

การศึกษาผลของการให้วิตามินดี ต่อการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะในผู้ป่วย
ไวรัสตับอักเสบซีที่มีภาวะการขาดวิตามินดี

นายเกรียงศักดิ์ เจริญสุข

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2555
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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

EFFECT OF VITAMIN D REPLACEMENT ASSOCIATED WITH
ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS
WITH VITAMIN D DEFICIENCY

MR. KRIANGSAK CHAROENSUK

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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาผลของการให้วิตามินดี ต่อการตอบสนองด้าน
ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่มีภาวะการ
ขาดวิตามินดี

โดย

นายเกรียงศักดิ์ เจริญสุข

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร. นายแพทย์ ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ โสภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุชัย สุเทพารักษ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร. นายแพทย์ ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์)

.....กรรมการ

(อาจารย์ นายแพทย์ ปฎิณัฐ บุรณะทรัพย์ขจร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ทวีศักดิ์ แทนวันดี)

เกรียงศักดิ์ เจริญสุข: การศึกษาผลของการให้วิตามินดี ต่อการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่มีภาวะการขาดวิตามินดี (EFFECT OF VITAMIN D REPLACEMENT ASSOCIATED WITH ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS WITH VITAMIN D DEFICIENCY)อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผ.ศ.ดร.นพ. ปิยะวัฒน์ โคมลมิศร์ 72 หน้า.

ความสำคัญและที่มาของปัญหาทางวิจัย ภาวะการขาดวิตามินดี ระดับของสารไอพีเทิน(IP-10) และความหลากหลายของไอแอล 28 เบต้า(IL28 β polymorphism) เป็นหนึ่งในปัจจัยที่ช่วยในการทำนายผลการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอินเตอร์เฟอรอนและยาไรบะาไวรัสซึ่งเป็นมาตรฐานปัจจุบันในการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี วิตามินดีมีผลต่อการควบคุมและเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์และการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน การศึกษาที่ผ่านมา พบว่าวิตามินดีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารไซโตไคน์ และระดับของสารไอพีเทิน ผู้วิจัยจึงมีสมมุติฐานว่า ผลของการให้วิตามินดี มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ใน ทีเฮลเปอร์ 1 และ 2 สารไอพีเทิน ทำให้การตอบสนองต่อการรักษาดีขึ้น

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินดีต่อ การเปลี่ยนแปลงของสารไซโตไคน์ และระดับของสารไอพีเทิน ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี

ระเบียบวิธีการวิจัย การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงสุ่ม เปรียบเทียบระหว่างยาหลอกและยาวิตามินดี โดยสุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่มีภาวะขาดวิตามินดี ออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ได้รับยาหลอกและยาวิตามินดี แต่ละกลุ่มจะได้เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ผู้ป่วยทุกคนจะได้รับการเจาะเลือด เพื่อตรวจระดับวิตามินดี ระดับไซโตไคน์ และระดับของสารไอพีเทิน ก่อนได้รับยาและหลังได้รับยา 6 สัปดาห์ ตลอดจนได้รับการซักประวัติตรวจร่างกาย และตรวจผลทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานก่อนได้รับยา

ผลการวิจัย ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่มีภาวะขาดวิตามินดี 80 คน ได้รับยาหลอกและยาวิตามินดีกลุ่มละ 40 คน ก่อนได้รับยาและหลังได้รับยา 6 สัปดาห์ ในกลุ่มที่ได้รับยาวิตามินดี มีระดับวิตามินดีเฉลี่ยเท่ากับ 20.88 และ 45.93 นาโนกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ($p < 0.01$) ขณะที่ในกลุ่มที่ได้รับยาหลอก ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับไซโตไคน์ทั้งหมด ระดับของสารไอพีเทินในทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน ยกเว้นระดับของสารไอพีเทินใน กลุ่มที่ยาวิตามินดี ที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดีและระดับของสารไอพีเทิน ในทิศทางเป็นลบ ($r = -0.376, p < 0.05$)

สรุป การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่าการให้วิตามิน และระดับวิตามินที่สูงขึ้นในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีมีผลทำให้ระดับของสารไอพีเทินลดลง โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไซโตไคน์ของทีเฮลเปอร์ 1 และ 2 ผลการศึกษา ดังกล่าว จึงอาจเป็นเหตุผลหนึ่งที่อธิบายว่า ทำไมภาวะการขาดวิตามินดี ระดับของสารไอพีเทิน และการให้วิตามินดี จึงมีผลต่อการตอบสนองการรักษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อ นิสิต.....
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ปีการศึกษา.....2555.....

54741069630 : MAJOR MEDICINE (GASTROENTEROLOGY)

KEYWORDS: IP-10 Vitamin D supplement Chronic hepatitis C

KRIANGSAK CHAROENSUK: EFFECT OF VITAMIN D REPLACEMENT ASSOCIATED WITH ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS WITH VITAMIN D DEFICIENCY. THESIS ADVISOR : ASS T. PROF. DR.PIYAWAT KOMOLMIT ,M.D.,Ph.D., 72 pp

BACK GROUND AND AIMS: Vitamin D deficiency, serum IP-10 levels and IL28B polymorphisms are predictive factors proved to be associated with treatment response of chronic hepatitis C (CHC). Vitamin D has a crucial role in immune regulation. In CHC, overexpression of T-helper 1 related cytokine, IP-10, had negative influence on treatment outcome. We hypothesized that vitamin D supplement, which shown to improve CHC treatment response, might restore immune dysregulation in CHC patients through a pathway linked to the Th-1/2 related cytokines and cytokine, IP-10. The aim of this prospective study was to investigate the association between vitamin D supplement and Th-1/2 related cytokines including IP-10 level in CHC patients.

METHODS: In this double-blind, placebo-controlled, interventional study; we assigned CHC patients with vitamin D deficiency to receive vitamin D supplement or placebo for 6 weeks. The 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) levels, Th-1/2 related cytokines including IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IFN γ , TNF α and Th-1 related cytokine; IP-10 were measured at baseline and at 6 weeks. Baseline characteristics including gender, age, liver function tests, hepatitis C genotype and viral load were assessed.

RESULTS: A total of 80 CHC patients with vitamin D deficiency were randomized into two groups, 40 patients in each group. At pre and post supplement, only the 25(OH)D levels in vitamin D group were significantly increased from 20.88 to 45.93 ng/ml, respectively ($p < 0.01$). While no significant changes of the IP-10 levels in placebo group was demonstrated, there were significant decrease in serum IP-10 levels in vitamin D group after 6-week vitamin D supplement ($p < 0.05$). There were no significant differences in the Th-1/2 related cytokines between two groups. Correlation of the changes between serum vitamin D and IP-10 levels were further investigated. The data showed significant negative correlation between these two parameters (delta values; $r = -0.376$, $p < 0.05$).

CONCLUSIONS: This study demonstrated that vitamin D supplement and restoration of 25(OH)D level in CHC patients resulted in suppression of serum IP-10 levels, but there was no change in systemic Th1/Th2 immune cytokines. These results connect the link and give one explanation of why vitamin D deficiency, pre-treatment high serum IP-10 levels and by treatment of vitamin D deficiency could have effects on CHC treatment responses.

Department : Medicine.....Student's Signature.....

Field of Study : Medicine.....Advisor's Signature.....

Academic Year :...2012.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความช่วยเหลือของ ผ.ศ.ดร.นพ. ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์ หน่วยทางเดินอาหาร ภาควิชา อายุรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการทำวิจัยแก่ตัวข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาที่ทำวิจัย

ขอขอบคุณ รศ.ดร.จินตนา จิรถาวร หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยให้คำแนะนำในการทำวิจัยด้านภูมิคุ้มกันวิทยา เอื้อเพื่อสถานที่ ห้องปฏิบัติการทางอิมมูโนวิทยา ตึก อปร.ชั้น 18 ตลอดจนการตรวจสอบสารไอพีเท็น(IP-10) ไซโตไคน์ ในงานวิจัยชิ้นนี้

ขอขอบคุณ คุณพนารัตน์ ไทยไหม, คุณสิรินพร สุขสวัสดิ์อำนวย และเจ้าหน้าที่ฝ่ายวิจัยโรคตับทุกคนที่ช่วยในการซักประวัติ และเก็บข้อมูล ตลอดจนช่วยเหลือและเก็บเลือดผู้ป่วยทุกคนในโครงการวิจัยครั้งนี้ เป็นอย่างดี จนผลงานชิ้นนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ เกษัชกรรมฝ้ายผลิต หน่วยเภสัชกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ช่วยเหลือด้านการผลิตยาเปรียบเทียบ(Placebo) และบรรจุวิตามินดี ให้มีลักษณะเหมือนกัน เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบทุกท่านที่ให้ความร่วมมือตลอดงานวิจัยชิ้นนี้เป็นอย่างดี สุดท้ายขอขอบคุณพ่อ แม่ และพี่สาวของข้าพเจ้า สำหรับกำลังใจที่มีให้แก่ข้าพเจ้าตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฏ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
2. คำถามการวิจัย.....	1
3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
4. สมมติฐาน.....	2
5. กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	2
6. วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ.....	3
7. ข้อจำกัดของการวิจัย.....	4
8. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	6
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	12
3.1 รูปแบบการวิจัย.....	12
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	12
3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย.....	12
3.4 เกณฑ์การคัดเลือกเข้ามศึกษา.....	13
3.5 เกณฑ์การคัดเลือกออกจากการศึกษา.....	13
3.6 การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	13
3.7 การดำเนินการวิจัย.....	14
3.8 การรวบรวมข้อมูล.....	20
3.9 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	21
3.10 ปัญหาทางจริยธรรม.....	22

3.11 ข้อจำกัดในการวิจัย.....	23
3.12 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	23
3.13 อุปสรรคที่ผู้วิจัยคาดว่าจะเกิดขึ้นและมาตรการในการแก้ไข.....	24
3.14 การบริหารการวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน.....	24
3.15 งบประมาณรายจ่ายของโครงการวิจัย.....	25
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	26
บทที่ 5 อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ.....	34
รายการอ้างอิง.....	38
ภาคผนวก.....	43
ภาคผนวก ก.....	44
ภาคผนวก ข.....	52
ภาคผนวก ค.....	55
ภาคผนวก ง.....	58
ภาคผนวก จ.....	59
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	60

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	แสดง Protocol ขนาดของวิตามินดีที่ให้แก่ผู้ป่วย.....	3
ตารางที่ 2	แสดงการบริหารการวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน	24
ตารางที่ 3	แสดงค่าใช้จ่ายงบประมาณในการวิจัย.....	25
ตารางที่ 4	แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม.....	29
ตารางที่ 5	แสดงผลของระดับวิตามินดี และระดับ IP-10 ในแต่ละกลุ่ม.....	30
ตารางที่ 6	แสดงผลของระดับ Th1/2 cytokines ในแต่ละกลุ่ม	31

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1	แสดงเมตาบอลิซึมและผลของวิตามินดี.....6
ภาพที่ 2	แสดงผลของวิตามินดีที่มีต่อภาวะภูมิคุ้มกัน.....7
ภาพที่ 3	แสดงผลของวิตามินดีที่มีต่อทำงานของ Th1/27
ภาพที่ 4	แสดงการรายงานภาวะการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี.....9
ภาพที่ 5	แสดงผลของวิตามินดีที่มีผลต่อระดับ IP-10.....10
ภาพที่ 6	แสดงขั้นตอนในการดำเนินการศึกษาวิจัยโดยสรุป15
ภาพที่ 7	แสดงการเตรียมตัวอย่างเลือดผู้ป่วย16
ภาพที่ 8	แสดงรูปห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิจัยและการเตรียมอุปกรณ์และน้ำยา.....17
ภาพที่ 9	แสดงการเตรียมอุปกรณ์และน้ำยาตัวควบคุมมาตรฐาน.....17
ภาพที่ 10	แสดงอุปกรณ์ในการอ่านตรวจวิเคราะห์หาระดับ Th1/2 ไซโตไคน์.....18
ภาพที่ 11	แสดงขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์และน้ำยาชนิดต่างๆ18
ภาพที่ 12	แสดงโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับการแปลผล19
ภาพที่ 13	แสดงชุดน้ำยาตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์หาระดับ ไอพีเทน (IP-10).....20
ภาพที่ 14	แสดงชุดน้ำยาตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์หาระดับ ไอพีเทน (IP-10)21
ภาพที่ 15	แสดงตัวอย่างเม็ดยา Placebo และวิตามินดีที่บรรจุในแคปซูล.....21
ภาพที่ 16	แสดงแผนภูมิภาพรวม โดยย่อของผู้ป่วยที่เข้าร่วม โครงการวิจัย28
ภาพที่ 17	แสดงความสัมพันธ์ของระดับ Baseline IP-10 และ SGOT, SGPT30
ภาพที่ 18	แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินดี และ ระดับ IP-10.....32

ภาพที่ 19	แสดงความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดีและระดับ IP-10 ที่สิ้นสุดการรักษา33
ภาพที่ 20	แสดงความสัมพันธ์ของระดับการเปลี่ยนแปลงวิตามินดีและระดับ IP-10.....33
ภาพที่ 21	แสดง Model chemokine antagonism ในตับของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี.....36

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Th1	T-helper 1
Th2	T-helper 2
CHC	Chronic hepatitis C
HCV	Hepatitis C virus
IL	Interleukin
IP-10	Inducible protein-10
TGF β	Transforming Growth Factor β
IFN γ	Interferon γ

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

วิตามินดีเป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน มีความสำคัญต่อระบบอวัยวะต่างๆภายในร่างกาย กระบวนการเมตะบอลิซึมที่สำคัญของวิตามินดี เกิดขึ้นที่ตับและไตได้เป็น 25-hydroxy vitamin D และ 1,25-dihydroxy vitamin D ตามลำดับ โดยผ่านการควบคุมจากพาราไธรอยด์ฮอร์โมน ระดับของแคลเซียมและฟอสฟอรัสภายในร่างกาย นอกจากผลต่อการควบคุมดังกล่าว ยังพบว่าวิตามินดีมีผลต่อการตอบสนองของภาวะภูมิคุ้มกัน ทั้งชนิด Innate และ Adaptive ตลอดจน สารไซโตไคน์ และระดับของสารไอพีเทิน โดยวิตามินดีมีผลลดสารไซโตไคน์ใน T-Helper1 ระดับของสารไอพีเทิน (ซึ่งเป็น T-Helper1 related chemokine) และเพิ่มการทำงานของสารไซโตไคน์ใน T-Helper2

ไวรัสตับอักเสบบี เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญต่อการเกิดไวรัสตับอักเสบรวมถึง อันนำไปสู่การเกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับตามมา การศึกษาที่ผ่านมาพบอุบัติการณ์ของภาวะการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับรวมถึงผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเพิ่มขึ้น อีกทั้งระดับการขาดวิตามินดียังสัมพันธ์กับระดับ ความรุนแรงของการเกิดตับแข็ง และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอินเตอร์เฟอรอนและยาไรบ้าไอรินซึ่งเป็นมาตรฐานปัจจุบันในการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี

ดังนั้นภาวะความสัมพันธ์ของวิตามินดีต่อความรุนแรงของการเกิดตับแข็ง และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาอินเตอร์เฟอรอนและยาไรบ้าไอรินในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีนั้น อาจเกี่ยวข้องกับ การเปลี่ยนแปลงของการตอบสนองภาวะภูมิคุ้มกัน ทั้งชนิด Innate และ Adaptive ตลอดจน สารไซโตไคน์ และระดับของสารไอพีเทิน นำมาสู่ที่มาของงานวิจัยฉบับนี้ เพื่อมุ่งหวังพิสูจน์สมมุติฐานของความสัมพันธ์ดังกล่าวในเชิงวิทยาศาสตร์พื้นฐาน อันจะทำให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ต่อไป

1.2 คำถามการวิจัย (Research questions)

คำถามหลัก (Primary research question)

การให้วิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี ที่มีภาวะการขาดวิตามินดี สามารถเพิ่มการตอบสนองทางด้านภูมิคุ้มกัน (Adaptive immune response) หรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

การให้วิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี ที่มีภาวะการขาดวิตามินดี มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของสาร Inducible protein-10 (IP-10) หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย (Objective)

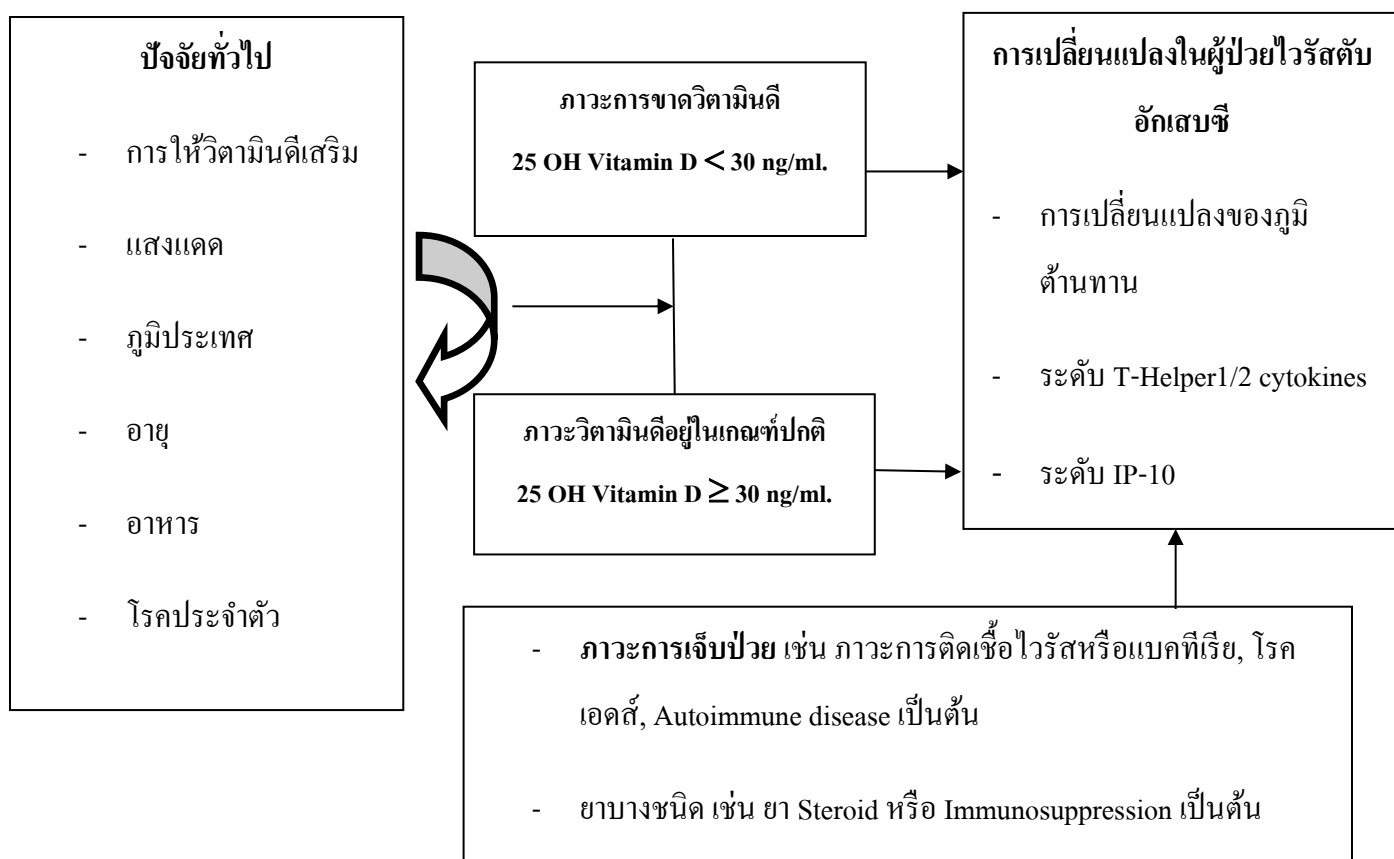
1. เพื่อศึกษาผลของการให้วิตามินดี ที่มีผลต่อการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกัน ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี ที่มีภาวะการขาดวิตามินดี

2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการให้วิตามินดี ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ สาร Inducible protein-10 (IP-10)

1.4 สมมุติฐาน (Hypothesis)

การให้วิตามินดี ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี ที่มีภาวะการขาดวิตามินดี ทำให้การตอบสนองด้านภูมิคุ้มกัน(Adaptive immune response) ของผู้ป่วยดีขึ้น

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

- ประชากรเป้าหมาย (target population): ผู้ที่เป็นโรคไวรัสตับอักเสบเรื้อรังที่กำลังเข้ารับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Pegylated interferon-Ribavirin) ทั้งในแผนกผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างเดือนมกราคม ถึง ธันวาคม 2555

- ขนาดตัวอย่าง (sample size): เนื่องจากเป็นการทดลองที่ยังไม่เคยมีมาก่อน ดังนั้นการคำนวณประชากรที่ใช้ในการศึกษานี้ จึงไม่สามารถทำได้ ทางผู้วิจัยจึงวางแผน แนวทางการแก้ไข โดยให้การศึกษานี้เป็นการศึกษานำร่อง (Pilot study) โดยกำหนดจำนวนตัวอย่างผู้ป่วยในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ประมาณ 80 คน

ผู้ที่ผ่านการตรวจคัดกรองเบื้องต้น จะได้รับการซักประวัติและเก็บข้อมูลตามแบบการเก็บข้อมูล ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการ (Case record form) ทั้งผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบที่เคยและไม่เคยรับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Naïve & previously treatment cases) สุ่มแบบ block of 4 ให้อยู่ในกลุ่มได้รับยาหลอก (Placebo group) และอีกกลุ่มได้รับยาวิตามินดี (Vitamin D group) โดยให้จำนวน และขนาดตาม protocol ที่แนบไว้ที่ภาคผนวก โดยผู้ทำการวิจัยไม่ทราบว่าเป็นยาจริงหรือยาหลอก

วิตามินดี (ขนาด 20,000 IU/เม็ด) รับประทานพร้อมอาหาร ขนาดที่ใช้ตาม protocol guideline การรักษาตามตารางที่ 1. แสดงปริมาณ ขนาดและจำนวนของวิตามินดีหรือยาหลอกที่ให้แก่ผู้ป่วยตามปริมาณของระดับวิตามินดี

ตารางที่ 1: แสดง Protocol ขนาดของวิตามินดีที่ให้แก่ผู้ป่วย

Diagnosis	Vitamin D level (ng /mL)	Replacement Total dose (IU) / week	Ergocalciferol (D2) 20,000 IU/ tab (Take with meal)	Treatment duration
Optimal	> 30	-	-	-
Mild deficiency (insufficiency)	20 – 30	60,000	2 tab Monday and 1 tab Friday	6 weeks
Moderate deficiency	10 – 20	80,000	2 tab Monday and 2 tab Friday	6 weeks

Diagnosis	Vitamin D level (ng /mL)	Replacement Total dose (IU) / week	Ergocalciferol (D2) 20,000 IU/ tab (Take with meal)	Treatment duration
Severe deficiency	< 10	100,000	3 tab Monday and 2 tab Friday	6 weeks

ผู้ป่วยจะได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับวิตามินดี (25OH Vitamin D) ในเลือด ในกรณีที่ระดับต่ำกว่า 30 ng/ml ผู้ป่วยจะได้รับการแนะนำ inform consent เพื่อเข้าโครงการวิจัย เจาะเลือดปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Clotted blood และ EDTA อย่างละ 5 มิลลิลิตร เก็บแช่เย็น เพื่อรอส่งตรวจวัดระดับ cytokine ของ T-helper-1 และ 2, ระดับ Inducible-10 (IP-10) ก่อนและหลังให้การรักษา ทั้งสองกลุ่ม

1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย (Limitation)

1. การศึกษานี้มีจำนวนของผู้เข้าร่วมวิจัยรวม 80 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 40 คน จำนวนที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ มาจากการประมาณของผู้เชี่ยวชาญ (Expert opinion) และจากชุดการตรวจ cytokine ที่สามารถตรวจที่มีราคาแพงและสามารถตรวจได้ 80 ชุด/set

2. การศึกษานี้เป็นการศึกษานำร่อง (Pilot study) เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาดังกล่าว ในลักษณะของกลุ่มประชากรและลักษณะการศึกษาเช่นนี้มาก่อน จึงไม่สามารถมีการศึกษาเปรียบเทียบได้

3. การศึกษานี้ให้ยาวิตามินดี เทียบกับยาหลอก เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ซึ่งเป็นระยะเวลาในการให้เสริมวิตามินดีตามหลักมาตรฐาน อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาการศึกษาจำนวน 6 สัปดาห์ดังกล่าว อาจจะสั้นหรือไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกัน

4. การศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของวิตามินดีและยาหลอก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกัน ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง ซึ่งอาจมีปัจจัยต่างๆ ที่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกันดังกล่าว ทำให้การแปลผลของยาวิตามินดีหรือยาหลอกเกิดความคลาดเคลื่อนได้

1.8 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected and Application)

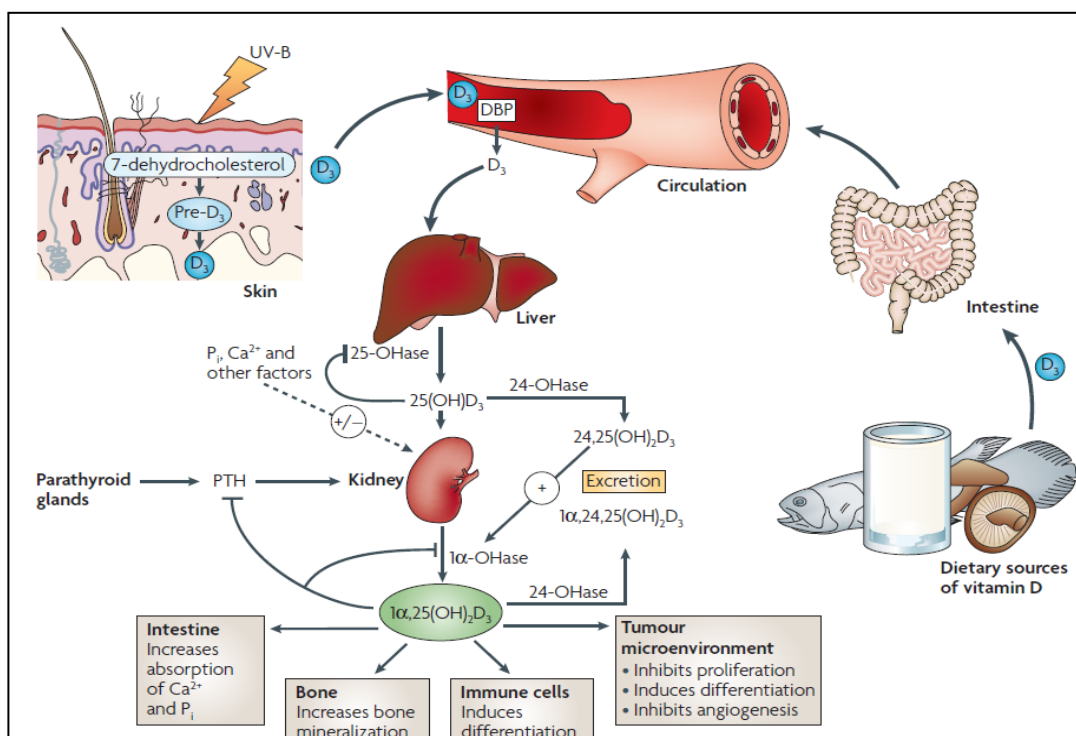
การศึกษานี้เป็นการศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินดีต่อ การเปลี่ยนแปลงของสารไซโตไคน์ และระดับของสารไอพีเทินในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งเป็นการศึกษาโดยนำความรู้หรือผลที่ได้จากทางคลินิก มาประยุกต์ในเชิงวิทยาศาสตร์พื้นฐาน (Basic science) เพื่ออธิบายพยาธิกำเนิดโดยใช้หลักการทางวิทยาศาสตร์ทำให้ทราบถึงผลของการให้วิตามินดี ที่อาจมี

ผลต่อการตอบสนองทางด้านการรักษา ผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบซีเรื้อรัง ทำให้แพทย์ผู้ดูแลและให้การรักษาผู้ป่วยโรคนี้อาจสามารถนำความรู้ที่ได้จากการวิจัยชิ้นนี้ มาประยุกต์ใช้ในการรักษาและแนะนำผู้ป่วยได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมต่อไป ทำให้ทราบและเข้าใจ ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินดี สาร IP-10 และการเปลี่ยนแปลงระดับภูมิคุ้มกัน ในระดับ cytokine ในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบซีเรื้อรังอันจะนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกในด้านการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบท่อไปในอนาคต

บทที่ 2

บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

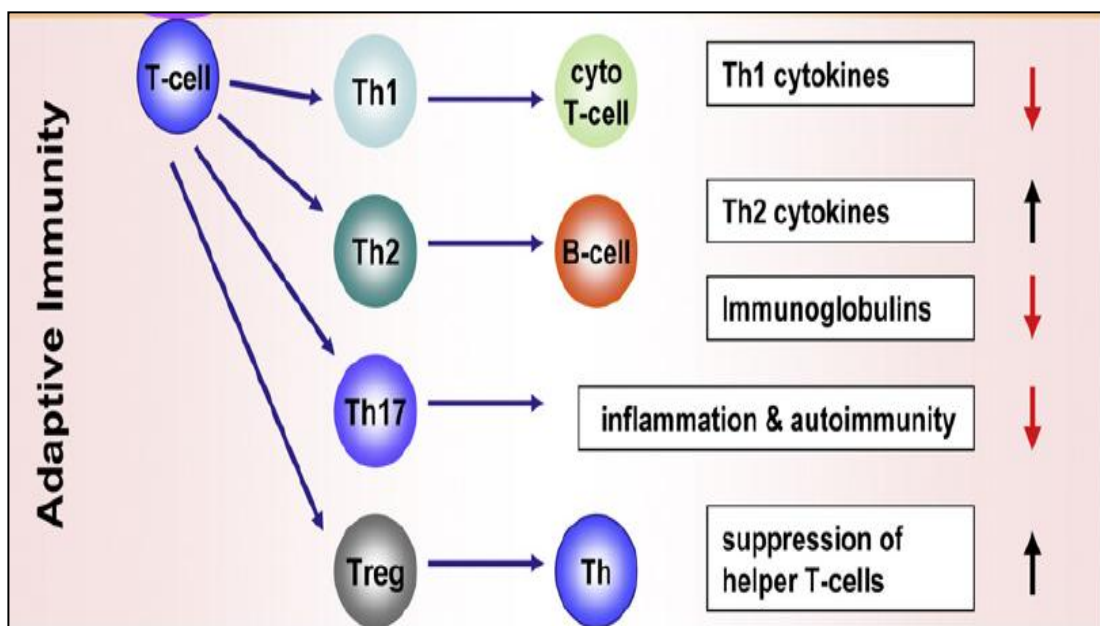
วิตามินดี มีความสำคัญต่อระบบอวัยวะต่างๆภายในร่างกาย เป็นวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน โดยทั่วไปคนปกติจะได้รับวิตามินดีเข้าสู่ร่างกาย 2 ทางด้วยกันคือ ได้จากการรับประทานอาหาร อาหารเสริม อาหารที่มีวิตามินดีมากได้แก่ น้ำมันตับปลา ไขมัน นม เนย ตับสัตว์ ปลาทู ไช้แดงและอีกทางหนึ่งจากแสงแดดอุลตราไวโอเล็ต (คลื่นความถี่ 290-315 นาโนเมตร) ซึ่งจะผ่านผิวหนัง และเปลี่ยนไปเป็น active form ในเวลาต่อมา กระบวนการเมตาบอลิซึมที่สำคัญของวิตามินดี เกิดขึ้นที่ตับและไตได้เป็น 25-hydroxy vitamin D และ 1,25 dihydroxy vitamin D ตามลำดับ โดยผ่านการควบคุมจากพาราไทรอยด์ฮอร์โมน ระดับของแคลเซียมและฟอสฟอรัส รูปที่ 1



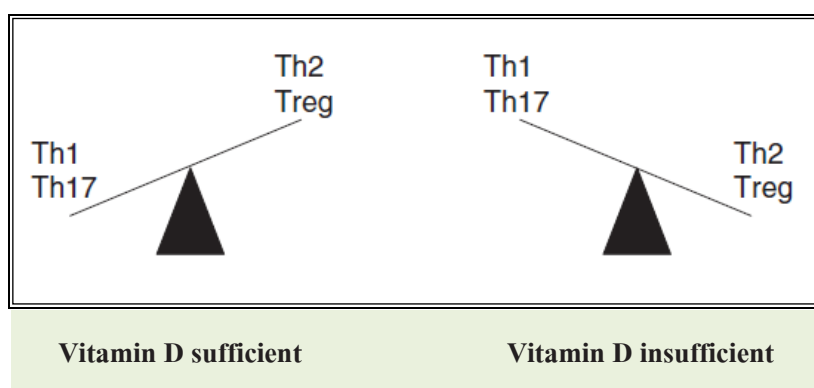
รูปที่ 1: แสดงเมตาบอลิซึมของวิตามินดีและผลที่มีต่อระบบต่างๆของร่างกาย

การศึกษาจำนวนมากที่แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์และประสิทธิภาพของวิตามินดีในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ นอกจากโรคกระดูกและข้อ ได้แก่ โรคหัวใจ multiple sclerosis โรคเบาหวานชนิดที่ 1 โรคระบบภูมิคุ้มกันและโรคมะเร็ง เป็นต้น ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกัน ทั้งชนิด Innate และ Adaptive immune response กล่าวคือ วิตามินดีจะลดการทำงานของ T helper-1 cells

โดยทำให้ปริมาณ IL-2, IL-12 และ IFN γ ลดลง และเพิ่มการทำงานของ T helper-2 cells โดยทำให้ปริมาณ IL-4, TGF β เพิ่มขึ้น รูปที่ 2,3



รูปที่ 2: แสดงผลของวิตามินดีที่มีต่อภาวะภูมิคุ้มกัน (Adaptive immune response)⁽¹⁾



รูปที่ 3: แสดงผลของวิตามินดีที่มีต่อภาวะภูมิคุ้มกัน (Adaptive immune response) โดยมีผลต่อการลดการทำงานของ T-Helper 1, 17 และเพิ่มการทำงานของ T-Helper 2 และ regulatory T cells, Treg³³

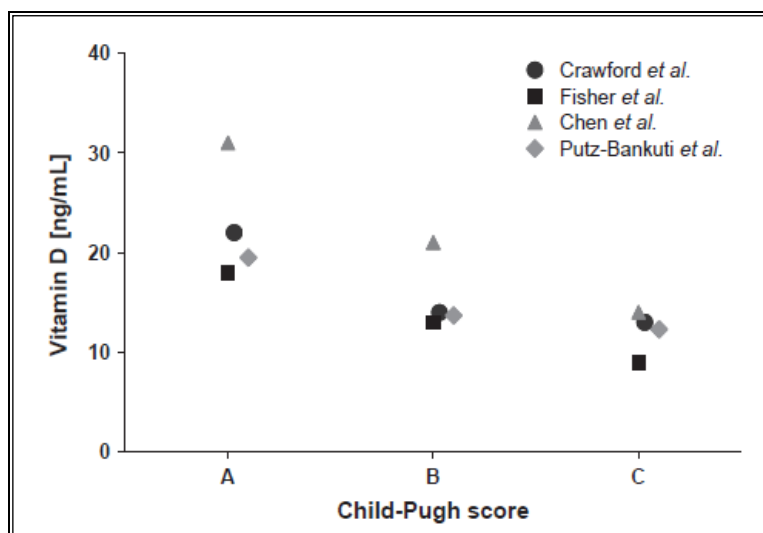
โดยทั่วไป ระดับภาวะการขาดวิตามินดี ยังไม่ได้มีข้อสรุปที่แน่ชัด โดยความเห็นส่วนใหญ่ยอมรับที่ระดับของ 25-hydroxy vitamin D ที่ต่ำกว่า 30 นาโนกรัม/เดซิลิตร ขณะที่ภาวะวิตามินดีเป็นพิษจะอยู่ที่ระดับที่สูงมากกว่า 150 นาโนกรัม/เดซิลิตร จากนิยามดังกล่าวจะมีประชากรบางส่วนที่มีภาวะการขาดวิตามินดี โดยที่ไม่มีอาการและอาจสูงถึง 40-100 เปอร์เซ็นต์ของประชากร

ชาย และหญิงกลุ่มสูงอายุ ในบางรายงาน โดยประชากรกลุ่มดังกล่าวตรวจพบภาวะการขาดวิตามินดีได้ โดยไม่มีอาการผิดปกติต่อร่างกาย ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแต่ละตัวบุคคล ภูมิประเทศที่อยู่อาศัย โดยทั่วไปแบ่งระดับการขาดวิตามินดีไว้ดังนี้

25-hydroxy vitamin D	> 30 ng/ml. อยู่ในระดับปกติ
	20-30 ng/ml. ภาวะการขาดวิตามินดีระดับเล็กน้อย
	10-20 ng/ml. ภาวะการขาดวิตามินดีระดับปานกลาง
	< 10 ng/ml. ภาวะการขาดวิตามินดีระดับรุนแรง

ตับเป็นอวัยวะที่มีบทบาทสำคัญเมตาบอลิซึมของวิตามินดี วิตามินดีจากผิวหนังและอาหารจะถูก hydroxylate ที่ตับได้เป็น 25-hydroxy vitamin D (25(OH)D) ก่อนที่จะส่งไปที่ไตและเม็ดเลือดขาวเพื่อเปลี่ยนเป็น active form ซึ่งจะมีผลต่อการควบคุมเมตาบอลิซึมของแคลเซียมและกระดูก โดยอาศัยการควบคุมจากฮอร์โมนพาราไทรอยด์ มีผลเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมแลฟอสฟอรัส ในลำไส้ นอกจากบทบาทดังกล่าว ยังพบว่าวิตามินดียังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมะเร็งหรือ tumour ในหลอดทดลอง กล่าวคือ มีผลยับยั้งการแบ่งตัว และการเปลี่ยนแปลงของตัว tumour (Inhibit proliferation and induce proliferation) ตลอดจนยับยั้งการสร้างเส้นเลือดใหม่ นอกจากนี้ วิตามินดียังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของภาวะภูมิคุ้มกันทั้งชนิด Innate and adaptive immunity ของร่างกาย

ในช่วงระยะเวลา 3-5 ปีที่ผ่านมา มีรายงาน ภาวะการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังต่างๆ มากขึ้น รวมถึงผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี รูปที่ 4 ทั้งในกลุ่ม Cholestatic และ Noncholestatic เช่น ผู้ป่วยโรคตับแข็ง ผู้ป่วย Primary biliary cirrhosis เป็นต้น ทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะกระดูกพรุนและกระดูกหักเพิ่มขึ้น⁽²⁻⁴⁾ Fisher และคณะ⁽⁵⁾ ได้รายงานผู้ป่วยจำนวน 100 คนในกลุ่มผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังทั้งในกลุ่ม Noncholestatic พบว่ามีระดับ 25(OH)D ที่ต่ำกว่า 20 นาโนกรัม/มิลลิลิตร 86% ในกลุ่มที่มีตับแข็ง เทียบกับกลุ่มที่ไม่มีตับแข็ง 49% ($P < 0.001$) โดยระดับดังกล่าว สัมพันธ์กับระดับค่าการแข็งตัวของเลือด และระดับความรุนแรงของโรคตับของผู้ป่วย⁽⁶⁻⁸⁾ อีกทั้งยังมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคตับและการเกิดผังฝีในผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบซี^(41,43-44)



รูปที่ 4: แสดงการรายงานภาวะการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี จากที่ต่างๆ โดยพบว่าระดับการขาดวิตามินดียังสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของการเกิดตับแข็ง³²

ไวรัสตับอักเสบซี เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญต่อการเกิดไวรัสตับอักเสบเรื้อรัง อันนำไปสู่การเกิดภาวะตับแข็ง และมะเร็งตับตามมา ตัวไวรัสเป็น RNA virus ในกลุ่ม Flaviviridae คาดประมาณว่ามีประชากรทั่วโลกประมาณ 2.7 ล้านคนที่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี หลังการติดเชื้อ ร่างกายจะมีการตอบสนองต่อไวรัสทั้งแบบจำเพาะและแบบไม่จำเพาะเจาะจง การตอบสนองแบบไม่จำเพาะเจาะจง⁽⁹⁾ เกิดขึ้นผ่าน Interferon α/β ที่สร้างจากเซลล์ตับที่ติดเชื้อและ Plasmacytoid dendritic cells(DC) ซึ่งมีบทบาทในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสตับอักเสบซี กระตุ้น expression ของ HLA class I บน antigen presenting cell (APC) ตลอดจนกระตุ้น NK cells และ cytotoxic T cell^(10, 11) รูปที่ 2

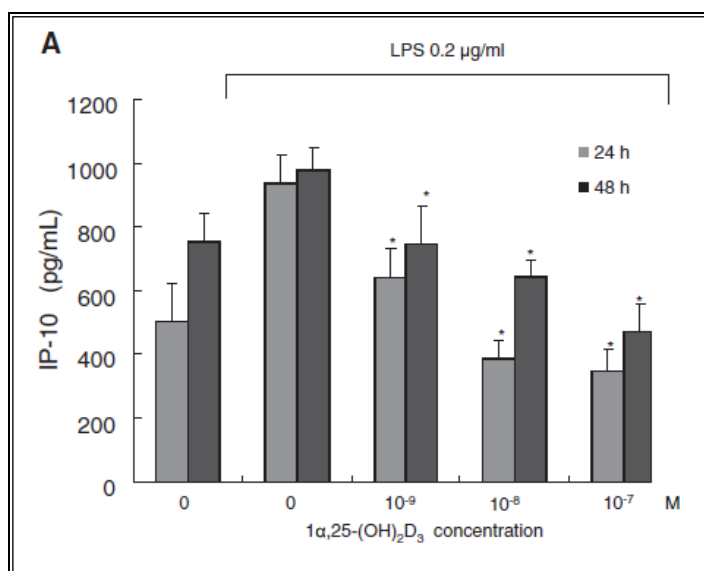
ไวรัสจะกระตุ้น Innate และ adaptive Immune response ของ host โดยมี Macrophage, natural killer cell และ neutrophil บทบาทในการกระตุ้น innate immune response เพื่อสร้าง inflammatory cytokines และมี activated dendritic cells ในการกระตุ้น adaptive immune response ให้มี CD4+ CD8+ T-cells ช่วยในการกำจัดไวรัสตับอักเสบซีที่อยู่ในเซลล์ตับออกจากร่างกาย^(12, 13) กล่าวโดยสรุปคือ ภาวะภูมิคุ้มกันของร่างกายมีผลสำคัญต่อการตอบสนองต่อไวรัสตับอักเสบซี ในการกำจัดไวรัสเชื้อไวรัสออกจากร่างกาย

การศึกษาในเวลาต่อมาพบว่าระดับของวิตามินดีก่อนการรักษามีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษา (Sustained virological response; SVR) ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งเป็นผลของวิตามินดีต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกัน ทกล่าวคือกลุ่มที่มีระดับวิตามินดี

ปกติ มีระดับการสนองต่อการรักษา ที่สูงกว่ากลุ่มที่ขาดวิตามินดี รายงานล่าสุดพบว่า การให้วิตามินดีเสริมในระหว่างการรักษาไวรัสตับอักเสบซี สามารถเพิ่มการสนองต่อการรักษาได้⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

Inducible protein-10 (IP-10) หรือ CXCL10 เป็นสารตัวหนึ่งในกลุ่ม CXC chemokine ซึ่งมีหน้าที่กระตุ้น chemotactic function ในเซลล์ชนิดต่างๆ ในระบบภูมิคุ้มกันผ่านทาง CXCR3 receptor^(17, 18) มีการศึกษาพบว่ามีการ express CXCR3 ในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง⁽¹⁹⁾ และตรวจพบ IP-10 mRNA และโปรตีนในตับของผู้ป่วยปริมาณมาก^(20, 21) ซึ่งสัมพันธ์ต่อระดับซีรัม IP-10⁽²¹⁾ จึงเชื่อว่าระดับการเปลี่ยนแปลงของ IP-10 มีบทบาทที่สำคัญต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี มีหลายการศึกษาที่พบว่าระดับของซีรัม IP-10 เป็น predictor ที่มีผลต่อการตอบสนองการรักษา ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง กล่าวคือระดับของซีรัม IP-10 ที่สูงมีผลต่อการตอบสนองที่ไม่ดี ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย Peginterferon-Ribavirin⁽²²⁻²⁴⁾

การศึกษาของ Kuo, Y.T. และคณะ พบว่าวิตามินดีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง tumor necrosis factor-alpha และ chemokines ต่างๆ รวมถึงระดับ IP-10 โดยพบว่า การให้วิตามินดีมีผลทำให้ระดับของ IP-10 ลดลง ดังแสดงในรูปที่ 6⁽²⁵⁾



รูปที่ 5: แสดงผลของวิตามินดีที่มีผลต่อการลดลงของระดับสาร IP-10³¹

จาก background ที่กล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่าวิตามินดีมีบทบาทที่สำคัญมากมายในด้านต่างๆ การศึกษาวิจัยชิ้นนี้จึงเกิดขึ้นเพื่อทดสอบว่าวิตามินดีจะสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ cytokines

และ IP-10 ในระบบภูมิคุ้มกัน ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีหรือไม่ อันจะก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ๆ
ซึ่งจะมีผลต่อการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีต่อไปในอนาคต

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

การวิจัยนี้ทำในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไวรัสตับอักเสบซีชนิดเรื้อรัง ทั้งผู้ป่วยนอก และผู้ป่วยใน ที่มารับบริการที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ที่หน่วยทางเดินอาหาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ได้รับการอนุมัติและรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (Institutional Review Board) คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 24 มกราคม 2556 ว่าดำเนินการตามหลักมาตรฐานสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

รูปแบบการวิจัย (Research design)

เป็นการวิจัยเชิงทดลองทางคลินิก (Clinical study); Randomized, double – blind, placebo – controlled trial

ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

Target population (ประชากรเป้าหมาย): ผู้ที่เป็นโรคไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง โดยตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในเลือดมาอย่างน้อย 6 เดือนที่กำลังเข้ารับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Pegylated interferon-Ribavirin) หรือมีประวัติได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน แต่ไม่ตอบสนองและหยุดยามาอย่างน้อย 6 เดือน ทั้งในแผนกผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างเดือนมกราคม 2555 ถึง ธันวาคม 2555

Study population (ประชากรที่ใช้ในการศึกษา): ผู้ที่เป็นโรคไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง ที่กำลังเข้ารับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Pegylated interferon-Ribavirin) และยินดีเข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยเพื่อเจาะเลือดและรับการรักษา หลังจากได้อธิบายรายละเอียดของโครงการ โดยจะเริ่มเก็บข้อมูลหลังจากได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย

ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumptions) ในการวิจัย

ระดับวิตามินดี (25 OH Vitamin D) \geq 30 ng/ml. ระดับเกณฑ์ปกติ

ระดับวิตามินดี (25 OH Vitamin D) 21-30 ng/ml. ภาวะการขาดวิตามินดีระดับเล็กน้อย

ระดับวิตามินดี (25 OH Vitamin D) 11-20 ng/ml. ภาวะการขาดวิตามินดีระดับปานกลาง

ระดับวิตามินดี (25 OH Vitamin D) \leq 10 ng/ml. ภาวะการขาดวิตามินดีระดับมาก

เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้เข้าทำการศึกษา (Inclusion criteria)

1. คนไทยมีอายุระหว่าง 18-65 ปี ทั้งหญิงและชาย
2. ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น โรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง
3. ผู้ป่วย Compensated Liver Cirrhosis

Albumin > 3.4 mg/dl	Total bilirubin < 1.5 mg/dl
INR < 1.5	Platelet >75,000
4. ไม่มีประวัติโรคไต ค่าการทำงานของไตอยู่ในเกณฑ์ปกติ Creatinine < 1.5 mg/dl.
5. ยินดีเข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยเพื่อเจาะเลือดและรับการรักษา
6. มีภาวะการขาดวิตามินดี (25 OH vitamin D < 30 ng/ml.)

เกณฑ์ในการคัดออก (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วย Decompensated Liver Cirrhosis
2. ผู้ป่วยที่มีโรคเอดส์ ตับอักเสบบีเรื้อรัง ร่วมด้วย
3. หญิงตั้งครรภ์และให้นมบุตร
4. ผู้ป่วยที่เป็นโรค Autoimmune disease
5. ผู้ป่วยที่กำลังมีภาวะการติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรีย (Active viral and bacterial infection)
6. ผู้ป่วยที่มีประวัติใช้ยา Steroid หรือ Immunosuppression
7. ผู้ป่วยที่ไม่มีประวัติใช้ยา Interferon หรือหยุดยา Interferon มาอย่างน้อย 6 เดือน
8. ผู้ป่วยที่ไม่สามารถเซ็นใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

เนื่องจากการทดลองที่ยังไม่เคยมีมาก่อน ดังนั้นการคำนวณประชากรที่ใช้ในการศึกษานี้จึงไม่สามารถทำได้ ทางผู้วิจัยจึงวางแผนแนวทางการแก้ไข โดยให้การศึกษานี้เป็นการศึกษานำร่อง (Pilot study)

$$\text{สูตร } N = 2 (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2 / (X_{\Delta A} - X_{\Delta B})^2$$

$$\sigma^2 \sim S_p^2 = (N_1 - 1)S_1^2 + (N_2 - 1)S_2^2 / N_1 + N_2 - 2$$

$$\text{เมื่อ } \alpha = 0.05 \rightarrow Z_{\alpha/2} = 1.96$$

$$\beta = 0.1 \rightarrow Z_{\beta} = 1.28$$

$$S_1, S_2 = \text{SD ตัวอย่างกลุ่มที่ 1 และ 2}$$

$$N_1, N_2 = \text{ขนาดตัวอย่างกลุ่มที่ 1 และ 2}$$

โดยกำหนดจำนวนตัวอย่างผู้ป่วยในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ประมาณ 80 คน เนื่องจากชุดการตรวจ cytokine สามารถตรวจได้ 80 ชุด/set อีกทั้งเป็นค่าที่ได้ มาจากการประมาณของผู้เชี่ยวชาญ (Expert opinion)

- ข้อมูลพื้นฐาน แสดงค่า mean±SD สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ และ percent สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพ
- การเปรียบเทียบข้อมูลทั้งข้อมูลพื้นฐาน และความแตกต่างของระดับ immune function ของ T helper -1 และ 2, IP-10 ที่ก่อนการรักษา ให้วิตามินดี และสิ้นสุดการรักษาที่สัปดาห์สุดท้ายของแต่ละกลุ่ม ใช้สถิติ Paired T-test ในกรณีที่มีการแจกแจงแบบปกติ และใช้ Wilcoxon Signed Rank test ในกรณีที่ข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ
- การเปรียบเทียบข้อมูลทั้งข้อมูลพื้นฐาน และความแตกต่างของระดับ immune function ของ T helper -1 และ 2, IP-10 ระหว่าง placebo และ treatment group ใช้สถิติ Unpaired T-test และใช้ The Mann-Whitney U test ในกรณีที่ข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ

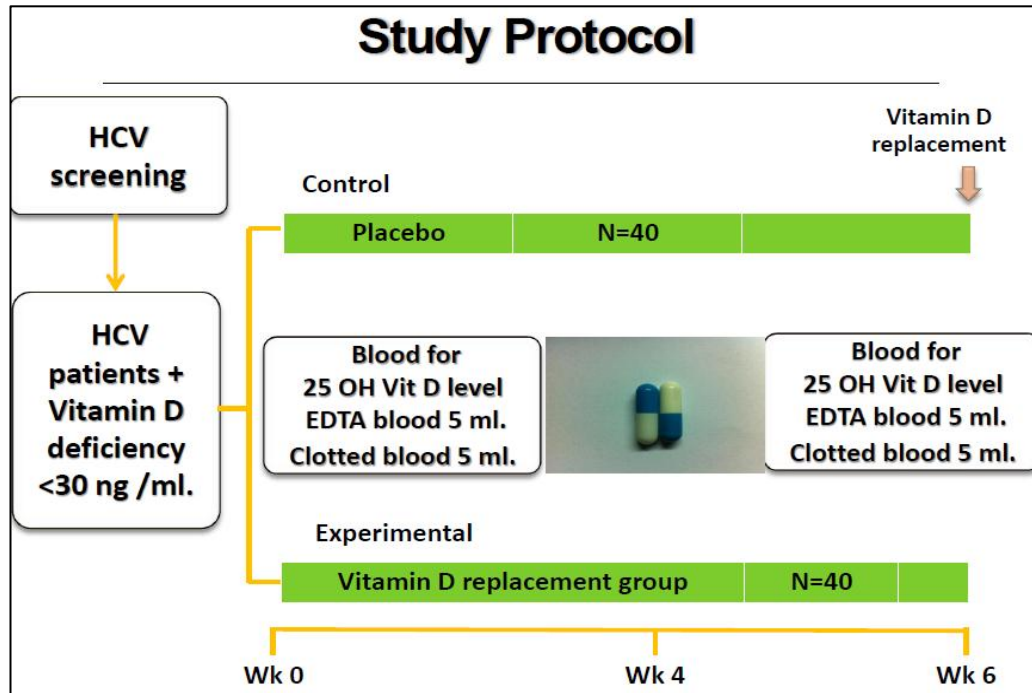
ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

ดังแสดงขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยโดยสรุปในรูปที่ 7

1. ตรวจคัดกรองผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคไวรัสตับอักเสบซีจากการตรวจเลือด โดยการซักประวัติตรวจร่างกายทั่วไป ซักประวัติเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยง ร่วมกับขออนุญาตดูประวัติการรักษาในเรื่องของการวินิจฉัย และยาที่ได้รับประจำ

2. ผู้ที่ผ่านการตรวจคัดกรองเบื้องต้น จะได้รับการซักประวัติและเก็บข้อมูลตามแบบการเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการ (Case record form) ทั้งผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่เคยและไม่เคยรับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Naïve & previously treatment cases)

รูปที่ 6: แสดงขั้นตอนในการดำเนินการศึกษาวิจัยโดยสรุป



3. ผู้ป่วยจะได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับวิตามินดี (25 OH Vitamin D) ในเลือด ในกรณีที่ระดับต่ำกว่า 30 ng/ml ผู้ป่วยจะได้รับการแนะนำ inform consent เพื่อเข้าโครงการวิจัย เจาะเลือดปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Clotted blood และ EDTA อย่างละ 5 มิลลิลิตร เก็บแช่เย็น เพื่อรอส่งตรวจวัดระดับ cytokine ของ T-helper-1 และ 2, ระดับ Inducible-10 (IP-10) ก่อนเริ่มการให้การรักษา

4. ทำการสุ่มตัวอย่างผู้ป่วยแบบแบ่งชั้น (Stratified random sampling) แบบ 1:1 โดยแบ่งกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่เคยและไม่เคยรับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Naïve & previously treatment cases) เข้าในแต่ละ group โดยให้มีสัดส่วนเท่าๆกัน กลุ่มหนึ่งได้รับยาหลอก (Placebo group) และอีกกลุ่มได้รับยาวิตามินดี (Vitamin D replacement group) ดังรูปที่ 18 โดยให้จำนวน และขนาดตาม protocol ที่แนบไว้ที่ภาคผนวก โดยผู้ทำการวิจัยและผู้ป่วยไม่ทราบว่าตนเป็นยาจริงหรือยาหลอก

5. หลังให้การรักษานาน 6 สัปดาห์ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจ เจาะเลือด เพื่อตรวจระดับวิตามินดี (25(OH) Vitamin D) ในเลือด และเจาะเลือดปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Clotted blood และ EDTA อย่างละ 5 มิลลิลิตร เก็บแช่เย็น เพื่อรอส่งตรวจวัดระดับ cytokine ของ T-helper-1 และ 2, ระดับ Inducible-10 (IP-10) อีกครั้ง หลังสิ้นสุดการรักษา การตรวจวัดระดับของ cytokine ของ T-helper-1 และ 2, ระดับ Inducible-10 (IP-10) ทำการตรวจที่ ห้องปฏิบัติการทางภูมิคุ้มกันวิทยา ตึก อปร ชั้น 1 ผู้ป่วยทุกรายที่ศึกษาวิจัย หลังสิ้นสุดการศึกษา หากยังตรวจพบว่ามีภาวะวิตามินในเลือดต่ำ จะได้รับการรักษา โดยการให้วิตามินดีโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ต่อไปจนกว่า ระดับผลเลือดจะอยู่ในเกณฑ์ปกติ

6. นำผลที่ได้ไปวัดค่าทางสถิติต่อไป

การวิเคราะห์หาปริมาณ Th1/2 ไซโตไคน์ (Th-1/2 Cytokines quantitative analysis)

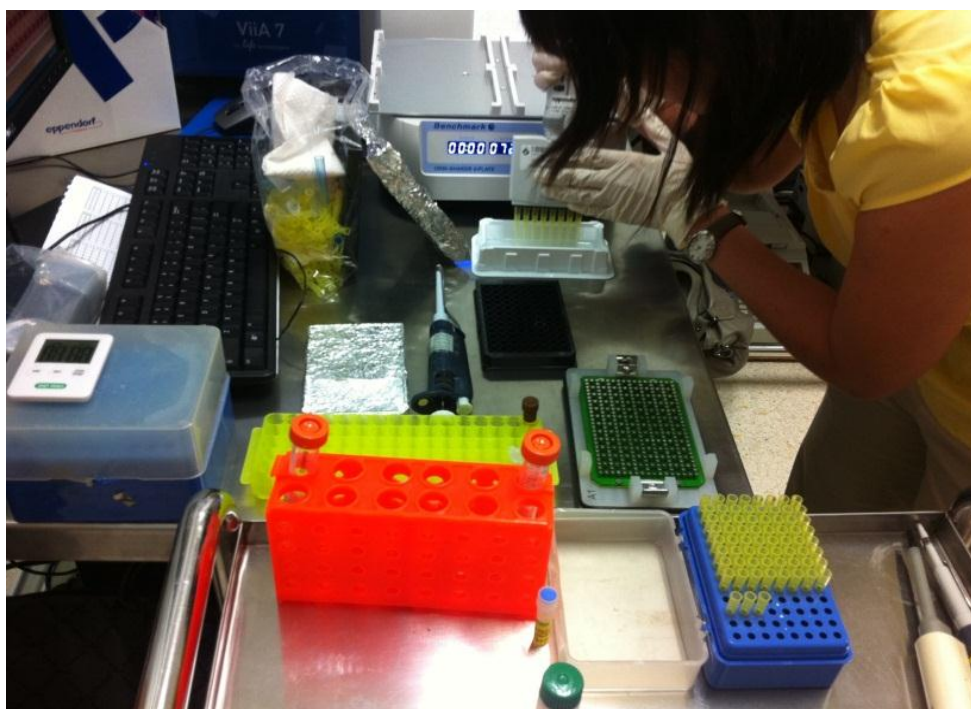
การตรวจวัดปริมาณสารไซโตไคน์ของทีเซลล์เพอร์ 1 และ 2 โดยใช้ชุดตรวจของ Bio-Plex Th-1/2 cytokine ของบริษัท Bio-Rad, Hercules, CA, USA โดยวิธีการตรวจ ตามขั้นตอนการตรวจในกลุ่มมือการตรวจของบริษัท โดยการตรวจใช้เทคนิคแบบ ELISA และวัดปริมาณสารไซโตไคน์โดยวัดปริมาณการเรืองแสง โดยค่าที่ได้มีหน่วยเป็นพิโคกรัม/มิลลิลิตร ขั้นตอนการเตรียมน้ำยาและอุปกรณ์แสดงไว้ดังรูปที่ 8-13



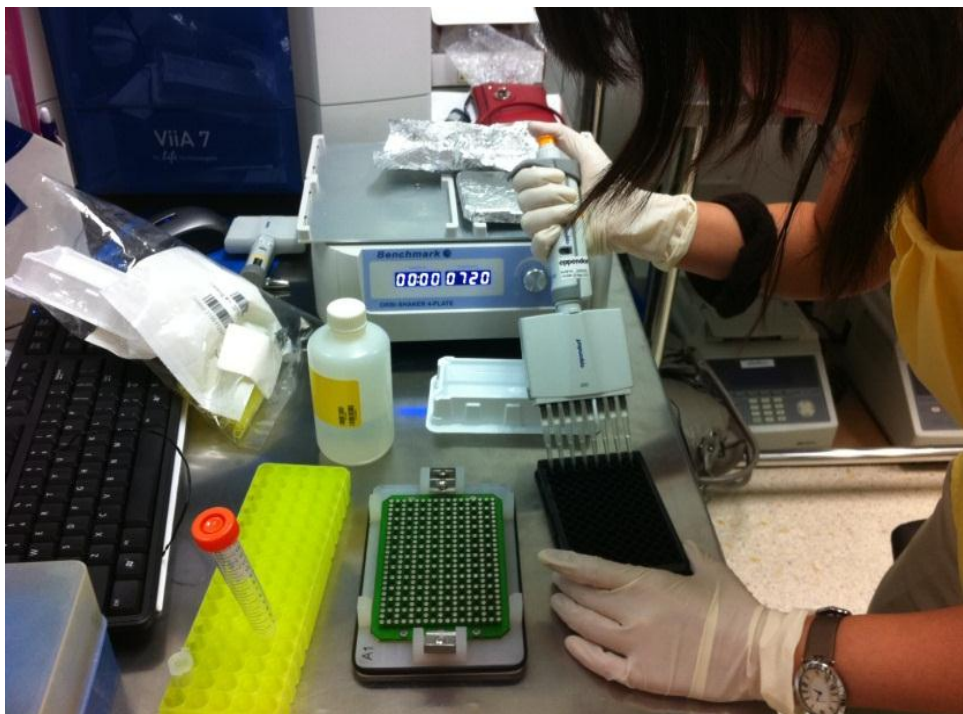
รูปที่ 7: แสดงการเตรียมน้ำยาและอุปกรณ์ ก่อนการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ Th1/2 ไซโตไคน์



รูปที่ 8: แสดงรูปห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิจัยและการเตรียมอุปกรณ์และน้ำยาชนิดต่างๆ เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับTh1/2 ไซโตไคน์



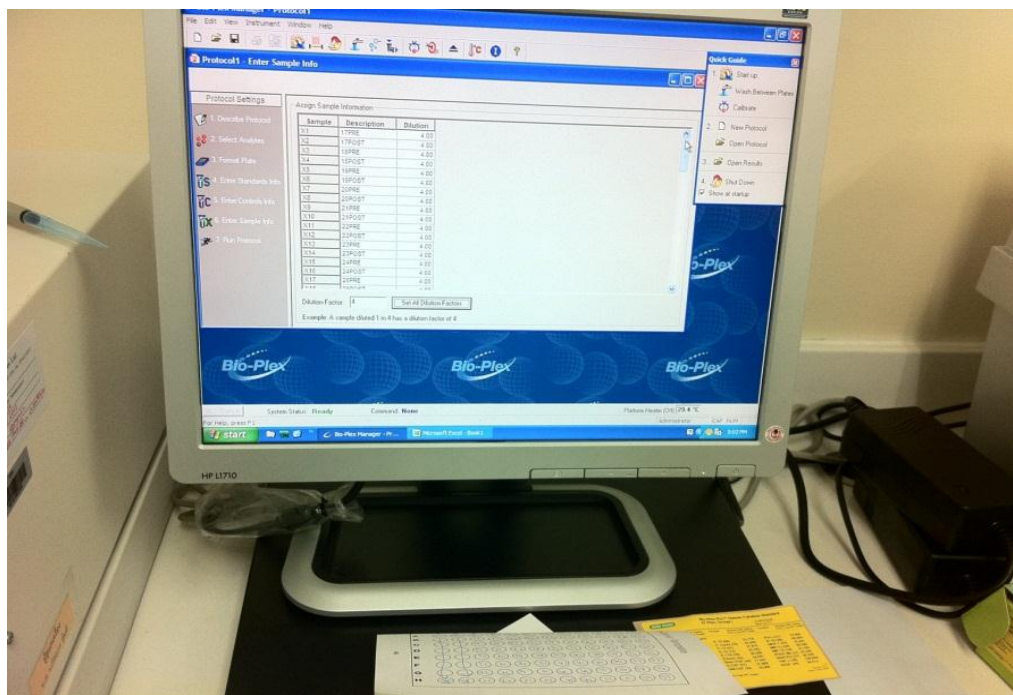
รูปที่ 9: แสดงการเตรียมอุปกรณ์และน้ำยาตัวควบคุมมาตรฐาน เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับTh1/2 ไซโตไคน์



รูปที่ 10: แสดงขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์และน้ำยาชนิดต่างๆ เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับTh1/2 ไชโตไคน์



รูปที่ 11: แสดงรูปอุปกรณ์ เครื่องอ่าน เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับTh1/2 ไชโตไคน์ Biorad, Bio-Plex 200 system.



รูปที่ 12: แสดงโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับการแปลผล วิเคราะห์หาระดับTh1/2 ไซโตไคน์

การวิเคราะห์หาปริมาณ ไอพีเทน (IP-10quantitative analysis)

การตรวจวัดปริมาณสาร ไอพีเทน (IP-10) คณะผู้วิจัยทำการตรวจโดยใช้ชุดน้ำยาตรวจ IP-10 ELISA set kit ของบริษัท, BD, Bioscience, San Diego, CA USA โดยวิธีการตรวจ ตามขั้นตอนการตรวจในคู่มือการตรวจของบริษัท โดยการตรวจใช้เทคนิคแบบ ELISA และวัดปริมาณสารไซโตไคน์โดยวัดปริมาณการเรืองแสง โดยค่าที่ได้มีหน่วยเป็นพิโคกรัม/มิลลิลิตร ขั้นตอนการเตรียมน้ำยาและอุปกรณ์แสดงไว้ดังรูปที่ 14-15



รูปที่ 13: แสดงชุดน้ำยาตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์หาระดับไอพีเทน (IP-10), IP-10 ELISA set kit

การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

เก็บในรูปแบบเก็บรวบรวมข้อมูล (Case Record form) ที่จัดทำขึ้น ดังแสดงรายละเอียดไว้ใน ตัวอย่างแบบบันทึกข้อมูลในภาคผนวก ภายหลังจากการลงข้อมูลของผู้ป่วยแต่ละคน ข้อมูลจะถูก บันทึกและจัดเก็บข้อมูลลงในคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16.0



รูปที่ 14: แสดงชุดน้ำยาตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์หาระดับไอพีเทน (IP-10), IP-10

ELISA set kit



รูปที่ 15: แสดงตัวอย่างเม็ดยา Placebo และวิตามินดีที่บรรจุในแคปซูล เพื่อใช้ในการศึกษา
ครั้งนี้

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ข้อมูลพื้นฐาน ซึ่งปริมาณจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ร่วมกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ส่วนข้อมูลเชิงคุณภาพจะแสดงเป็นร้อยละ

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16.0 โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลข้อมูลเชิงปริมาณ ที่มีการแจกแจงแบบปกติ ของ 2 กลุ่มใช้เป็น Independent t – test ค่าความแตกต่างใช้ค่ามีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ส่วนการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลข้อมูลเชิงปริมาณ ที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ ของแต่ละกลุ่มใช้เป็น Mann-Whitney U test ค่าความแตกต่างใช้ค่ามีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ในกรณี การเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลข้อมูลเชิงปริมาณ ที่มีการแจกแจงแบบปกติ ของแต่ละกลุ่ม (เปรียบเทียบก่อนและหลัง) ใช้เป็น Dependent t – test ค่าความแตกต่างใช้ค่ามีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ส่วนการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลข้อมูลเชิงปริมาณ ที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ ของแต่ละกลุ่มใช้เป็น Wilcoxon Signed Rank test ค่าความแตกต่างใช้ค่ามีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ปัญหาทางจริยธรรม

Respect of person (หลักความเคารพในบุคคล)

อาสาสมัครทุกคนที่เข้าร่วมงานวิจัยนี้จะได้รับการชักชวนให้เข้าร่วมโดยสมัครใจ และมีขั้นตอนตามมาตรฐาน อธิบายให้เข้าใจถึงหลักการเหตุผลที่มาของงานวิจัย ร่วมกับบรรยายวิธีการเข้าร่วมและการปฏิบัติตัวระหว่างเข้าร่วมงานวิจัย และถึงแม้จะเข้าร่วมแล้วก็ตาม ก็มีสิทธิที่จะถอนตัวจากงานวิจัยได้โดยไม่ต้องชดใช้ค่าเสียหาย หรือถูกละเลยการดูแลรักษา โครงการวิจัยได้แสดงความเคารพในความเป็นส่วนตัวและการรักษาความลับ (Privacy and confidentiality) โดยการเข้าร่วมโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากอาสาสมัครไม่สมัครใจจะเข้าร่วม หรือเปลี่ยนใจก็สามารถปฏิเสธถอนตัวได้ตลอดเวลา โดยการขอลถอนตัวออกจากโครงการวิจัยนี้จะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของอาสาสมัครในอนาคต มีการรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร โดยข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวอาสาสมัครจะได้รับการปกปิดและไม่เปิดเผยต่อสาธารณชน

Beneficence (หลักการให้คุณประโยชน์)

การเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ทำให้ทราบถึงภาวะการณ์ ของอาสาสมัครที่อาจจะไม่ได้สังเกตอาการนี้มาก่อน ทำให้ทราบถึงโรคที่อยู่ในตัวของอาสาสมัครทำให้มีประโยชน์แก่ตัวอาสาสมัครที่จะไปปฏิบัติตัวและรักษาตัวต่อไป มีการระบุใน information sheet ไว้ว่า “การเข้าร่วมใน

โครงการวิจัยนี้อาจจะทำให้ท่านมีสุขภาพที่ดีขึ้น หรือ อาจลดความรุนแรงของโรคได้ แต่ไม่ได้รับรองว่าสุขภาพของท่านจะต้องดีขึ้นหรือความรุนแรงของโรคจะลดลงอย่างแน่นอน”

Justice (หลักความยุติธรรม)

อาสาสมัครจะได้รับผลเสียจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย คือ การสูญเสียเวลาการทำงาน จากการนัดรับการตรวจและเจาะเลือด จำนวน 2 ครั้ง มีอาการเจ็บจากการได้รับการเจาะเลือด และอาจได้รับผลเสียจากยาวิตามินดี (VitaminD, Ergocalciferol) ซึ่งมักจะไม่วางแรง อาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน อึดแน่นท้อง อย่างไรก็ตามผลข้างเคียงดังกล่าวมีรายงานอุบัติการณ์น้อย และอาการแสดงเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตาม หากอาสาสมัครคนใดมีอาการไม่พึงประสงค์จากการได้รับยา จะได้รับการดูแลและรักษาพยาบาลโดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใดๆ

ข้อจำกัดในการวิจัย

1. การศึกษานี้มีจำนวนของผู้เข้าร่วมวิจัยรวม 80 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 40 คน จำนวนที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ มาจากการประมาณของผู้เชี่ยวชาญ (Expert opinion) และจากชุดการตรวจ cytokine ที่สามารถตรวจที่มีราคาแพงและสามารถตรวจได้ 80 ชุด/set

2. การศึกษานี้เป็นการศึกษานำร่อง (Pilot study) เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาดังกล่าว ในลักษณะของกลุ่มประชากรและลักษณะการศึกษาเช่นนี้มาก่อน จึงไม่สามารถมีการศึกษาเปรียบเทียบได้

3. การศึกษานี้ให้ยาวิตามินดี เทียบกับยาหลอก เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ซึ่งเป็นระยะเวลาในการให้เสริมวิตามินดีตามหลักมาตรฐาน อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาการศึกษาจำนวน 6 สัปดาห์ดังกล่าว อาจจะสั้นหรือไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกัน

4. การศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของวิตามินดีและยาหลอก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกัน ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ซึ่งอาจมีปัจจัยต่างๆที่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกันดังกล่าว ทำให้การแปลผลของยาวิตามินดีหรือยาหลอกเกิดความคลาดเคลื่อนได้

ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย (Expected Benefits and Application)

การศึกษานี้เป็นการศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินดีต่อการเปลี่ยนแปลงของสารไซโตไคน์ และระดับของสารไอพีเทินในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี ซึ่งเป็นการศึกษาโดยนำความรู้หรือผลที่ได้จากทางคลินิก มาประยุกต์ในเชิงวิทยาศาสตร์พื้นฐาน (Basic science) เพื่ออธิบายพยาธิกำเนิดโดยใช้หลักการทางวิทยาศาสตร์ทำให้ทราบถึงผลของการให้วิตามินดี ที่อาจมีผลต่อการตอบสนองทางด้านการรักษา ผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบบีเรื้อรัง ทำให้แพทย์ผู้ดูแลและ

ให้การรักษาผู้ป่วยโรคนี สามารถนำความรู้ที่ได้จากการวิจัยขั้นนี้ มาประยุกต์ใช้ในการรักษาและแนะนำผู้ป่วยได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมต่อไป ทำให้ทราบและเข้าใจ ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินดี, สารInducible protein-10 (IP-10) และการเปลี่ยนแปลงระดับภูมิคุ้มกัน ในระดับ cytokine ในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบซีเรื้อรังอันจะนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกในด้านการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบต่อไปในอนาคต

อุปสรรคที่ผู้วิจัยคาดว่าจะเกิดขึ้นในขณะดำเนินการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข (Obstacle)

1. การศึกษานี้เป็นแบบไปข้างหน้า Prospective Randomized double blind placebo control trial จึงอาจมีการ loss follow up ได้ ได้มีการอธิบายถึงหลักการและเหตุผลแก่ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัย เพื่อขอความร่วมมือในการทำวิจัยอย่าง
2. การศึกษานี้เป็นการศึกษาผลของวิตามินดีและยาหลอก ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกันใน Adaptive immunity ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง ซึ่งอาจมีปัจจัยต่างๆที่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไซโตไคน์ในระบบภูมิคุ้มกันดังกล่าว ทำให้การแปลผลของยาวิตามินดีหรือยาหลอกเกิดความคลาดเคลื่อนได้ เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว จึงกำหนด inclusion และ exclusion criteria รวมถึงสอบถามสภาวะของผู้ป่วยทุกคน ในทุกครั้งของการนัดติดตาม ก่อนการเจาะเลือด

ตารางที่ 2: แสดงการบริหารการวิจัยและตารางการปฏิบัติงาน (Administration and time schedule)

การดำเนินการ	2554				2555												2556		
	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	
1.การศึกษาเตรียมงาน	←————→																		
2.ดำเนินงานวิจัยและรวบรวมข้อมูล						←————→													
3.การวิเคราะห์ข้อมูล																	←————→		
4.การเขียนรายงานและรายงานผล																	←————→		

ค่าใช้จ่ายงบประมาณในการวิจัย

ดังแสดงใน ตารางที่ 3

ตารางที่ 3: แสดงค่าใช้จ่ายงบประมาณในการวิจัย

รายการ	ค่าใช้จ่าย
ค่าตรวจระดับวิตามินดี 25 OH vitamin D level 1,200 บาท * 3 * 80 คน	288,000 บาท
ค่าชุดตรวจระดับ cytokines (Th1/Th2) 80 kits/set 75,000 บาท/set * 2 ชุด	150,000 บาท
ค่าชุดตรวจระดับ Inducible protein – 10 (IP-10) 80 kits/set 21,000 บาท/set * 2 ชุด	42,000 บาท
ค่ายาวิตามินดี (Vitamin D2)	3,000 บาท
ค่าเครื่องมือ อุปกรณ์ tube ใต้อีลีด	5,000 บาท
ค่าจัดทำยาหลอก (Placebo)	5,000 บาท
รวมจำนวนเงินทั้งสิ้น	500,000 บาท

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้ทำการศึกษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี กำลังเข้ารับการรักษา (Naïve case) ด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Pegylated interferon-Ribavirin) หรือมีประวัติรับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน แต่ไม่ตอบสนองและหยุดยาอย่างน้อย 6 เดือน (Non-responder) ทั้งชนิดแผนกผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอก ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างเดือนมกราคม 2555 ถึง ธันวาคม 2555

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง โดยตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ในเลือดมาอย่างน้อย 6 เดือน และมีอายุอยู่ในช่วง 18-65 ปี ที่ยินยอมเข้าร่วมโครงการครั้งนี้ รวมจำนวนทั้งสิ้น 96 ราย ได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับวิตามินดี (25 OH Vitamin D) ก่อนการเข้าโครงการ พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 11 คน (11.83%) มีระดับวิตามินดี ≥ 30 ng/ml. พบภาวะการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยจำนวน 82 คนคิดเป็นจำนวน 88.17% ผู้ป่วยจำนวน 2 รายถูกคัดออกเพิ่มเติม เนื่องจากบ้านอยู่ไกล และมีความลำบากในการนัดตรวจติดตาม เหลือผู้ป่วยที่อยู่ในเกณฑ์รวมทั้งสิ้น 80 ราย ดังแสดงในแผนภูมิภาพที่ 1

ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีจำนวน 80 คน ผู้ป่วยจำนวน 80 คนได้รับการสุ่มโดยวิธีการ Block randomization โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มเพื่อรับยา placebo หรือวิตามินดีตาม protocol เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มดังแสดงในตารางที่ 4 กล่าวคือ ผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ย 52.15 และ 52.62 ปีในกลุ่มที่ได้รับยาหลอก และวิตามินดีตามลำดับ ในกลุ่มที่ได้ยาหลอกเป็นเพศหญิงและเพศชายปริมาณเท่ากัน ส่วนใหญ่เป็นไวรัสตับอักเสบซีสายพันธุ์ที่ 1 และ 3 ผู้ป่วยจำนวน 21 คน (52.5%) เป็นผู้ป่วยที่ไม่เคยรับการรักษาด้วยยาสูตรมาตรฐานมาก่อน (Naïve cases) ในขณะที่ 19 คน (47.5%) เป็นผู้ป่วยที่มีประวัติรับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน แต่ไม่ตอบสนองและหยุดยาอย่างน้อย 6 เดือน (Non-responder) ระดับของปริมาณไวรัส ค่าดัชนีมวลกายและระดับ Baseline SGOT และ SGPT ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ระดับค่าวิตามินดีเฉลี่ยของผู้ป่วยในกลุ่ม Placebo และวิตามินดีเท่ากับ 20.27 ± 4.83 ng/ml. และ

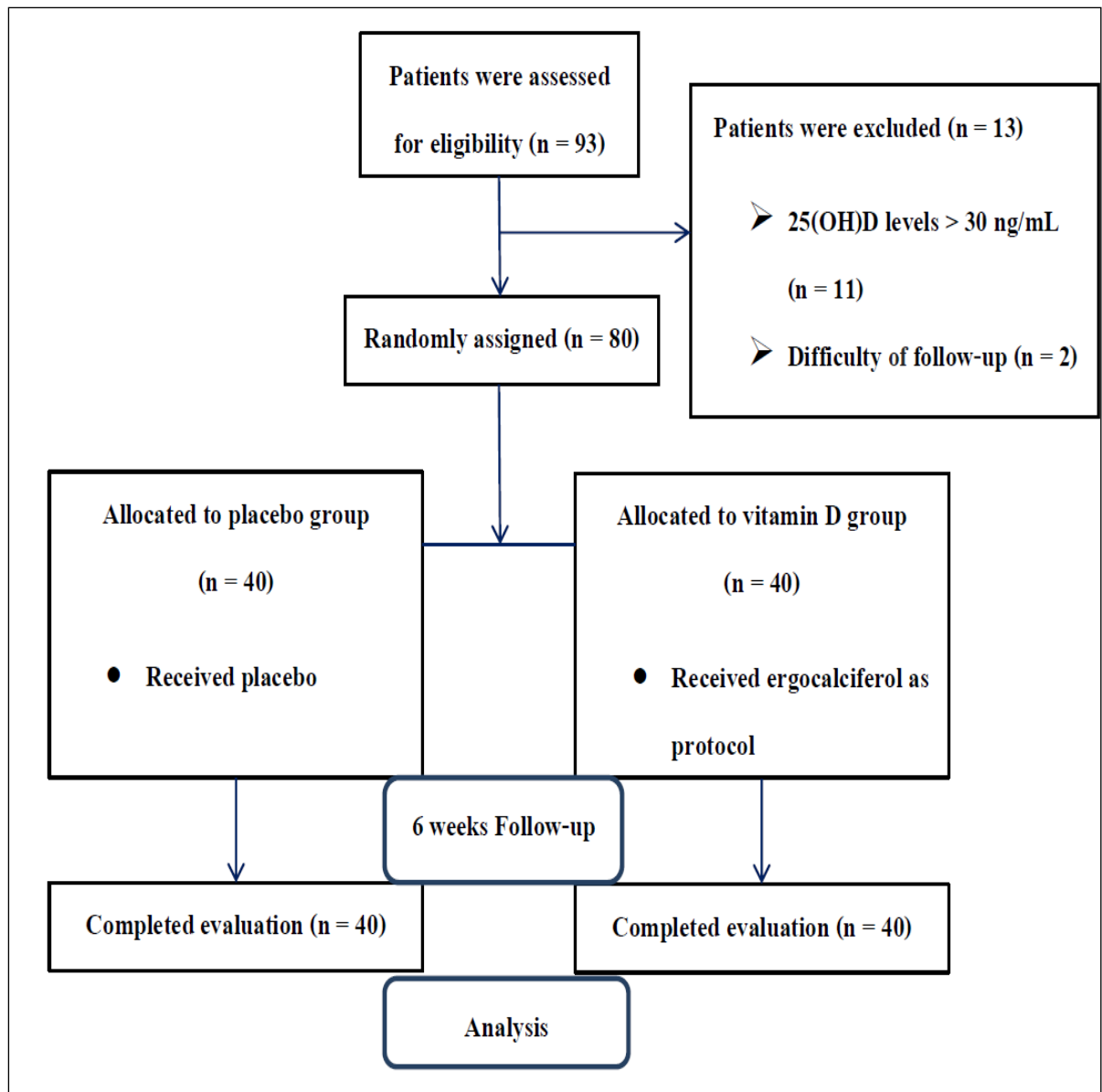
20.88±5.4 ng/ml. ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระดับของ T-helper1/2 cytokines และระดับ IP-10 ในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มก็ไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบค่าดังกล่าวกับประชากรทั่วไป พบว่าค่าเฉลี่ยของ Baseline IP-10 และระดับของ TNF- α ของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี สูงกว่าประชากรปกติทั่วไป กล่าวโดยสรุปเมื่อเปรียบเทียบ ทุก Baseline characteristic ของผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลของทั้งสองกลุ่ม พบว่าในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดี มีการเพิ่มขึ้นของระดับของวิตามินดี และมีการลดลงของระดับ IP-10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 5 และแผนภูมิที่ 3 กล่าวคือ ค่าเฉลี่ยของวิตามินดี, IP-10 ก่อนและหลังการรักษาในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดี เท่ากับ 20.88, 45.93 ng/ml. ($p < 0.001$) และ 770.27, 636.47 pg/ml. ($p = 0.036$) ตามลำดับกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับวิตามินดีมีการลดลงระดับของ IP-10 ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มควบคุม

เมื่อเปรียบเทียบ ระดับและการเปลี่ยนแปลง (Δ) ของ Th1 cytokines (IL-2, IL-12, TNF γ , TNF β) และ Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) ในผู้ป่วยทั้ง กลุ่ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสารดังกล่าว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 6-7 เมื่อนำมาหาค่าความสัมพันธ์ พบว่า มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ Baseline IP-10 และ SGOT, SGPT ดังแผนภูมิรูปที่ 2 โดยพบว่าการมีค่าของ SGOT, SGPT ที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับระดับของ IP-10 ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

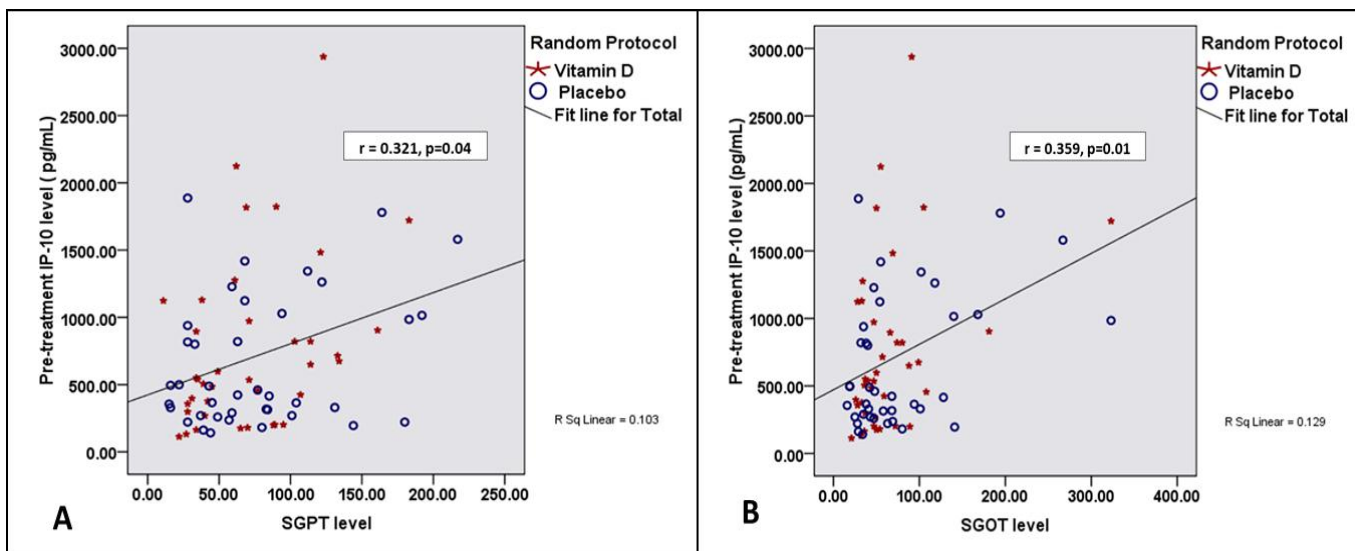
นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดีและระดับ IP-10 ที่สิ้นสุดการรักษา โดยพบว่ามีค่าความสัมพันธ์ในทิศทางที่เป็นลบ กล่าวคือ ระดับของวิตามินที่สิ้นสุดของการรักษาที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับระดับของ IP- 10 ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงที่แผนภูมิที่



รูปที่ 16: แสดงแผนภูมิภาพรวมโดยย่อของผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัยในครั้งนี้ ผู้ป่วยจำนวน 80 คนจากทั้งหมด 93 คน ได้รับการสุ่มโดยวิธีการ Block randomization โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มเพื่อรับยา placebo หรือวิตามินดีตาม protocol ที่กล่าวไปข้างต้น เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ผู้ป่วยทุกคนได้รับการติดตามและเจาะเลือด และวิเคราะห์จนถึงสิ้นสุดโครงการศึกษาวิจัย

ตารางที่ 4: แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม

Variables	Control Group (N=40)	Vitamin D Group (N=40)	P
Mean age (year)	52.15	52.62	0.830
Male sex (% of patients)	20 (50.0%)	23 (57.50%)	0.654
HCV status			0.403
- Naïve cases	21 (52.50%)	21 (52.50%)	
- Non-responder	19 (47.50%)	19 (47.50%)	
HCV genotype			0.647
- Genotype 1	45.0%	47.5%	
- Genotype 3	40.0%	32.5%	
- Unknown	15.0%	20.0%	
Mean HCV Viral loads log ₁₀ (SD), copies/ml	5.72 (±0.88)	5.76 (±0.84)	0.822
Liver Histology	11/40	9/40	0.796
- Metavir activity, median (range), score	1	1	
- Metavir fibrosis, median (IR), score	2 (1)	2 (2)	
Median AST (IU/l)	76.31 (16-323)	65.1 (21-323)	0.421
Median ALT (UI/l)	78.49 (15-217)	72.06 (11-183)	0.560
Mean BMI	24.56 (±3.98)	24.48 (±3.37)	0.520
Mean weights (kgs.)	64.51 (±12.17)	65.26 (±11.10)	0.773
Mean heights (cms.)	161.90 (±8.38)	163.02 (±6.89)	0.514
Serum 25(OH) Vit D (ng/ml)	20.27 (±4.83)	20.88 (±5.40)	0.596
Serum IP-10 (pg/ml)	665.61	770.27	0.180
Serum IL-2 (pg/ml)	23.07	8.20	0.245
Serum IL-4 (pg/ml)	3.93	5.39	0.246
Serum IL-5 (pg/ml)	4.69	7.60	0.157
Serum IL-10 (pg/ml)	7.56	17.09	0.216
Serum IL-12 (pg/ml)	29.25	40.61	0.629
Serum IL-13 (pg/ml)	4.68	11.24	0.087
Serum IFN- γ (pg/ml)	251.64	328.31	0.344
Serum TNF- α (pg/ml)	602.45	651.52	0.869
Serum GM-CSF (pg/ml)	21.96	27.72	0.614



รูปที่ 17: แสดงความสัมพันธ์ของระดับ Baseline IP-10 และ SGOT, SGPT โดยพบว่ามียาค่าของ SGOT, SGPT ที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับระดับของ SGOT, SGPT ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Variables	Placebo			Vitamin D		
	Pre	Post	P-value	Pre	Post	P-value
25(OH) vitamin D (ng/mL)	20.59	21.87	0.212	20.88	45.93	<0.001
Serum IP-10 (pg/ml)	665.61	748.88	0.13	770.27	636.47	0.036

ตารางที่ 5: แสดงผลของระดับวิตามินดี และระดับ IP-10 ก่อนและหลังการให้ยา 6 สัปดาห์ ของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม โดยพบว่าในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดี มีการเพิ่มขึ้นของระดับของวิตามินดี และมีการลดลงของระดับ IP-10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 6: แสดงผลของระดับ Th1 cytokines (IL-2, IL-12, TNF γ) และ Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) ก่อนและหลังการให้ยา 6 สัปดาห์ ของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม

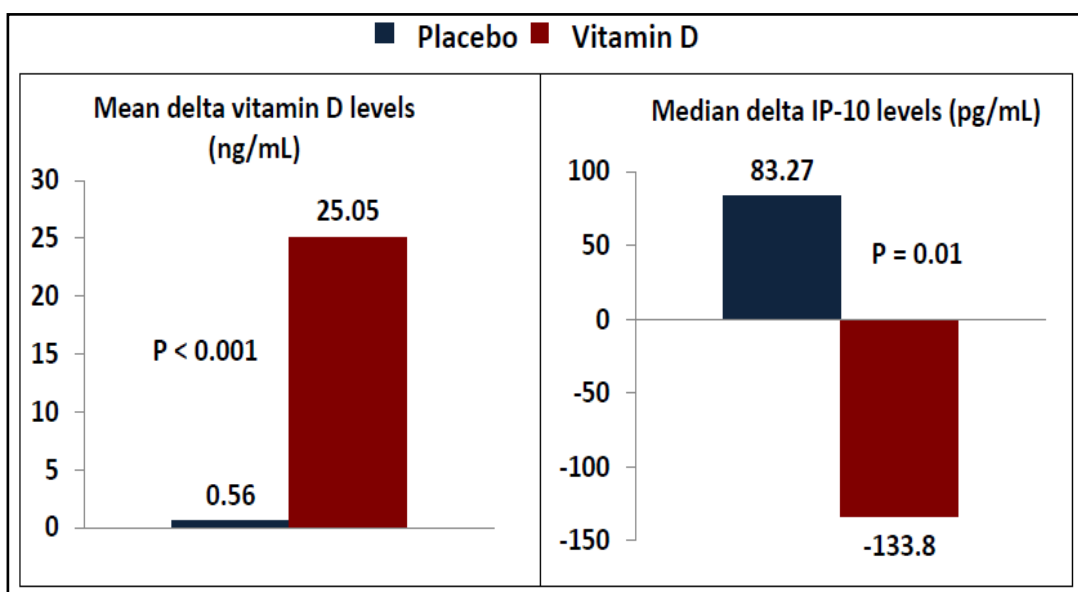
Variables	Placebo			Vitamin D		
	Pre	Post	P-value	Pre	Post	P-value
Serum IL-2 (pg/ml)	23.07	28.69	0.318	8.20	4.49	0.118
Serum IL-4 (pg/ml)	3.99	3.99	1.000	5.39	5.57	0.750
Serum IL-5 (pg/ml)	4.69	4.47	0.717	7.60	8.06	0.623
Serum IL-10 (pg/ml)	7.56	7.05	0.635	17.09	20.01	0.342
Serum IL-12 (pg/ml)	29.25	26.80	0.670	40.61	50.11	0.292
Serum IL-13 (pg/ml)	4.68	5.48	0.575	11.24	11.76	0.841
Serum IFN- γ (pg/ml)	251.64	237.28	0.594	328.31	304.90	0.429
Serum TNF- α (pg/ml)	602.45	548.33	0.884	651.52	752.94	0.487
Serum GM-CSF (pg/ml)	21.96	23.18	0.787	27.77	29.33	0.781

ตารางที่ 7: แสดงผลของระดับการเปลี่ยนแปลงของ Th1 cytokines (IL-2, IL-12, TNF γ) และ Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) ก่อนและหลังการให้ยา 6 สัปดาห์ ของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม

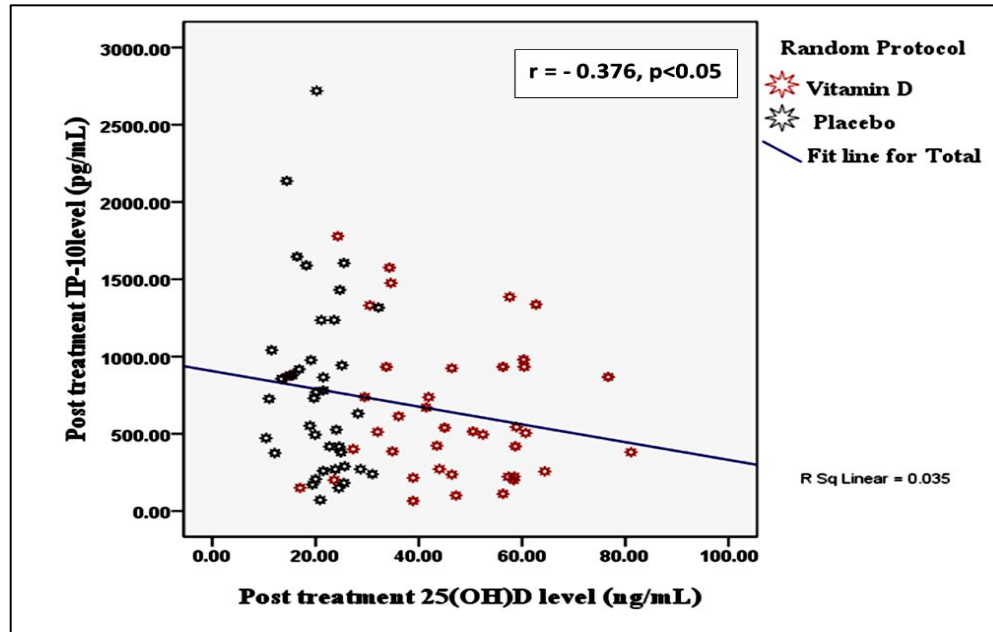
Change	Placebo	Vitamin D	P value between treatment group
Δ 25(OH) vitamin D (ng/mL)	0.56	25.05	< 0.001
Δ Serum IP-10 (pg/ml)	83.27	-133.80	0.01
Δ Serum IL-2 (pg/ml)	5.63	-3.71	0.126
Δ Serum IL-4 (pg/ml)	0.001	0.179	0.817
Δ Serum IL-5 (pg/ml)	-0.211	0.467	0.541

Change	Placebo	Vitamin D	<i>P</i> value between treatment group
Δ Serum IL-10 (pg/ml)	-0.506	2.922	0.290
Δ Serum IL-12 (pg/ml)	-2.451	9.495	0.262
Δ Serum IL-13 (pg/ml)	0.797	0.520	0.925
Δ Serum IFN- γ (pg/ml)	-16.119	1.014	0.591
Δ Serum GM-CSF (pg/ml)	1.223	1.611	0.958
Δ Serum TNF- α (pg/ml)	-14.351	-23.407	0.820

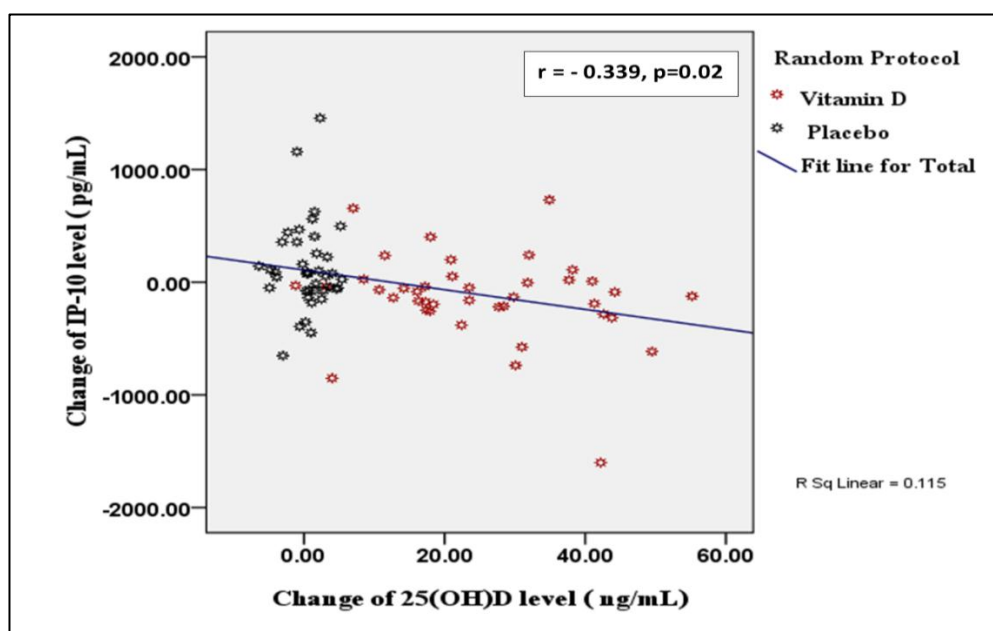
รูปที่ 18: แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินดี และ ระดับ IP-10 เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่วิตามินดี โดยพบว่า ดี มีการเพิ่มขึ้นของระดับของวิตามินดี และมีการลดลงของระดับ IP-10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 5 กล่าวคือ ค่าเฉลี่ยของวิตามินดี, IP-10 ก่อนและหลังการรักษาในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดี เท่ากับ 20.88, 45.93 ng/ml. ($p < 0.001$) และ 770.27, 636.47 pg/ml. ($p = 0.036$) ตามลำดับ



รูปที่ 19: แสดงความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดีและระดับ IP-10 ที่สิ้นสุดการรักษา โดยพบว่ามีความสัมพันธ์ในทิศทางที่เป็นลบ กล่าวคือ ระดับของวิตามินที่สิ้นสุดของการรักษาที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับระดับของ IP-10 ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r = -0.376, p < 0.05$)



รูปที่ 20: แสดงความสัมพันธ์ของระดับการเปลี่ยนแปลงวิตามินดีและระดับ IP-10 โดยพบว่ามีความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวมีความสัมพันธ์ในทิศทางที่เป็นลบ กล่าวคือ การเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับระดับการเปลี่ยนแปลงของ IP-10 ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r = -0.339, p = 0.02$)



บทที่ 5

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิจัยชิ้นนี้เป็นงานวิจัยชิ้นแรกที่ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดี การให้ยาวิตามินดี ต่อการเปลี่ยนแปลงของ Adaptive immunity ทั้งในด้านของ T-helper1/2 cytokines และระดับ IP-10 ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า วิตามินดีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับภูมิคุ้มกันในการศึกษาระดับ cell line (*in vitro study*)^{4,8,10,12-13} และวิตามินดีมีความสัมพันธ์ต่อการตอบสนองต่อการรักษา^{17,39-40,43-44} ในการวิจัยครั้งนี้ Protocol ขนาดและปริมาณของวิตามินดีที่ให้ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ สามารถเพิ่มระดับวิตามินดีและแก้ไขภาวะการขาดวิตามินดีได้ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีทุกคนที่เข้าร่วมโครงการ Protocol ขนาดและปริมาณของวิตามินดีในการวิจัยครั้งนี้ จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิก เพื่อให้แก่ผู้ป่วยต่อไป

จากผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้พบว่า การให้วิตามินดีและการเพิ่มขึ้นของระดับวิตามินดี [25(OH)vitaminD] ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ Th1 cytokines (IL-2, IL-12, TNF γ) และ Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก แต่เมื่อเปรียบเทียบระดับ IP-10 พบว่าเฉพาะผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับวิตามินดี และมีการเพิ่มของระดับวิตามินดีเท่านั้น ที่มีระดับ IP-10 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่ามีความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวมีความสัมพันธ์ในทิศทางที่เป็นลบ กล่าวคือ การเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับระดับการเปลี่ยนแปลงของ IP-10 ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าค่าระดับความสัมพันธ์ดังกล่าวจะมีความสัมพันธ์อยู่ในเกณฑ์ปานกลาง แต่ก็เริ่มจุดเริ่มต้น ของการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินดีและ IP-10 ต่อไปในอนาคต

จากผลการศึกษาดังที่กล่าวข้างต้น สมมุติฐานที่ว่า ระดับวิตามินดีที่เพียงพอและการให้วิตามินดีมีผลต่อการตอบสนองและการหายของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐาน (Pegylated interferon-Ribavirin) เนื่องจาก ผลของวิตามินดีที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ ภูมิคุ้มกันในร่างกาย ทั้งในด้านของ T-helper1/2 cytokines ส่งผลให้มีความสามารถในการกำจัดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเพิ่มขึ้น อันเป็นปัจจัยหนึ่งของการตอบสนองต่อ

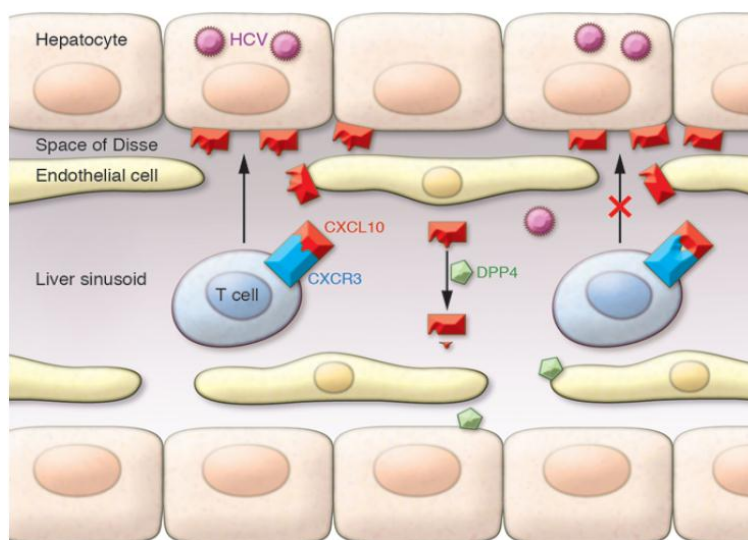
การรักษา จึงไม่สามารถอธิบายได้จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เนื่องจากไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ Th1 cytokines (IL-2, IL-12, TNF γ) และ Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากผลของการศึกษาดังกล่าวข้างต้น การที่ระดับของ Th1/2 cytokines ไม่มีการเปลี่ยนแปลงนั้น ผลที่ได้เป็นเพียงผลจากการวิเคราะห์ในซีรัมของผู้ป่วยเท่านั้น จึงไม่สามารถแปลผลได้ว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระดับเนื้อเยื่อตับ (liver tissue) เสมอไป อีกทั้งเป็นการศึกษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเท่านั้น จึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบผลดังกล่าวในผู้ป่วยกลุ่มโรคต่างๆ เนื่องมาจากก่อนหน้านี้ มีการศึกษาถึงผลของวิตามินดี ที่มีผลต่อระดับของ Th1/2 cytokine ในกลุ่มผู้ป่วยโรคต่างๆเช่น ผู้ป่วย Crohn's disease, Multiple sclerosis หรือ ผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรังที่ต้องได้รับการล้างไต เป็นต้น^{45-47,49-50} อย่างไรก็ตาม ยังมีรายงานการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยอื่นๆ ที่พบว่า ผลของวิตามินไม่มีผลต่อระดับของ Th1/2 cytokine เช่นเดียวกับงานวิจัยชิ้นนี้⁴⁸

ตามสมมุติฐานที่ผู้วิจัยได้กล่าวไว้ข้างต้น การวิจัยในครั้งนี้ พบว่าระดับวิตามินดีที่เพียงพอและการให้วิตามินดีมีผลทำให้ระดับ IP-10 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาร IP-10 เป็นสารตัวหนึ่งที่มีการศึกษาพบว่า เป็นปัจจัยหนึ่งที่พยากรณ์และผลการตอบสนองและการหายของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรมาตรฐานเช่นกัน^{27-30,42} จากการศึกษาใน *in vitro* study พบว่าวิตามินดีมีผลลด IP-10 excretion ใน cell line ที่ได้รับการกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide³¹ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งเป็นงานวิจัยชิ้นแรกๆที่แสดงให้เห็นถึงผลของวิตามินดีที่ทำให้มีการลดลงของระดับ IP-10 ในคน *in vivo* study จากผลข้อสรุปดังกล่าว จึงอาจเป็นส่วนหนึ่งที่อธิบายถึงสาเหตุและความสัมพันธ์ว่า การที่มีภาวะวิตามินดีที่ปกติ และการให้วิตามินดี มีผลต่อการตอบสนองและการหายของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีนั้น อาจมีความเกี่ยวข้องผ่านทาง pathway ของการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงของระดับ IP-10 อันนำไปสู่การตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีนั่นเอง

ในระหว่างที่ผู้วิจัยได้ทำการศึกษา ช่วง 2 ปีที่ผ่านมา มีความก้าวหน้าทางการศึกษาด้าน IP-10 (CXCL10) โดยพบว่าระดับของ IP-10 ที่เพิ่มขึ้นนั้น มีบทบาทในการเกิดภาวะการอักเสบของตับ (Liver inflammation) ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี แต่ในทางกลับกันระดับของ IP-10 ที่เพิ่มขึ้นนั้น กลับทำให้มีผลต่อการกำจัดไวรัสตับอักเสบซีและการหายจากการรักษาลดลง การศึกษา Casrouge และคณะพบว่า IP-10 ที่สูงขึ้นในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตร

มาตรฐาน (Pegylated interferon-Ribavirin) นั้น แท้จริง เพียง antagonist form⁵¹⁻⁵² โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) ทำให้ไม่สามารถเหนี่ยวนำ T cells จากเลือดเข้ามาสู่เซลล์ตับบริเวณที่ติดเชื้อ ทำให้ความสามารถในการกำจัดเชื้อไวรัสตับอักเสบลดลง ดังรูปที่ 21



รูปที่ 21: แสดง Model chemokine antagonism ในตับของผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี โดย IP-10 (CXCL10) จะมีบทบาทในการเหนี่ยวนำ T cells จากเลือดเข้ามาสู่เซลล์ตับที่ติดเชื้อ เพื่อกำจัดเชื้อไวรัส โดยอาศัยเอนไซม์ Dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) หรือ CD26 ทำให้ CXCL10 จะกลายเป็น antagonist form (ด้านขวา) ส่งผลให้ไม่สามารถเหนี่ยวนำ T cells จากเลือดเข้ามาสู่บริเวณเซลล์ตับที่มีการติดเชื้อได้ ทำให้ความสามารถในการกำจัดเชื้อลดลง⁵¹

จากผลการวิจัยนี้ เป็นการพิสูจน์ความเกี่ยวเนื่องเบื้องต้นของวิตามินดี และมีผลต่อการลดลงของ IP-10 สมมุติฐานที่จำเป็นต้องได้รับการศึกษาต่อไปคือ มีกลไกอะไรที่ทำให้ระดับของ IP-10 ลดลง หลังระดับวิตามินดีกลับมาปกติหรือได้วิตามินดีทดแทน ซึ่งผู้วิจัยได้ตั้งสมมุติฐาน 2 ประการคือ

1. วิตามินดีอาจมีผลต่อการสร้างหรือการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ DPPIV หรือ CD26 จากเม็ดเลือดขาว โดยมีการศึกษาที่สนับสนุนว่าเอนไซม์ DPPIV สร้างจาก Th17 รวมถึงเป็น marker ที่สำคัญของ Th17 ดังนั้นการที่วิตามินดีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง immune function อาจมีผลต่อการยับยั้งการสร้าง Th17 ทำให้ DPPIV activity ลดลง ซึ่งเกี่ยวเนื่องทำให้ระดับ IP-10 ลดลง

2. วิตามินดี ภายหลังจากการกระตุ้นกับVitamin D receptor แล้วอาจมีผลต่อการยับยั้งการสร้างของ IP-10 ลดลง ตามที่มีการศึกษาใน *in vitro* study ที่กล่าวข้างต้น³¹ ซึ่งสมมุติฐานดังกล่าว ยังคงต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในอนาคต เพื่อพิสูจน์หาความสัมพันธ์ดังกล่าวต่อไป

รายการอ้างอิง

1. Holick CN, Stanford JL, Kwon EM, Ostrander EA, Nejentsev S, Peters U. Comprehensive association analysis of the vitamin D pathway genes, VDR, CYP27B1, and CYP24A1, in prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:1990-9.
2. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81.
3. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007;7:684-700.
4. Chambers ES, Hawrylowicz CM. The impact of vitamin D on regulatory T cells. *Curr Allergy Asthma Rep* 2011;11:29-36.
5. Ardizzone S, Cassinotti A, Bevilacqua M, Clerici M, Porro GB. Vitamin D and inflammatory bowel disease. *Vitam Horm* 2011;86:367-77.
6. Dong LM, Ulrich CM, Hsu L, Duggan DJ, Benitez DS, White E, et al. Vitamin D related genes, CYP24A1 and CYP27B1, and colon cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2540-8.
7. Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, von Wagner M, Hassler A, Vermehren J, et al. Vitamin D deficiency and a CYP27B1-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to interferon-alfa based therapy. *J Hepatol* 2011;54:887-93.
8. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol* 2010;10:482-96.
9. Bikle DD. Vitamin D and the immune system: role in protection against bacterial infection. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008;17:348-52.
10. Hewison M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:365-79, table of contents.
11. Lange NE, Litonjua A, Hawrylowicz CM, Weiss S. Vitamin D, the immune system and asthma. *Expert Rev Clin Immunol* 2009;5:693-702.
12. Maruotti N, Cantatore FP. Vitamin D and the immune system. *J Rheumatol* 2010;37:491-5.
13. Bikle DD. Vitamin D regulation of immune function. *Vitam Horm* 2011;86:1-21.
14. Chailurkit LO, Kruavit A, Rajatanavin R. Vitamin D status and bone health in healthy Thai elderly women. *Nutrition* 2011;27:160-4.

15. Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:513-20.
16. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci* 2010;55:2624-8.
17. Petta S, Camma C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010;51:1158-67.
18. Malham M, Jorgensen SP, Ott P, Agnholt J, Vilstrup H, Borre M, et al. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. *World J Gastroenterol* 2011;17:922-5.
19. Milazzo L, Mazzali C, Bestetti G, Longhi E, Foschi A, Viola A, et al. Liver-related factors associated with low vitamin D levels in HIV and HIV/HCV coinfecting patients and comparison to general population. *Curr HIV Res* 2011;9:186-93.
20. Bitetto D, Fattovich G, Fabris C, Ceriani E, Falletti E, Fornasiere E, et al. Complementary role of vitamin D deficiency and the interleukin-28B rs12979860 C/T polymorphism in predicting antiviral response in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011;53:1118-26.
21. Kim TY. Role of vitamin D in chronic hepatitis C. *Korean J Hepatol* 2011;17:170-2.
22. Lagging M, Askarieh G, Negro F, Bibert S, Soderholm J, Westin J, et al. Response prediction in chronic hepatitis C by assessment of IP-10 and IL28B-related single nucleotide polymorphisms. *PLoS One* 2011;6:e17232.
23. Luster AD. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998;338:436-45.
24. Murdoch C, Finn A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood* 2000;95:3032-43.
25. Apolinario A, Majano PL, Alvarez-Perez E, Saez A, Lozano C, Vargas J, et al. Increased expression of T cell chemokines and their receptors in chronic hepatitis C: relationship with the histological activity of liver disease. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2861-70.
26. Apolinario A, Diago M, Lo Iacono O, Lorente R, Perez C, Majano PL, et al. Increased circulating and intrahepatic T-cell-specific chemokines in chronic hepatitis C: relationship with the type of virological response to peginterferon plus ribavirin combination therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19:551-62.

27. Mihm S, Schweyer S, Ramadori G. Expression of the chemokine IP-10 correlates with the accumulation of hepatic IFN-gamma and IL-18 mRNA in chronic hepatitis C but not in hepatitis B. *J Med Virol* 2003;70:562-70.
28. Diago M, Castellano G, Garcia-Samaniego J, Perez C, Fernandez I, Romero M, et al. Association of pretreatment serum interferon gamma inducible protein 10 levels with sustained virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2006;55:374-9.
29. Zeremski M, Markatou M, Brown QB, Dorante G, Cunningham-Rundles S, Talal AH. Interferon gamma-inducible protein 10: a predictive marker of successful treatment response in hepatitis C virus/HIV-coinfected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45:262-8.
30. Reiberger T, Aberle JH, Kundi M, Kohrgruber N, Rieger A, Gangl A, et al. IP-10 correlates with hepatitis C viral load, hepatic inflammation and fibrosis and predicts hepatitis C virus relapse or non-response in HIV-HCV coinfection. *Antivir Ther* 2008;13:969-76.
31. Kuo YT, Kuo CH, Lam KP, Chu YT, Wang WL, Huang CH, et al. Effects of vitamin D3 on expression of tumor necrosis factor-alpha and chemokines by monocytes. *J Food Sci* 2010;75:H200-4.
32. Stokes CS, Volmer DA, Grunhage F, Lammert F. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int.* 2013;33(3):338-52.
33. Hewison M. Vitamin D and immune function: an overview. *Proc Nutr Soc.*2012;71(1):50-61.
33. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2001;345(1):41-52.
34. Shiffman ML. Natural history and risk factors for progression of hepatitis C virus disease and development of hepatocellular cancer before liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003;9(11):S14-20.
35. Barreiro P, Vispo E, Labarga P, Soriano V. Management and treatment of chronic hepatitis C in HIV patients. *Semin Liver Dis.* 2012;32(2):138-46.
36. Larrubia JR, Benito-Martinez S, Calvino M, Sanz-de-Villalobos E, Parra-Cid T. Role of chemokines and their receptors in viral persistence and liver damage during chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2008;14(47):7149-59.
37. Heydtmann M, Adams DH. Chemokines in the immunopathogenesis of hepatitis C infection. *Hepatology.* 2009;49(2):676-88.

38. Bouillon R, Norman AW, Lips P. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(19):1980-1; author reply 1-2.
39. Abu-Mouch S, Fireman Z, Jarchovsky J, Zeina AR, Assy N. Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naive patients. *World J Gastroenterol.* 2011;17(47):5184-90.
40. Nimer A, Mouch A. Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2-3 naive patients. *World J Gastroenterol.* 2012;18(8):800-5.
41. Terrier B, Carrat F, Geri G, Pol S, Piroth L, Halfon P, et al. Low 25-OH vitamin D serum levels correlate with severe fibrosis in HIV-HCV co-infected patients with chronic hepatitis. *J Hepatol.* 2011;55(4):756-61.
42. Beinhardt S, Aberle JH, Strasser M, Dulic-Lakovic E, Maieron A, Kreil A, et al. Serum level of IP-10 increases predictive value of IL28B polymorphisms for spontaneous clearance of acute HCV infection. *Gastroenterology.* 2012;142(1):78-85 e2.
43. Lagging M, Romero AI, Westin J, Norkrans G, Dhillon AP, Pawlotsky JM, et al. IP-10 predicts viral response and therapeutic outcome in difficult-to-treat patients with HCV genotype 1 infection. *Hepatology.* 2006;44(6):1617-25.
44. Reiberger T, Aberle JH, Kundi M, Kohrgruber N, Rieger A, Gangl A, et al. IP-10 correlates with hepatitis C viral load, hepatic inflammation and fibrosis and predicts hepatitis C virus relapse or non-response in HIV-HCV coinfection. *Antivir Ther.* 2008;13(8):969-76.
45. Bucharles S, Barberato SH, Stinghen AE, Gruber B, Piekala L, Dambiski AC, et al. Impact of cholecalciferol treatment on biomarkers of inflammation and myocardial structure in hemodialysis patients without hyperparathyroidism. *J Ren Nutr.* 2012;22(2):284-91.
46. Kelly P, Suibhne TN, O'Morain C, O'Sullivan M. Vitamin D status and cytokine levels in patients with Crohn's disease. *Int J Vitam Nutr Res.* 2011;81(4):205-10.
47. Smolders J, Peelen E, Thewissen M, Cohen Tervaert JW, Menheere P, Hupperts R, et al. Safety and T cell modulating effects of high dose vitamin D3 supplementation in multiple sclerosis. *PLoS One.* 2010;5(12):e15235.
48. Jorde R, Sneve M, Torjesen PA, Figenschau Y, Goransson LG, Omdal R. No effect of supplementation with cholecalciferol on cytokines and markers of inflammation in overweight and obese subjects. *Cytokine.* 2010;50(2):175-80.

49. Stubbs JR, Idiculla A, Slusser J, Menard R, Quarles LD. Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(2):353-61.
50. Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G, Berthold HK, Stehle P, Koerfer R. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(4):754-9.
51. Charles ED, Dustin LB. Chemokine antagonism in chronic hepatitis C virus infection. *J Clin Invest.* 2011;121(1):25-7.
52. Casrouge A, Decalf J, Ahloulay M, Lababidi C, Mansour H, Vallet-Pichard A, et al. Evidence for an antagonist form of the chemokine CXCL10 in patients chronically infected with HCV. *J Clin Invest.* 2011;121(1):308-17.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาผลของการให้วิตามินดี ที่มีผลต่อการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีที่มีภาวะการขาดวิตามินดี

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อนพ.เกรียงศักดิ์ เจริญสุข.....

ที่อยู่หน่วยทางเดินอาหาร ตึกพร้อมพันธชั้น 1 รพ.จุฬาลงกรณ์ ถ.พระราม4 แขวง คลองเตย เขต ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

เบอร์โทรศัพท์02-2564000..ต่อ 4356 กด 2, 081-8697003... (ที่ทำงานและมือถือ).....

(แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย)

ชื่อผศ.นพ.ดร.ปิยะวัฒน์ โกมลมิศร์.....

ที่อยู่หน่วยทางเดินอาหาร ตึกพร้อมพันธชั้น 1 รพ.จุฬาลงกรณ์ ถ.พระราม4 แขวง คลองเตย เขต ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330.....

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564000..ต่อ 4356 กด 19... (ที่ทำงานและมือถือ).....

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ที่ตรวจพบว่ามีภาวะการขาดวิตามินดี ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลความเป็นมา

วิตามินดี มีความสำคัญต่อระบบอวัยวะต่างๆภายในร่างกาย กระบวนการเมตาบอลิซึมที่สำคัญของวิตามินดี เกิดขึ้นที่ ตับและไต วิตามินดีจากผิวหนังและอาหารจะถูกเปลี่ยนที่ตับ ก่อนที่จะส่งไปที่ไตเพื่อเปลี่ยนเป็นสารที่ออกฤทธิ์ ควบคุมระดับของแคลเซียมและฟอสฟอรัส โดยการควบคุมจากพาราไทรอยด์ฮอร์โมน

มีการศึกษาจำนวนมากที่แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์และประสิทธิภาพของวิตามินดีในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ นอกจากโรคกระดูกและข้อ ได้แก่ โรคหัวใจ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 โรคระบบภูมิคุ้มกัน และโรคมะเร็ง เป็นต้น ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกัน กล่าวคือวิตามินดีจะลดการทำงานของ T helper-1 cells โดยทำให้ปริมาณ IL-2, IL-12 และ IFN α ลดลงและเพิ่มการทำงานของ T helper-2 cells โดยทำให้ปริมาณ IL-4, TGF β เพิ่มขึ้น

ในช่วงระยะเวลา 3-5 ปีที่ผ่านมา มีรายงาน ภาวะการขาดวิตามินดีในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรัง กลุ่มต่างๆ มากขึ้น ทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะกระดูกพรุนและกระดูกหักเพิ่มขึ้น อีกทั้งการศึกษาในเวลาต่อมาพบว่าระดับของวิตามินดีก่อนการรักษา มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษา ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี ซึ่งเป็นผลมาจากการผลของวิตามินดีที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกัน กล่าวคือกลุ่มที่มีระดับวิตามินดีปกติ จะมี การตอบสนองต่อการรักษา ที่สูงกว่ากลุ่มที่ขาดวิตามินดี รายงานล่าสุดพบว่า การให้วิตามินดีเสริมในระหว่างการรักษาไวรัสตับอักเสบซี สามารถเพิ่ม การตอบสนองต่อการรักษาได้มากขึ้น

Inducible protein-10 (IP-10) เป็นสารตัวหนึ่งในร่างกาย ซึ่งมีหน้าที่กระตุ้น ในเซลล์ชนิดต่างๆในระบบภูมิคุ้มกันผ่านทางตัวรับ มีการศึกษาพบว่าการเพิ่มขึ้นของตัวรับดังกล่าวในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง และตรวจพบ IP-10 mRNA และโปรตีนในตับของผู้ป่วยปริมาณมาก ซึ่งสัมพันธ์ต่อระดับซีรัม IP-10 จึงเชื่อว่าระดับการเปลี่ยนแปลงของ IP-10 มีบทบาทที่สำคัญต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี มีหลายการศึกษาที่พบว่าระดับของซีรัม IP-10 เป็นสารที่มีผลต่อการตอบสนองการรักษาในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง กล่าวคือระดับของซีรัม IP-10 ที่สูงมีผลต่อการตอบสนองที่ไม่ดีในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย ยาสูตรมาตรฐาน

มีการศึกษาพบว่าวิตามินดีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารต่างๆในระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงระดับ IP-10 โดยพบว่าการให้วิตามินดี มีผลทำให้ระดับของ IP-10 ลดลง

จากที่กล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่าวิตามินดีมีบทบาทที่สำคัญมากมายในด้านต่างๆการศึกษาวิจัยชิ้นนี้ จึงเกิดขึ้นเพื่อทดสอบว่าวิตามินดีจะสัมพันธ์ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไซโตไคน์ cytokine และ IP-10 ในระบบภูมิคุ้มกัน ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีหรือไม่ อันจะก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ๆซึ่งจะมีผลต่อแนวทางการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ

1. เพื่อศึกษาผลของการให้วิตามินดี ที่มีผลต่อการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกัน ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซี ที่มีภาวะการขาดวิตามินดี
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการให้วิตามินดี ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ สาร Inducible protein-10 (IP-10)

จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 80 คน

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจเลือด โดยการเจาะเลือดจำนวน 10 ซีซี (ช้อนชา) เพื่อตรวจระดับวิตามินดีในเลือด และเก็บเลือดเพื่อวัดระดับสารไซโตไคน์ (Cytokines) เพื่อคัดกรองว่าท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัย

หากท่านมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้า ท่านจะได้รับเชิญให้มาพบแพทย์ตามวันเวลาที่ผู้ทำวิจัยนัดหมาย เพื่อตรวจร่างกายอย่างละเอียดและ ประเมินผลทางห้องปฏิบัติการต่างๆและรับยา โดยตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย คือ 6 สัปดาห์ และมาพบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยทั้งสิ้น 2 ครั้ง

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

เพื่อความปลอดภัย ท่านไม่ควรใช้วัคซีน หรือรับประทานยาอื่น จากการจ่ายยาโดยแพทย์อื่นหรือซื้อยาจากร้านขายยา ขอให้ท่านปรึกษาผู้ทำวิจัย ทั้งนี้เนื่องจากวัคซีน หรือยาดังกล่าวอาจมีผลต่อยา วิตามินดี ที่ท่านได้รับจากผู้ทำวิจัย ดังนั้นขอให้ท่านแจ้งผู้ทำวิจัยเกี่ยวกับยาที่ท่านได้รับในระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

ความเสี่ยงจากการรับประทานยาทุกชนิดอาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้ทั้งสิ้นไม่มากนักน้อย แพทย์ผู้ทำการวิจัยขอชี้แจงถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่อาจสัมพันธ์กับยาที่ศึกษาทั้งหมดดังนี้

มีข้อมูลที่แสดงว่ายาวิตามินดี อาจมีผลข้างเคียงในกรณีที่ได้ขนาดที่สูงมากกว่าปกติมาก ได้แก่ อาการ อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ เบื่ออาหาร ปากแห้ง คลื่นไส้ อาเจียน รวมถึงอาการข้างเคียงและความไม่สบายที่ยังไม่มีการรายงานด้วย ขนาดยาที่ใช้ในการรักษาในการศึกษานี้เป็นขนาดมาตรฐานที่ใช้กันโดยทั่วไป โอกาสการเกิดผลข้างเคียงดังกล่าวจึงเกิดได้น้อย อย่างไรก็ตามระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยจะมีการติดตามดูแลสุขภาพของท่านอย่างใกล้ชิด

กรุณาแจ้งผู้ทำวิจัยในกรณีที่พบอาการดังกล่าวข้างต้น หรืออาการอื่น ๆ ที่พบร่วมด้วยระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

ความเสี่ยงที่รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอลถอนตัวออกจากโครงการวิจัย

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้อาจจะทำให้ท่านมีสุขภาพที่ดีขึ้น หรืออาจจะลดความรุนแรงของโรคได้ แต่ไม่ได้รับรองว่าสุขภาพของท่านจะต้องดีขึ้นหรือความรุนแรงของโรคจะลดลงอย่างแน่นอน

วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่นๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้จ่ายอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจากการรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัยทุกครั้งทีนัดหมายให้มาพบ

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถ

ติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นพ.เกรียงศักดิ์ เจริญสุข เบอร์โทรศัพท์มือถือ 081-8697003 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ท่านจะได้รับวิตามินดี ในโครงการวิจัยจากผู้สนับสนุนการวิจัยโดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่าย

ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด รวมทั้งค่าเดินทางตามที่ท่านได้มาพบแพทย์ตามนัดทุกครั้ง ครั้งละ 250 บาท รวมทั้งหมด 2 ครั้ง

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลนี้อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ นพ.เกรียงศักดิ์ เจริญสุข หน่วยทางเดินอาหาร ดิกรพร้อมพันธ์ ชั้น 1 รพ.จุฬาลงกรณ์ ถ.พระราม4 แขวง คลองเตย เขต ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตาม ข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใดๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้น โดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการ 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

ภาคผนวก ข

ใบยินยอมรับการรักษาและเข้าร่วมโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง.....

.....การศึกษาผลของการให้วิตามินดี ที่มีผลต่อการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยไวรัส
 ตับอักเสบบีที่มีภาวะการขาดวิตามินดี.....

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

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....

ที่อยู่.....

ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วม โครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่
 และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วม โครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมใน โครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม
 และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วม โครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบ
 ยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลา
 ของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้ง
 ประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและ
 โอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ
 ด้วยความเต็มใจ ไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการ
 การรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้ง
 เหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้า
 จะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อ
 ได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการ

พิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของผู้เข้าร่วมวิจัย เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการใช้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการรวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมด้วยบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่เดือน.....พ.ศ.....

ภาคผนวก ค

Case Record Form สำหรับเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการรักษา

แบบฟอร์มบันทึกข้อมูลโครงการวิจัย การศึกษาผลของการให้วิตามินดี ที่มีผลต่อการตอบสนองด้าน ภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่มีภาวะการขาดวิตามินดี Effect of vitamin D replacement on adaptive immune response in chronic hepatitis C patients with vitamin D deficiency Investigators : Kriangsak Charoensuk , MD. , Piyawat Komolmit, MD,PhD.		Case number	
		Year	
		Sex Male Female	
		Age (years)	
<u>Baseline Characteristics</u>		Date of start treatment (DD/MM/YYYY)	
Weight kgs.			
Height cms.			
BMI kgs./m ²		Baseline 25(OH)Vitamin D level (ng/dl.)	
Date.....		<input type="radio"/> < 10 ng/dl. <input type="radio"/> 10 - 20 ng/dl. <input type="radio"/> 20 – 30 ng/dl. <input type="radio"/> > 30 ng/dl.	
<u>Liver Biopsy</u>		After treatment Vitamin D levelng/dl.	
Metavir score			
Ishak Score			
Underlying disease <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes specify _____		Baseline HCV genotype and VL prior treatment	

Current medications <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes specify _____		Date of exam (DD/MM/YYYY)	HCV genotype
_____			VL (copies/ml)
HCV diagnosis: Duration of HCV diagnosis _____ months			
HCV risk factor(s)			
<ul style="list-style-type: none"> • Heterosexual • Homosexual • IVDU • Blood transfusion • Tattoo • Unknown • Other please define _____ 			

History of previous treatment

Previous HCV treatment Yes No

Regimen

Start date

Stop date

VL

Note

Treatment and Follow up Period

Regimens

Date of Follow up

HCV VL

Note

Important Lab

Laboratory Finding

Date _____

Complete Blood Count

Hct _____ Hb _____ MCV _____
 Wbc _____
 %PMN _____ ANC _____
 %Lymph _____ %Mono _____ %
 Eosinophil _____ Platelet Count _____
 PT _____
 PTT _____
 INR _____

Vitamin D 25(OH)D

Baseline _____ ng/dl.
 After treatment _____ ng/dl.
 Inducible protein-10 (IP-10) level

Blood Chemistry

BUN _____ Cr _____
 Electrolyte
 Na _____ K _____
 Cl _____ CO2 _____
 Ca _____ Phosphate _____

Liver Function Test

TB _____ DB _____
 Albumin _____ Globulin _____
 SGOT _____ SGPT _____
 ALP _____
 Immune function (Cytokine)
 T Helper-1 _____

T Helper-2 _____
_____**Serology profile**Anti HCV _____ HBsAg _____ Anti- HBsAg _____
Anti HIV _____**Lab Follow up**Date _____
Hct _____ Hb _____ MCV _____ Wbc _____ %PMN _____ %Lymph _____ ANC _____
Platelet Count _____ PT _____ PTT _____ INR _____
BUN _____ Cr _____ TB _____ DB _____ Albumin _____ Globulin _____
SGOT _____ SGPT _____ ALP _____
HCV Viral loads _____Date _____
Hct _____ Hb _____ MCV _____ Wbc _____ %PMN _____ %Lymph _____ ANC _____
Platelet Count _____ PT _____ PTT _____ INR _____
BUN _____ Cr _____ TB _____ DB _____ Albumin _____ Globulin _____
SGOT _____ SGPT _____ ALP _____
HCV Viral loads _____**Treatment**_____ OPD _____ IPD ward _____
 Vitamin D2 dose _____ IU/wk Duration _____ weeks
 Vitamin D3 dose _____ Duration _____ weeks
 Pegylated interferon 2a dose _____ µg/kg/day Duration _____ weeks
 Pegylated interferon 2b dose _____ µg/kg/day Duration _____ weeks
 Ribavirin dose _____ mgs. /day Duration _____ weeks
 Adjusted dose drugs No Yes specify _____
Date of dose adjustment _____ Reason _____Record by _____
Date _____

Lab summary | 2011

Lab Summary Record form

Effect of vitamin D replacement on adaptive immune response in chronic hepatitis C patients with vitamin D deficiency

Investigators : Kriangsak Charoensuk , MD. , Piyawat Komolmit, MD, PhD.

Week 1: O EDTA blood \geq 5 mls.

O Clotted bloods \geq 5 mls.

O 25 (OH) vitamin D level

Week 4 O 25 (OH) vitaminD

Week 6 O EDTA blood \geq 5 mls.

O Clotted bloods \geq 5 mls.

O 25 (OH) vitamin D level

HN	Name	Vitamin D level Wks 1	Vitamin D Replacement Regimen	Vitamin D level Wks 4	Vitamin D level Wks 6	IP-10
		Date		Date	Date	
		Date		Date	Date	
		Date		Date	Date	
		Date		Date	Date	

Lab Summary Record Form สำหรับเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการรักษา

ภาคผนวก ๓

ภาคผนวก จ

Protocol สำหรับการให้วิตามินดีในระดับค่าวิตามินที่แตกต่างกัน

Diagnosis	Vitamin D level (ng /mL)	Replacement Total dose (IU) / week	Ergocalciferol (D2) 20,000 IU/ tab (Take with meal)	Treatment duration
Optimal	> 30	-	-	-
Mild deficiency (insufficiency)	20 – 30	60,000	2 tab Monday and 1 tab Friday	6 weeks
Moderate deficiency	10 – 20	80,000	2 tab Monday and 2 tab Friday	6 weeks
Severe deficiency	< 10	100,000	3 tab Monday and 2 tab Friday	6 weeks

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์



ชื่อ นพ.เกรียงศักดิ์ เจริญสุข (MD., FRCP.T)

วัน เดือน ปี เกิด 2 เมษายน พ.ศ. 2522

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2540-2545 แพทยศาสตร์ศึกษา (เกียรตินิยมอันดับ 1) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

พ.ศ. 2549-2551 วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์

พ.ศ. 2554-2555 ปัจจุบันกำลังฝึกอบรมหลักสูตรแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาอายุรศาสตร์ โรคระบบทางเดินอาหาร ที่หน่วยทางเดินอาหาร

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริญญาและประกาศนียบัตร

พ.ศ. 2545 แพทยศาสตร์ศึกษา (เกียรตินิยมอันดับ1) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

พ.ศ. 2551 วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์