภาวะช็อกจากการติดเชื้อ มีความไวและความจำเพาะ (Sensitivity and specificity) ประมาณ 89% และมีความสามารถในการจำแนก (Discriminative ability) ประเมินโดย the area under the receiver operating characteristics curve (AROC) ที่ 91% ในกรณีที่ใช้ R เพื่อคำนวณ Power ของ ROC กำหนด 1:1 ratio ของกลุ่มผู้ป่วย Sepsis-induced ARDS และ Non-sepsis-induced ARDS ประกอบกับการศึกษาอ้างอิงข้างต้นจะได้ว่า กลุ่มตัวอย่างจำนวนกลุ่มละ 16 คนจะให้ >99% power สำหรับ AROC แบบเดียวกันที่ 2-sided significance level ที่ 5% ดังแสดงใน Figure 2

```
> power.roc.test(ncases=16, ncontrols=16, auc=0.91, sig.level=0.05)

One ROC curve power calculation

      ncases = 16
    ncontrols = 16
         auc = 0.91
    sig.level = 0.05
         power = 0.9997332
```

Figure 2 แสดงการคำนวณจำนวนตัวอย่างที่ต้องการในการศึกษา

3.4 การดำเนินการวิจัย

ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การศึกษาทั้งหมดจะต้องผ่านกระบวนการขอความยินยอมให้เข้าร่วมการวิจัย (Informed consent) จึงเข้าสู่การศึกษา โดยจะมีการบันทึกข้อมูลทางประชากรและตัวแปรทางคลินิก (Demographics and clinical and laboratory variables) ที่สำคัญตามแบบฟอร์มสำหรับบันทึกข้อมูล (Case record form)

น้ำเหลืองจะเก็บจากเลือดของผู้ป่วยปริมาณ 10 มิลลิลิตรนำมาปั่นที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที จากนั้นแยกเก็บเฉพาะส่วนของเหลวด้านบน (supernatant) เพื่อนำไปวัดระดับ CitH3 โดยเลือดที่เก็บในโครงการจะเพิ่มจากการรักษามาตรฐาน ส่วนการเก็บน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของผู้ป่วยถือเป็นส่วนหนึ่งของการรักษามาตรฐาน เนื่องจากการส่งกล้องทางเดินหายใจเป็นไปตามข้อบ่งชี้ทางการแพทย์ วิธีการเก็บน้ำล้างหลอดลมและถุงลมจะปฏิบัติตามรายละเอียดดังต่อไปนี้ เพื่อให้มีความเป็นมาตรฐานเดียวกันตลอดทั้งโครงการและเป็นไปตามเกณฑ์ข้อกำหนดของ American Thoracic Society^(5, 6)

1. Wedge กล้องส่องทางเดินหายใจที่หลอดลมส่วนที่ต้องการเก็บส่งตรวจ (Wedge the bronchoscopy in the affected segment)
2. ใส่ sterile saline solution ปริมาณ 40 มิลลิลิตร (Instill 40 mL of sterile saline solution)
3. ดูดน้ำล้างหลอดลมและถุงลมอย่างระมัดระวัง (Manually aspirate the bronchoalveolar lavage fluid gently)
4. ใส่ saline solution ครั้งละ 20 มิลลิลิตร ดูดน้ำล้างหลอดลมและถุงลมหลังใส่ solution แต่ละครั้ง จนครบ 120 มิลลิลิตร (Instill saline solution in 20 mL aliquots, aspirating after each aliquot, until 120 mL are instilled)
5. ในกรณีที่น้ำล้างที่เก็บได้น้อยกว่า 40 มิลลิลิตร ให้ใส่ saline solution ครั้งละ 20 มิลลิลิตร จนได้น้ำล้างหลอดลมและถุงลม 40 มิลลิลิตร โดยที่ไม่ใส่ saline solution เกิน 200 มิลลิลิตร (If < 40 mL of effluent are retrieved up to a maximum of 200 mL instilled)

น้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของผู้ป่วย Sepsis-induced ARDS และ Non-sepsis-induced ARDS ทั้ง 2 กลุ่ม กลุ่มละ 16 คนจะถูกนำมาตรวจสอบปริมาณ CitH3 โดยวิธีอีไลซา (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) ซึ่งเป็นชุดตรวจวิเคราะห์ที่จัดซื้อจากบริษัท (commercial ELISA kit) และ ชุดตรวจวิเคราะห์ที่ทำขึ้นเองภายในห้องปฏิบัติการวิจัย โดยผู้วิจัยมีแนวทางที่จะพัฒนาชุดตรวจวิเคราะห์ ELISA ด้วยหลักการแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีน CitH3 ทั้งหมด 4 ตำแหน่ง อยู่ในระหว่างการดำเนินงาน

ในส่วนของการวินิจฉัยพยาธิสภาพของปอดว่ามีสาเหตุมาจากการติดเชื้อหรือไม่นั้นจะอาศัยหลักฐานทางจุลชีววิทยา (Microbiological evidence) การวินิจฉัยจากแพทย์เจ้าของไข้ในหน่วยผู้ป่วยหนักและแพทย์ในกลุ่มวิจัย หากมีความเห็นไม่ตรงกันให้ตัดสินโดยแพทย์ร่วมวิจัยคนที่ 3

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพที่เหลือ

สิ่งตัวอย่าง ได้แก่ น้ำล้างหลอดลมและถุงลม น้ำเหลือง และเซลล์ จะถูกเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนสิ้นสุดโครงการวิจัย ก่อนกำจัดทิ้งด้วยวิธีการกำจัดสารชีวภาพติดเชื้อ โดยการเก็บรักษานี้ได้รับคำยินยอมจากผู้ป่วยแล้ว ทั้งนี้ผู้วิจัยไม่มีการนำสิ่งตัวอย่างไปใช้เพื่องานวิจัยอื่น ๆ หากมีการนำไปใช้จะทำการยื่นขอจริยธรรมใหม่ตามระเบียบ

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis and Statistics)

ความสามารถของระดับ CitH3 ในน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลมในการแยกสาเหตุกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ จะนำมาวิเคราะห์โดยวิธี Mann-Whitney U test และ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับ CitH3 ในน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมและถุงลมและความรุนแรงของพยาธิสภาพปอดและความรุนแรงของโรคโดยใช้ Spearman's rank correlation coefficient

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ข้อมูลทั่วไปและลักษณะพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย

การศึกษานี้ได้คัดเลือกผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตัวในหอผู้ป่วยวิกฤต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2564 ถึง กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 โดยมีผู้ผ่านเกณฑ์คัดเลือกเข้าการวิจัย และยินยอมเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 12 ราย เป็นผู้ชาย 7 ราย ผู้หญิง 5 ราย แยกเป็นผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อ (sepsis-induced ARDS) จำนวน 5 ราย และผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ (non-sepsis-induced ARDS) จำนวน 7 ราย จากผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อทั้งหมด 5 ราย มีผู้ป่วยจำนวน 4 รายที่ได้ทำการส่องกล้องทางเดินหายใจ

อายุเฉลี่ยของผู้ป่วย ความรุนแรงของการบาดเจ็บของปอดซึ่งนิยามโดยใช้สัดส่วนระหว่างความดันของออกซิเจนในเลือดแดงเทียบกับสัดส่วนออกซิเจนที่หายใจ ($PaO_2:FiO_2$, P:F ratio) ที่ลดลง ระยะเวลาที่ผู้ป่วยเข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤต ดัชนีวัดความรุนแรงของโรคทั้ง Acute Physiology and Chronic Health Evaluation score (APACHE score) และ Sequential Organ Failure Assessment score (SOFA score) ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและจากการไม่ติดเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน Table 1 สำหรับวินิจฉัยสุดท้ายของผู้ป่วยทั้งหมดที่เข้าร่วมการศึกษาทั้ง 12 ราย และจำนวนผู้ป่วยในแต่ละวินัจฉัย รายละเอียดดังแสดงใน Table 2 ปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน รายละเอียดดังแสดงใน Table 3

Table 1 แสดงข้อมูลทั่วไปและลักษณะพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย

ข้อมูลส่วนบุคคล	ผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจ	ผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจ	<i>p</i> value
	ลำบากเฉียบพลัน จากการติดเชื้อ (<i>n</i> = 5)	ลำบากเฉียบพลัน จากการไม่ติดเชื้อ (<i>n</i> = 7)	
อายุ, ค่ามัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]	52 [35.5]	52 [35]	0.88
เพศหญิง, จำนวน (%)	2 (40)	3 (42.86)	0.69
P:F ratio, ค่ามัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]	158 [111.2]	200 [118]	0.27
ระยะเวลาในหอผู้ป่วยวิกฤต (วัน), ค่ามัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]	10 [39]	8 [14]	0.76
APACHE score, ค่ามัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]	16 [10.5]	16 [13]	0.53
SOFA score, ค่ามัธยฐาน [ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์]	4 [9.5]	5 [6]	0.76

Table 2 แสดงรายละเอียดวินิจฉัยสุดท้ายและจำนวนผู้ป่วยในแต่ละวินิจฉัย

วินิจฉัย	Sepsis-induced ARDS patients	Non-sepsis-induced ARDS patients
Pneumonia	4	
Deep neck infection	1	
Diffuse alveolar hemorrhage		3
Drug induced lung injury		2
Pulmonary contusion		1
Lymphangitis carcinomatosa		1

CHULALONGKORN UNIVERSITY

Table 3 แสดงปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน

ปัจจัยเสี่ยงของ กลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน	Sepsis-induced ARDS patients	Non-sepsis-induced ARDS patients
Direct lung injury	4	7
Indirect lung injury	1	0

4.2 ผลการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของ CitH3 (CitH3 concentration) ในน้ำเหลือง (serum) และในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม (BAL)

ระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองของกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อมีค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์) เท่ากับ 118.4 ng/ml (63.13-215.57) ส่วนระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองของกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อมีค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์) เท่ากับ 63.3 ng/ml (38.86-89.4) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสองกลุ่ม ($p=0.15$) ดังแสดงใน Figure 3

ระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อมีค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์) เท่ากับ 61.92 ng/ml (42.22-106.98) ส่วนระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมของกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อมีค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์) เท่ากับ 41.25 ng/ml (28.19-50.1) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสองกลุ่ม ($p=0.23$) ดังแสดงใน Figure 4

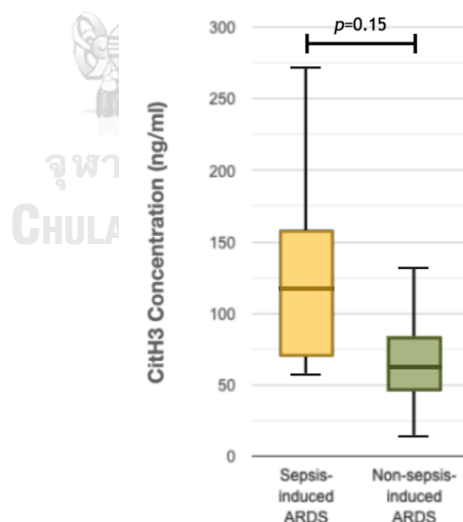


Figure 3 แสดงระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ

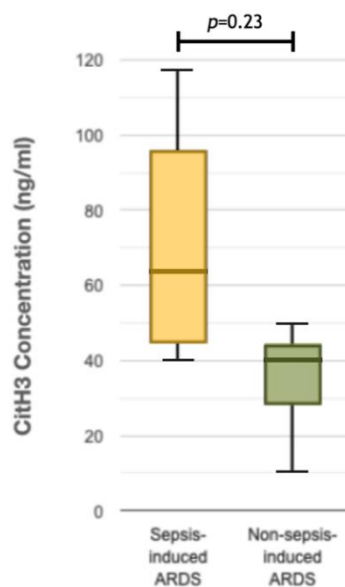


Figure 4 แสดงระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม ในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ

4.3 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและระดับความเข้มข้นในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม พบว่าค่าทั้งสองกลุ่มมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า Spearman's correlation (r_s) = 0.77 ($p = 0.005$) ดังแสดงใน Figure 5

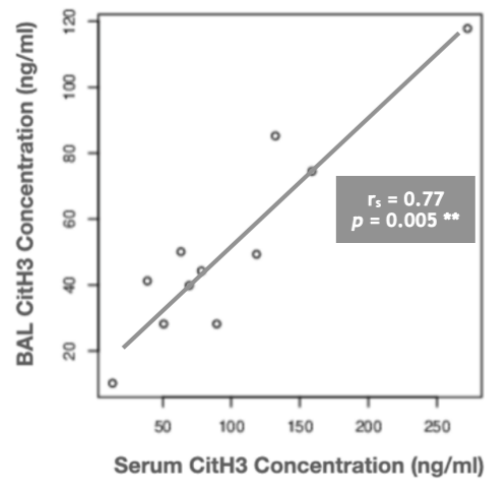


Figure 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม

4.4 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและความรุนแรงของการบาดเจ็บของปอดนิยามโดยใช้สัดส่วนระหว่างความดันของออกซิเจนในเลือดแดงเทียบกับสัดส่วนออกซิเจนที่หายใจ ($\text{PaO}_2:\text{FiO}_2$, P:F ratio) ที่ลดลง

จากการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและความรุนแรงของการบาดเจ็บของปอด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r_s = -0.56$, $p = 0.058$) ดังแสดงใน Figure 6

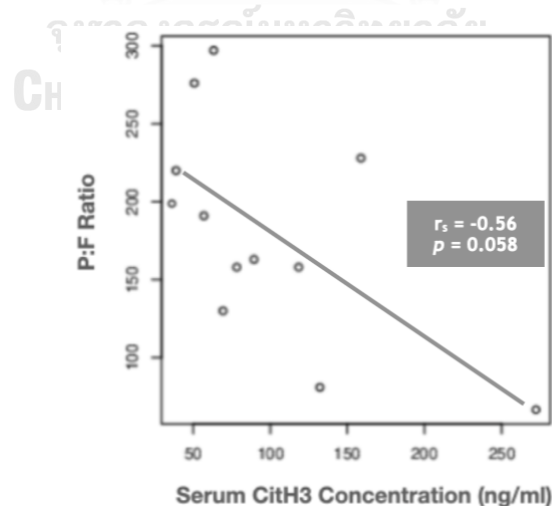


Figure 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและความรุนแรงของการบาดเจ็บของปอดนิยามโดย P:F ratio ที่ลดลง

ผลการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองต่อ P:F ratio ของผู้ป่วยแต่ละรายพบว่าค่าอัตราส่วนนี้จะสูงขึ้นอย่างชัดเจน (Levels of Serum CitH3/P:F ratio >1) โดยเฉพาะหากมีการบาดเจ็บของปอดในระดับรุนแรง (P:F ratio ≤ 100 mmHg) ทั้งในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ ดังแสดงใน Figure 7

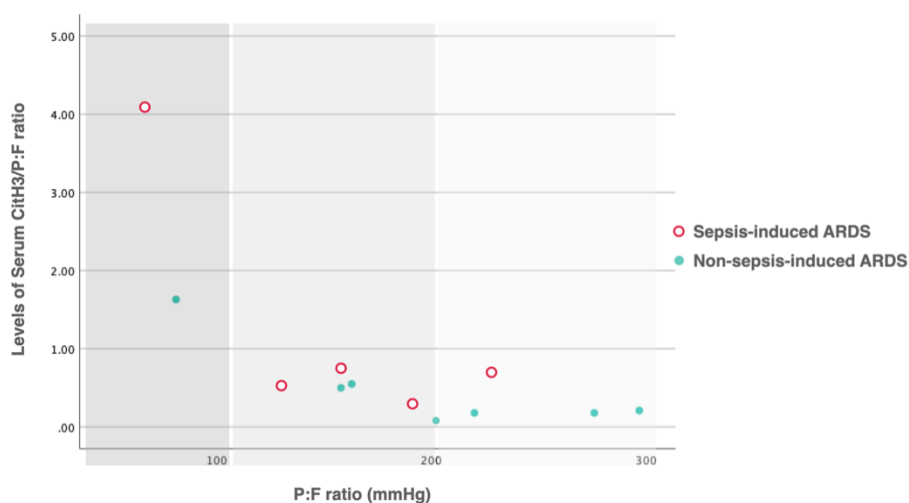


Figure 7 แสดงอัตราส่วนระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองต่อ P:F ratio ของผู้ป่วยแต่ละรายจำแนกตามระดับความรุนแรงของการบาดเจ็บของปอด

4.5 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและ APACHE score

จากการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและ APACHE score อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r_s = -0.28$, $p = 0.376$) ดังแสดงใน Figure 8

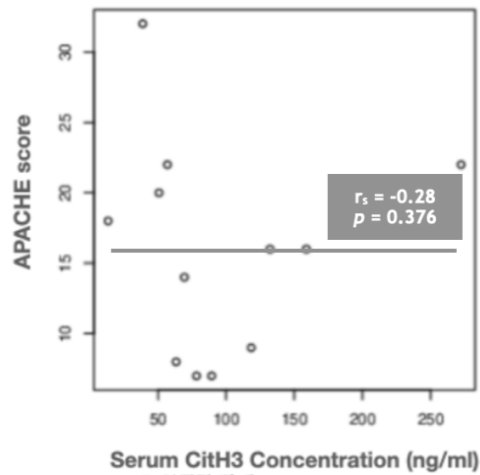


Figure 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ Cith3 ในน้ำเหลือง และ APACHE score

4.6 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ Cith3 ในน้ำเหลืองและ SOFA score

จากการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ Cith3 ในน้ำเหลืองและ SOFA score อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r_s = -0.31$, $p = 0.321$) ดังแสดงใน Figure 9

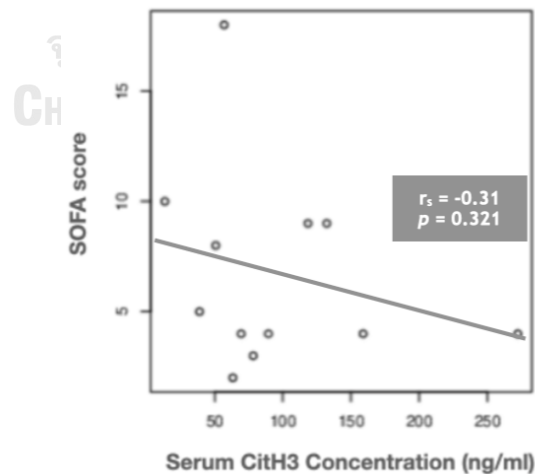


Figure 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ Cith3 ในน้ำเหลืองและ SOFA score

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าข้อมูลทั่วไปและลักษณะพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวนทั้งหมด 12 ราย แยกเป็นผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อจำนวน 5 ราย ผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อจำนวน 7 ราย ผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวนทั้งหมด 11 ราย จากทั้งหมด 12 ราย มีปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน (Risk factor for ARDS) เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของปอดโดยตรง (Direct lung injury)

สำหรับการวัดผลระดับความเข้มข้นของ CitH3 ทั้งในน้ำเหลืองและน้ำล้างหลอดลมไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

ผลจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและค่าตัวแปรทางคลินิกที่สำคัญพบว่า ระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลือง มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและอุณหภูมิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองกับค่าสัดส่วนระหว่างความดันของออกซิเจนในเลือดแดงเทียบกับสัดส่วนออกซิเจนที่หายใจ (P:F ratio) มีแนวโน้มที่จะแปรผกผันกันถึงแม้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการวิเคราะห์อัตราส่วนระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองต่อ P:F ratio ของผู้ป่วยแต่ละรายพบว่าค่าอัตราส่วนนี้มีแนวโน้มจะสูงขึ้น โดยเฉพาะหากมีการบาดเจ็บของปอดในระดับรุนแรง (P:F ratio \leq 100 mmHg) ทั้งในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและ ดัชนีชี้วัดความรุนแรงของโรคทั้ง APACHE score และ SOFA score อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

CitH3 เป็นโมเลกุลที่สำคัญในพยาธิสรีรวิทยาของการสร้าง NETs ที่เรียกว่า NETosis^(8, 23) ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะการบาดเจ็บของถุงลมและหลอดเลือดฝอยจากเซลล์นิวโทรฟิล นำไปสู่การบาดเจ็บของปอดระยะเฉียบพลัน^(2, 3) อาจรุนแรงถึงขั้นจำเป็นต้องใส่เครื่องช่วยหายใจ การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกเกี่ยวกับระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม

และน้ำเหลืองในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ โดยมีวัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อศึกษาความสามารถของระดับ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลม และในน้ำเหลืองสำหรับวินิจฉัยแยกกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อกับกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อและศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ CitH3 ในน้ำเหลืองกับตัวแปรที่สำคัญทางคลินิก ซึ่งผู้เข้าร่วมวิจัยทุกรายจะได้รับการดูแลรักษาตามมาตรฐานการรักษาในปัจจุบันและได้รับการส่งกล้องทางเดินหายใจตามข้อบ่งชี้โดยยึดความปลอดภัยของผู้ป่วยเป็นสำคัญ

จากข้อมูลทั่วไปและลักษณะพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย พบว่าผู้ป่วยเกือบทั้งหมดที่เข้าร่วมการวิจัยเป็นผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันเกี่ยวข้องกับภาวะบาดเจ็บของปอดโดยตรง และผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อมีแนวโน้มที่จะมีค่าสัดส่วนระหว่างความดันของออกซิเจนในเลือดแดงเทียบกับสัดส่วนออกซิเจนที่หายใจ (P:F ratio) ที่ต่ำกว่า และมีระยะเวลาที่ผู้ป่วยเข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤตที่นานกว่า ถึงแม้จะไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษาหลังจากวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการรวบรวมผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันที่ใส่เครื่องช่วยหายใจในหอผู้ป่วยวิกฤต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ พบว่ามีแนวโน้มที่ระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมจะสูงกว่าในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อ เปรียบเทียบกับผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการไม่ติดเชื้อ และระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองมีแนวโน้มจะสูงขึ้นชัดเจนโดยเฉพาะกรณีที่มีการบาดเจ็บของปอดอยู่ในระดับรุนแรง (P:F ratio ≤ 100 mmHg) ทั้งในผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ สอดคล้องกับพยาธิสรีรวิทยาการเกิดกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับผลของโครงสร้าง NETs ที่ผลิตจากเซลล์นิวโทรฟิล ถึงแม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันทั้งสองกลุ่มซึ่งอาจเป็นผลจากจำนวนผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้มีจำนวนน้อยกว่าเป้าหมายที่ตั้งไว้

นอกจากนี้ยังพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำล้างหลอดลมและถุงลมไปในทิศทางเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการตรวจระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองสามารถสะท้อนการบาดเจ็บและความรุนแรงของถุงลมได้

อย่างไรก็ตามผู้ป่วยเกือบทั้งหมดที่เข้าร่วมการวิจัยเป็นผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันเกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของปอดโดยตรงซึ่งอาจทำให้ระดับความเข้มข้นของ CitH3 มีแนวโน้มที่จะสูงขึ้นตามพยาธิสรีรวิทยาเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันที่ไม่เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของปอดโดยตรง (Indirect Lung injury) จำเป็นต้องมีการศึกษาแนวโน้มในทั้งผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อจำแนกตามปัจจัยเสี่ยงว่าเกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของปอดโดยตรงหรือไม่เพิ่มเติมต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากผู้เข้าร่วมการศึกษามีจำนวนน้อยและผู้ป่วยเกือบทั้งหมดที่เข้าร่วมวิจัยมีปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันจากการบาดเจ็บของปอดโดยตรงส่งผลให้การแปลผลการศึกษาที่มีข้อจำกัด จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในกลุ่มผู้ป่วยขนาดใหญ่ขึ้นและมีความหลากหลายของปัจจัยเสี่ยงของกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันมากขึ้น รวมถึงศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองและในน้ำล้างหลอดลมและถูกลดตามระยะเวลาหลังจากผู้ป่วยได้รับการรักษาที่เหมาะสม และอาจเปรียบเทียบกับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพอื่นๆ เช่น procalcitonin ร่วมด้วย

5.4 ประโยชน์ในการนำไปใช้

การศึกษานี้ถือเป็นแนวทางนำไปพัฒนาต่อยอดการตรวจระดับความเข้มข้นของ CitH3 ในน้ำเหลืองเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ โดยเฉพาะกรณีที่ไม่แน่ใจว่าสาเหตุกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันนี้เกิดจากการติดเชื้อหรือไม่ การตรวจพบว่าระดับความเข้มข้นของ CitH3 ไม่สูงอาจทำให้ผู้ป่วยกลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลันกลุ่มนี้ได้รับการรักษาที่เหมาะสม เช่น การให้สเตียรอยด์ได้รวดเร็วขึ้น นำไปสู่การป้องกันการบาดเจ็บของปอดที่จะเกิดขึ้นในเวลาต่อมา อีกทั้งเป็นการส่งเสริมการใช้ยาปฏิชีวนะในหอผู้ป่วยวิกฤตอย่างเหมาะสมเพื่อลดอุบัติการณ์ของการติดเชื้อดื้อยา นอกจากนี้การพัฒนาต่อยอดการตรวจระดับความเข้มข้นของ CitH3 เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพแล้ว CitH3 อาจเป็นเป้าหมายของการพัฒนาการรักษา (Therapeutic target) ในผู้ป่วยติดเชื้อในอนาคต อ้างอิงจากการศึกษา^(27, 28) ในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะติดเชื้อและการบาดเจ็บของปอด พบว่าการบาดเจ็บของปอดและอัตราการเสียชีวิตของหนูทดลองลดลงหลังจากยับยั้งการทำงานของ CitH3 ทั้งโดยวิธีการยับยั้งกระบวนการ citrullination หรือการให้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ CitH3

บรรณานุกรม

1. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA*. 2016;315(8):788-800.
2. Muller-Redetzky H. Targeting neutrophil extracellular traps in acute lung injury: a novel therapeutic approach in acute respiratory distress syndrome? *Anesthesiology*. 2015;122(4):725-7.
3. Grommes J, Soehnlein O. Contribution of neutrophils to acute lung injury. *Mol Med*. 2011;17(3-4):293-307.
4. Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 2012;307(23):2526-33.
5. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, du Bois RM, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185(9):1004-14.
6. Sampsonas F, Kontoyiannis DP, Dickey BF, Evans SE. Performance of a standardized bronchoalveolar lavage protocol in a comprehensive cancer center: a prospective 2-year study. *Cancer*. 2011;117(15):3424-33.
7. Mokra D, Kosutova P. Biomarkers in acute lung injury. *Respir Physiol Neurobiol*. 2015;209:52-8.
8. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-5.
9. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2007;176(2):231-41.
10. Pilszczek FH, Salina D, Poon KK, Fahey C, Yipp BG, Sibley CD, et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*. 2010;185(12):7413-25.

11. Yipp BG, Petri B, Salina D, Jenne CN, Scott BN, Zbytnuik LD, et al. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. *Nat Med*. 2012;18(9):1386-93.
12. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(2):134-47.
13. Czaikoski PG, Mota JM, Nascimento DC, Sonogo F, Castanheira FV, Melo PH, et al. Neutrophil Extracellular Traps Induce Organ Damage during Experimental and Clinical Sepsis. *PLoS One*. 2016;11(2):e0148142.
14. Dwivedi DJ, Toltl LJ, Swystun LL, Pogue J, Liaw KL, Weitz JI, et al. Prognostic utility and characterization of cell-free DNA in patients with severe sepsis. *Crit Care*. 2012;16(4):R151.
15. Kawai C, Kotani H, Miyao M, Ishida T, Jemil L, Abiru H, et al. Circulating Extracellular Histones Are Clinically Relevant Mediators of Multiple Organ Injury. *Am J Pathol*. 2016;186(4):829-43.
16. McDonald B, Urrutia R, Yipp BG, Jenne CN, Kubes P. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from the bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe*. 2012;12(3):324-33.
17. Shen XF, Cao K, Jiang JP, Guan WX, Du JF. Neutrophil dysregulation during sepsis: an overview and update. *J Cell Mol Med*. 2017;21(9):1687-97.
18. Kessenbrock K, Krumbholz M, Schonermarck U, Back W, Gross WL, Werb Z, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med*. 2009;15(6):623-5.
19. Tang S, Zhang Y, Yin SW, Gao XJ, Shi WW, Wang Y, et al. Neutrophil extracellular trap formation is associated with autophagy-related signalling in ANCA-associated vasculitis. *Clin Exp Immunol*. 2015;180(3):408-18.
20. Neeli I, Khan SN, Radic M. Histone deimination as a response to inflammatory stimuli in neutrophils. *J Immunol*. 2008;180(3):1895-902.
21. Kraaij T, Tengstrom FC, Kamerling SW, Pusey CD, Scherer HU, Toes RE, et al. A novel method for high-throughput detection and quantification of neutrophil extracellular traps reveals ROS-independent NET release with immune complexes. *Autoimmun Rev*. 2016;15(6):577-84.

22. Liang Y, Pan B, Alam HB, Deng Q, Wang Y, Chen E, et al. Inhibition of peptidylarginine deiminase alleviates LPS-induced pulmonary dysfunction and improves survival in a mouse model of lethal endotoxemia. *Eur J Pharmacol.* 2018;833:432-40.
23. Wang Y, Li M, Stadler S, Correll S, Li P, Wang D, et al. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol.* 2009;184(2):205-13.
24. Abrams ST, Zhang N, Manson J, Liu T, Dart C, Baluwa F, et al. Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187(2):160-9.
25. Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med.* 2009;15(11):1318-21.
26. Tian Y, Russo RM, Li Y, Karmakar M, Liu B, Puskarich MA, et al. Serum citrullinated histone H3 concentrations differentiate patients with septic versus non-septic shock and correlate with disease severity. *Infection.* 2020.
27. Karki P, Birukov KG, Birukova AA. Extracellular histones in lung dysfunction: a new biomarker and therapeutic target? *Pulm Circ.* 2020;10(4):2045894020965357.
28. Deng Q, Pan B, Alam HB, Liang Y, Wu Z, Liu B, et al. Citrullinated Histone H3 as a Therapeutic Target for Endotoxic Shock in Mice. *Front Immunol.* 2019;10:2957.
29. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-10.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	Nuntanuj Vutthikraivit
วัน เดือน ปี เกิด	10 December 1990
สถานที่เกิด	Bangkok
วุฒิการศึกษา	Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, The Thai red Cross Society, Bangkok, Thailand
ที่อยู่ปัจจุบัน	450 Chan 32 Tungwatdon Sathorn, Bangkok 10120

