ผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูก ในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกบาง

นางสาวนาฏกมล ผลทอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF SOYBEAN ISOFLAVONES EXTRACT ON BONE TURNOVER MARKERS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH OSTEOPENIA

Miss. Nartkamon Ponthong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology
Interdisciplinary Program
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2007
Copyright of Chulalongkorn University

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือน ที่เป็นโรคกระดูกบาง
โดย	นางสาว นาฎกมล ผลทอง
สาขาวิชา	สหสาขาเภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ พญ. สุมนา ชมพูทวีป
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ศาสตราจารย์ นพ. นิมิต เตชไกรชนะ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... รองอธิการบดี
รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.กัลยา ติงศภัทิย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ เจียรณ์มงคล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ พญ. สุมนา ชมพูทวีป)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ศาสตราจารย์ นพ. นิมิต เตชไกรชนะ)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พตท.หญิง สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นาฏกมล ผลทอง : ผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกบาง (EFFECTS OF SOYBEAN ISOFLAVONES EXTRACT ON BONE TURNOVER MARKERS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH OSTEOPENIA) อ. ที่ปรึกษา : รศ.พญ.สุมนา ชมพูทวีป, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ศ.นพ.นิมิต เตชไกรชนะ, 49 หน้า.

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกบาง วิธีการหนึ่งในการป้องกันภาวะกระดูกพรุน คือ การใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทน แต่มีการศึกษาพบว่าการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทนเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่างๆ จึงได้มีการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาสารที่สามารถนำมาทดแทน การใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจน และพบว่าไฟโตเอสโตรเจน ซึ่งเป็นสารประกอบที่ได้จากพืชนั้นมีความคล้ายคลึงกับฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกาย โดยพบว่า สารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง อาจมีผลในการป้องกันภาวะกระดูกพรุนในสตรีวัยหมดประจำเดือน การศึกษานี้เป็นแบบการทดลอง มีอาสาสมัคร 80 คน โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลอง 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง และกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก โดยรับประทานครั้งละ 2 แคปซูล วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น เป็นเวลา 3 เดือน และติดตามอาการทุก 3 สัปดาห์ และตรวจเลือดสัปดาห์ที่ 0, 6 และ 12 โดยติดตามระดับค่าออสทีโอแคลซินซึ่งเป็นตัวชี้วัดการสร้างมวลกระดูก และเบต้า-คอสแลพซึ่งเป็นตัวชี้วัดการสลายมวลกระดูก วัดด้วยเครื่อง electrochemiluminescence ผลจากการศึกษา พบว่า ระดับของออสทีโอแคลซินกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวนลดลงจากค่าตั้งต้นที่ 21.86 $\pm$ 6.5 เป็น 17.48 $\pm$ 6.7 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 12 สัปดาห์ และกลุ่มที่ได้รับยาหลอกลดลงจากค่าตั้งต้นที่ 22.89 $\pm$ 8.8 เป็น 19.34 $\pm$ 8.2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 12 สัปดาห์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลการศึกษาของเบต้า-คอสแลพในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวนลดลงจากค่าตั้งต้นที่ 0.49 $\pm$ 0.17 เป็น 0.32 $\pm$ 0.15 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 12 สัปดาห์ และกลุ่มที่ได้รับยาหลอกลดลงจากค่าตั้งต้นที่ 0.48 $\pm$ 0.18 เป็น 0.36 $\pm$ 0.19 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน โดยสรุป ถึงแม้สารสกัดไอโซฟลาโวนที่ใช้ในการศึกษานี้จะมีผลในการลดค่าชี้วัดการสร้างและสลายกระดูก แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับยาหลอก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สาขาวิชา.....เภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา).....ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2550.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4889177020 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD : SOYBEAN / ISOFLAVONES / BONE TURNOVER MARKERS / POSTMENOPAUSAL WOMEN / OSTEOPENIA

NARTKAMON PONTHONG : EFFECTS OF SOYBEAN ISOFLAVONES EXTRACT ON BONE TURNOVER MARKERS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH OSTEOPENIA. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUMANA CHOMPOOTAWEEP, M.D., THESIS COADVISOR : PROF. NIMIT TAECHAKRAICHANA, M.D., 49 pp.

The objective of this study is to evaluate the efficacy of soybean isoflavones extract on bone turnover markers in postmenopausal women with osteopenia. The incidences of osteoporosis in post-menopausal women are higher than women at the age before menopause. The observational studies suggested that estrogen replacement therapy (ERT) is considered to be an effective method to prevent menopausal symptoms and restore the protective effects on bone. However, many serious side effects in long term ERT used including cancerous events (breast cancer and endometrial cancer etc.). Many researchers have been attempting to study the alternative hormone replacement therapy (HRT) in order to find the safer therapeutic agents. Phytoestrogens, plant-derived estrogen like substances, possess the varying degree of estrogenic activity and estrogen-like molecular structure. This study a randomized clinical trial was carried out in 2007. Eighty postmenopausal women with osteopenia. The first group (n = 40) received isoflavones 100 mg/d (2 capsules-twice/day).The second groups (n = 40) was given placebo (2 capsules-twice/day) for 12 weeks.Analysis for bone resorption and bone formation markers was assayed by Electrochemiluminescence method using ß-crosslaps and N-MID osteocalcin. This study found that treatment with flava soy, isoflavones extract, Between group analyses in osteocalcin showed that isoflavones group decreased from baseline values 21.86 $\pm$ 6.5 to 17.48 $\pm$ 6.7 ng/ml. at 12 weeks and placebo group decreased from baseline values 22.89 $\pm$ 8.8 to 19.34 $\pm$ 8.2 ng/ml. at 12 weeks but had not statistical significance difference between group and ß-crosslaps, isoflavones group decreased from baseline values 0.49 $\pm$ 0.17 to 0.32 $\pm$ 0.15 ng/ml. at 12 weeks and placebo group decreased from baseline values 0.48 $\pm$ 0.18 to 0.36 $\pm$ 0.19 ng/ml. at 12 weeks. This results indicate that isoflavones decreased levels of bone resorption markers and bone formation markers but had not statistical significance difference compared with placebo.

Field of study : .....Pharmacology.....Student's signature :.....

Academic year :....2007..... Advisor's signature :.....

Co-advisor's signature :.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์. พญ. สุมนา ชมพูทวีป รองศาสตราจารย์อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และศาสตราจารย์. นพ.นิมิต เตชไกรชนะอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ที่ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ เจียรณ์มงคล, รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. พตท.หญิง สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ ที่กรุณามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ นางประไพ ศรีสวัสดิ์ ที่คอยให้คำปรึกษา และแนะนำการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการฮอร์โมน

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้กำลังใจและทุนอุดหนุนเสมอมา และขอขอบคุณบุคคลอื่นๆ ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ฌ
สารบัญภาพ.....ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....ฏ

บทที่

1. บทนำ..... 1
2. ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง
   - คำจำกัดความ.....3
   - สรีรวิทยาของกระดูก.....5
   - อาการและอาการแสดงของภาวะกระดูกพรุน.....8
   - การตรวจค่าชีวเคมีของเลือดที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูกและการสลายกระดูก..... 9
   - การป้องกันและรักษาภาวะกระดูกพรุนในสตรีวัยหมดประจำเดือน..... 10
   - Phytoestrogen กับการรักษาโรคกระดูกพรุน..... 12
   - การศึกษาผลปกป้องกระดูกของ Phytoestrogens.....14
3. วิธีดำเนินการทดลอง
   - วัสดุและอุปกรณ์.....17
   - วิธีดำเนินการทดลอง.....18
   - การวิเคราะห์ทางสถิติ..... 20
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล
   - ลักษณะพื้นฐานทางกายภาพและชีวเคมี.....21
   - เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ osteocalcin และ ß-crosslaps.....23
   - เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับ ยาหลอก.....24
   - เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของ osteocalcin และ B-crosslaps ภายในกลุ่มเดียวกัน.....25
   - อาการที่เกิดขึ้นระหว่างทำการศึกษา.....26

สารบัญ

หน้า

5. อภิปรายผลและสรุปผลการทดลอง

อภิปรายผลการทดลอง..... 27

สรุปผลการทดลอง.....28

รายการอ้างอิง.....29

ภาคผนวก.....33

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....51

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) แสดงลักษณะพื้นฐานทางกายภาพ และชีวเคมีของกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก.....22
2. ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) ของ osteocalcin (ng/ml) ในกลุ่มที่ทำการศึกษา.....23
3. ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) ของ ß-crosslaps (ng/ml) ในกลุ่มที่ทำการศึกษา.....23
4. ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) ของ osteocalcin ในกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก.....24
5. ตารางแสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) ของ ß-crosslaps ในกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก.....24
6. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของ Osteocalcin ภายในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก.....25
7. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของ ß-crosslaps ภายในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก.....25
8. ตารางแสดงอาการที่เกิดขึ้นระหว่างทำการศึกษา.....26

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. ภาพเนื้อกระดูกปกติ....4
2. ภาพเนื้อกระดูกที่มีภาวะกระดูกพรุน....4
3. ภาพแสดงส่วนประกอบของกระดูก Femur....6
4. ภาพกระบวนการเกิด bone remodeling....8
5. ภาพกระบวนการศึกษา....19

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

α	=	Alpha
β	=	Beta
μl	=	Microlitre
Ab	=	antibody
ALP	=	Alkaline phosphatase
ANCOVA	=	analysis of covariance
ANOVA	=	Analysis of variances
BMD	=	bone mineral density
BMI	=	body mass index
°C	=	Degree of Celsius, centigrade
d	=	day
dl	=	deciliter
ER	=	Estrogen receptor
ERT	=	estrogen replacement therapy
et al.	=	et alii (and other)
g	=	gram
h	=	hour
HRT	=	Hormone replacement therapy
IL	=	interleukin
IGF-I	=	insulin growth factor-I
kg	=	kilogram
L	=	liter
M-CSF	=	Macrophage Colony Stimulating Factor
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
mmHg	=	Millimeters of mercury; a unit of pressure
ng	=	nanogram
OPG	=	Osteoprotegerin
PTH	=	Parathyroid hormone
RANK	=	Receptor activator of nuclear factor kappa B

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

S.D.	=	standard deviation
SERMs	=	Selective estrogen receptor modulator
Sr	=	Strontium ranelate
TGF	=	transforming growth factor
TNF	=	tumor necrosis factor
TGF-ß	=	transforming growth factor-ß
U	=	Units
ก.	=	กรัม
กก.	=	กิโลกรัม
มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

โรคกระดูกพรุน (osteoporosis) เป็นภาวะที่ทำให้ความแข็งแกร่งของกระดูก (bone strength) ลดลง โดยที่ความแข็งแกร่งของกระดูกที่ลดลงนั้นเป็นผลมาจากความหนาแน่นของกระดูก (bone mineral density (BMD) ที่ลดลงหรือคุณภาพของกระดูก (bone quality) ที่เลวลง (Koh et al., 2001) มีการเสื่อมของโครงสร้างทางจุลภาคของเนื้อเยื่อกระดูก (microarchitecture) ทำให้โอกาสกระดูกเปราะบางและหักง่ายขึ้น องค์การอนามัยโลกได้พิจารณาค่าความหนาแน่นของกระดูกที่ทำให้ความเสี่ยงต่อการเกิดกระดูกหักสูงขึ้น พบว่า ถ้าความหนาแน่นของกระดูกลดลงจากเกณฑ์เฉลี่ย 1 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (1 standard deviation; SD หรือ 1 T-score) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยความหนาแน่นสูงสุด (peak bone mass) ในสตรีวัยสาว (ประมาณ 30 ปี) จะทำให้ความเสี่ยงต่อการเกิดกระดูกหักที่ตำแหน่งนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 1.5-3 เท่า โดยอาศัยการวัดความหนาแน่นของกระดูกนี้ องค์การอนามัยโลกได้ให้คำจำกัดความของโรคกระดูกพรุนว่า เป็นภาวะที่ความหนาแน่นของกระดูกต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของเกณฑ์มาตรฐานเกินกว่า -2.5 SD ซึ่งถ้ามีกระดูกหักร่วมด้วยก็ถือว่าเป็นโรคกระดูกพรุนขั้นรุนแรง และถ้าความหนาแน่นของกระดูกมีความหนาแน่นลดลงมากกว่า -1 SD แต่ไม่ถึง -2.5 SD ก็เรียกว่าเป็นภาวะกระดูกบาง (osteopenia) โดยถือว่าความหนาแน่นของกระดูกที่ปกติจะต้องอยู่ในค่าเฉลี่ย$\pm$1 SD (WHO, 2006)

ความหนาแน่นของกระดูกมีการเปลี่ยนแปลงตลอดอายุขัย โดยจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อย่างเข้าสู่วัยรุ่นจนเข้าวัยหนุ่มสาวก็จะถึงจุดที่ความหนาแน่นของกระดูกมีความหนาแน่นสูงสุด ซึ่งจะอยู่ในช่วงอายุประมาณ 30 ปี หลังจากนั้นความหนาแน่นของกระดูกจะคงที่อยู่ระยะหนึ่งก่อนจะค่อยๆ ลดลงช้าๆ และลดลงอย่างรวดเร็วในสตรีวัยหมดประจำเดือนอันเนื่องมาจากการลดลงของระดับฮอร์โมนเพศ ทำให้ความหนาแน่นของกระดูกลดลงได้ถึงร้อยละ 3-7 ต่อปี โดยเฉพาะในระยะ 7-10 ปีแรกหลังหมดประจำเดือน เมื่อผ่านระยะนี้ไปแล้วการสูญเสียความหนาแน่นของกระดูกจะช้าลงเหลือร้อยละ 1-2 ต่อปี ใกล้เคียงกับในผู้ชายสูงอายุ ดังนั้น ความเสี่ยงในการเกิดโรคกระดูกพรุนจึงมักเพิ่มขึ้นตามอายุ โดยเฉพาะในสตรีวัยหมดประจำเดือน จากการศึกษาในคนผิวขาวพบว่ามีประมาณร้อยละ 50 ของผู้หญิง และร้อยละ 20 ของผู้ชายที่อายุมากกว่า 50 ปีขึ้นไปจะมีกระดูกหักเกิดขึ้นในตลอดชั่วอายุขัย (lifetime risk of fracture) (Siris et al., 2001)

ในประเทศไทย ได้มีการสำรวจหาความชุกของโรคกระดูกพรุน พบภาวะกระดูกพรุนที่กระดูกสันหลังร้อยละ 19.8 และที่กระดูกสะโพกร้อยละ 13.6 ในสตรีอายุ 40-80 ปี และมากขึ้นเป็นร้อยละ 50 ถ้าจำกัดเฉพาะสตรีอายุ 70 ปีขึ้นไป โดยมีอัตราการลดลงของความหนาแน่นกระดูกทั้งบุรุษและสตรีสูงอายุที่ร้อยละ 1-5 ต่อปี (นิมิต เตชไกรชนะ, 2549) จึงเห็นได้ว่าประชากรไทยสูงอายุ

จะพบปัญหาเกี่ยวกับโรคกระดูกพรุน กระดูกหัก และภาวะแทรกซ้อนที่ตามมา ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาทางเศรษฐกิจ สังคม เกิดผลกระทบต่อคุณภาพชีวิต และต้องทุ่มเทเวลาและทรัพยากรกับการแก้ไขและฟื้นฟูภาวะทุพพลภาพ จึงมีการเตรียมหาแนวทางป้องกันการเกิดโรคกระดูกพรุน

ปัจจุบันสำหรับสตรีวัยหมดประจำเดือน วิธีการหนึ่งในการป้องกันภาวะกระดูกพรุนและความผิดปกติของระบบหัวใจและหลอดเลือด คือ การใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทน (estrogen replacement therapy; ERT) ซึ่งพบว่ามีส่วนช่วยในการรักษาความหนาแน่นของกระดูกให้อยู่ในระดับปกติ และป้องกันการแตกหักของกระดูกอันเนื่องมาจากความแข็งแรงของกระดูกที่ลดลง (pathological bone fracture) (Gass and Dawson, 2006) อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทนเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรง ได้แก่ การเกิดมะเร็งเต้านม (breast cancer) มะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก (endometrial cancer) ภาวะลิ่มเลือดอุดตัน (thromboembolic events) โรคหลอดเลือดหัวใจและภาวะสมองขาดเลือด (strokes) เป็นต้น (Staren and Omer, 2004) จึงได้มีการศึกษาวิจัย เพื่อค้นหาสารที่สามารถนำมาทดแทนการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนในสตรีวัยหมดประจำเดือน โดยไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogens) ซึ่งเป็นสารประกอบที่ได้จากพืชนั้น มีความคล้ายคลึงกับฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกาย ทั้งในด้านโครงสร้างโมเลกุลและการออกฤทธิ์ โดยพบว่าไฟโตเอสโตรเจนบางชนิด เช่น สารสกัดไอโซฟลาโวน จากถั่วเหลือง ซึ่งมี genistein และ daidzein เป็นต้น สามารถป้องกันภาวะกระดูกพรุนในสตรีวัยหมดประจำเดือน และช่วยให้การทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือดดีขึ้นโดยมีผลลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด ช่วยให้หลอดเลือดคลายตัว อีกทั้งยังช่วยป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งและตีบตันอีกด้วย (Lissin and Cooke, 2000)

ในถั่วเหลืองมีสารชนิดหนึ่งเรียก ไอโซฟลาโวนเป็นไฟโตเอสโตรเจน คือ เป็นสารที่ฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่พบได้ในพืช แต่มีฤทธิ์เอสโตรเจนน้อยกว่าที่ผลิตในร่างกาย การศึกษาจำนวนมากในหลายงานวิจัย แนะนำว่า ไอโซฟลาโวนมีบทบาทสำคัญในการป้องกัน และลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจ มะเร็ง และกระดูกพรุน (Messina and Erdman, 2000) เพราะมีประสิทธิภาพทางเภสัชวิทยาทั้ง estrogenic, anti-estrogenic, antioxidant, anti-atherogenic และ hypocholesterolemic (Wei et al., 1995) จากฤทธิ์ของเอสโตรเจน จึงเป็นไปได้ว่าไอโซฟลาโวนอาจสามารถป้องกันโรคกระดูกพรุนได้ แต่มีบางงานวิจัยที่ยังได้ผลแตกต่างออกไป จึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

การวิจัยในครั้งนี้ สนใจที่จะศึกษาประสิทธิภาพของไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองในการป้องกันโรคกระดูกพรุนในสตรีวัยหมดประจำเดือน โดยศึกษาผลของไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายความหนาแน่นของกระดูกหลังจากได้รับสารสกัดไอโซฟลาโวนเป็นเวลา 3 เดือน ซึ่งใช้ osteocalcin และ ß-crosslaps เป็นตัววัดในการศึกษาครั้งนี้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย (Objective)

เพื่อการศึกษาผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง ต่อดัชนีการสร้าง และสลายความหนาแน่นของกระดูกในสตรีวัยหมดระดูที่เป็นโรคกระดูกบาง

สมมติฐานการวิจัย (Hypothesis)

ไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองสามารถทำให้ค่า osteocalcin ดัชนีการสร้างความหนาแน่นของกระดูกและ ß-crosslaps ดัชนีการสลายความหนาแน่นของกระดูกลดลง ในสตรีวัยหมดระดูที่เป็นโรคกระดูกบาง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected Benefit and Application)

1.เป็นข้อมูลที่ทำให้ทราบถึง ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากถั่วเหลือง คือ สารสกัดไอโซฟลาโวน มีผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือดที่เกี่ยวข้องกับอัตราการหมุนเวียนของความหนาแน่นของกระดูกของสตรีวัยหมดระดู

2.เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาในการนำมาใช้ป้องกันโรคกระดูกพรุนทางคลินิก และเป็นทางเลือกใหม่สำหรับการแพทย์แผนปัจจุบันต่อไปในอนาคต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

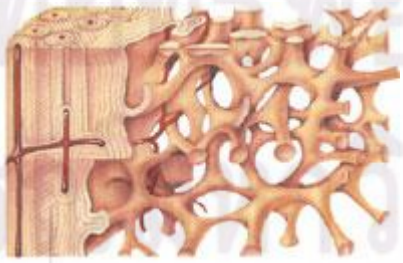
ทบทวนวรรณกรรม

โรคกระดูกพรุน (osteoporosis) เป็นภาวะที่ทำให้ความแข็งแกร่งของกระดูก (bone strength) ลดลง โดยที่ความแข็งแกร่งของกระดูกที่ลดลงนั้นเป็นผลมาจากความหนาแน่นของกระดูก (bone mineral density (BMD) ที่ลดลงหรือคุณภาพของกระดูก (bone quality) ที่เลวลง (Koh et al., 2001) มีการเสื่อมของจุลโครงสร้างของเนื้อเยื่อกระดูก (microarchitecture) ทำให้โอกาสกระดูกเปราะบางและหักง่ายเพิ่มมากขึ้น จนมีปัญหาต่าง ๆ มากมาย เกิดขึ้นได้แก่ การเสียชีวิต ทุพพลภาพ

โรคกระดูกพรุนภายหลังหมดประจำเดือน (postmenopausal osteoporosis) เป็นความผิดปกติที่พบได้บ่อย สาเหตุที่สำคัญเกิดจากการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งส่งผลให้เกิดการสลายกระดูกเพิ่มขึ้นในอัตราที่มากกว่าการสร้างกระดูก (bone formation) ความไม่สมดุลที่เกิดขึ้นส่งผลให้ ค่า BMD ลดลงและเกิดภาวะกระดูกพรุนตามมา (จากรูปที่ 1 และ 2 แสดงให้เห็นถึงภาพเนื้อกระดูกปกติ และกระดูกที่มีภาวะกระดูกพรุน)

รูปที่ 1 ภาพเนื้อกระดูกปกติ (normal bone matrix)

(http://www.connecticutcenterforhealth.com)



รูปที่ 2 ภาพเนื้อกระดูกที่มีภาวะกระดูกพรุน(osteoporosis bone matrix)

(http://www.connecticutcenterforhealth.com)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>สรีรวิทยาของกระดูก</u> กระดูกเป็นอวัยวะภายในร่างกาย มีลักษณะเป็นแท่ง (ดังรูปที่ 3) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการเจริญเติบโต และมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา กระดูกมีหน้าที่สำคัญอยู่ 3 ประการ คือ

1. เป็นโครงร่างของร่างกาย เป็นที่ยึดเกาะกล้ามเนื้อ ทำให้ร่างกายสามารถเคลื่อนไหวและเคลื่อนที่ได้

2. เป็นเกราะป้องกันอวัยวะภายใน ได้แก่ สมอง อวัยวะในช่องท้อง และช่องอก

3. เป็นแหล่งสะสมและให้แร่ธาตุหลายอย่างในร่างกายที่สำคัญ ต่อกระบวนการเมตาบอลิสม คือ แคลเซียม, โปแทสเซียม ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการ calcium homeostasis และเป็นที่อยู่ของไขกระดูก ซึ่งเป็นแหล่งผลิตเซลล์เม็ดเลือด

ส่วนประกอบของกระดูก

1. เซลล์ของกระดูก ทำหน้าที่สำคัญในการคงความแข็งแรงของกระดูกไว้ ได้แก่

1.1 Osteoblastic cell lineage mesenchymal stromal stem cells ประกอบด้วย osteoblast, osteocyte และ bone lining cells โดยมี osteoblast เป็นเซลล์หลักที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องในการสร้างกระดูก (bone formation)

1.2 Osteoclastic cell lineage มีสมาชิกสำคัญ คือ osteoclast เป็น multinucleated cells ขนาด 20 – 100 ไมครอน ทำหน้าที่เกี่ยวกับการสลายกระดูก (bone resorption) มีกำเนิดมาจาก homeopoetic stem cells ใน bone marrow พวกเดียวกับ monocytes และ macrophages

2. Extracellular matrix มี 2 ส่วน คือ

2.1 Mineral หรือ inorganic phase 60 – 70 % ได้แก่ ผลึกของแคลเซียมฟอสเฟส และส่วนที่เป็นน้ำ 5 – 8 %

2.2 Organic phase 22 – 35 % ได้แก่ collagen และ noncollagen protein

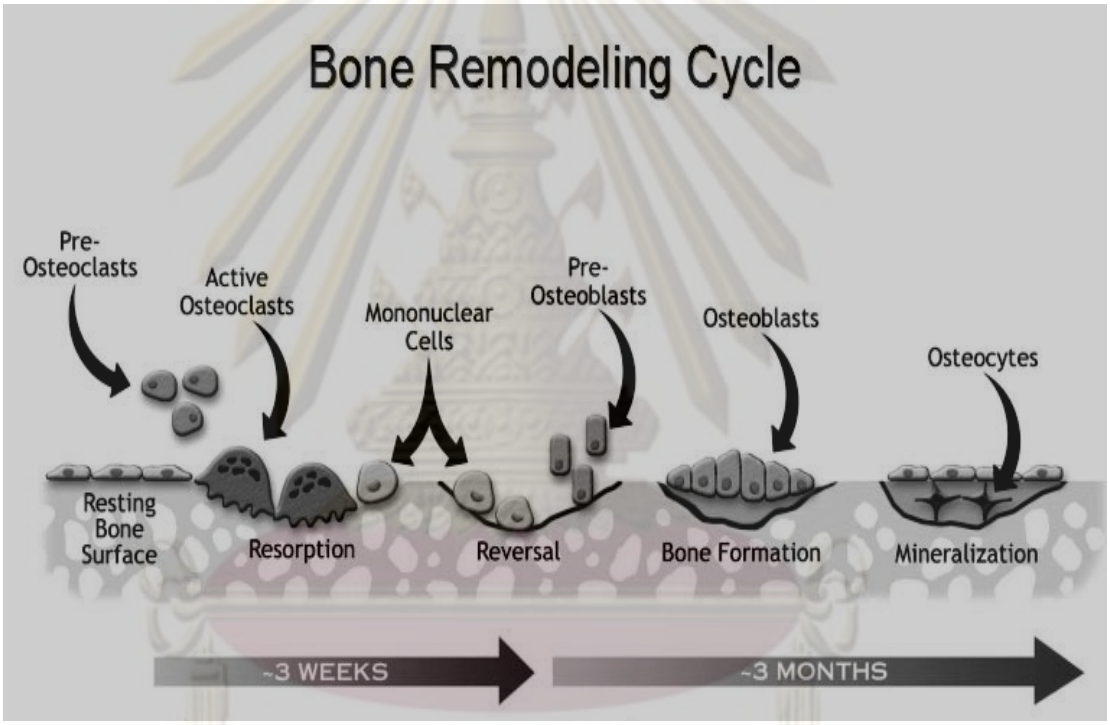
พัฒนาการของกระดูก แบ่งเป็น 3 ระยะ คือ

1. ช่วงที่กำลังเจริญเติบโต (growth) เกิดในช่วงเด็กและวัยรุ่น เกิดตามแนวยาวของกระดูก ทำให้กระดูกยาวขึ้น และมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ความยาวของกระดูกจะหยุดเมื่อมีการปิดของ epiphyseal plate แต่ความหนาแน่นจะยังคงเพิ่มขึ้นจนถึง peak bone mass ในอายุ ช่วง 20 – 30 ปี จึงหยุด

2.ช่วงที่มีการปรับเปลี่ยนรูปร่าง (bone modeling) เป็นการปรับเปลี่ยนรูปร่างเพื่อตอบสนองต่อการทำหน้าที่ของกระดูกเหล่านั้น โดยกลไก bone resorption และ bone formation

ด้วยกระบวนการนี้ทำให้กระดูกสามารถเปลี่ยนแปลงรูปทรงในระหว่างที่กระดูกมีการเจริญเติบโต กระบวนการนี้พบมากในเด็ก ด้วยกระบวนการนี้ไม่เพียงแต่จะทำให้เกิดโครงสร้างตามปกติในระหว่างการเจริญเติบโตเท่านั้น ยังเป็นการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของกระดูกในผู้ใหญ่

3. ช่วงที่มีการผลัดเปลี่ยนเนื้อกระดูก (bone remodeling) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นตลอดชีวิต พบในกระดูกที่โตเต็มที่ มีการผลัดเปลี่ยนเนื้อกระดูกทดแทนกันตลอดเวลา เพื่อทำให้กระดูกมีสุขภาพดี และดำรงความแข็งแกร่งของกระดูกไว้ กระบวนการ bone resorption จะเกิดขึ้นก่อนตามมาด้วยกระบวนการ bone formation จะเกิดขึ้นในตำแหน่งนั้น ผลลัพธ์ คือ กระดูกใหม่ที่แข็งแรงทดแทนกระดูกเก่า ส่วน bone formation จะสามารถซ่อมส่วนของกระดูกที่ถูก resorption ดังนั้นกระดูกจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง แต่กระดูกจะมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น



รูปที่ 3 **ภาพกระบวนการเกิด** bone remodeling
(http://www.umich.edu)

Bone remodeling cycle เกิดขึ้นเป็น 4 ขั้นตอน ดังแสดงไว้ในรูปที่ 3 ดังนี้

1. Activation มีการกระตุ้นให้เกิด osteoclasts ขึ้นจาก bone marrow แล้วเคลื่อนที่มายังตำแหน่งที่จะเกิด bone remodeling ซึ่งเดิมอยู่ในระยะเงียบ มี bone lining cells ปกคลุมอยู่ bone lining cells จะแยกออกจากกันเปิดทางให้ osteoclast ลงไปทำการสลายกระดูก (resorption)

2. Resorption โดย osteoclasts เริ่มทำการย่อยสลายเนื้อกระดูกเก่าออกโดยเริ่มจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมให้อยู่ในภาวะกรด ซึ่งจะทำให้มีการสลายแร่ธาตุออกมาจากกระดูก หลังจากนั้นก็จะมีการสร้างและหลั่ง enzyme metaloproteinases และ collagenase ทำให้มีการสลายของ collagen ในเนื้อกระดูกให้กลายเป็น fragment เรียกว่า degradation product และขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ กระบวนการสลายเนื้อกระดูกจะเริ่มจากผิวของกระดูกและลึกลงไปเกิดเป็นหลุมเล็ก ๆ ลึกลงไปเรื่อย ๆ ในกระดูก cancellous เมื่อการสลายกระดูก ลึกถึงประมาณ 50 ไมโครเมตร ก็จะสิ้นสุดระยะนี้ ซึ่งจะใช้เวลานานประมาณ 1 – 3 สัปดาห์ การทำงานของ osteoclast จะถูกกระตุ้นโดย local active cytokines เช่น interleukin (IL)-1, IL-6, และ tumor necrosis factor (TNF) และถูกยับยั้งโดย transforming growth factor (TGF- ß)และ IL-4

3. Reversal เมื่อการย่อยสลายสิ้นสุด มีกลุ่ม mononuclear cells (Proosteoblasts) แทรกตัวเข้ามาทำการเริ่มสร้างกระดูกขึ้นมาใหม่ ซึ่งจะเกิดระยะนี้ขึ้นมาได้ต้องสิ้นสุดระยะสลายเนื้อกระดูกอย่างสมบูรณ์ก่อน ระยะนี้ใช้ระยะเวลานานประมาณ 2 สัปดาห์

4. Formation ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ การสร้าง bone matrix และ mineralization ซึ่งเป็น mononuclear cell จะเริ่มมีการสร้าง collagen ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของ bone matrix ได้แก่ collagen type I โดยจะเรียงตัวกันเป็นชั้น ๆ เรียกว่า lamellae นอกจากนั้นก็มีการสร้างสาร phosphoproteins และ proteoglycans ซึ่งมีบทบาทสำคัญ ในช่วง mineralization

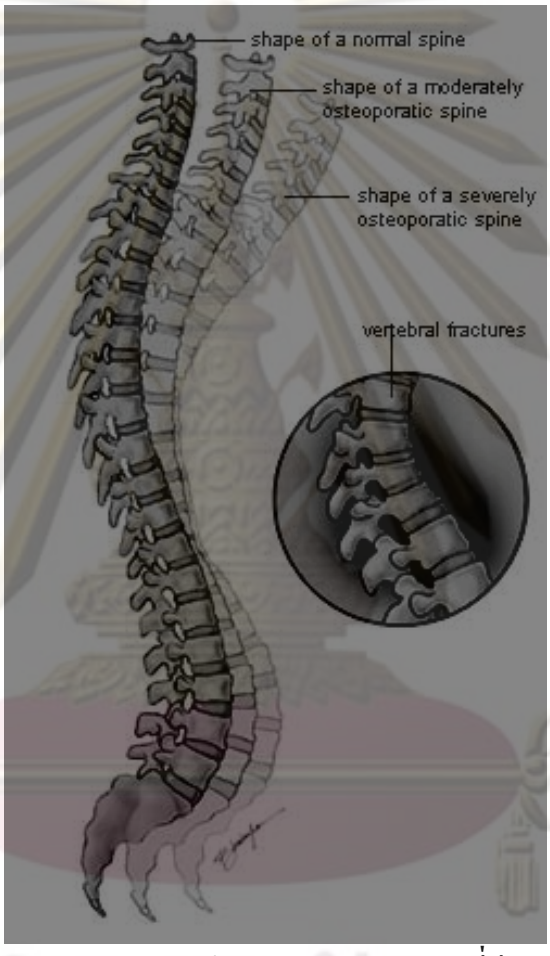
วงจร bone remodeling ใช้เวลานานประมาณ 4 เดือน และหลังจากนั้นอีก 3-6 เดือน กระบวนการสร้างกระดูกจึงจะแข็งแรงสมบูรณ์ ในภาวะปกติพบว่า osteoblast และ osteoclast จะทำงานสมดุลกัน ทั้งนี้อยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนจากต่อม parathyroid ฮอร์โมน calcitonin และฮอร์โมนเอสโตรเจน อย่างไรก็ตามเมื่อเกิดความไม่สมดุลระหว่างกระบวนการนี้ เช่น ถ้ามีการสลายเนื้อกระดูกมากกว่าการสร้าง จะทำให้มวลกระดูกลดน้อยลง เกิดภาวะกระดูกบางและกระดูกพรุนในที่สุด ซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงต่อกระดูกหักได้ เมื่อสตรีย่างเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน จะมีการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน ทำให้มีการสลายเนื้อกระดูกเพิ่มขึ้น จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดปัญหาภาวะกระดูกพรุนตามมา

ภาวะกระดูกพรุน เป็นการเสื่อมของโครงสร้างกระดูกในระดับจุลภาค มีสัดส่วนของ mineral และ bone matrix ปกติ เพราะกระบวนการ mineralization ไม่ถูกรบกวน แต่เป็นความผิดปกติที่ทำให้ปริมาณความหนาแน่นของกระดูกทั้งหมดต่อปริมาตรเนื้อกระดูกลดลง ทำให้เสี่ยงต่อการเกิดกระดูกหัก และเป็นปัญหาต่อการดำรงชีวิตของผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้ จึงได้มีการศึกษาค้นหาวิธีวินิจฉัย การรักษา เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถมีการดำรงชีวิตที่ดีขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาการและอาการแสดงของภาวะกระดูกพรุน

พบว่ามีอาการปวดหลังแบบฉับพลัน หรือเป็น ๆ หาย ๆเรื้อรัง เกิดร่วมกับกระดูกสันหลังมีภาวะ compression fracture ซึ่งเมื่อมาพบแพทย์ในบางรายอาจมีกระดูกหักร่วมด้วย ตรวจพบมีส่วนสูงลดลง ลักษณะกระดูกสันหลังผิดรูป เช่น หลังค่อมและมีการงุ้มงอของกระดูกสันหลังส่วนบน (ดังรูปที่ 4) หรือในบางรายก็มีภาวะกระดูกสะโพก หรือข้อมือหักทำให้มีอาการปวดมากตรงตำแหน่งนั้น และมีกระดูกแขน ขา ผิดรูปไปจากปกติ



รูปที่ 4 ภาพแสดงกระดูกสันหลังปกติและกระดูกสันหลังที่มีภาวะกระดูกพรุน
(http://www.orthoinfo.org)

วิธีการตรวจเพื่อวินิจฉัยโรคกระดูกพรุน

1. ถ่ายภาพรังสีเอกซเรย์ พบว่าร่างกายต้องสูญเสียเนื้อกระดูกไปถึงร้อยละ 30 – 40 จึงจะสามารถตรวจพบความผิดปกติด้วยวิธีนี้ จึงทำให้ปัจจุบัน ไม่ค่อยนิยมใช้ยกเว้นในระยะที่สงสัยจะมีภาวะกระดูกหักร่วมด้วย

2. การวัดความหนาแน่นของกระดูก (bone mass density) โดยวิธี dual energy X – ray absorptionmetry (DEXA) หาก BMD ต่ำกว่า - 2.5 standard deviation (SD) ของปริมาณ BMD เฉลี่ยในคนปกติที่ช่วงอายุระหว่าง 25 – 35 ปี (T score มากกว่า - 2.5 SD) จะถือว่าเป็นโรคกระดูกพรุน

การตรวจค่าชีวเคมีของเลือดที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูกและการสลายกระดูก

ในปัจจุบันมีการใช้สารตัววัดเพื่อวัดกระบวนการสร้างเนื้อกระดูกใหม่ และการสลายกระดูก ดังนี้

1. Alkaline Phosphatase (ALP) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่ใช้เป็นตัวดูปริมาณการสร้างเนื้อกระดูกใหม่ โดย ALP จะถูกหลั่งออกมาจากกระดูกเข้าสู่กระแสเลือดในระยะ formation การวัดเอนไซม์นี้ในกระแสเลือดจะเป็นดรรชนีวัดการหมุนเวียนของกระดูก (bone turnover rate) ซึ่งสามารถใช้ได้ทางคลินิก

2. Type I procollagen propeptides ปริมาณที่พบในกระแสเลือด จะสัมพันธ์กับกระบวนการเปลี่ยนแปลง procollagen เป็น collagen ในกระบวนการ bone formation ซึ่ง type I collagen จะเป็นส่วนประกอบหลักของ bone matrix

3. Osteocalcin เป็นโปรตีน Gla ใน bone matrix ร้อยละ 50 ของ osteocalcin จะสะสมที่กระดูกในระยะ formation แต่ข้อเสียคือ มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา โดยระดับจะลดลงในช่วงเช้า เพิ่มขึ้นในช่วงบ่ายและสูงสุดในตอนกลางคืน

4. ß-crosslaps ชิ้นส่วนของ collagen ที่สลายออกมาในระยะการสลายตัวของกระดูก ได้แก่ carboxyl terminal telopeptide (CTx) ตำแหน่ง telopeptide ของกรด lysine (K) ของ alpha chain ที่อยู่ในสายของ collagen type I จะมีการเรียงตัวของกรดอะมิโน 8 ตัว (octapeptide) เป็นแบบ EKAHDGGR และตรงตำแหน่ง lysine จะเป็นที่เกาะของแถวของกรดอะมิโนที่ช่วยยึด collagen ให้อยู่ด้วยกัน (crosslink) พบว่าถัดจาก lysine ไปมีกรด aspartates (D) และ glycine (G) จับกันด้วย peptide bond และต่อมามีการเปลี่ยนแปลงที่กรด 2 ชนิดนี้ ทำให้กระดูกแข็งแรงกว่าเดิม ยากที่กรด 2 ชนิดนี้จะแยกสลายง่ายแม้ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่ตับและไต ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า beta-isomerization เป็น epitope ที่ตำแหน่งระหว่างกรด aspartates (D) และ glycine (G) เมื่อfragment หลุดขาดจากการย่อยของ osteoclast ช่วงที่ crosslink เกาะตรงส่วนที่มี beta-isomerization จะหลุดออกและมีปฏิกิริยากับการตรวจ antibody agent ด้วยกระบวนการ immune assay

การป้องกันและรักษาภาวะกระดูกพรุนในสตรีวัยหมดประจำเดือน

ยาที่ใช้รักษาโรคกระดูกพรุน มี 2 กลุ่ม คือ ยาเพิ่มการสร้างกระดูก (anabolic drugs) และยาต้านการสลายกระดูก (antiresorptive drugs) ได้แก่

- พาราไทรอยด์ฮอร์โมน (parathyroid hormone : PTH) มีความสำคัญในการควบคุมสมดุลของปริมาณแคลเซียมในร่างกาย เมื่อร่างกายมีปริมาณแคลเซียมในหลอดเลือดลดลง ร่างกายจะหลั่ง PTH ออกมาควบคุมการทำงานของไตและสลายกระดูกทำให้ปริมาณแคลเซียมในหลอดเลือดเพิ่มขึ้น โดยมีฤทธิ์ต่อการสลายกระดูก คือ เพิ่มจำนวนและกระตุ้นการทำงานของ osteoblast

- วิตามินเค 2 มีส่วนสำคัญในขบวนการเติมหมู่ γ- carboxyl ให้กับ inactive osteocalcin ที่สร้างจาก osteoblast เพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูป active form จึงสามารถจับกับแคลเซียมฟอตเฟต ทำให้เกิดกระบวนการ mineralization

- ยากลุ่มบิสฟอตโฟเนต (bisphosphonates) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีโครงสร้าง amino group เช่น alendronate, risedronate มีผลลดการทำงานและเพิ่มการ apoptosis ของ osteoclast และกลุ่มที่ไม่มีโครงสร้าง amino group เช่น clodronate, etidronate จะออกฤทธิ์จับกับ ATP มีผลรบกวนการทำงานของ osteoclast

- Strontium ranelate (Sr) เป็นสารที่พบได้ตามพื้นดินและแหล่งน้ำต่าง ๆ สำหรับในร่างกายมนุษย์สามารถพบได้ในเลือด ฟัน และกระดูก (Nielsen, 2004) โดยพบว่ามีส่วนประกอบทางเคมีคล้ายกับแคลเซียมและแมกนีเซียม โดย strontium ranelate สามารถเพิ่มการสร้างกระดูกและลดการสลายกระดูก โดยสามารถเพิ่ม replication ของเซลล์ pre-osteoblast ทำให้เซลล์ osteoblast เพิ่มขึ้นซึ่งช่วยในการสร้างกระดูก (Canalis, 1998) เพิ่มสมรรถนะของ alkaline phosphatase ซึ่งเป็น marker ที่สำคัญของกระบวนการ differentiation ของเซลล์ osteoblast

อุบัติการณ์การเกิดโรคกระดูกพรุนจะเพิ่มตามอายุ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสตรีวัยหมดประจำเดือน จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุนมากที่สุดเนื่องจากการขาดฮอร์โมนเพศ ดังนั้นยาที่ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคกระดูกพรุนที่นิยมใช้มากที่สุด คือ การใช้ฮอร์โมนทดแทนในหญิงวัยหมดประจำเดือนที่ขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน

ฮอร์โมนเอสโตรเจนหรือฮอร์โมนทดแทน (Estrogen or hormone replacement ; HRT)

ฮอร์โมนเอสโตรเจนออกฤทธิ์จับกับตัวรับเอสโตรเจน (estrogen receptor ; ER) บริเวณกระดูก โดยตัวรับเอสโตรเจนชนิด α (ER- α) กระจายตัวมากอยู่ที่กระดูก cortical และตัวรับเอสโตรเจนชนิด ß (ER- ß) กระจายตัวมากอยู่ที่กระดูก cancellous โดยผลจากการรับกับ ER ทั้ง 2 ชนิดทำให้เกิดการกระตุ้นของ osteoblast ลดการทำงานของ interleukin (IL) ชนิด 6 และ 11 มีผลรบกวนการทำงานและเพิ่มการเกิด apoptosis และ osteoclast และควบคุมการสังเคราะห์และหลั่งฮอร์โมนชนิดอื่น เช่น calcitonin เป็นต้น ชนิดและขนาดที่ให้ คือ conjugated estrogen 0.625

– 1.25 มิลลิกรัมต่อวัน และ estradiol valerate 1 – 2 มิลลิกรัมต่อวัน การศึกษาทางคลินิกที่ผ่านมาพบว่าเมื่อให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างต่อเนื่องนาน 36 เดือน จะมีความหนาแน่นของกระดูกสะโพกและกระดูกสันหลังเพิ่มขึ้น ร้อยละ 1.7 และ 3.5 ตามลำดับ แสดงว่าการให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนจะช่วยเพิ่มความหนาแน่นของกระดูกอย่างชัดเจน (PEPI trial writing group, 1996)

Selective estrogen receptor modulators (SERMs)

SERMs เป็นกลุ่มยาสังเคราะห์ที่ไม่มีโครงสร้างสเตอรอยด์ของเอสโตรเจน แต่มีการจัดเรียงตัว (conformation) เพื่อให้จับกับตัวรับเอสโตรเจนได้ อย่างไรก็ตามโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันไปของยาในกลุ่ม SERMs ทำให้มีการกระตุ้นการทำงานของโปรตีนแตกต่างกันไป มีผลให้ยาในกลุ่ม SERMs มีฤทธิ์ทั้งกระตุ้น (agonist) และปิดกั้น (antagonist) ER- α และ ER- ß ผลที่ได้ของยากลุ่มนี้ในแต่ละอวัยวะจึงมีความแตกต่างกัน ยาในกลุ่มนี้แบ่งเป็นยาที่มีโครงสร้าง triphenylethylene เช่น tamoxifen และ raloxifen

Tamoxifen มีข้อบ่งใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเต้านม เนื่องจากมีฤทธิ์ปิดกั้นตัวรับเอสโตรเจนที่เต้านม และมีฤทธิ์กระตุ้นตัวรับเอสโตรเจนแบบ partial ที่กระดูก กระบวนการเมตาบอลิสมไขมันและเยื่อบุมดลูก (endothelium) (Fisher et al., 1998)

Raloxifen มีฤทธิ์ปิดกั้นตัวรับเอสโตรเจนแบบ competitive บริเวณเต้านมและเยื่อบุมดลูก และมีฤทธิ์กระตุ้นตัวรับเอสโตรเจนที่กระดูกและกระบวนการเมตาบอลิสมของไขมัน จากการศึกษาประสิทธิผลของ raloxifen โดยทำการศึกษาแบบ randomized, double-blind, placebo-controlled trial ในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีค่า T score น้อยกว่าหรือเท่ากับ - 0.25 จำนวน 7,705 คน เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ปี โดยใช้ raloxifen ขนาด 60 และ 120 มิลลิกรัม/วัน ร่วมกับแคลเซียม 500 มิลลิกรัม/วัน และวิตามินดี 400-600 IU/วัน พบว่าสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดกระดูกสันหลังหักร้อยละ 30 และ 50 ตามลำดับ และสามารถเพิ่ม BMD ของกระดูกสันหลังได้ร้อยละ 2.7 และ 2.6 ตามลำดับ โดยทั้งหมดแตกต่างจากยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.001$) (Ettinger B, 1999)

อย่างไรก็ตามการใช้ฮอร์โมนทดแทน ยังมีข้อจำกัดในการใช้เนื่องจากความเสี่ยงในการเกิดโรคบางชนิด เช่น การอุดตันของโรคหลอดเลือดหัวใจ หลอดเลือดสมอง การอุดตันของหลอดเลือดดำ (venous thromboembolism) และมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้น โดยพบว่าผู้ป่วย 10,000 คน ได้รับฮอร์โมนทดแทนนาน 1 ปี จะมีความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ 7 คน หลอดเลือดสมอง 8 คน venous thromboembolism 8 คน และมะเร็งเต้านม 8 คน เมื่อเทียบกับยาหลอก จึงมีการศึกษาหาสารที่ออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนในพืช หรือที่เรียกว่า phytoestrogen เพื่อลดการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นจากการให้ฮอร์โมนทดแทน

Phytoestrogen กับการรักษาโรคกระดูกพรุน

Phytoestrogen เป็นสารอินทรีย์ซึ่งสร้างขึ้นโดยพืช แต่มีโครงสร้าง คุณสมบัติ และการออกฤทธิ์คล้ายคลึงเช่นเดียวกับ estradiol สารเหล่านี้พบได้ทั้งในส่วนเมล็ด ลำต้น ราก หรือดอก ซึ่ง Phytoestrogen ประกอบด้วยสารสำคัญ ได้แก่

- สารในกลุ่ม isoflavones ซึ่งพบใน ถั่วเหลือง, flaxseed oil
- สารในกลุ่ม lignans พบได้ใน clover (กานพลู)
- สารในกลุ่ม coumestans พบได้ใน alfalfa sprouts

ไอโซฟลาโวนแสดงคุณสมบัติเป็นทั้งเอสโตรเจน (estrogenic) และต้านฤทธิ์เอสโตรเจน (antiestrogenic) (Alkestazzi, 2002) จากการศึกษาที่วิจัยเกี่ยวข้องกับผลที่มีต่อกระดูกของ ไอโซฟลาโวนในถั่วเหลือง พบว่าหญิงวัยหมดประจำเดือน อายุ 45 – 93 ปี จำนวน 67 – 478 คน ที่ได้รับถั่วเหลือง พบว่ามี bone mineral density (BMD) สูง ในกระดูกส่วน lumbar spine และ femoral neck

Genistein เป็นสารสำคัญชนิดหนึ่งของไอโซฟลาโวนที่พบมากในถั่วเหลือง พบว่า genistein มีผลเพิ่ม BMD หลังจากรับประทานติดต่อกันนาน 12 เดือนในหญิงวัยหมดประจำเดือน (Molakito et., al, 2003) คาดว่า genistein มีกลไกการออกฤทธิ์ดังนี้

1. ออกฤทธิ์คล้าย เอสโตรเจนจับกับ estrogen receptor ß (ER-ß)
2. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดใน osteoclast และยับยั้งการสร้าง osteoblast – like cell โดยผ่านทาง adenosine signaling pathway
3. เพิ่มการสร้าง nitric oxide ในกระดูก ซึ่งมีผลลดการสูญเสียกระดูก
4. กระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนใน osteoblast cell lines ผลดังกล่าวได้มีการพิสูจน์ในหลอดทดลอง

Daidzein ซึ่งเป็นสารสำคัญอีกชนิดในกลุ่มไอโซฟลาโวนที่พบในถั่วเหลือง มีฤทธิ์แบบเอสโตรเจนเพียง 1 ใน 4 ของ genistein โดยจับกับ ER- ß และ ER-ß 0.2 % และ 1% ตามลำดับ และไม่ยับยั้งเอนไซม์ protein tyrosine kinase และไม่มีฤทธิ์กดการเจริญของเนื้องอกเต้านม (Lamartiniere, 2002)

การออกฤทธิ์ของไอโซฟลาโวน

เริ่มมีการศึกษาประสิทธิภาพทางสรีรวิทยาในปี ค.ศ. 1950 โดยสนใจการทำให้เกิด estrogenic activity เพราะโครงสร้างคล้ายกับเอสโตรเจนซึ่งไอโซฟลาโวนออกฤทธิ์ 1/1,000 – 1/100,000 ของ estradiol (Messina et al., 2000) ไอโซฟลาโวนออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนอย่างอ่อน ไอโซฟลาโวนเป็นสารประกอบเอสโตรเจนที่พบได้ในพืช ออกฤทธิ์แบบเอสโตรเจนได้ต่ำกว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนของคน นอกจากนี้ยังสามารถต้านฤทธิ์ของเอสโตรเจน(antiestrogenic effect)

ในร่างกายได้ พบว่าที่ความเข้มข้นของไฟโตเอสโตรเจนขนาด 100 – 1,000 เท่าของเอสโตรเจนในร่างกาย ซึ่งเป็นระดับไฟโตเอสโตรเจนในเลือดที่พบได้หลังการรับประทานอาหารที่มีไฟโตเอสโตรเจนในปริมาณปกติ ไฟโตเอสโตรเจนจะแย่งจับ estrogen receptor กับฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกาย และช่วยป้องกันการเติบโตของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยได้ด้วยฮอร์โมนเอสโตรเจน ดังนั้นไฟโตเอสโตรเจนจึงอาจจะลดหรือยับยั้งฤทธิ์ของเอสโตรเจนที่มีต่อเซลล์ หรือเนื้อเยื่อที่ตอบสนองต่อเอสโตรเจน เช่น เนื้อเยื่อเต้านม เป็นต้น ซึ่งทำให้ไฟโตเอสโตรเจนช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมได้ (Brzozowski et al., 1997)

อาการไม่พึงประสงค์

โดยทั่วไปผู้ใช้มีความทนต่อไอโซฟลาโวนที่สกัดจากถั่วเหลืองได้ดี มีอาการข้างเคียงเล็กน้อยในระบบทางเดินอาหาร เช่น ท้องผูก ท้องอืด และอาเจียน อาการข้างเคียงอาจเกิดรุนแรงได้ในผู้ที่แพ้ถั่วโดยทำให้เกิด anaphylactic reaction (Foucard and Malmheden, 1999) ไอโซฟลาโวนมีผลต่อความเข้มข้นของ thyroxine โดย genistein และ daidzien ยับยั้งเอนไซม์ thyroid peroxidase ดังนั้นจึงยับยั้งการสร้าง thyroxine (Divi et al., 1997) จากการทบทวนวรรณกรรม Barnes สรุปว่าควรบริโภค ไอโซฟลาโวน 2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน โดยควรพิจารณาถึงความปลอดภัยในแต่ละกลุ่มประชากรด้วย (Barnes, 2003)

ผลของเอสโตรเจนต่อกระดูก

เป็นที่ทราบกันว่าสตรีที่อยู่ในวัยหมดประจำเดือน (post-menopausal woman) หรือได้รับการผ่าตัดเพื่อนำรังไข่ออก (oophorectomy) จะมีความเสี่ยงเป็นอย่างยิ่งต่อการเกิดภาวะกระดูกพรุน (osteoporosis) (Camston, 2005) อันเป็นผลมาจากการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกาย ส่งผลให้อัตราการเกิดภาวะกระดูกพรุน และการเสียชีวิตของสตรีวัยหมดประจำเดือนด้วยภาวะหลอดเลือดแข็งและตีบตัน (atherosclerosis) และความผิดปกติอันเกี่ยวเนื่องกับหลอดเลือดหัวใจ (coronary artery diseases; CADs) สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสตรีในช่วงวัยก่อนหมดประจำเดือนและในชายวัยเดียวกัน (Lissin and Cooke, 2000)

เอสโตรเจนเป็นฮอร์โมนที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อร่างกาย นอกจากมีหน้าที่โดยตรงต่อการทำงานและการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ในเพศหญิงแล้ว ยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างกระดูกรวมถึงการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือดอีกด้วย (Tolbert and Oparil, 2001) บทบาทของเอสโตรเจนต่อกระบวนการสร้างกระดูกเป็นผลโดยตรงต่อเซลล์กระดูก (osteocytes) ซึ่งพบว่ามีตัวรับเอสโตรเจน (estrogen receptors; ER) อยู่เช่นเดียวกัน โดยมีผลควบคุมอัตราการหมุนเวียนของมวลกระดูก (bone turnover rate) ให้มีอัตราการสร้างมวลกระดูก (bone formation) เพิ่มขึ้นและมีอัตราการสลายมวลกระดูก (bone resorption) ลดลง โดยกลไกหลักพบว่าเป็นผลจาก

การยับยั้งการพัฒนาและการทำงานของออสทีโอคลาสต์ (osteoclasts) ที่มีหน้าที่ในการสลายมวลกระดูก ซึ่งเอสโตรเจนจะมีผลในการยับยั้งการสร้าง cytokines ที่มีผลกระตุ้นการทำงานของออสทีโอคลาสต์ (osteoclast-stimulating cytokines) ที่ได้ผลิตจากออสทีโอบลาสต์ (osteoblasts) และเซลล์สโตรมา (stromal cells) ได้แก่ IL-1 (Interleukin-1), IL-6, TNF- ß (Tumor necrotic factor-ß) นอกจากนี้เอสโตรเจนยังมีผลกระตุ้นการสร้าง IGF-1 (Insulin-like growth factor-1), BMP-6 (Bone morphogenic protein-6), TGF-B (transforming growth factor-B) ซึ่งมีผลยับยั้งการสลายมวลกระดูก (anti-resorptive activity) อีกด้วย เอสโตรเจนยังมีผลโดยตรงในการกระตุ้นการพัฒนาและการทำงานของออสทีโอบลาสต์ ที่มีหน้าที่ในการสร้างมวลกระดูก รวมถึงเพิ่มการสร้าง collagen type I, osteocalcin, osteopontin, osteonectin และ alkaline phosphatase (ALP) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นตัวชี้วัดการทำงานของออสทีโอบลาสต์ นอกจากนี้เอสโตรเจนยังมีผลกระตุ้นการสร้าง OPG (osteoprotegrin) จากออสทีโอบลาสต์ ซึ่งเป็น cytokines ในซุปเปอร์แฟมิลีเดียวกับ TNF (soluble non-membrane-bound member of TNF superfamily) โดย OPG จะทำหน้าที่เป็น 'decoy' receptor หรือตัวล่อเพื่อไม่ให้ OPG-L (osteoprotegrin-ligand) จับกับตัวรับซึ่งก็คือ RANK (receptor activator of NF-kappa B) ซึ่งมีผลยับยั้งการพัฒนาของออสทีโอคลาสต์ (Loose-Mitchell and Stancel, 2001)

ในภาวะที่ขาดเอสโตรเจนเซลล์ monocyte จะหลั่ง cytokines ที่ชื่อ IL-1 และ TNF ซึ่งจะทำหน้าที่กระตุ้นให้เซลล์สโตรมา หลั่ง cytokines ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง RANKL (receptor activator of NF-kappa B ligand) ซึ่งจับกับตัวรับบนเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สลายกระดูก ทำให้เซลล์ดังกล่าวพัฒนาไปเป็นเซลล์สลายกระดูกเต็มวัยและเพิ่มการสลายกระดูกในอัตราที่เร็วขึ้น

ปริมาณของสารที่เกิดจากการสลาย collagen ในกระบวนการสลายเนื้อกระดูก เช่น pyridinoline cross-links, deoxypyridinoline cross-links, amino-terminal telopeptide และ carboxy-terminal telopeptide ของ type I collagen มีหน้าที่เชื่อม collagenfibrin ใน bone matrix ทำให้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น ซึ่ง carboxy-terminal telopeptide เมื่อเกิดการสลายกระดูกจะมีการเปลี่ยนไปเป็น ß-carboxy-terminal telopeptide สามารถวัดได้ใน serum ซึ่งดัชนีที่ใช้ในการวัดเรียกว่า ß-crosslaps เมื่อเกิดการสลายกระดูกจะพบ ß-crosslaps เพิ่มขึ้น ส่วน osteocalcin เป็นโปรตีนใน bone matrix สร้างจากออสทีโอบลาสต์จะสะสมในกระดูกในระยะ formation ถ้า osteocalcin เพิ่มขึ้นแสดงว่ามีการสร้างมวลกระดูกเพิ่มขึ้น ทำให้นำมาเป็นตัวชี้วัดการสร้างกระดูกได้ (Chestnut et al.,1997)

การศึกษาผลปกป้องกระดูกของ Phytoestrogens

มีการศึกษาถึงฤทธิ์ปกป้องมวลกระดูกของ phytoestrogens ที่ได้จากพืชต่าง ๆ มากมาย การศึกษาของ Fanti (1998) ถึงฤทธิ์ของฮอร์โมนที่พบในถั่วเหลือง คือ genistein โดยการฉีดเข้าใต้

ผิวหนัง ในหนูขาวที่ได้รับการผ่าตัดรังไข่ออกทั้ง 2 ข้าง นาน 21 วัน เปรียบเทียบกับหนูที่ไม่ได้ตัดรังไข่ วัดค่า BMD ที่กระดูก tibia และตรวจค่าชีวเคมีของเลือด พบว่าหนูขาวที่ได้รับ genistein ขนาด 5 และ 25 ไมโครกรัม มีค่า BMD มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ genistein และมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่ไม่ได้ตัดรังไข่ คาดว่า genistein ซึ่งเป็น phytoestrogens ชนิดหนึ่ง มีความชอบในการจับกับ estrogen receptor (ß) สูง ตัวรับเอสโตรเจนชนิดเบต้านี้พบมากในเนื้อเยื่อกระดูก (Onoe, 1997) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า genistein ยับยั้ง TNF α ซึ่งเป็น cytokine ที่มีผลยับยั้งการสร้างกระดูก (Bertolini, 1986) ดังนั้น genistein จึงมีผลปกป้องภาวะกระดูกพรุนในหนูขาวที่ถูกตัดรังไข่ออก

การศึกษาของ Sivarajan และคณะ (1994) พบว่าเมื่อให้สารสกัดจากต้น Hadjod ซึ่งเป็นสมุนไพรจากประเทศ Hindi ในหนูที่ได้รับการผ่าตัดเอารังไข่ออกทั้ง 2 ข้าง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเอสตราไดออล จากนั้นทำการวัดค่า BMD ที่ กระดูก lumbar spine และกระดูก femur พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพืชสมุนไพรดังกล่าว มีค่าBMDใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Shirwaiker และคณะ (2003) นำสารสกัดด้วยเอธานอลจากต้นเพชรสังฆาต (Cissus quadrangularis) ซึ่งพบมากในประเทศอินเดีย นำมาป้อนทางปากให้หนูที่ถูกตัดรังไข่ออกทั้ง 2 ข้าง เปรียบกับกลุ่มที่ได้รับ Raloxifen ซึ่งเป็น SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator) พบว่าหนูที่ได้รับสารสกัดจาก Cissus quadrangularis ขนาด 500 และ 750 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีค่า alkaline phosphatase (biomarker ของการวัดการหมุนเวียนของกระดูกในร่างกายในระยะที่มีการสร้างกระดูก) ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับ Raloxifen และสารสกัดจาก Cissus quadrangularis ขนาด 500 และ 750 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีผลปกป้องภาวะกระดูกพรุนในหนูขาวที่ถูกตัดรังไข่ออก และมีค่า BMD สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ Raloxifen คาดว่าสารสกัดดังกล่าว ที่ได้มีสารประกอบ phytogenic steroid ที่อาจจะมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน สามารถจับกับ estrogen receptor ที่กระดูก และอาจจะมีผลกระตุ้น osteoblast activity ในกระดูก (Sowers, 1995)

การศึกษาที่ทำในสารสกัดจากส่วนลำต้นใต้ดิน Black cohosh (Cimicifuga racemosa) มีสารสำคัญ คือ triterpenes glycosides, phenolic substances และกลุ่ม classic phytoestrogen ได้แก่ ไอโซฟลาโวน, coumestans, lignans และ flavonoids พบว่าประสิทธิภาพและออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนต่อเนื้อเยื่อกระดูก แต่ไม่มีผลกระตุ้นต่อเนื้อเยื่อเต้านมหรือเยื่อบุมดลูก (Hostanska K, 2004) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์คล้าย selective estrogen receptor modulators (SERMs)อีกด้วย เนื่องจาก black cohosh ยังมีความสามารถเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ในเซลล์เนื้อเยื่อเต้านม (Hostanska K, 2004) ผู้ทำการศึกษาคาดว่าสมุนไพรดังกล่าว มีกลไกของการปกป้องกระดูก คือ เป็น estrogenic osteoclasts, ยับยั้ง osteoclast ผ่าน osteoblast derived inhibitory cytokines

มีการติดตามการศึกษามากกว่า 1 ปี พบว่า ภาวะหมดประจำเดือนทำให้เกิดการขาดเอสโตรเจนเกิดการสูญเสียมวลกระดูกอย่างรวดเร็ว เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคกระดูกพรุน จึงมีการนำไอโซฟลาโวนทำปฏิกิริยาโดยตรงกับ estrogenic receptors ที่เซลล์กระดูก ในหลอดทดลอง พบว่า daidzein และ genistein ส่งเสริมการเติบโตของออสทีโอบลาสต์กระตุ้น bone formation (Setchell and Lydeking-Oslen, 2003)

งานวิจัยที่ศึกษาจากการสังเกต หญิงวัยหมดประจำเดือนที่บริโภคไอโซฟลาโวนปริมาณสูง สามารถเพิ่มค่าความหนาแน่นของกระดูกทั้งในกระดูกสันหลังและสะโพก (Mei et al., 2001) มีการศึกษาแบบ double-bind, placebo-controlled study ประเมินหญิงวัยหมดประจำเดือน 203 คน ผลการศึกษา ในกลุ่มที่ใช้ ไอโซฟลาโวน 80 มิลลิกรัม มีความหนาแน่นของกระดูกสูงขึ้น (Chen et al., 2003) และได้มีการศึกษาแบบ double-blind, placebo-controlled clinical trial ในหญิงเริ่มหมดประจำเดือน พบว่า genistein ลดการสลายกระดูกและเพิ่ม bone formation (Morabito et al., 2002) แต่มีการศึกษาผลของ ไอโซฟลาโวน 61.8 มิลลิกรัม ในหญิงวัยหมดประจำเดือนชาวญี่ปุ่น จำนวน 23 คน โดยศึกษาแบบ double-bind, placebo-controlled study พบว่า ระดับของ osteocalcin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่ศึกษาและกลุ่มควบคุม (Uesugi et al., 2002)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

1. **วัสดุและอุปกรณ์**

สารทดสอบ : สารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง (Flava soy) ซึ่งมีสารสกัดไอโซฟลาโวน 25 มิลลิกรัม ในแต่ละแคปซูลจากองค์การเภสัชกรรม ขนาดยาที่ใช้คำนวณจากน้ำหนักประชากรเฉลี่ยได้ 100 มิลลิกรัมต่อวัน ให้รับประทานครั้งละ 2 แคปซูล เช้า และเย็น

: placebo สามารถเตรียมโดยใช้แคปซูลที่มีสีและขนาดเช่นเดียวกับสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง (Flava soy) นำมาบรรจุ dextrose ในแต่ละแคปซูล ซึ่งมีน้ำหนักเท่ากันกับแคปซูลของสารสกัด ไอโซฟลาโวน จากถั่วเหลือง

สารเคมี : N-MID osteocalcin Kit. (Roche)
streptavidin-coated microparticles, anti-N-MID osteocalcin Ab-biotin และ anti-N-MID osteocalcin Ab-Ru
ß-crosslaps Kit. (Roche)
streptavidin-coated microparticles, anti-ß-crosslaps Ab-biotin และ anti-ß-crosslaps Ab-Ru

เครื่องมือ : Electrochemiluminescence, centrifuges และ Dual-energy X-ray Absorptiometry

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. **ระเบียบวิธีวิจัย** (Research methodology)

ประชากร

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมการทดลอง

1.1 หญิงหมดประจำเดือนอายุ 45-64 ปี หมดประจำเดือนนาน 1-10 ปี และพบว่าเป็นโรคกระดูกบางโดยการตรวจวัดความหนาแน่นของกระดูกที่วัดด้วยวิธี Dual-energy X-ray Absorptiometry (DEXA) พบว่ากระดูกบาง (osteopenia) ค่าความหนาแน่นของกระดูกอยู่ระหว่าง -1 ถึง -2.5 SD

1.2 ไม่มีประวัติของโรคที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงมวลกระดูก เช่น hyperparathyroidism เป็นต้น

1.3 ไม่สูบบุหรี่ หรือติดแอลกอฮอล์ (alcohol abuse)

1.4 สามารถปฏิบัติตามเงื่อนไขการศึกษาได้ครบถ้วน

1.5 ไม่เป็นผู้มีประวัติการแพ้ถั่ว

เกณฑ์การคัดอาสาสมัครออกจากการทดลอง

1.1 ผู้ที่มีอาการแพ้ยาหรืออาการผิดปกติต่างๆ ในระหว่างการทำการวิจัย

1.2 ผู้เคยรับการรักษาด้วยฮอร์โมนทดแทน หรือยาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกระดูกภายในเวลา 2 เดือนที่ผ่านมา เช่น calcium, risedronate และ strontium เป็นต้น

1.3 ผู้มีประวัติเป็นโรคมะเร็งเต้านม และมะเร็งเยื่อบุมดลูก

การยินยอมเข้าร่วมโครงการ

อาสาสมัครทุกคนที่เข้าร่วมโครงการ จะได้รับการชี้แจงเกี่ยวกับวิธีการศึกษาวิจัยให้ทราบ พร้อมทั้งให้ผู้เข้าร่วมโครงการลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการเป็นลายลักษณ์อักษร (ภาคผนวก ก)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. ซักถามประวัติและตรวจร่างกายตามแบบฟอร์มที่กำหนด (ภาคผนวก ข)
2. คัดเลือกอาสาสมัคร จำนวน 80 คน และชี้แจงรายละเอียดเกี่ยวกับวิธีการศึกษาวิจัย ผู้เข้าร่วมโครงการลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปภาพที่ 5 กระบวนการศึกษา

ขั้นตอนการดำเนินวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 : การเก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัคร

การเก็บตัวอย่างเลือด (Arezoo, 2005) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1) ให้ผู้เข้าร่วมวิจัยงดเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ก่อนการทดลองอย่างน้อย 3 วันจนตลอดการศึกษา และไม่ใช้ยาอื่นใดที่ไม่มีความจำเป็นก่อนการทดลองเป็นเวลา 7 วัน
2) ในวันที่ทำการทดลองผู้เข้าร่วมวิจัยแต่ละคนจะถูกเก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 7 ml. จากหลอดเลือดดำที่แขน และกลุ่มหนึ่งได้รับยาที่มีไอโซฟลาโวน และอีกกลุ่มได้รับยาหลอก ตามตารางสุ่ม โดยรับประทานครั้งละ 2 แคปซูล หลังอาหารเช้า-เย็น ทุกวัน เป็นเวลา 3 เดือน โดยผู้เข้าร่วมวิจัยต้องมารับยาทุก 3 สัปดาห์ เพื่อตรวจนับเม็ดยาและติดตามอาการที่เกิดจากการใช้ยา
3) นัดผู้เข้าร่วมวิจัยช่วงเช้า 09.00 น. เพื่อเก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 7 ml. จากหลอดเลือดดำที่แขน ที่ 0, 6 และ 12 สัปดาห์
4) นำพลาสมาที่ได้มาปั่นแยก serum โดยเครื่อง centrifuges เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 **: การวิเคราะห์ระดับ** osteocalcin **ในตัวอย่างเลือด**

การวิเคราะห์หาระดับ osteocalcin ในตัวอย่างเลือดโดยการนำตัวอย่างเลือดมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนตัวอย่างเลือดละลาย โดยใช้สารเคมีของ N-MID osteocalcin Kit. ทำการ calibrate โดยนำ calibrate set ละลายในน้ำกลั่น 1 ml. 2 จุด แล้วนำมาเทียบกับ standard curve เพื่อดู duplicate จากนั้นนำตัวอย่างเลือดมาทดสอบด้วยเครื่อง electrochemiluminescence โดย sandwich principle ซึ่ง N-MID osteocalcin ที่ติดฉลากด้วย biotin (anti-N-MID osteocalcin Ab-biotin) ซึ่งเป็นแอนติบอดีตัวที่หนึ่ง เมื่อเติม streptavidin-coated microparticles ลงไป N-MID osteocalcin ที่ติดฉลากด้วย biotin จะไปเกาะที่ streptavidin-coated microparticles (solid phase) และถูกแม่เหล็กจับไปเกาะที่แผ่น electrode ส่วนโมโนโคนอลแอนติบอดีต่อ N-MID osteocalcin ที่ติดฉลากด้วยสารประกอบ ruthenium (anti-N-MID osteocalcin monoclonal Ab-Ru complex) ซึ่งเป็นแอนติบอดีตัวที่สอง จะถูก detect ด้วย electrode ซึ่งแอนติเจนจะจับกับแอนติบอดีทั้งสองตัวเป็น immune complex เมื่อกระแสไฟฟ้าผ่าน electrode จะทำให้เกิด chemiluminescence emission ซึ่งวัดผลได้

ส่วนการวิเคราะห์หาระดับ ß-crosslaps ในตัวอย่างเลือดโดยใช้สารเคมีของ ß-crosslaps Kit. ซึ่งทำการทดสอบและใช้หลักการเช่นเดียวกับ osteocalcin

หลังจากการวิเคราะห์แล้ว ตัวอย่างเลือดที่เหลือ จะถูกเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 ºC จนกระทั่งการวิจัยสิ้นสุด จะนำตัวอย่างเลือดทั้งหมดใส่ถุงดำ แล้วนำไปเผาที่เตาเผาขยะของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ (statistical analysis)

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Mean ± Standard error of means) ใช้สถิติ ANCOVA (analysis of covarience) เปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มที่ใช้ flava soy กับกลุ่มควบคุม และใช้สถิติ repeated ANOVA (analysis of varience) เปรียบเทียบข้อมูลกลุ่มเดียวกัน พิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ลักษณะพื้นฐานทางกายภาพและชีวเคมี

ก่อนทำการศึกษาได้ตรวจวัดลักษณะพื้นฐานทางกายภาพและค่าชีวเคมีในเลือดของผู้เข้าร่วมโครงการทุกคน เช่น อายุ, น้ำหนัก, ส่วนสูง, ความดันโลหิต, ระดับน้ำตาลในเลือด, ระดับไขมันในเลือด, การทำงานของเอนไซม์ในตับ และค่าความหนาแน่นของกระดูก เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก พบว่าทั้งสองกลุ่มมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน (ตารางที่1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (mean ± SE) แสดงลักษณะพื้นฐานทางกายภาพ และชีวเคมีของกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

Indicators	Isoflavones (n =40)	Placebo (n =40)
Age (Years)	56 ± 5.6	54 ± 4.5
Weight (kg)	55 ± 8.9	55 ± 6.8
Height (cm)	153 ± 4.8	152 ± 5.4
BMI (kg/m^2)	23 ± 4.3	23 ± 3.2
Systolic (mmHg)	115 ± 12	117 ± 10
Diastolic (mmHg)	72 ± 5	73 ± 4
Blood sugar (70-110 mg/dl)	93 ± 15	93 ± 10
Cholesterol (150-220 mg/dl)	202 ± 34	197 ± 34
Triglyceride (40-155 mg/dl)	88 ± 26	84 ± 35
SGOT (0-38 U/L)	21 ± 5.5	21 ± 4.4
SGPT (0-38 U/L)	19 ± 9.0	20 ± 9.7
Alkaline phosphatase (39-117 U/L)	60 ± 19	64 ± 18
BMD {T-Score (-1)-(-2.5)}	-1.4 ± 0.4	-1.5 ± 0.4

BMI = body mass index

BMD = bone mineral density

ตารางที่ 2 **ค่าเฉลี่ย** (mean ± SE) **ของ** osteocalcin (ng/ml) **ในกลุ่มที่ทำการศึกษา**

Times (weeks)	Isoflavones group (n= 40)	Placebo group (n= 40)
0	21.86 ± 6.5	22.89 ± 8.8
6	16.64 ± 7.5	16.97 ± 8.7
12	17.48 ± 6.7	19.34 ± 8.2

ตารางที่ 3 **ค่าเฉลี่ย** (mean ± SE) **ของ ß-**crosslaps (ng/ml) **ในกลุ่มที่ทำการศึกษา**

Times (weeks)	Isoflavones group (n= 40)	Placebo group (n= 40)
0	0.49 ± 0.17	0.48 ± 0.18
6	0.37 ± 0.17	0.40 ± 0.21
12	0.32 ± 0.15	0.36 ± 0.19

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ osteocalcin **และ ß-**crosslaps

เมื่อเริ่มการศึกษาพบว่า Osteocalcin มีค่าเฉลี่ยของกลุ่ม ไอโซฟลาโวน และ กลุ่ม ยาหลอก มีค่าใกล้เคียงกัน และลดลงในสัปดาห์ที่ 6 ทั้งสองกลุ่ม แต่ค่อยๆ เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 12 (ตารางที่ 2) ซึ่งเมื่อเทียบค่าการลดลงจากค่าตั้งต้น พบว่าในกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน ค่า osteocalcin ลดลง ร้อยละ 20.03 และสำหรับในกลุ่มที่ได้รับ ยาหลอก พบว่ามีค่าลดลงร้อยละ 15.50 ส่วนค่าเฉลี่ยของ ß-crosslaps เริ่มต้นการศึกษามีค่าใกล้เคียงกันทั้งสองกลุ่ม และค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องในสัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 12 (ตารางที่3) ซึ่งเมื่อเทียบค่าการลดลงจากค่าตั้งต้น พบว่าในกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน ค่า ß-crosslaps ลดลงร้อยละ 34.69 และสำหรับในกลุ่มที่ได้รับยาหลอก พบว่ามีค่าลดลงร้อยละ 25.00

เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับ ยาหลอก

เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก โดยใช้สถิติ ANCOVA เพื่อปรับค่าตั้งต้นของทั้งสองกลุ่มให้เท่ากัน ผลการศึกษาพบว่า ค่าของ osteocalcin ลดลงจากค่าตั้งต้นที่ 12 สัปดาห์ทั้งในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ 12 สัปดาห์ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4) ส่วนผลการศึกษาของ ß-crosslaps ลดลงจาก ค่าตั้งต้นที่ 12 สัปดาห์ทั้งในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ 12 สัปดาห์ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย (mean ± SE) ของ osteocalcin ในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

Times (weeks)	Isoflavones (ng/ml) (n= 40)	Placebo (ng/ml) (n= 40)	*P* value*
0	21.86 ± 6.5	22.89 ± 8.8	
12	17.48 ± 6.7	19.34 ± 8.2	0.351

*ANCOVA
Significant at P < 0.05

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ย (mean ± SE) ของ ß-crosslaps ในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

Times (weeks)	Isoflavones (ng/ml) (n= 40)	Placebo (ng/ml) (n= 40)	*P* value*
0	0.49 ± 0.17	0.48 ± 0.18	
12	0.32 ± 0.15	0.36 ± 0.19	< 0.071

*ANCOVA
Significant at P < 0.05

เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของ osteocalcin **และ** B-crosslaps **ภายในกลุ่มเดียวกันเอง**

เมื่อเปรียบเทียบค่าของ osteocalcin และB-crosslaps ระหว่าง ค่าตั้งต้น (baseline value) และค่าในสัปดาห์ที่ 6 หรือ สัปดาห์ที่ 12 พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่ว่าจะเป็นกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน หรือกลุ่มยาหลอก แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าทั้งสองดังกล่าวระหว่างสัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 12 กลับไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทั้งสองกลุ่ม (ตารางที่ 6 และ 7)

ตารางที่ 6 **ค่าเฉลี่ยของ** Osteocalcin **ภายในกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก**

Group	weeks	weeks	P value*
placebo(ng/ml)	0	6	0.001
	0	12	0.005
	6	12	0.092
isoflavones (ng/ml)	0	6	0.001
	0	12	0.001
	6	12	1.000

*Repeated ANOVA

Significant at P < 0.05

ตารางที่ 7 **ค่าเฉลี่ยของ** ß-crosslaps **ภายในกลุ่มที่ได้รับ ไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก**

Group	weeks	weeks	P value*
placebo(ng/ml)	0	6	0.004
	0	12	0.001
	6	12	0.310
isoflavones (ng/ml)	0	6	0.001
	0	12	0.001
	6	12	0.168

*Repeated ANOVA

Significant at P < 0.05

อาการที่เกิดขึ้นระหว่างทำการศึกษา

ระหว่างการศึกษาลักษณะทางกายภาพและผลตรวจทางชีวเคมีของผู้เข้าร่วมโครงการไม่เปลี่ยนแปลง แต่มีผู้ที่เกิดอาการในระบบทางเดินอาหาร เช่น ท้องผูก ท้องอืด และคัน (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 อาการที่เกิดขึ้นระหว่างทำการศึกษา

Symtoms	Isoflavones	Placebo
constipation	4	2
flatulence	6	5
itchiness	1	-

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

อภิปรายผลและสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง ต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายมวลกระดูกหลังจากได้รับสารสกัดไอโซฟลาโวน เป็นเวลา 3 เดือน โดยใช้ osteocalcin และ ß-crosslaps เป็นตัวชี้วัด พบว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก ค่าของ osteocalcin และ ß-crosslaps ลดลงจากค่าตั้งต้น ที่ 12 สัปดาห์ในทั้งสองกลุ่มโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มเดียวกันพบว่าค่าของ osteocalcin และ B-crosslaps ในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของค่าทั้งสองมากกว่ากลุ่มที่ได้ยาหลอก ถึงแม้จะยังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม แนวโน้มดังกล่าวบ่งชี้ว่า สารสกัดไอโซฟลาโวน อาจมีผลต่อการลดการสลายความหนาแน่นของกระดูก ถ้าให้ต่อเนื่องไปเป็นระยะเวลาที่นานขึ้นหรือให้ในขนาดที่สูงขึ้น ซึ่งจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อยืนยันสมมติฐานดังกล่าว

ข้อดีของการติดตามผลการเปลี่ยนแปลงของการรักษาโรคกระดูกพรุนด้วยตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูก ก็เนื่องจากสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวได้ในระยะเวลาสั้นๆ ภายในเวลา 3 เดือน แต่ถ้าใช้ การตรวจวัดความหนาแน่นของกระดูก (bone mineral density, BMD) จำเป็นต้องใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 6-12 เดือนจึงจะเห็นการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของกระดูก (Chesnut, 1997)

จากการศึกษาพบว่าค่าของ osteocalcin ลดลงจากค่าตั้งต้น ในสัปดาห์ที่ 6 และค่อยๆเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 12 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ในปี 2000 Alekel และคณะ (Alekel et al, 2000) ได้ทำการศึกษาผลของการไอโซฟลาโวน 80 มิลลิกรัมต่อวัน ภายในระยะเวลา 6 เดือน พบว่าไม่มีผลต่อ bone formation ในปีเดียวกันมีการศึกษาไอโซฟลาโวนความเข้มข้น 180 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าค่าของ osteocalcin ลดลง ประมาณร้อยละ 10 (Wangen et al, 2000) และจากการศึกษาของ Scheiber และคณะ (Scheiber et al., 2001) พบว่าภายในระยะเวลา 3 เดือน phytoestrogen สามารถลดระดับของการสลายความหนาแน่นของกระดูก ได้ร้อยละ 14โดยใช้ urinary cross-linked N-telopeptide ซึ่งเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่ากระบวนการในการสลายความหนาแน่นของกระดูก ใช้ระยะเวลาประมาณ 4-6 สัปดาห์ แต่กระบวนการในการสร้างความหนาแน่นของกระดูก อาจใช้เวลาถึง 3-6 เดือน จึงอาจทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของตัวชี้วัดการสร้างความหนาแน่นของกระดูก (osteocalcin) ได้ช้ากว่าตัวชี้วัดของการสลายกระดูก (B-crosslaps) ดังนั้น ถ้าติดตามการศึกษาให้นานออกไป อาจเห็นการเปลี่ยนแปลงของ osteocalcin ชัดเจนกว่านี้ การที่ค่าของ osteocalcin มีการลดลงทั้งในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

แสดงว่าอาจมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของกระดูก ด้วย เช่น การออกกำลังกาย สภาพแวดล้อม เป็นต้น

ค่า ß-crosslaps ของผู้ที่ได้รับไอโซฟลาโวน ที่ลดลงจาก baseline อย่างต่อเนื่องในสัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 12 คิดเป็นร้อยละ 34.69 ซึ่งค่อนข้างจะมีความหมายในทางคลินิก ทั้งนี้แสดงให้เห็นแนวโน้มว่าไอโซฟลาโวนที่ใช้ในการศึกษานี้ อาจมีฤทธิ์ต่อการสลายความหนาแน่นของกระดูก ได้ในระดับหนึ่ง ซึ่งคงยังต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไปเพื่อยืนยันแนวคิดดังกล่าว จากการศึกษาของ Delmas และคณะ (Delmas, 2000) พบว่าหลังจากได้รับ phytoestrogen แล้ว พบว่ามีการสลายความหนาแน่นของกระดูก ลดลง 5-9% ซึ่งสนับสนุนถึงผลของสารในกลุ่มนี้ต่อการชะลอการสลายความหนาแน่นของกระดูก การศึกษาในครั้งนี้ ได้ทำการตรวจดัชนีชี้วัด 2 ค่า คือ osteocalcin และ ß-crosslaps ซึ่งดัชนีชี้วัด 2 ค่านี้จัดเป็น bone marker ที่สำคัญที่แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของการสลายความหนาแน่นของกระดูก จากผลการศึกษาภายในระยะเวลา 3 เดือน พบว่า osteocalcin มีค่าลดลงและมีการเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 12 แต่ยังจัดว่าไม่มีการเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับค่าตั้งต้น ซึ่งค่า osteocalcin เป็นดัชนีที่บ่งถึงค่า bone formation และสำหรับ β-crosslaps นั้นจัดเป็นดัชนีชี้วัดที่บ่งถึงการเปลี่ยนแปลงของการสลายความหนาแน่นของกระดูก ซึ่งพบว่ามีการลดลงอย่างต่อเนื่อง

จากผลการศึกษานี้ถึงแม้จะยังไม่สามารถสรุปได้ว่า ไอโซฟลาโวนในชนิด ปริมาณ และระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษานี้ สามารถลดการสลายความหนาแน่นของกระดูก ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็แสดงให้เห็นแนวโน้มในทางที่น่าจะเป็นประโยชน์ต่อการป้องกันการสูญเสียความหนาแน่นของกระดูก ในสตรีวัยหมดประจำเดือน ซึ่งน่าจะได้ทำการศึกษาเพื่อให้ได้ทราบข้อเท็จจริงต่อไป ซึ่งในอนาคต ถ้าสามารถวิจัยหาชนิด ขนาด และระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้สารในกลุ่ม phytoestrogen เพื่อใช้รักษาอาการหรือปัญหาในสตรีวัยหมดประจำเดือนได้ ก็จะช่วยลดความกังวลที่จะต้องใช้ฮอร์โมนทดแทน โดยเฉพาะผลข้างเคียงจากการใช้ฮอร์โมนทดแทนในขนาดที่สูงและใช้เป็นระยะเวลานาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

References

ภาษาไทย

นิมิต เตชไกรชนะ. ปัญหาและการดูแลสตรีวัยทองในประเทศไทย. การประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 47 และการอบรมระยะสั้นฉลองสิริราชสมบัติครบ 60 ปี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสภากาชาดไทย.กรุงเทพมหานคร: ห้างหุ้นส่วนจำกัดภาพพิมพ์ (2549): 201-207.

ภาษาอังกฤษ

Alkestazzi P. Purified phytoestrogens in postmenopausal bone health: is there a role after genistein. Climacteric 5(2002): 190-196.

Alekel D.L., Germain A., Peterson C.T., Hanson K.B., Stewart J.W., Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. American Journal of Clinical Nutrition 72(2000):844–852.

Arezoo HR. and Farideh T. Assessment of soy phytoestrogens effects on bone turnover indicators in menopausal women with osteopenia in Iran: a before and after clinical trial. Nutrition Journal 4 (2005): 30-35.

Barnes S. Phyto-oestrogens and osteoporosis: what is a safe dose? British Journal of Nutrition 89(2003):101-108.

Bertolini D., Nedwin G. and Bringman T. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human necrosis factors. Nature 319(1986): 516-518.

Brzozowski A. M., Pike A.C.W., Dauter Z., Hubbard R. E., Bonn T., Engstrom O., Ohman L., Greene G. L., Gustafsson J.-A., Carlquist M. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. Nature 389(1997):753-758

Camston J. How to manage osteoporosis after the menopause. Best Practice & Research Clinical Rheumatology 19(2005): 1007-1019.

Canalis H., McCarthey T. and Centrella M. Growth factors and the regulation on bone remodeling. Journal of Clinical Investigation 81(1998): 277-281.

Chen Y., Ho SC. and Lam SS. Soy isoflavone have a favorable on bone loss in Chinease postmenopausal women with lower bone mass: a double-blind, randomized controlled trial. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 88(2003): 4740-4747.

Chestnut C., Bell N., Clark G., Drinkwater D., English S. and Johnston CC. Hormone replacement therapy in postmenopausal women. American Journal of Medicine 102(1997): 29-37.

Delmas P.D. Markers of bone turnover for monitoring treatment of osteoporosis with antiresorptive drugs. Osteoporos International 11(2000):S66–S76.

Divi RL., Chang HC. and Doerge DR. Anti-thyroid isoflavones from soybean.Isolation, characterization and mechanisms of action. Biochemical Pharmacology 54(1997):1087-1096.

Ettinger B. Reduction of vertebral in postmenopausal woman with osteoporosis treated with raloxifen: results from a 3-year randomized clinical trial. Journal of the American Medical Association 282(1999): 637-645.

Fanti P. The phytoestrogen genistein reduce bone loss in short-term ovariectomized rats. Osteoporosis International 8(1998): 274-281.

Fisher B. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the national surgical adjuvant breast and bowel project P-1 study. Journal of the National Cancer Institute 90(1998): 1371-1388.

Foucard T. and Malmheden YI. A study on severe food reactions in Sweden – is spy protein an underestimated cause of food anaphylasis? Allergy 54(1999): 261-265.

Gass M. and Dawson-Hughes B. Preventing osteoporosis-fractures: an overview. American Journal of Medicine 119(2006): 3-11.

Hostanska K. *Cimicifuga racemosa* extract inhibits proliferation of estrogen receptor-positive and negative human breast carcinoma cell lines by induction of apoptosis. Breast Cancer Research Treatment 84(2004): 151-160.

Koh LK., Sedrine WB. and Torralba TP. A simple tool to identify Asian woman at increase risk of osteoporosis. Osteoporosis International 12(2001): 699-705.

Lissin LW. and Cooke JP. Phytoestrogens and cardiovascular health. Journal of the American College of Cardiology 35(2000): 1403-1410.

Loose-Mitchell DS. and Stancel GM. Estrogens and progestins. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. (Hardman JG., Limbird LE. and Gilman AG. Eds) The McGraw-Hill Companies (2001): 1597-1629.

Mei J., Yeung SC. and Kung A. High dietary phytoestrogen intake is associated with higher bone mineral density in postmenopausal but not pre menopausal women. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 86(2001): 5217-5221.

Messina M. and Erdman JW. Third international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic diseases: Introduction. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 130(2000): 654-655.

Morabito N., Crisafulli A. and Vergara C. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. Journal of Bone and Mineral Research 17(2002): 1904-1912.

Nielsen S.P. The biological role of strontium. Bone 35(2004) : 583-588.

Onoe Y., Miyaura C. and Ohta H. Expression of estrogen receptor ß in rat bone. Endrocrinology 138(1997): 4509-4512.

PEPI trial writng group. Effect of hormone therapy on bone mineral density. Journal of the American Medical Association 276(1996): 1389-1396.

Scheiber M.D, Liu J.H, Subbiah M.T., Rebar R.W., Setchell K.D. Dietary inclusion of whole soy foods results in significant reductions in clinical risk factors for osteoporosis and cardiovascular disease in normal postmenopausal women. Menopause 2001; 8:384–392.

Setchell KD. and Lydeking-Oslen E. Dietary phytoestrogens and their effect on bone: evidence from *in vitro* and *in vivo*, human observational and dietary intervention studies. American Journal of Clinical Nutrition 2003; 78: 593-609.

Shirwaikar A., Khan S., and Malini S. Antiosteoporotic effect of ethanol extract of Cissus quadrangularis Linn. On ovariectomized rat. Journal of Ethnopharmacology 2003; 89(2003) : 245-250.

Siris ES., Miller PD., Barrett-Connor E., Faulkner KG., Wehren LE. and Abbott TA. Identification and fracture outcome of undiagnosed low bone mineral density in postmenopausal women. Journal of American Medical Association 286(2001): 2815-2823.

Sivarajan V., and Balachandran I. Ayurvedic drug and their plant source, pp. 496. Oxford and India Book Hourse Publishing Co. Pvt Ltd, 1994.

Sowers M., Eyre D., Hollis B., et al. Biochemical markers of bone turn-over in lactating and non-lactating postpartum woman. Journal of Clinical Endocrinology Metabolism 80(1995): 2210-2216.

Staren ED. and Omer S. Hormome replacement therapy in postmenopausal woman. American Journal of Surgery 188(2004): 136-149.

Tolbert T. and Oparil S. Cardiovascular effects of estrogen. American Journal of Hypertension 14(2001) :1865-1935.

Uesugi T., Fukui Y. and Yamori Y. Beneficical effects of soybean isoflavone supplementation on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal Japanese women. American Journal of Nutrition 21(2002): 97-102.

Wangen K.E., Duncan A.M., Merz-Demlow B.E., Xu X., Marcus R., Phipps W.R., Kurzer M.S. Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 85(2000):3043–3048.

Wei H., Bowen R. and Cai S. Antioxidant and antipromotioal effect of the soy bean isoflavone genistein. Experimental Biology and Medicine 208(1995):124-130.

World Health Organization. Prevention and management of osteoporosis. WHO Technical Report Series 921. Available at: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_ 921. pdf. (Accessed September 11, 2006)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

ข้อมูลสำหรับอาสาสมัคร

การศึกษาทางคลินิก : ผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง ต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกบาง

เรียน ผู้เข้าร่วมวิจัยทุกท่าน

ท่านเป็นผู้ที่ได้รับเชิญให้เข้าร่วมการศึกษาทางคลินิก เพื่อศึกษาผลของไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองสามารถป้องกันการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดระดูได้หรือไม่ โดยดูจากการวัดออสทีโอแคลซินและเบต้า-คอสแลพในเลือด หลังจากรับประทานยาที่มีไอโซฟลาโวน ก่อนที่ท่านจะตกลงเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าวขอเรียนให้ท่านทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ในปัจจุบันการรักษาโรคกระดูกบางสามารถทำได้ โดยการใช้ยาที่มีผลต่อความหนาแน่นของกระดูก ได้แก่ ยากลุ่มป้องกันการสลายกระดูก เช่น ฮอร์โมนทดแทน เป็นต้น

จากรายงานการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยโรคกระดูกบางที่ได้รับการรักษาด้วยฮอร์โมนทดแทนติดต่อกันเป็นระยะเวลามากกว่า 5 ปี มีโอกาสเกิดโรคมะเร็งเต้านม จากการศึกษาสารสกัดจากถั่วเหลือง (ไอโซฟลาโวน) เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าจะสามารถป้องกันการสร้างและสลายกระดูกได้ เนื่องจากออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาผลของสารสกัดไอโซฟลาโวน ต่อดัชนีการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกบางได้หรือไม่ โดยดูจากการวัดออสทีโอแคลซินและเบต้า-คอสแลพในเลือด และมีขั้นตอนการวิจัย ดังนี้

1. ก่อนการทดลองท่านต้องมีผลการตรวจความหนาแน่นของมวลกระดูก (bone mineral density , BMD) เพื่อวินิจฉัยการเป็นโรคกระดูกบาง
2. ท่านได้รับฟลาวาซอย (flava soy) ขนาด 100 มิลลิกรัม หรือได้รับยาหลอกตามตารางสุ่ม ท่านมีโอกาสจะถูกสุ่มเข้ากลุ่มที่ได้รับฟลาวาซอยหรือยาหลอกเท่าๆกัน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 15 คน รับประทานครั้งละ 2 แคปซูล (เช้าและเย็น) ทุกวัน เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยท่านต้องมารับยาทุก 3 สัปดาห์
3. ท่านมาพบแพทย์ทั้งหมด 5 ครั้ง คือ ครั้งแรก, สัปดาห์ที่ 3, สัปดาห์ที่ 6, สัปดาห์ที่ 9 และสัปดาห์ที่ 12
4. ท่านจะถูกเจาะเลือดที่แขน โดยพยาบาลเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 7 มิลลิลิตร ในครั้งแรก, สัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 12 เพื่อนำตัวอย่างเลือดไปตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงระดับออสทีโอแคลซิน และเบต้า-คอสแลพ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ผู้วิจัยนำตัวอย่างเลือดไปทำการวิเคราะห์หาระดับออสทีโอแคลซิน และเบต้า-คอสแลพ เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของมวลกระดูก
6. ในช่วงทำการวิจัยผู้วิจัยขอให้งดบริโภคอาหาร หรือ ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง เช่น น้ำเต้าหู้ นมถั่วเหลือง และยาที่ผลต่อการเปลี่ยนแปลงกระดูก เช่น แคลเซียม เป็นต้น
7. ตลอดระยะเวลาการวิจัย ผู้วิจัยขอให้ท่านออกกำลังกาย เช่น การบริหารกล้ามเนื้อและข้อเพื่อรักษาสมดุลในการทรงตัวและการเคลื่อนไหว

ความเสี่ยง

ในช่วงระยะเวลาการทดลองท่านอาจเกิดอาการข้างเคียงรุนแรงได้ ถ้าท่านแพ้ถั่วโดยมีอาการหายใจลำบาก มีผื่นขึ้น หากท่านมีอาการดังกล่าวควรแจ้งให้ทราบทันที เพื่อให้แพทย์รักษาภาวะดังกล่าว

หมายเหตุ

- การทดสอบทุกขั้นตอนอยู่ภายใต้การควบคุมดูแลของแพทย์
- ฟลาวาซอย เป็นสารสกัดจากถั่วเหลืองซึ่งผลิตโดยองค์การเภสัชกรรม ค่อนข้างมีความปลอดภัย โดยผลข้างเคียงที่มี คือ ท้องผูก ท้องอืด และอาเจียน และท่านต้องไม่มีประวัติแพ้ถั่ว
- ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆ ที่เกี่ยวกับโครงการวิจัย

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองท่านอาจได้รับประโยชน์ในการป้องกันการสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือน ซึ่งยาที่ใช้ค่อนข้างมีความปลอดภัย และผลข้างเคียงน้อย ส่วนกลุ่มที่ได้รับ placebo จะไม่เกิดความเสี่ยงมาก เนื่องจากหากได้ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองได้ผลดี ผู้วิจัยจะให้ยาแก่กลุ่ม placebo เป็นเวลา 3 เดือนด้วย

ผู้วิจัยจะได้ข้อมูลเกี่ยวกับประสิทธิภาพของไอโซฟลาโวน จากถั่วเหลืองว่าสามารถป้องกันการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือนได้หรือไม่ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรค หรือนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคกระดูกบางและมีโอกาสเกิดมะเร็งเต้านมได้

ขอขอบคุณในความร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

ใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง ผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกบาง

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

ข้าพเจ้า.....สมัครใจที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัย “ผลของสารสกัดไอโซฟลาโวนต่อตัวชี้วัดการสร้างและสลายกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือนที่เป็นโรคกระดูกบาง” ข้าพเจ้าเข้าใจโดยถ่องแท้ว่าการเข้าร่วมโครงการวิจัยในครั้งนี้ ข้าพเจ้าจะได้รับฟลาวาซอย ซึ่งเป็นสารสกัดจากถั่วเหลืองที่มีสารไอโซฟลาโวน รับประทานครั้งละ 2 แคปซูล เช้า-เย็น เป็นเวลา 3 เดือน และจะมีการเจาะเลือดครั้งละ 7 มิลลิลิตร (ประมาณ 1.5 ช้อนชา) ในวันที่มาพบแพทย์ครั้งแรก สัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 12 ทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ศึกษาผลของงานวิจัย ซึ่งตลอดระยะเวลาที่เข้าร่วมอยู่ในโครงการวิจัย ข้าพเจ้าจะได้รับการดูแล และติดตามจากแพทย์

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับและจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณีจำเป็นด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจในข้อความทั้งหมดของใบยินยอมครบถ้วนดีแล้ว ทั้งนี้ข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความสมัครใจ โดยไม่มีการบังคับใดๆ พร้อมทั้งลงลายมือชื่อเพื่อเป็นหลักฐานในการเข้าร่วมโครงการวิจัยดังกล่าว

ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ และเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ด้วยความสมัครใจ และการบอกเลิกเข้าร่วมโครงการนี้จะไม่เกิดผลเสียใดๆ ต่อข้าพเจ้าเลย

ลงชื่อ.....ผู้ยินยอม
(.....)
ลงชื่อ.....แพทย์ผู้เกี่ยวข้อง
(.....)
ลงชื่อ.....ผู้ดำเนินการวิจัย
(.....)
ลงชื่อ.....พยาน
(.....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

แบบฟอร์มประวัติเพื่อ screen subject เข้าร่วมโครงการ

Code

วันที่.....เวลา.....

1. อายุ.....ปี

2. เพศ ชาย หญิง

3. อาชีพ

แม่บ้าน รับราชการ รัฐวิสาหกิจ

พนักงานบริษัท อื่นๆ.....

4.จำนวนบุตร.....คน

5.หมดประจำเดือนเมื่ออายุ.....ปี โดย

ธรรมชาติ ผ่าตัด เนื่องจาก.....

6.ประวัติการเจ็บป่วย

6.1โรคประจำตัว เบาหวาน ตับอักเสบ ไตวาย

โรคหัวใจ อื่นๆ.....

6.2 เคยรับการผ่าตัดหรือไม่ ไม่เคย เคย (ระบุ).....

7.ประวัติการใช้ยา

7.1 ปัจจุบันรับประทานยาใดหรือไม่.....

7.2 ยาที่รับประทานเป็นประจำ.....

7.3 การแพ้ยา.....

8.ดื่มสุราหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์หรือไม่ ไม่ดื่ม ดื่ม ปริมาณ.....

9.สูบบุหรี่หรือไม่ ไม่สูบ สูบ ปริมาณ.....

10.ท่านแพ้ถั่วหรือไม่ ไม่แพ้ แพ้

11.ท่านสามารถเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ได้หรือไม่ ไม่ได้ ได้

ลงชื่อ.....ผู้บันทึก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Code

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.2550

ประวัติการตรวจร่างกายเบื้องต้น

ผลการตรวจร่างกาย

BW……..kg. Height……cm. BMI……...

1. Vital sign BP……mmHg
2. General appearance normal abnormal ……..
3. HEENT normal abnormal ……..
4. Heart normal abnormal ……..
5. Chest normal abnormal ……..
6. Abdomen normal abnormal ……..
7. Extremities normal abnormal ……..

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

Blood Chemistry

Blood sugar……...mg/dl (70-110 mg/dl)

Lipid profile

Cholesterol……mg/dl (150-200 mg/dl)

Triglyceride……...mg/dl (30-180 mg/dl)

HDL……...mg/dl (30-75 mg/dl)

LDL……mg/dl (60-160 mg/dl)

Liver function test

Albumin……..g/dl (3.5-5.5 g/dl)

Globulin……..g/dl (2.0-3.5 g/dl)

SGOT……..U/L (0-35 U/L)

SGPT……..U/L (0-35 U/L)

Total bilirubin……mg/dl (0.3-1 mg/dl)

Alkaline phosphatase……..U/L (30-120 U/L)

BMD……SD (-1 SD to -2.5 SD)

ผู้บันทึก.....

Code

แบบฟอร์มประวัติเพื่อติดตามอาการอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 9	สัปดาห์ที่ 12
	วันที่	วันที่	วันที่	วันที่	วันที่
อาการที่พบ					
§ ผื่น					
§ ท้องผูก					
§ ท้องอืด					
§ อาเจียน					
§ อื่นๆ					
อาหารที่บริโภค					
§ น้ำเต้าหู้					
§ นมถั่วเหลือง					
§ ขนมไส้ถั่ว					
§ อื่นๆ					
ยาที่ใช้					
§ แคลเซียม					
§ อื่นๆ					
จำนวนยาที่ได้รับ					
จำนวนยาที่เหลือ					
§ ถูกต้อง					
§ ไม่ถูกต้อง					

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 9 ข้อมูลทางกายภาพและชีวเคมีในกลุ่มไอโซฟลาโวน

Group	Age	BW	Height	BMI	BMD	BS	Cholesterol	TG	SGOT	SGPT	AP
1	54	57.5	152	24.8	-1.3	114	176	76	16	31	54
1	57	49.5	152	21.43	-1.6	78	200	69	22	11	40
1	48	47.7	158	19	-1.1	153	154	67	17	23	41
1	50	45	155	18.75	-1.8	80	235	92	18	10	62
1	50	45.2	150	20	-1.5	82	189	51	17	11	70
1	50	63.8	149	24	-1.7	89	223	36	17	15	42
1	50	57.7	147	27.4	-2.2	91	200	131	21	23	32
1	50	52	153	24	-1.5	94	240	135	35	32	44
1	50	53	158	21.63	-1.5	89	147	122	27	17	23
1	50	47.6	155	19.83	-1.8	136	165	134	23	24	28
1	50	56	148	25.5	-1.9	83	175	99	26	18	60
1	50	58.5	154	24.7	-1.2	99	194	152	17	14	67
1	65	66	156	27.2	-1.1	92	190	89	23	12	44
1	48	45.8	147	21.2	-1.2	74	146	39	19	15	76
1	58	61.9	155	25.7	-1.2	91	142	110	19	12	86
1	59	65	165	24	-1.1	84	192	90	14	13	69
1	59	58.8	156	24.1	-1.7	108	200	79	24	24	86
1	57	54.3	156	22.6	-1.5	79	213	98	22	13	97
1	60	59.6	148	27.2	-2	116	214	106	20	20	98
1	57	50	154	21	-1.9	95	208	82	26	21	80
1	57	51.4	154	21.6	-1.4	82	194	109	24	15	56
1	64	39	141	19.6	-1.4	98	238	98	14	23	73
1	62	50	147	23.1	-1.5	82	218	68	19	18	49
1	56	62	145	29.5	-1.1	85	227	123	22	23	44
1	59	72.3	154	26.9	-1.1	80	236	104	18	14	69
1	56	49.6	158	22.6	-1.2	87	242	63	21	12	56

Group	Age	BW	Height	BMI	BMD	BS	Cholesterol	TG	SGOT	SGPT	AP
1	52	70	155	31.1	-1.5	97	145	83	43	58	80
1	63	59	150	24.8	-1	90	235	87	23	21	73
1	53	53	153	23.2	-1.1	92	202	89	22	34	55
1	62	48	149	22.2	-2	78	197	91	24	26	43
1	58	63	147	23.7	-2.4	89	203	82	18	14	50
1	60	42	153	18.9	-1.6	94	255	84	17	11	56
1	58	62	158	28.1	-1.1	96	198	69	21	20	77
1	45	80	156	23.1	-1.4	93	212	67	31	22	78
1	60	46.9	161	20.5	-1.2	93	213	76	18	13	65
1	49	64	155	27.3	-1.6	88	211	102	15	10	80
1	58	47	148	20.3	-1.3	93	216	68	21	15	44
1	65	52	150	21.1	-1.3	97	194	64	23	22	46
1	64	44	154	19.5	-2.1	88	220	71	21	11	43
1	64	48.7	145	22.5	-1.1	92	212	78	22	29	45

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ข้อมูลทางกายภาพและชีวเคมีในกลุ่มยาหลอก

Group	Age	BW	Height	BMI	BMD	BS	Cholesterol	TG	SGOT	SGPT	AP
0	56	70.9	154	29.91	-1.1	121	184	86	14	42	33
0	50	53.3	155	22.2	-1.7	84	200	81	21	16	92
0	50	57	153	24.5	-1.1	92	209	61	18	13	93
0	50	57.1	156	23.79	-1.7	124	240	100	19	23	45
0	50	43.4	150	19.1	-1.3	89	224	138	21	15	66
0	50	59	161	22.7	-1.2	91	198	71	18	8	61
0	50	58.2	155	24.25	-1.5	91	208	37	20	13	66
0	50	48	150	21.81	-2	82	255	74	17	18	57
0	60	51	147	23.1	-1.8	88	198	44	16	21	56
0	55	54.1	160	21.1	-2.1	96	220	68	26	24	87
0	50	56	149	29.4	-1.3	84	198	96	21	14	67
0	51	52.3	160	20.4	-1.8	90	241	79	20	20	84
0	60	58	150	25.7	-1.7	85	219	74	24	17	52
0	46	40	152	17.3	-1.8	92	201	149	16	18	55
0	56	55.5	143	27.3	-2.2	78	234	102	17	17	76
0	52	48	153	20.5	-1.8	93	160	44	21	12	39
0	50	51	155	21.1	-1.5	93	142	81	18	16	51
0	62	52	145	21.6	-1	89	154	37	27	19	78
0	64	58.4	156	24.7	-1.7	114	110	28	24	34	74
0	57	52	147	21.6	-1.2	86	223	142	18	29	56
0	58	60	147	23.8	-2.2	85	107	114	31	29	74
0	58	52	160	22.5	-1	102	219	176	16	16	71
0	56	64	149	27.7	-1.1	103	215	109	19	20	54
0	62	57.7	159	27	-1	106	178	78	25	12	66
0	53	51	155	19.6	-1.8	91	208	79	19	12	49
0	48	57	150	22.2	-1.6	108	207	70	23	18	60
0	54	58.8	152	23.6	-1.2	85	149	74	22	34	67
0	56	51	143	24.6	-1.3	89	206	90	19	12	65

Group	Age	BW	Height	BMI	BMD	BS	Cholesterol	TG	SGOT	SGPT	AP
0	54	75	165	32.8	-2.1	88	188	58	20	20	38
0	59	59	156	23.6	-1.1	81	188	49	22	14	53
0	52	51	153	24.2	-1.6	80	210	81	17	12	89
0	56	50	156	21.3	-1.7	85	225	69	20	13	58
0	52	57	148	24	-1.5	87	216	96	20	23	52
0	56	51	155	22.6	-1	84	236	151	19	25	117
0	58	48	154	22.2	-1.3	103	193	74	20	9	75
0	56	65	154	29.2	-1.6	93	191	146	31	57	32
0	58	57	141	22.2	-1.9	103	230	70	30	29	47
0	51	46	147	17.5	-1.8	88	184	42	24	18	55
0	57	61.9	153	25.7	-2.2	107	127	97	31	34	74
0	64	49.7	145	22.6	-1.2	86	166	62	28	27	68

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

ตารางที่ 11 **ค่าของ** osteocalcin **และ** ß-crosslaps **ในกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวน**

group	osteocalcin 0 wk	osteocalcin 6 wks	osteocalcin 12 wks	ß-crosslaps 0 wk	ß-crosslaps 6 wks	ß-crosslaps 12 wks
1	24.050	23.520	16.690	0.227	0.222	0.093
1	29.390	10.890	22.580	0.493	0.290	0.265
1	24.810	25.890	10.220	0.493	0.447	0.199
1	18.440	18.030	8.660	0.551	0.439	0.197
1	29.430	7.460	8.310	0.725	0.173	0.150
1	12.040	7.700	11.310	0.209	0.134	0.117
1	26.900	22.640	21.740	0.426	0.469	0.308
1	16.850	14.390	13.090	0.298	0.173	0.189
1	10.390	15.010	5.610	0.383	0.295	0.153
1	16.290	28.040	18.150	0.252	0.442	0.510
1	24.320	9.120	12.660	0.344	0.156	0.217
1	39.070	33.410	25.790	1.010	0.813	0.563
1	16.090	8.770	3.560	0.370	0.294	0.036
1	23.810	24.060	26.610	0.371	0.356	0.297
1	26.070	9.060	18.720	0.470	0.170	0.362
1	16.920	8.470	13.050	0.773	0.406	0.551
1	17.050	5.040	21.490	0.596	0.306	0.597
1	30.220	7.250	28.280	0.757	0.185	0.441
1	16.240	15.660	16.880	0.398	0.845	0.220
1	34.120	29.150	18.610	0.526	0.455	0.179
1	12.590	19.660	20.970	0.506	0.498	0.516
1	20.030	19.850	15.260	0.519	0.400	0.220
1	22.330	27.150	27.980	0.613	0.465	0.340
1	20.750	19.450	19.960	0.492	0.520	0.472
1	22.220	14.650	14.970	0.525	0.311	0.230
1	27.490	22.310	24.470	0.395	0.336	0.333

group	osteocalcin 0 wk	osteocalcin 6 wks	osteocalcin 12 wks	ß-crosslaps 0 wk	ß-crosslaps 6 wks	ß-crosslaps 12 wks
1	28.920	22.140	26.720	0.522	0.448	0.396
1	22.650	15.260	14.570	0.736	0.546	0.536
1	18.680	19.550	23.410	0.513	0.619	0.449
1	14.890	11.820	14.340	0.366	0.160	0.154
1	31.580	20.700	28.660	0.577	0.417	0.306
1	21.960	18.010	15.850	0.469	0.304	0.417
1	16.940	8.070	11.290	0.272	0.150	0.211
1	12.530	3.120	5.020	0.616	0.321	0.383
1	22.440	22.260	20.770	0.441	0.478	0.436
1	17.980	10.370	12.270	0.440	0.191	0.243
1	13.850	10.380	13.980	0.233	0.206	0.158
1	25.100	11.530	21.930	0.747	0.305	0.543
1	27.500	22.980	23.040	0.635	0.659	0.538
1	21.490	23.140	21.800	0.456	0.566	0.303

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 **ค่าของ** osteocalcin **และ** ß-crosslaps **ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอก**

group	osteocalcin 0 wk	osteocalcin 6 wks	osteocalcin 12 wks	ß-crosslaps 0 wk	ß-crosslaps 6 wks	ß-crosslaps 12 wks
0	9.190	8.040	2.870	0.143	0.076	0.019
0	43.670	41.930	46.800	0.755	0.834	0.616
0	18.250	10.630	13.670	0.370	0.285	0.291
0	13.440	5.860	15.080	0.251	0.108	0.193
0	11.510	11.890	5.560	0.244	0.240	0.105
0	11.210	12.090	12.780	0.205	0.181	0.202
0	37.540	29.160	11.920	0.594	0.437	0.192
0	32.480	11.350	19.950	0.574	0.234	0.326
0	23.610	13.080	11.300	0.552	0.421	0.255
0	19.420	18.000	12.050	0.382	0.298	0.188
0	18.180	19.540	16.500	0.427	0.532	0.290
0	17.520	27.230	23.800	0.686	1.030	0.866
0	21.300	9.410	19.680	0.207	0.162	0.302
0	32.580	25.480	23.610	0.645	0.565	0.717
0	26.790	26.170	25.640	0.592	0.562	0.497
0	27.450	16.520	20.820	0.697	0.612	0.602
0	28.580	31.410	26.740	0.909	0.711	0.529
0	28.070	16.140	13.770	0.559	0.347	0.215
0	15.780	11.140	15.490	0.482	0.345	0.347
0	27.400	16.470	29.830	0.665	0.472	0.624
0	12.950	10.010	11.370	0.440	0.568	0.282
0	45.420	32.370	27.930	0.773	0.666	0.630
0	14.670	8.630	13.050	0.371	0.232	0.243
0	12.020	6.830	9.930	0.172	0.218	0.224
0	15.580	7.350	8.100	0.165	0.114	0.063

group	osteocalcin 0 wk	osteocalcin 6 wks	osteocalcin 12 wks	ß-crosslaps 0 wk	ß-crosslaps 6 wks	ß-crosslaps 12 wks
0	24.420	16.060	18.110	0.316	0.333	0.292
0	17.680	17.360	19.880	0.530	0.557	0.280
0	26.910	10.120	27.110	0.621	0.354	0.674
0	17.350	13.090	20.730	0.601	0.687	0.710
0	28.780	8.580	23.200	0.411	0.158	0.336
0	26.750	6.370	19.980	0.593	0.203	0.597
0	33.380	26.270	23.710	0.565	0.481	0.261
0	20.090	22.520	22.070	0.539	0.623	0.390
0	35.670	28.780	31.240	0.547	0.582	0.375
0	14.220	11.310	17.670	0.244	0.166	0.170
0	18.630	17.960	17.990	0.490	0.312	0.308
0	17.400	14.100	14.740	0.562	0.333	0.281
0	23.610	27.200	31.380	0.366	0.301	0.279
0	18.370	8.940	18.770	0.419	0.441	0.446
0	27.890	23.400	28.930	0.464	0.371	0.305

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

ตารางที่ 13 การสุ่มกลุ่มที่ได้รับไอโซฟลาโวนและกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

Randomization			
1.00 1	21.00 1	41.00 1	61.00 1
2.00 1	22.00 0	42.00 1	62.00 1
3.00 0	23.00 1	43.00 0	63.00 1
4.00 1	24.00 0	44.00 1	64.00 1
5.00 1	25.00 0	45.00 0	65.00 0
6.00 0	26.00 0	46.00 0	66.00 0
7.00 1	27.00 1	47.00 0	67.00 0
8.00 0	28.00 0	48.00 1	68.00 0
9.00 1	29.00 0	49.00 0	69.00 0
10.00 1	30.00 0	50.00 1	70.00 0
11.00 1	31.00 1	51.00 1	71.00 0
12.00 1	32.00 1	52.00 0	72.00 0
13.00 0	33.00 0	53.00 1	73.00 1
14.00 1	34.00 1	54.00 1	74.00 0
15.00 0	35.00 1	55.00 0	75.00 0
16.00 0	36.00 0	56.00 0	76.00 0
17.00 0	37.00 1	57.00 1	77.00 0
18.00 1	38.00 1	58.00 1	78.00 0
19.00 0	39.00 1	59.00 1	79.00 0
20.00 1	40.00 1	60.00 0	80.00 1

0 = Placebo

1 = Test drug (Isoflavones)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฉ

ตารางที่ 14 **การติดตามและประเมินผลผู้ที่เข้าร่วมโครงการ**

assesment	Trial Duration				
	visit 1	visit 2	visit 3	visit 4	visit 5
	week 0	week 3	week 6	week 9	week 12
Infromed consent	Ö				
Physical exaamination	Ö				
Vital signs	Ö				
DXA BMD	Ö				
Blood sample	Ö		Ö		Ö
Intervention	Ö	Ö	Ö	Ö	Ö

Ö Follow up subjects

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาว นาฏกมล ผลทอง เกิดเมื่อวันที่ 25 มกราคม 2524 จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีพยาบาลศาสตรบัณฑิต จากวิทยาลัยพยาบาลกองทัพเรือ เมื่อปีการศึกษา 2547 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสหสาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2548.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย