ผลของการใช้โซเดียมซิเตรตต่อระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง

นายศาศวัต สุนทรกิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
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 University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเวชศาสตร์การกีฬา
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2557
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effect of sodium citrate loading on blood lactate and antioxidant status after acute exhaustive exercise

Mr. Sasawat Soonthornkiti

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Sports Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการใช้โซเดียมซิเตรตต่อระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง
โดย	นายศาศวัต สุนทรกิติ
สาขาวิชา	เวชศาสตร์การกีฬา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.วิไล อโนมะศิริ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์โศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์สมพล สงวนรังศิริกุล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิไล อโนมะศิริ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สิริชัย อดิศักดิ์วัฒนา)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ ดร.อาภัสรา อัครพันธุ์)

ศาศวัต สุนทรกิติ : ผลของการใช้โซเดียมซิเตรตต่อระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง (Effect of sodium citrate loading on blood lactate and antioxidant status after acute exhaustive exercise) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.วิไล อโนมะศิริ, 78 หน้า.

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารละลายโซเดียมซิเตรตต่อระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรงโดยเปรียบเทียบกับสารควบคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลองแบบไขว้ โดยทำการศึกษาในอาสาสมัครเพศชายอายุ 18-30 ปี จำนวน 24 คน เปรียบเทียบระหว่างการดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรต (จำนวน 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) และสารควบคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์ จำนวน 0.045 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) ก่อนออกกำลังจนหมดแรงโดยทำการทดสอบด้วยการวิ่งบนลู่วิ่งตาม Bruce treadmill protocol และทำการวัดค่าพารามิเตอร์ในเลือด คือ ระดับแลคเตทในเลือด ระดับภาวะสารต้านอนุมูลอิสระ Frap และ Total plasma thiol ในเลือดที่เวลาก่อนดื่ม หลังดื่มสองชั่วโมง หลังการทดสอบ 5, 10, และ 30 นาที

ผลการวิจัยพบว่า ระดับแลคเตทในเลือดมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง และระหว่างทั้งสองกลุ่มการทดสอบ ที่จุดเวลาหลังการทดสอบนาทีที่ 5 และนาทีที่10 ($p<0.05$) ระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือด (Frap และ Total plasma thiol) เมื่อเปรียบเทียบกันที่ทุกช่วงเวลา พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์เวลาที่สามารถออกกำลังกายได้จนหมดแรง (Time to exhaustion) พบว่าการทดสอบครั้งที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรท) มีแนวโน้มทำการทดสอบได้ยาวนานขึ้น คือ ทำเวลาได้นานขึ้น 6.70 ± 7.61 วินาที อย่างไรก็ตาม การประเมินค่า Vetilatory threshold พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตมีช่วงเวลาก่อนการเกิด Ventilatory threshold มากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่านัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.049$ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า สารละลายโซเดียมซิเตรตสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการออกกำลังได้โดยอาศัยคุณสมบัติของ alkalinization

สาขาวิชา เวชศาสตร์การกีฬา ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2557 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

5474185430 : MAJOR SPORTS MEDICINE
KEYWORDS: OXIDATIVE STRESS / SODIUM CITRATE / BLOOD LACTATE / TOTAL PLASMA THIOL / FRAP

SASAWAT SOONTHORNKITI: Effect of sodium citrate loading on blood lactate and antioxidant status after acute exhaustive exercise. ADVISOR: WILAI ANOMASIRI, 78 pp.

The purpose of this study was to determine the effect of sodium citrate loading on blood lactate and antioxidant status after acute exhaustive exercise. The study was using an experimental study with cross-over design. Twenty four males age of 18-30 years old participated in this study. Subjects received sodium citrate drink (0.5 g/kg body weight) or placebo drink (0.045 g sodium chloride /kg body weight) in 2 trials before performing Bruce treadmill protocol exercise. Blood were collected for lactate, total plasma thiol and antioxidant status by ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay.

The results showed that sodium citrate group had significantly increased of blood lactate at time point 5 and 10 minutes after exhaustive exercise ($p<0.05$) than placebo group, but Frap and plasma total thiol activity had no statistically significant differences between two trials at any time Time to exhaustive was 6.70 ± 7.61 seconds longer in sodium citrate group although there was no statistically significant different between two groups. However, the ventilatory threshold of the sodium citrate group was significant longer than that was observed in the control group. Therefore, this study demonstrated the alkalinization effect of sodium citrate on improving the physical performance

Field of Study: Sports Medicine Student's Signature .....

Academic Year: 2014 Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สาเร็จลงด้วยดี โดยได้รับความกรุณาช่วยเหลือจาก รศ.ดร.วิไล อโนมะศิริ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ที่ให้ความรู้ทางวิชาการ คำแนะนา คำปรึกษา ตลอดจนการแก้ไขข้อบกพร่องและปัญหาต่างๆเป็นอย่างดี รวมถึงคณะกรรมการวิทยานิพนธ์ รศ.นพ.สมพล สงวนรังศิริกุล รศ.ดร.สิริชัย อดิศักดิ์วัฒนา อาจารย์ดร.อาภัสรา อัครพันธุ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ปรับปรุง และข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนอาจารย์ทุกๆ ท่านที่ได้อบรมสั่งสอนวิชาความรู้ให้ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาของทุกๆ ท่านไว้ ณ โอกาสนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาสาสมัครผู้เข้าร่วมการวิจัยทุกท่านที่ได้สละเวลาอันมีค่าเพื่อเข้าร่วมการวิจัย และให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี ที่สำคัญผู้วิจัยขอขอบคุณคุณบวรลักษณ์ ทองทวี ผู้เป็นผู้ช่วยในการทำวิจัยและให้คำปรึกษาแก่ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาทุนจากบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้มอบทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิตสำหรับการวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์การกีฬา ที่ได้อนุเคราะห์ให้ใช้เครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่ที่ใช้ในการวิจัย และศูนย์เครื่องมือกลาง คณะแพทยศาสตร์ ตึกแพทยพัฒน์ ชั้น 8 และตึกอปร.ชั้น 9 ที่ได้เอื้อเฟื้อให้ใช้เครื่องมือ และสถานที่ในการทำการวิจัยเป็นอย่างดีขอขอบคุณรุ่นพี่ เพื่อน และรุ่นน้องนิสิตเวชศาสตร์การกีฬาทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ มิตรภาพและประสบการณ์ที่ดี และผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อสมชาย คุณแม่สมใจ สุนทรกิติ และน้องชายทั้งสองที่ให้กำลังใจ คอยสนับสนุนและเป็นเป้าหมายในชีวิตที่ทำให้ผู้วิจัยมีกำลังใจในการทำวิจัยจนสำเร็จ สุดท้ายนี้ผู้วิจัยมีความทราบซึ้งในความเอื้อเฟื้อ ความเมตตากรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าว และไม่ได้กล่าวถึงในที่นี้ มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง 1

สารบัญรูปภาพ 1

บทที่ 1 1

บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญ 1

คำถามของการวิจัย 3

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

สมมติฐานของการวิจัย 3

กรอบแนวความคิดในการวิจัย 4

ข้อตกลงเบื้องต้น 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5

บทที่ 2 6

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

การออกกำลังกาย 6

กระบวนการใช้พลังงานของร่างกาย 6

ภาวการสะสมหรือการคั่งกรดแลคติค (lactic acid) 7

ภาวะ Oxidative stress 9

การออกกำลังกายกับการเกิด oxidative stress 11

การคั่ง lactic acid กับ Oxidative stress 13

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate) 13
บทที่ 3 16
วิธีดำเนินการวิจัย 16
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 16
เกณฑ์การคัดเลือกเข้าศึกษา 16
เกณฑ์การคัดเลือกออกจากการศึกษา 16
การกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่าง(Sample size) 17
วิธีการเลือกกลุ่มตัวอย่าง 18
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 18
วิธีดำเนินการวิจัย 21
ขั้นตอนดำเนินการวิจัย 22
การเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด 23
การทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจน (Bruce treadmill protocol) 24
ข้อบ่งชี้ทั่วไปสำหรับหยุดการทดสอบการออกกำลังกายในคนปกติ 24
การรวบรวมข้อมูล 25
การวิเคราะห์ข้อมูล 25
ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (Ethical consideration) 26
บทที่ 4 27
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 27
ลักษณะทั่วไปของผู้เข้าร่วมวิจัย 28
ผลของเครื่องดื่มต่อปริมาณแลคเตทในเลือดหลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง 28
ผลของเครื่องดื่มต่อ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดแสดงโดยวิธี FRAP หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง 31

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

ผลของเครื่องดื่มต่อปริมาณ Total plasma thiol หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง 34
ผลของเครื่องดื่มต่อ Ventilatory threshold ในการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 45
บทที่ 5 47
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 47
สรุปผลการวิจัย 47
อภิปรายผลการวิจัย 48
ข้อจำกัดในงานวิจัย 51
ข้อเสนอแนะ 51
รายการอ้างอิง 52
ภาคผนวก ก 57
เอกสารชี้แจง/คำแนะนำผู้เข้าร่วมโครงการ 57
ภาคผนวก ข 66
เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย 66
ภาคผนวก ค แบบสอบถามและแบบบันทึกผลการวิจัย 68
ภาคผนวก ง 72
วิธีวิเคราะห์หาค่า Total plasma thiol 72
ภาคผนวก จ 73
วิธีวิเคราะห์หาค่า FRAP 73
ภาคผนวก ฉ 74
วิธีวิเคราะห์หาค่า Lactate 74
ภาคผนวก ช 75
การทดสอบความน่าเชื่อถือรูปแบบการทดลองของการศึกษาแบบไขว้กัน 75

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 78

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงค่า total work (kJ) และ peak power (W) เปรียบเทียบในกลุ่มการทดลองต่างๆ 14

ตารางที่ 2 แสดง Bruce treadmill protocol 25

ตารางที่ 3 ลักษณะทั่วไปของผู้เข้าร่วมการวิจัย จำนวน 24 ราย (แสดงข้อมูลด้วยค่า Mean + S.D.) 28

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแลคเตทในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่มสารทดสอบ หลังดื่มสารทดสอบ สองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 29

ตารางที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่มสารทดสอบ หลังดื่มสารทดสอบ สองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 31

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบค่าความแตกต่างปริมาณ FRAP โดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มต่อช่วงเวลาหลังดื่มสารทดสอบสองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 33

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total plasma thiol ในช่วงเวลาก่อนดื่มสารทดสอบ หลังดื่มสารทดสอบ สองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 35

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบค่าความแตกต่างปริมาณ Total plasma thiol โดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มต่อช่วงเวลาหลังดื่มสารทดสอบสองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 37

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงเวลาเหนื่อยจนทนไม่ไหว (Time to exhaustion) ที่ใช้ในการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 45

ตารางที่ 10 ค่า Ventilatory threshold จากการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) 46

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1 แผนภูมิ แหล่งพลังงานของกล้ามเนื้อ ระหว่างออกกำลังกาย 7

รูปที่ 2 สภาวะที่มีความหนักในการทำงานที่ระดับ 60% ของVO_2max 8

รูปที่ 3 สภาวะที่มีความหนักในการทำงานที่ระดับ 110% ของ VO_2max..... 8

รูปที่ 4 กระบวนการ Glycolysis และการสลายพลังงาน ATP ไปใช้ในการทำงาน..... 8

รูปที่ 5 สารประกอบต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจกระบวนการเกิด oxidative stress..... 10

รูปที่ 6 แสดงถึงการรบกวนการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อในตำแหน่งต่างๆ โดยอนุมูลอิสระ..... 12

รูปที่ 7 กราฟแสดงค่าระดับ HCO^-_3 ในเลือดเปรียบเทียบกลุ่มทดลองต่างๆ..... 14

รูปที่ 8 กราฟแสดงค่าระดับ lactate ในเลือดเปรียบเทียบกลุ่มทดลองต่างๆ..... 15

รูปที่ 9 เครื่อง gas analyzer พร้อมชุดคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ข้อมูล 19

รูปที่ 10 เครื่อง gas analyzer 19

รูปที่ 11 ชุดวัดอัตราการเต้นของหัวใจแบบไร้สาย 19

รูปที่ 12 ลู่วิ่งสำหรับการทดสอบ..... 20

รูปที่ 13 อาสาสมัครที่สวมอุปกรณ์ gas analyzer พร้อมทำการทดสอบ..... 20

รูปที่ 14 แสดงระดับแลคเตท ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 29

รูปที่ 15 แสดงระดับแลคเตทในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์..... 30

รูปที่ 16 แสดงระดับแลคเตทในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 30

รูปที่ 17 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 32

รูปที่ 18 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 32

รูปที่ 19 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 33

รูปที่ 20 แสดงค่าความแตกต่างระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดโดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ โดยเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 34

รูปที่ 21 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 35

รูปที่ 22 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 36

รูปที่ 23 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 36

รูปที่ 24 แสดงค่าความแตกต่างระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดโดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ โดยเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 38

รูปที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง 39

รูปที่ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที 40

รูปที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที 40

รูปที่ 28 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที 41

รูปที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง 42

รูปที่ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที 43

รูปที่ 31 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที 43

รูปที่ 32 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที 44

รูปที่ 33 กราฟแสดงค่า VCO2 และ VO2 ต่อเวลา (นาที) โดยแสดงจุดตัดซึ่งเป็นค่า Ventilatory threshold ของกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 46

รูปที่ 34 กราฟแสดงค่า VCO2 และ VO2 ต่อเวลา (นาที) โดยแสดงจุดตัดซึ่งเป็นค่า Ventilatory threshold ของกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต 46

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

การออกกำลังกายเป็นกิจกรรมที่นิยมของคนทุกเพศทุกวัย ทั้งผู้ที่มีสุขภาพดีและผู้ที่มีโรคประจำตัว เนื่องจากส่งผลดีต่อร่างกายและจิตใจ อีกทั้งปัจจุบันมีรูปแบบของการออกกำลังกายหลากหลายชนิดให้เลือก เช่น ฟิตเนส โยคะ รำมวยจีน เดิน เดินเร็ว วิ่ง ปั่นจักรยาน หรือการเล่นกีฬาต่างๆ โดยสามารถเลือกได้ตามความชื่นชอบและความสะดวกของแต่ละบุคคล ผลดีต่อสุขภาพที่ได้จากการออกกำลังกายมีมากมาย ช่วยทำให้กล้ามเนื้อแข็งแรงขึ้น เพิ่มความยืดหยุ่น ทำให้ระบบไหลเวียนโลหิตที่ดีขึ้น ลดความอ้วน ชะลอวัย เพิ่มภูมิคุ้มกัน และส่งเสริมบุคลิกภาพให้ดียิ่งขึ้น ด้วยประโยชน์เหล่านี้ทำให้คนทั่วไปที่ใส่ใจในการดูแลสุขภาพได้ตระหนักและออกกำลังกายกันมากขึ้น ซึ่งอาจเพิ่มขึ้นโดยคิดจาก ระยะเวลาที่ออกกำลังกายต่อครั้ง ความหนักในแต่ละครั้งที่เพิ่มขึ้น และความถี่การออกกำลังกายที่มากขึ้นต่อสัปดาห์ อย่างไรก็ตาม การออกกำลังกายที่หนักมากเกินไปอาจก่อให้เกิดภาวะที่ไม่ดีได้ เช่น การคั่งของกรดแลคติค (lactic acid)[1] และ ภาวะความเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress)(2) ซึ่งเกิดจากกระบวนการเผาผลาญพลังงานของร่างกาย

ในขณะที่ออกกำลังกายแหล่งพลังงานหลักที่ร่างกายนำมาใช้ คือ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งคาร์โบไฮเดรตจะถูกนำมาสลายเพื่อให้ได้พลังงานผ่านกระบวนการสลายพลังงานที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน โดยในช่วงแรกของการออกกำลังกายนั้นเป็นการใช้พลังงานจากกระบวนการสลายพลังงานที่ไม่ใช้ออกซิเจน คือ Phosphagen และ Glycolysis[3] หลังจากสองกระบวนการนี้จะเป็นการใช้พลังงานจากกระบวนการที่ใช้ออกซิเจน (aerobic system) แต่เมื่อออกกำลังกายนานขึ้นความหนักมากขึ้น ทำให้ร่างกายต้องการพลังงานเพื่อนำมาใช้ในการทำงานของกล้ามเนื้อมากขึ้น ในขณะที่ออกซิเจนที่นำเข้าไปในระบบเผาผลาญพลังงานนั้นไม่สามารถสนับสนุนการให้พลังงานได้พอเพียงกับความต้องการของเซลล์กล้ามเนื้อในการหดตัวได้ ดังนั้นร่างกายจึงกลับไปใช้พลังงานจากกระบวนการเผาผลาญพลังงานที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่นำมาใช้ได้รวดเร็วกว่า คือ Anaerobic Glycolysis[1, 3]

กระบวนการ Glycolysis สามารถทำให้เกิด ATP เพื่อเป็นพลังงานให้แก่เซลล์กล้ามเนื้อในการทำงาน และทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นอีก คือ กรดแลคติค (lactic acid) ภาวะที่มีการคั่งของกรดแลคติคเป็นสาเหตุทำให้กล้ามเนื้อเกิดอาการล้า ปวดกล้ามเนื้อ ประสิทธิภาพการทำงานลดลง โดยการตรวจพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของกระบวนการ glycolysis ที่ทำให้ระดับแลคเตทในเลือดที่เพิ่มมากขึ้น

นอกจากนั้นการคั่งของ lactic acid ยังเป็นสาเหตุในการสนับสนุนการเกิด กระบวนการ Oxidative stress อีกด้วย[4]

ภาวะ Oxidative stress หมายถึง ภาวะที่ร่างกายมีการสะสม reactive oxygen species (ROS) หรือ อนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ ซึ่งโดยปกติจะมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นตัวรับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น แต่ในสภาวะที่มีการทำงานของเซลล์จนเกิดอนุมูลอิสระจำนวนมาก เกินกว่าที่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ ทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไปทำปฏิกิริยาและสร้างความเสียหายต่อสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ[2, 5]

การออกกำลังกายอย่างหนัก เป็นกิจกรรมอย่างหนึ่งที่มีการสะสมอนุมูลอิสระ จนนำไปสู่ภาวะโดย Oxidative stress นั้นมีผลต่อการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อ โดยอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารประกอบภายในเซลล์ ส่งผลให้เซลล์มีการทำงานบกพร่อง ทั้งรบกวนกระบวนการสร้าง ATP ทำให้สร้างได้น้อยลง รบกวนการปล่อยแคลเซียมจาก sacroplasmic recticulum และรบกวนการทำงานของ actin และ myosin ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของกล้ามเนื้อลดลงจากเดิมเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ยังไม่เกิด oxidative stress[2]

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นนี้ จะพบว่าการออกกำลังกายที่มีความหนักมาก จะทำให้เกิดการคั่งของกรดแลคติค และภาวะ oxidative stress ได้ โดยความสัมพันธ์ของการคั่ง ของกรดแลคติค ต่อกระบวนการ Oxidative stress คือ เมื่อ lactic acid แตกตัวจะได้ lactate และ H^+ โดยการสะสมของ H^+ นั้นจะทำให้เกิดสภาวะกรดขึ้น และทำให้ iron binding protein (Ferritin) ปล่อย Fe^{2+} ออกมา ส่งผลให้เกิดกระบวนการ Oxidative stress มากขึ้นเช่นกัน[4] การเกิดกระบวนการ Oxidative stress ที่มากขึ้นนั้นสามารถวัดได้จากการเปลี่ยนแปลงของค่าสารต้านอนุมูลอิสระในกระแสเลือด เช่น total plasma thiol และ FRAP โดยการฝึกการออกกำลังกายที่ระดับ anaerobic threshold สามารถเพิ่มความทนต่อการคั่งกรดแลคติค (lactic acid) หรือรับประทานสารอาหารเสริม เช่น โซเดียมซิเตรต (sodium citrate)[6, 7]

สารเสริมอาหารโซเดียมซิเตรต (sodium citrate) ได้รับความสนใจและนำมาศึกษาถึงประสิทธิภาพในการช่วยให้ทนต่อการคั่งของกรดแลคติค (lactic acid) ที่เกิดจากการออกกำลังกาย ผลการศึกษา พบว่านอกจาก sodium citrate ช่วยให้ทนต่อการคั่งของกรดแลคติค (lactic acid) แล้ว ยังทำให้เกิดการสลายพลังงานจากกระบวนการ glycolysis[7, 8] ได้ดีกว่าการไม่ให้โซเดียมซิเตรต (sodium citrate) แต่ยังไม่มีงานศึกษาเกี่ยวกับผลของโซเดียมซิเตรต (sodium citrate) ต่อระดับ lactate และภาวะสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดร่วมกันภายหลังการออกกำลังกาย ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงได้สนใจการศึกษาผลของการให้สารละลาย sodium citrate ก่อนการออกกำลังกายต่อระดับกรดแล

คติค (lactate) และภาวะสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด หลังจากออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง เพื่อเป็นตัวเลือกในการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อประสิทธิภาพในการออกกำลังกาย และเป็นแนวทางให้ผู้อื่นที่มีความสนใจ สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต

คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก: การดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรตก่อนการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง มีผลต่อระดับแลคเตทและสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด แตกต่างกับการดื่มสารละลายที่ไม่มีโซเดียมซิเตรตหรือไม่

คำถามรอง: การเพิ่มขึ้นของระดับแลคเตทในเลือดมีความสัมพันธ์กับการลดลงภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก: เพื่อศึกษาผลการใช้สารละลายโซเดียมซิเตรตก่อนการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง ต่อระดับแลคเตทและสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด

วัตถุประสงค์รอง: เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนของระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือด

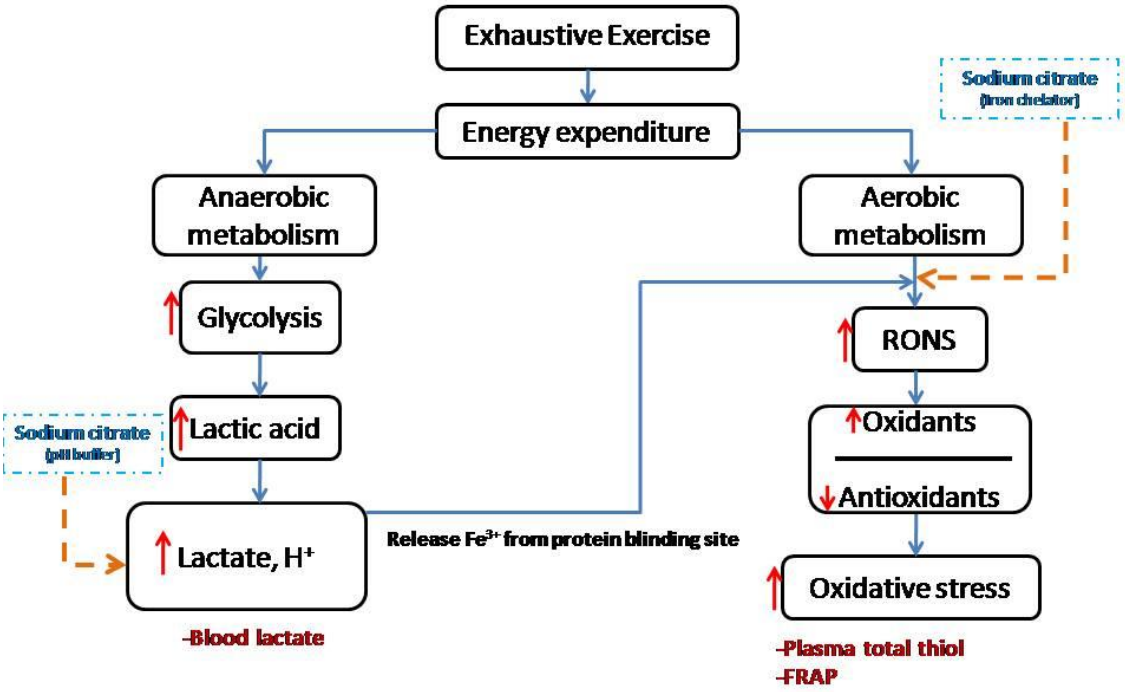
สมมติฐานของการวิจัย

1. การใช้สารละลายโซเดียมซิเตรตก่อนการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรงจะเพิ่มระดับแลคเตทในเลือดได้มากกว่าการไม่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต
2. การใช้สารละลายโซเดียมซิเตรตก่อนการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรงมีผลทำให้ระดับสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดลดลงน้อยกว่าการไม่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต

ระดับแลคเตทในเลือดที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

กรอบแนวความคิดในการวิจัย



ข้อตกลงเบื้องต้น

1. เครื่องมือและวิธีการที่ใช้วัดในการวิจัยเป็นเครื่องมือและวิธีการที่เชื่อถือได้
2. การเก็บข้อมูลทุกครั้งทำโดยผู้วิจัยและผู้ช่วยวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญ
3. ผู้เข้าร่วมการวิจัยเป็นชายสุขภาพดี อายุ 18-30 ปี
4. ผู้เข้าร่วมการวิจัยทุกคนต้องลงนามให้ความยินยอมก่อนทำการเก็บข้อมูล
5. ผู้เข้าร่วมการวิจัยทุกคนต้องปฏิบัติตามขั้นตอนของวิธีการเก็บข้อมูลของงานวิจัยนี้ทุกขั้นตอน
6. ข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัยจะถูกเก็บเป็นความลับ และถูกแสดงเป็นผลการวิจัยที่ได้รับการวิเคราะห์ข้อมูลแล้วเท่านั้น
7. ผู้เข้าร่วมการวิจัยทุกคนจะต้องมารับการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์การกีฬา อาคารแพทยพัฒน์ ชั้น 4 คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2 ครั้ง ภายใต้การดูแลของผู้วิจัยอย่างใกล้ชิด
8. ผู้เข้าร่วมการวิจัยให้ความร่วมมืออย่างเต็มใจตลอดการศึกษาวิจัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงประโยชน์ของโซเดียมซิเตรต (Sodium citrate) ต่อการป้องกันและชะลอการคั่งของกรดแลคติค (lactic acid) และการเกิดภาวะความเครียดออกซิเดชั่น (Oxidative stress)
2. ใช้เป็นแนวทางหรือทางเลือกในการนำไปประยุกต์ใช้ในบุคคลทั่วไปที่ต้องการออกกำลังกายและนักกีฬาเพื่อคงประสิทธิภาพของร่างกาย

เพื่อเป็นประโยชน์ในทางข้อมูลและการอ้างอิง สำหรับผู้ที่สนใจ สำหรับงานวิจัยในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การออกกำลังกาย

การออกกำลังกาย หมายถึง กิจกรรมทางกายที่กระทำแล้วเกิดประโยชน์ ทำให้ร่างกายมีสุขภาพที่ดี ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง และช่วยเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ เพิ่มความยืดหยุ่น สร้างเสริมบุคลิกภาพ ฯลฯ การออกกำลังกายเพื่อให้เกิดผลที่ดีนั้นควรคำนึงถึงความหนัก (intensity) ความถี่ (frequency) และระยะเวลา หรือความนาน (duration) ในการออกกำลังกายที่เหมาะสม เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการออกกำลังกายที่หนักเกินไปจนนำไปสู่ภาวะที่ทำให้เกิดผลเสียต่อร่างกายได้เช่นกัน

กระบวนการใช้พลังงานของร่างกาย

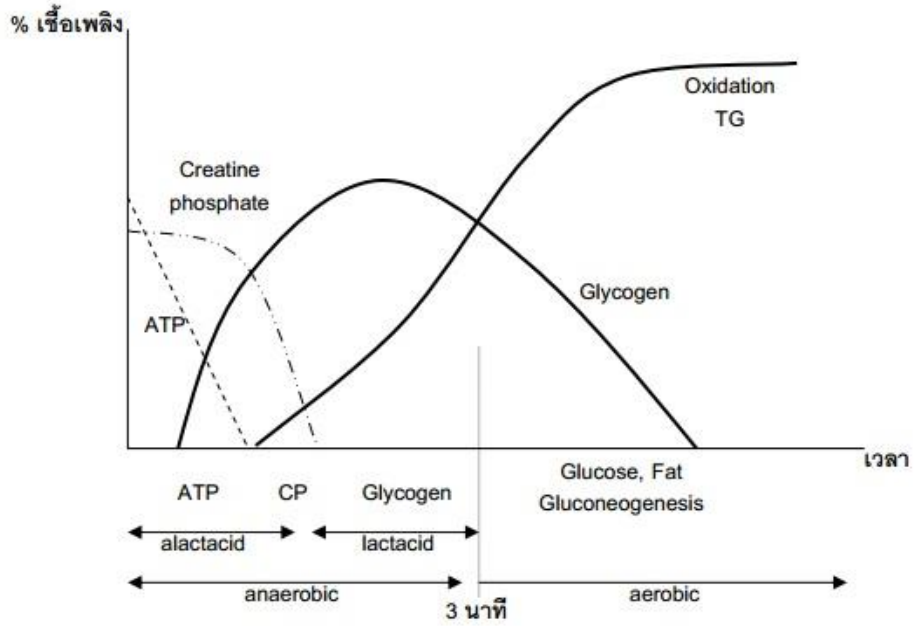
ในขณะที่มีการออกกำลังกายร่างกายจะต้องอาศัยพลังงานเพื่อให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อ ร่างกายสามารถดึงเอาพลังงานจากหลายแหล่ง โดยมาจากกระบวนการทางเมแทบอลิซึ่ม 3 ส่วน คือ [3, 9]

1. Immediate energy (Phosphagen system) เป็นพลังงานในรูปของ Phosphagens, Adenosine triphosphate (ATP)และ Phosphocreatine (PCr) เช่น การออกตัวการวิ่งมาราธอน (marathon) ในช่วง 20-30 วินาทีแรก หรือ 5-8 วินาทีแรกของการวิ่งสปริ้น (sprint) หรือ การเดินอย่างรวดเร็ว (brisk walking) ใน 1 นาที

2. Short-term energy (Glycolysis system) เป็นพลังงานที่ใช้ต่อจาก Phosphagen system ช่วง 30-40 วินาทีต่อมา และจะเกิดการใช้พลังงานในกระบวนการนี้มากในช่วง 60-180 วินาที สุดท้ายของการออกกำลังกายอย่างเต็มที่ ซึ่งได้พลังงานมาจากกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) โดยจะเกิดขึ้นเมื่อออกซิเจนที่นำเข้ามานั้นไม่เพียงพอต่อการสนับสนุนการสร้างพลังงานให้กับกล้ามเนื้อ เซลล์จึงต้องสร้าง ATP จากวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis) เป็นผลให้มีการสะสมของเสียคือ กรดแลคติค (lactic acid) ทำให้กล้ามเนื้อล้าเร็วขึ้น

3. Long-term energy (Aerobic system) เป็นกระบวนการที่ใช้ออกซิเจนในการสร้างพลังงาน เกิดหลังจากการใช้พลังงานจาก Phosphagen system และ Glycolysis system

โดยพลังงานที่ได้เกิดจากการเผาผลาญ คาร์โบไฮเดรต น้ำตาลในเลือด ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ ไขมัน ไตรกลีเซอไรด์ และโปรตีน ซึ่งใช้เวลามากกว่า 2 กระบวนการแรก แต่ได้จำนวน ATP มากกว่าเช่นเดียวกัน



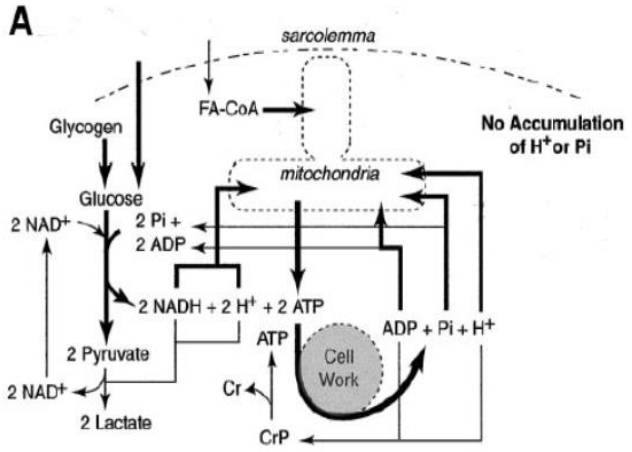
รูปที่ 1 **แผนภูมิ แหล่งพลังงานของกล้ามเนื้อ ระหว่างออกกำลังกาย**[10]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

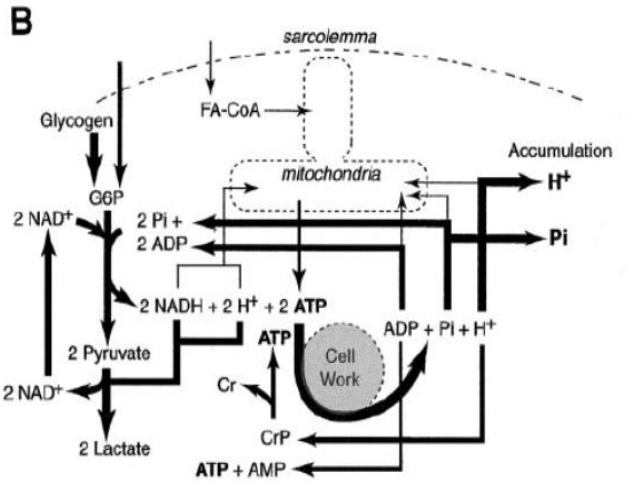
ภาวการสะสมหรือการคั่งกรดแลคติค (lactic acid)

ภาวะที่มีการใช้พลังงานจากกระบวนการ glycolysis โดยไม่อาศัยออกซิเจนทำให้มีการสะสมของกรดแลคติค (lactic acid) มากขึ้น ซึ่งสามารถดูได้จากการเพิ่มขึ้นของปริมาณระดับ lactate ในเลือดและกล้ามเนื้อ และมีการลดลงของค่า pH ในเนื้อเยื่อ โดย lactic acid นั้นจะปล่อย H^+ ออกมาร่วมกับ เกลือ lactate โดยภาวะนี้จะเกิดขึ้นได้ในขณะที่ออกกำลังกายอย่างหนัก[10, 11]

โดยขณะที่ออกกำลังกายนั้นจะใช้พลังงานจากกระบวนการที่ใช้ออกซิเจน (aerobic system) (รูปที่ 2) แต่เมื่อออกกำลังกายนานขึ้น หรือความหนักมากขึ้น ร่างกายต้องการพลังงานเพื่อนำมาใช้ในการทำงานของกล้ามเนื้อมากขึ้นเช่นกัน แต่ระบบหมุนเวียนเลือดสามารถขนส่งออกซิเจนมาที่กล้ามเนื้อได้ไม่พอเพียงกับความต้องการของเซลล์กล้ามเนื้อในการหดตัวได้ ดังนั้นร่างกายจึงกลับไปใช้พลังงานจากกระบวนการเผาผลาญพลังงานที่ไม่ใช้ออกซิเจน (รูปที่3) ซึ่งได้พลังงานรวดเร็วกว่า คือ Glycolysis[1]

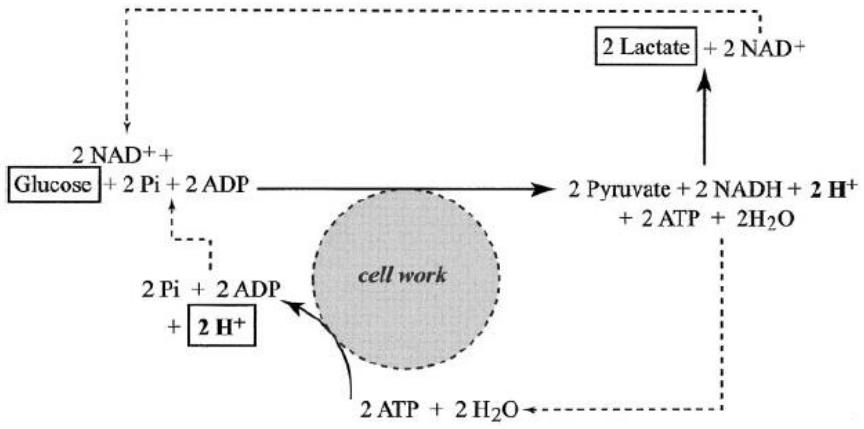


รูปที่ 2 **สภาวะที่มีความหนักในการทำงานที่ระดับ 60% ของVO_2max ซึ่งระบบ aerobic respiration จะผลิตพลังงานโดยการนำผลิตผลที่ได้จากวิถี glycolysis ในไซโตพลาสซึมเข้าสู่ mitochondria ลดการสะสม H^+**



รูปที่ 3 **สภาวะที่มีความหนักในการทำงานที่ระดับ 110% ของ VO_2max เป็นภาวะที่ออกซิเจนไม่เพียงพอต่อการสร้างพลังงาน มีการทำงานของวิถี glycolysis มากขึ้นและทำให้เกิดการสะสมของ H^+ เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสภาวะกรด[(1)] ซึ่งจะทำให้เกิดการ**

CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 4 **กระบวนการ Glycolysis[(1)] และการสลายพลังงานATP ไปใช้ในการทำงาน**

จากรูปที่ 4 จะเห็นได้ว่ากระบวนการ Glycolysis และ ATP hydrolysis สามารถทำให้เกิดพลังงานเก็บสะสมในรูป ATP และ การสลาย ATP (ATP hydrolysis) เพื่อใช้เป็นพลังงานในการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อโดยวิถีไกลโคไลซิสที่ไม่อาศัยออกซิเจน จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ H^+ และ lactate ซึ่งเมื่อเกิดการสะสมเพิ่มมากขึ้นของ H^+ จะสามารถเกิดภาวะ Metabolic acidosis เป็นสาเหตุทำให้กล้ามเนื้อเกิดอาการล้า ปวดกล้ามเนื้อ ประสิทธิภาพการทำงานลดลง โดยสามารถวัดการเกิดภาวะ metabolic acidosis ได้จากปริมาณ Lactate ที่อยู่ภายในกระแสเลือด Mary E. Cheetham และคณะ (1986)[12] ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอลิซึ่มของการวิ่งสปรินท์ด้วยเวลา 30 วินาที ผลการศึกษาพบว่าหลังการวิ่งสปริ้นท์ที่ช่วงเวลา 3 นาที และ 5 นาทีมีค่า blood lactate มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนวิ่ง ($p<0.05$) (ก่อน=0.73±0.29 mmol/L, หลัง 3 นาที=11.57±2.97 mmol/L, หลัง 5 นาที=13.06±2.79 mmol/L) ซึ่งภาวะ การสะสมของกรดแลคติก นี้จะไม่ทำให้ระดับความเป็นกรดมากขึ้นในทันที เพราะว่ายังมีกระบวนการการทำงานในรูปแบบ buffer ที่คอยช่วยควบคุมสมดุลกรด-ด่างของเซลล์อยู่ ที่ทำหน้าที่ในการกำจัด H^+ ที่เกิดขึ้น โดยตัวที่ทำหน้าที่เป็นระบบ buffer ภายในเซลล์ คือ amino acid, protein และ bicarbonate (HCO_3^-) ที่คอยบดบังและกิน H^+ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการสะสมของ H^+ ส่วนการนำ H^+ ออกไปจากไซโตซอลของเซลล์นั้นจะทำหน้าที่โดย sacolemma และ bicarbonate-dependent exchanger[1]

ภาวะ Oxidative stress

Oxidative stress คือ กระบวนการที่เกิดความไม่สมดุลระหว่าง Free radical กับ Antioxidant โดยมีปริมาณ Free radical เกิดมากกว่าที่ปริมาณ Antioxidant ที่มีอยู่จะกำจัด Free radical ออกไปได้[5]

Free radical คือ อะตอมที่เป็นอิเล็คตรอนคู่โดดเดี่ยว ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ reactive oxygen species (ROS) คือ อนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ตรงกลางของโมเลกุล เช่น Superoxide, Hydrogen peroxide, Hydroxyl radicals, Hyperchlorite เป็นต้น ส่วนกลุ่มที่สองคือ RNS (reactive nitrogen species,RNS) คือ อนุมูลอิสระที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ตรงกลางของโมเลกุล เช่น Nitric oxide, Peroxynitrite เป็นต้น โดยสองกลุ่มนี้เรียกรวมกันว่า Reactive oxygen and nitrogen species (RONS) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถไปทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ทำให้ส่วนประกอบ โครงสร้าง และหน้าที่ของเซลล์นั้นเปลี่ยนไป[2, 13, 14]

Antioxidant คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่คอยกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ซึ่งร่างกายสามารถสร้างได้ด้วยตนเองและรับจากภายนอกร่างกาย โดยแบ่งออกเป็นสองชนิด คือ Antioxidant enzymes และ Nonenzymatic antioxidants[2, 15-18]

- Antioxidant enzymes คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ซึ่งช่วยป้องกันการเกิดการ oxidative stress ได้แก่ Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Catalase โดยสารต้านอนุมูลอิสระสามตัวนี้จะไปทำหน้าที่ทำลาย Hydrogen peroxide ที่เกิดขึ้น
- Nonenzymatic antioxidants คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก และไม่ได้มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ เช่น Glutathione, α-lipoic acid, Uric acid, Bilirubin, Coenzyme Q_{10} เป็นต้น หน้าที่หลักของสารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้คือ การกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์

นอกจากนี้ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถรับประทานได้จากอาหารอีก เช่น Vitamin E (α-tocopherol), Carotenoids, Vitamin C (ascorbic acid) เป็นต้น

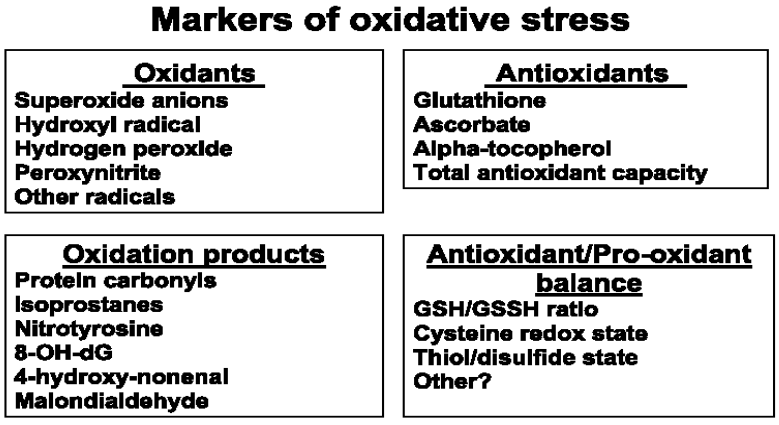
เมื่อเกิดภาวะ Oxidative stress ขึ้น เราสามารถตรวจพบได้จาก biomarkers ต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 5 ดังนี้

1.การเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระ เช่น H_2O_2,

2.การลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ และ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น Total antioxidant capacity (TBAR, FRAP), Total plasma thiol

3.ปฏิกิริยาความสมดุลระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับอนุมูลอิสระเสียสมดุล เช่น อัตราส่วนของ GSH/GSSG

4.เกิดความเสียหายต่อส่วนประกอบของเซลล์ (ไขมัน, โปรตีน หรือ ดีเอนเอ) เช่น Malondaldehyde (MDA) จากไขมัน , protein carbonyl จากโปรตีน , 8-OH-dG จากดีเอ็นเอ



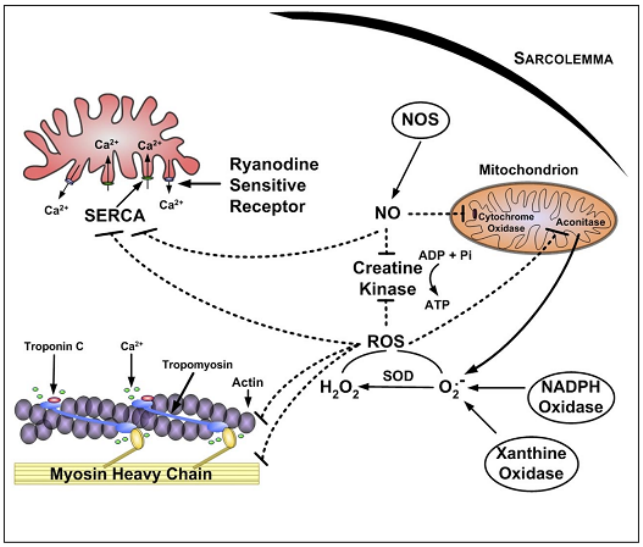
รูปที่ 5 **สารประกอบต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจกระบวนการเกิด oxidative stress**[2]

การออกกำลังกายกับการเกิด oxidative stress

การออกกำลังกายเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidative stress เร็วและมากขึ้น โดยในขณะที่ออกกำลังกายนั้น เซลล์กล้ามเนื้อต้องการพลังงานเพื่อใช้ในการทำงานด้วยกระบวนการเผาผลาญพลังงานที่ใช้ออกซิเจน และภายในกระบวนการนี้จะมีขั้นตอนการส่งต่ออิเลคตรอนของลูกโซ่หายใจ (electron transport chain) ซึ่งการส่งต่ออิเล็คตรอน มีตัวรับคือ O_2 และ H_2O แต่เมื่อเซลล์ต้องการพลังงานมาก การส่งต่ออิเล็คตรอนจึงมากขึ้น ซึ่งอาจทำให้มีการหลุดของอิเล็คตรอนออกมาและไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจนหรือไนโตรเจน จนเกิดอนุมูลอิสระชนิด ROS และ RNS ขึ้นซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิด oxidative stress ได้[2, 5, 14, 19, 20]

การตรวจพบว่ามี oxidative stress เกิดขึ้นขณะออกกำลังกายได้หลายวิธี หนึ่งในนั้นคือการดูการเปลี่ยนแปลงระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย (antioxidant defense system) ซึ่งบ่งบอกถึงการทำปฏิกิริยาและเกิดการเปลี่ยนแปลงของ glutathione ได้เทียบเท่ากับการวัดระดับ vitamin C และ vitamin E ในเลือด ดังในการศึกษาของ Takayo Inayama และคณะ(2002)[21] ได้ศึกษาการออกกำลังกายด้วยความหนักระดับปานกลางต่อการเปลี่ยนแปลงของ Plasma protein thiols groups โดยเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการทดสอบ ผลการศึกษาพบว่า การออกกำลังกายความหนักระดับปานกลางนั้นทำให้ระดับ p-S- Cys (protein cysteine mixed disulfides) ในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบระหว่างก่อนการทดสอบและหลังการทดสอบ 5 นาที ($p<0.01$) โดย p-S-Cys คือผลลัพธ์จากการทำปฏิกิริยาของ oxidative stress ต่อ Glutathione และ cysteine ทำให้หลังจากออกกำลังกายมีระดับ p-S-Cys ในเลือดเพิ่มขึ้น อันเป็นผลเกิดจากกระบวนการป้องกันอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย และในการศึกษา Agnieszka Zembron-Lacny และคณะ (2009)[22] ได้ศึกษาผลของการรับ N-acetylcysteine, α-lipoic acid และtaurine เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เพื่อดูผลต่อภาวะต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ผลการศึกษาพบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีค่าระดับ Total plasma thiol เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดสอบ ($p<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบทันที และกลับสู่ระดับปกติใน 24 ชั่วโมง และในการศึกษาของSteven R. McAnulty และคณะ (2005)[23] ได้ศึกษาผลของการออกกำลังกายแบบมีแรงต้านและสารประกอบคาร์โบไฮเดรตต่อภาวะ oxidative stress โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของ FRAP (Ferric reducing ability of plasma) ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารหลอก (placebo) มีค่าระดับ FRAP ในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนการออกกำลังกายและหลังออกกำลังกาย 1 ชั่วโมง($p=0.044$) จากการเพิ่มขึ้นของ FRAP สามารถบอกแทนถึงการเปลี่ยนแปลงภาวะต้านอนุมูลอิสระของ ascorbic acid, uric acid และ α-tocopherol เนื่องจากการเกิด oxidative stress ภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนัก[24]

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขณะออกกำลังกายสามารถรบกวนการทำงานของกล้ามเนื้อ ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของกล้ามเนื้อลดลง ดังในรูปที่ 6 แสดงให้เห็นถึงส่วนต่างๆที่อนุมูลอิสระไปรบกวน ตั้งแต่การสร้าง ATP เพื่อใช้ในการทำงานของเซลล์ ตลอดจนถึงการรบกวนการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อ จึงทำให้กล้ามเนื้อทำงานได้ลดลงจากเดิม[2] ดังในงานศึกษา Matuszczak และคณะ (2005)[25] ได้ศึกษาการให้สารต้านอนุมูลอิสระชนิด N-acetylcysteine ต่อความสามารถในการทดสอบกำลังการบีบมือ ผลการศึกษาพบว่าการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับ baseline ทำให้ประสิทธิภาพของการทดสอบกำลังการบีบมือแตกต่างกันถึง 30 เปอร์เซ็นต์ โดยครั้งที่ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า แสดงให้เห็นว่าการเกิดขึ้นของอนุมูลอิสระนั้น ถ้าไม่มีการป้องกันด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่เพียงพอจะทำให้ประสิทธิภาพทางกายลดลง



CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปที่ 6 **แสดงถึงการรบกวนการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อในตำแหน่งต่างๆ โดยอนุมูลอิสระ**[2]

การคั่ง lactic acid กับ Oxidative stress

ในสภาวะที่มีการคั่ง lactic acid นั้นอาจสนับสนุนการเกิด free radical ให้มีมากขึ้นได้ กลไกที่เป็นไปได้นั้นมี 2 อย่างคือ 1.สภาวะกรดทำให้อนุมูลอิสระ superoxide มีความสามารถในการทำปฏิกิริยา oxidize มากขึ้นและละลายในไขมันได้ดีขึ้น 2.สภาวะกรดทำให้ Fe^{3+} ถูกปล่อยออกจากโปรตีนชนิด transferrin และ ferritin ทำให้ Fe^{3+} ทำปฏิกิริยากับ superoxide จนเกิด hydroxyl radicals (·OH) ซึ่งกลไกข้างต้นนั้นต่างเป็นสาเหตุทำให้อัตราและปริมาณการเกิด oxidative stress มากขึ้น(4, 26-29) โดยในงานของ Bo K. Siesjo และคณะ(1985)[4] ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของค่า pH ต่อปริมาณ TBAR ในเนื้อสมอง พบว่าเนื้อเยื่อสมองในสภาวะที่มี ferrous sulfate (ความเข้มข้น 0.1 mM) pure N_2 หรือ 5% 0,/95% N_2 เมื่อมีสภาวะ pH ต่ำลงจะมีปริมาณ TBAR เกิดมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเปรียบเทียบระหว่างสภาวะ pH 6 กับ pH 7 ($p < 0.001$)(1.02 ±0. 03 และ 0. 54 ± 0. 11 μ.Lmol · g^{-1} ตามลำดับ) และต่อมาได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ของทั้งสองภาวะในคนโดยในการศึกษาของ Richard J. Bloomer และคณะ (2009)[11] ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับแลคเตทในเลือดกับการเกิดภาวะ oxidative stress ด้วยการวัดค่าระดับ MDA และ Protein carbonyls ทดสอบด้วยการออกกำลังกายในรูปแบบต่างๆ คือ GXT, Sprint, Squat, Bench press ผลการศึกษาพบว่าระดับแลคเตทในเลือดกับระดับ MDA หรือ Protein carbonyls ซึ่งเป็นค่าตัวแทนแสดงการเกิดภาวะ oxidative stress ไม่มีความสัมพันธ์กันชัดเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผู้วิจัยได้มีข้อเสนอแนะว่าผู้เข้าร่วมการวิจัยครั้งต่อไปควรเป็นอาสาสมัครที่ไม่ใช่นักกีฬาที่มีการฝึกฝนสม่ำเสมอเนื่องจากยังระดับการป้องกันอนุมูลอิสระในร่างกายยังไม่สูงมากนัก อาจทำให้เห็นความสัมพันธ์ที่ชัดเจนขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

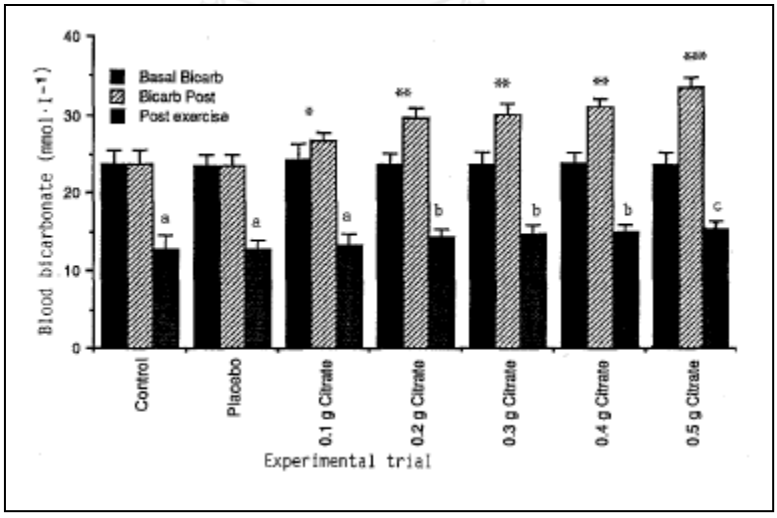
โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate)

เมื่อร่างกายได้รับโซเดียมซิเตรต (Sodium citrate) จากอาหาร sodium citrate จะแตกตัวออกเป็น Na^+ และ $Citrate^-$ โดย citrate นั้นมีคุณสมบัติในการลดความเข้มข้นของปริมาณ H^+ และเพิ่มความเข้มข้นของปริมาณHCO^-_3 เสมือนเป็น plasma alkalinization คือช่วยลดภาวะความเป็นกรดจากการช่วยนำ phosphate ออกจากเซลล์ และเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการ Krebs cycle ยับยั้งการทำงานของ phosphofructokinase ที่เป็น allosteric enzyme ทำหน้าที่ควบคุมอัตราการเกิดglycolysis ผลก็คือช่วยให้เกิด glycolysis มากขึ้น อีกทั้งมีความสามารถเช่นเดียวกับ ferritin ในการทำหน้าที่ iron blinding site กับตัว Fe^{2+}[7, 8]

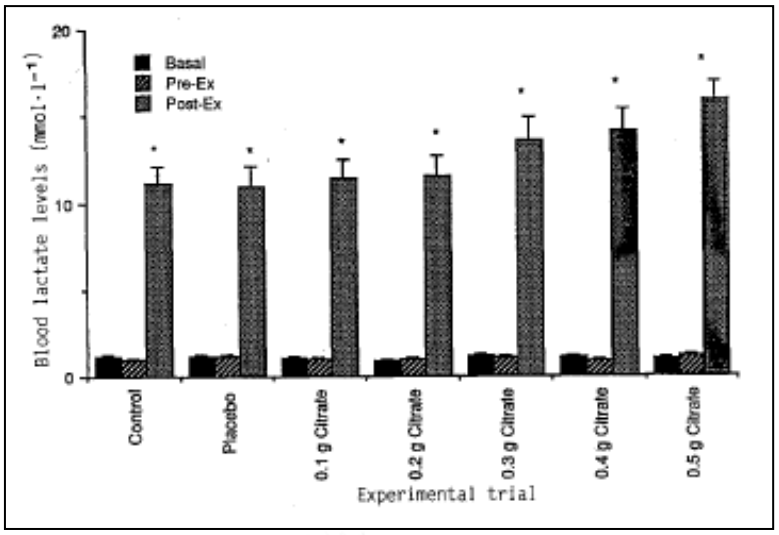
Sodium citrate มีการศึกษาถึงขนาดต่างๆ ที่เหมาะสมในการนำมาใช้และจากการศึกษาพบว่าภายหลังได้รับ sodium citrate ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 g/kg body weight พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 g/kg body weight เป็นปริมาณที่เพิ่มระดับ HCO^-_3 ในเลือดสูงที่สุด ($p<0.01$) และหลังการออกกำลังกายมีการเพิ่มระดับ lactate ในเลือดมากที่สุดและค่า total work และ peak work มากที่สุดที่ 44.63 ± 1.5 kJ และ1306 ± 75.1 W ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และรูปที่ 7, 8)[10]

	Total work (kJ)		Peak power (W)	
	mean	SD	mean	SD
Control	35.26	2.9	1081	120.8
Placebo	36.16	3.6	1091	132.6
Sodium Citrate ($g \cdot kg^{-1}$ body mass)				
0.1	36.73	3.4	1096	130.0
0.2	39.16	1.6	1128	107.1
0.3	40.62	1.6[a]	1197	72.1[a]
0.4	41.28	1.3[b]	1218	68.9[b]
0.5	44.63	1.5[c]	1306	75.1[c]

ตารางที่ 1 **แสดงค่า total work (kJ) และ peak power (W) เปรียบเทียบในกลุ่มการทดลองต่างๆ**[10]



รูปที่ 7 **กราฟแสดงค่าระดับ HCO^-_3 ในเลือดเปรียบเทียบกลุ่มทดลองต่างๆ**[10]



รูปที่ 8 **กราฟแสดงค่าระดับ lactate ในเลือดเปรียบเทียบกลุ่มทดลองต่างๆ**[10]

ผลข้างเคียงจากการใช้ sodium citrate ปริมาณที่มากเกินไป คือ อาเจียน ตะคริว และการปวดท้อง โดยที่ความเข้มข้น 0.5 g/kg body weight เป็นความเข้มข้นที่มากที่สุดที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็น ergogenic aid และมีผลข้างเคียงน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่มากกว่า โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ เพื่อสนับสนุนประสิทธิภาพของ sodium citrate คือการรับประทานก่อนออกกำลังกายประมาณ 120 นาที ซึ่งใช้ได้ผลในการออกกำลังกายชนิดที่มีความหนักมากระยะเวลาสั้น หรือที่ความหนักมากระยะเวลานาน

V. Oopik และคณะ(2002)[6] ได้ศึกษาผลของ sodium citrate ต่อประสิทธิภาพในการวิ่ง 5 กิโลเมตร ในนักกีฬาวิ่ง ผลการศึกษาพบว่าการให้ sodium citrate นั้นสามารถทำเวลาในการวิ่ง 5 กิโลเมตรได้น้อยกว่าครั้ง placebo คือ 1153.2 วินาทีต่อ 1183.8 วินาที ($p=0.01$) และค่า blood lactate ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกันระหว่างก่อนการวิ่งและหลังจากวิ่งเสร็จ พบว่าครั้งที่ได้รับ sodium citrate ค่า blood lactate ที่เปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบกับครั้ง placebo นั้นมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) โดยการให้ sodium citrate เปลี่ยนแปลงมากกว่า (sodium citrate=9.7 และ placebo=7.8) ซึ่งสนับสนุนกับทฤษฎีที่บอกว่า sodium citrate ช่วยสนับสนุนการใช้พลังงานจากกระบวนการ glycolysis ซึ่งวัดได้จากผลผลิตของกระบวนการนี้ที่เพิ่มขึ้นคือ lactate

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารละลายโซเดียมซิเตรตจำนวน 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวก่อนการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง ต่อปริมาณกรดแลคเตท และสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด โดยได้ออกแบบการศึกษาเป็น การวิจัยเชิงทดลองในมนุษย์ (Human experimental study with cross over design) และโครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณารับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (IRB No. 328/56)

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรเป้าหมาย(target population) คือ ผู้ชายสุขภาพดีไม่มีโรคประจำตัว อายุระหว่าง 18-30 ปี

กลุ่มตัวอย่าง(sample) คือ ผู้ชายสุขภาพดีไม่มีโรคประจำตัว อายุ 18-30 ปี ไม่รับประทานสารเสริมอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ และผ่านเกณฑ์การคัดเข้าการศึกษา

เกณฑ์การคัดเลือกเข้าศึกษา

1. ผู้ชายอายุระหว่าง 18-30 ปี
2. ผู้เข้าร่วมการวิจัยสุขภาพดีและไม่มีโรคประจำตัวที่เป็นอุปสรรคต่อการทดสอบ เช่น โรคหัวใจ หอบหืด เป็นต้น
3. ผู้เข้าร่วมการวิจัยออกกำลังกายอย่างน้อย 1-3 ครั้งต่อสัปดาห์
4. ผู้เข้าร่วมการวิจัยสามารถเข้าร่วมการทดสอบครบทั้งสองครั้ง

เกณฑ์การคัดเลือกออกจากการศึกษา

1. มีอาการบาดเจ็บที่เกี่ยวข้องกับกล้ามเนื้อหรือข้อบริเวณที่มีผลต่อการทดสอบ ในช่วงระยะเวลา 6 เดือนที่ผ่านมา
2. รับประทานอาหารเสริมหรือวิตามินเป็นประจำ
3. ปัจจุบันมีการสูบบุหรี่หรือมีประวัติสูบบุหรี่

ไม่สมัครใจเข้าร่วมงานวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่าง(Sample size)

คำนวณจากงานวิจัยของ Oopik V. และคณะ[6] ได้ทำการทดลองในผู้ชายที่มีสุขภาพดี 17 คนโดยทำการทดสอบการออกกำลังกายด้วยการวิ่งบน treadmill เป็นระยะทาง 5 กิโลเมตร เปรียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับ sodium citrate กับกลุ่มที่ไม่ได้รับ sodium citrate และทำการทดลองแบบ cross over design ดูการเปลี่ยนแปลงของค่า blood lactate ผลปรากฏว่ามีการเพิ่มขึ้นของ blood lactate ในกลุ่มที่ไม่ได้รับ sodium citrate เท่ากับ 7.8±2.4 mmol/L และกลุ่มที่ได้รับ sodium citrate เท่ากับ 9.7±2.3 mmol/L ที่ $p \leq 0.05$

σ = Variance of difference

d = Different of mean

ค่า σ^2 หาจากสูตร

$\sigma^2 = \sigma^2_1 + \sigma^2_2 - 2r\,\sigma_1\,\sigma_2$

<u>หมายเหตุ</u> ถ้าไม่สามารถประมาณค่า r ได้ ให้ใช้ค่า r = 0 จะได้ค่า n มากที่สุด

$\sigma^2 = (2.4)^2 + (2.3)^2$

$\sigma^2 = 11.05$

จากสูตรคำนวณขนาดตัวอย่าง Two related groups แบบข้อมูลชนิดวัด

$$N\ pair = (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 x\, \sigma^2 / d^2$$

α = 0.05 $Z_{\alpha/2}$ = 1.96

β = 0.10 Z_{β} = 1.28

σ^2 = 11.05

d = 1.9

แทนค่าในสูตร

$N\ pair = (1.96+1.28)^2\,(11.05)^2 / (1.9)^2$

$= 32.132 \approx 33$ คน

จากการคำนวณจะได้ขนาดผู้เข้าร่วมการทดลองที่เหมาะสมอย่างน้อยที่สุด 33คน
ซึ่งผู้วิจัยต้องการเพิ่มอีก 20% เพื่อป้องกันการขาดหาย จึงคิดเป็น 36 คน

วิธีการเลือกกลุ่มตัวอย่าง

โดยใช้การเลือกแบบ Randomized cross over sampling

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. แบบสอบถามคัดกรองที่ใช้ในการวิจัย
2. แบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคลของอาสาสมัครเข้าร่วมการวิจัย
3. ที่วัดส่วนสูง
4. ลู่วิ่ง (Nautilus T518LC, USA)
5. Gas analyzer (Oxycon mobile, Germany) พร้อมอุปกรณ์
6. ชุดวัดอัตราการเต้นหัวใจแบบไร้สาย (Polar, Sweden)
7. อุปกรณ์เจาะเลือด
8. คอมพิวเตอร์สำหรับการเก็บข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูลและประมวลผล
9. เครื่อง microplate reader สำหรับอ่านผลที่ได้จากการวิเคราะห์หาสารประกอบในเลือด
10. เครื่องบ่มเพาะที่ควบคุมอุณหภูมิ (incubator)
11. เครื่องชั่งสารเคมี

สารละลาย Sodium citrate และ sodium chloride (placebo)

สารละลาย Sodium citrate (ซื้อจากผู้ประกอบการที่มีเอกสารรับรองของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ของประเทศไทย ตามเอกสารแนบ) ประกอบด้วย

- Sodium citrate 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว
- น้ำ 1,500 มล.

สารละลาย sodium chloride (placebo)ประกอบด้วย

- Sodium chloride 0.045 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว
- น้ำ 1,500 มล.

อาหารเช้า

- ข้าวผัดปู จากร้านเซเว่นอีเลฟเว่น ยี่ห้อ อีซี่โกล์

รูปที่ 9 **เครื่อง gas analyzer พร้อมชุดคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ข้อมูล**

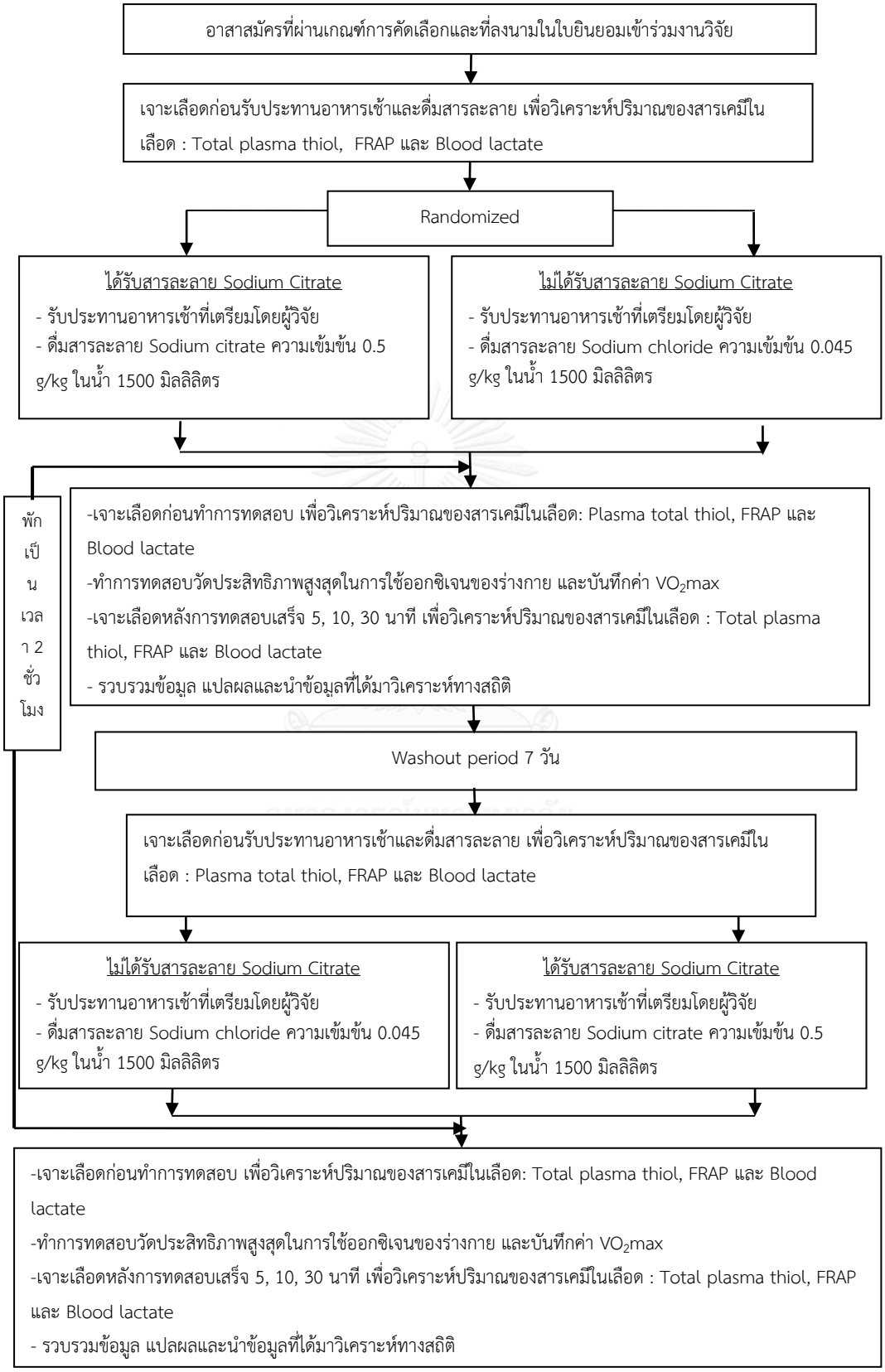
รูปที่ 10 **เครื่อง gas analyzer**

รูปที่ 11 **ชุดวัดอัตราการเต้นของหัวใจแบบไร้สาย**

รูปที่ 12 **ลู่วิ่งสำหรับการทดสอบ**

รูปที่ 13 **อาสาสมัครที่สวมอุปกรณ์ gas analyzer พร้อมทำการทดสอบ**

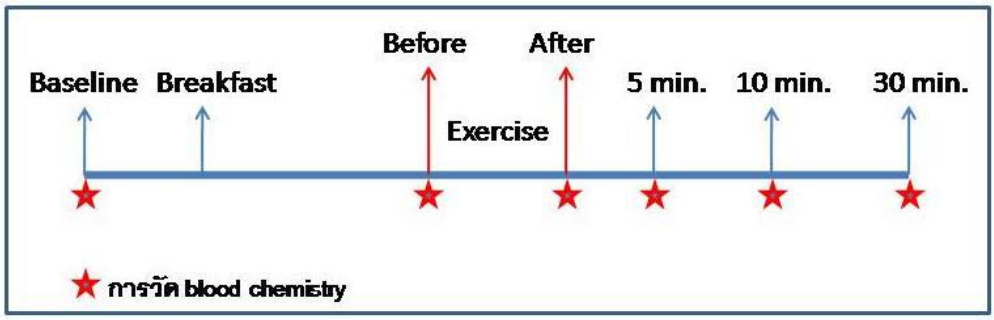
วิธีดำเนินการวิจัย



ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

1. ทำการประกาศรับสมัครอาสาสมัครงานวิจัย โดยระบุรายละเอียดเกณฑ์การคัดเข้าและประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้ รวมถึงรายละเอียดการติดต่อเข้าสมัครเป็นอาสาสมัครงานวิจัยอย่างละเอียด
2. คัดเลือกอาสาสมัครตามเกณฑ์คัดเลือก อธิบายจุดประสงค์ของการวิจัยให้อาสาสมัครทราบอย่างละเอียด พร้อมตอบคำถามทุกกรณีอย่างชัดเจน และขอความยินยอมจากอาสาสมัคร
3. อาสาสมัครกรอกแบบบันทึกข้อมูลเบื้องต้นของอาสาสมัคร ส่วนสูง น้ำหนัก พร้อมทั้งลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย
4. โดยอาสาสมัครจะถูกขอร้องให้
    - ควบคุมอาหารก่อนการทดสอบ 3 วัน โดยหลีกเลี่ยงการทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง และบันทึกรายการอาหารลงในสมุดบันทึก
    - งดเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีน อย่างน้อย 12 ชั่วโมง
    - หลีกเลี่ยงกิจกรรมที่มีความหนักมาก (vigorous activity) อย่างน้อย 24 ชั่วโมง
    - งดเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์อย่างน้อย 48 ชั่วโมง
5. เมื่ออาสาสมัครมาถึงห้องปฏิบัติการให้นั่งพักเป็นเวลา 10 นาที
6. เจาะเก็บตัวอย่างเลือดอาสาสมัครปริมาณ 6 มล. จากหลอดเลือดดำบริเวณหลังมือ โดยมีการคาเข็มไว้ตลอดการทดสอบ แบ่งลงใน EDTA tube 4 มล. 1 หลอด เพื่อวิเคราะห์ค่า Total plasma thiol, FRAP และ sodium fluoride tube (NaF) 2 มล. 1 หลอด เพื่อวิเคราะห์ค่า lactate เป็นค่า baseline
7. อาสาสมัครรับประทานอาหารเช้า (ข้าวผัดปูยี่ห้ออีซี่โกล์ จากร้านเซเว่นอีเลฟเว่น) ที่จัดเตรียมไว้ให้และดื่มสารละลาย sodium citrate (กลุ่มทดลอง) หรือ sodium chloride (กลุ่มควบคุม) จำนวน 1500 มล. ให้หมด และนั่งพักเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบ เพื่อให้สารละลายถูกดูดซึมเต็มที่
8. เมื่อครบ 2 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างเลือดอาสาสมัครปริมาณ 6 มล. จากเข็มที่คาไว้บริเวณหลังมือ แบ่งลงใน EDTA tube 4 มล. 1 หลอด เพื่อวิเคราะห์ค่า Total plasma thiol, FRAP และ sodium fluoride tube (NaF) 2 มล. 1 หลอด เพื่อวิเคราะห์ค่า lactate เป็นค่าหลังรับประทานสารละลาย และให้อาสาสมัครสวมอุปกรณ์วิเคราะห์ลมหายใจแบบอัตโนมัติ และเข้าสู่โปรแกรมการทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจนของร่างกาย โดยระหว่างการทดสอบจะบันทึกค่า VO_2 ที่ได้ตลอดการทดสอบ
9. หลังการทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจนของร่างกาย ทำการเก็บตัวอย่างเลือดอาสาสมัครหลังการทดสอบ 5, 10 และ 30 นาที ครั้งละ 6 มล. จากเข็มที่คาไว้บริเวณหลังมือ แบ่งลงใน EDTA tube 4 มล. 1 หลอด เพื่อวิเคราะห์ค่า Total plasma thiol, FRAP และ sodium fluoride tube (NaF) 2 มล. 1 หลอด เพื่อวิเคราะห์ค่า lactate เป็นค่าหลังการทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจนของร่างกาย

1.10 อาสาสมัครหยุดพัก 7 วัน และกลับมาทดสอบอีกครั้งโดยได้รับสารละลายต่างจากครั้งแรก



การเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด

- เจาะเก็บตัวอย่างเลือดอาสาสมัครปริมาณ 6 มล. จากหลอดเลือดดำบริเวณหลังมือ
- **การตรวจหาค่า Total Plasma Thiol**
  - เก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 2 มล. ลงใน EDTA tube โดยบันทึกข้างหลอดด้วยสัญลักษณ์ TPT
  - นำไปปั่นแยกเอาเม็ดเลือดออก และเก็บส่วนพลาสมาหรือน้ำใสไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ –80 °ซ จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาสาร Total plasma thiol โดยวิธี Sedlak and Lindsay's method[27] (ภาคผนวก ง)

- **การตรวจหาค่า Ferric reducing ability of plasma (FRAP)**
  - เก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 2 มล. ลงใน EDTA tube โดยบันทึกข้างหลอดด้วยสัญลักษณ์ FRAP
  - นำไปปั่นแยกเอาเม็ดเลือดออก และเก็บส่วนพลาสมาหรือน้ำใสไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ –80 °ซ จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Ferric reducing ability of plasma assay[28] (ภาคผนวก จ)

- **การตรวจหาปริมาณ lactate**
  - เก็บตัวอย่างเลือดปริมาณ 2 มล. ลงใน sodium fluoride (NaF) tube โดยบันทึกข้างหลอดด้วยสัญลักษณ์ LA
  - นำไปปั่นแยกเอาเม็ดเลือดออก และเก็บส่วนพลาสมาหรือน้ำใสไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ –80°ซ จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาปริมาณ lactic acid ด้วย reagent kit บริษัท Trinity Biotech (ภาคผนวก ฉ)

การทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจน (Bruce treadmill protocol)

1. สวมเครื่องวิเคราะห์ลมหายใจแบบอัตโนมัติและเครื่องวัดอัตราการเต้นของหัวใจให้อาสาสมัคร
2. ให้อาสาสมัครขึ้นไปยืนบนลู่วิ่ง โดยเหยียบบนที่พักเท้าด้านข้างลู่วิ่ง
3. ทำการอบอุ่นร่างกาย (warm up) 3-5 นาที บนลู่วิ่งด้วยความเร็วไม่เกิน 2.74 km/h
4. ทำการทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจนโดยใช้ Bruce treadmill protocol โดยเริ่มต้นที่ความเร็ว 2.74 km/h และความชัน 10 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาแต่ละ stage 3 นาที มีทั้งหมด 10 stage โดยทุกๆการเปลี่ยน stage จะบันทึกค่า RPE และ Heart rate
5. จะสิ้นสุดการทดสอบเมื่อ
   - อัตราการเต้นของหัวใจถึง อัตราการเต้นของหัวใจสูงสุดของอาสาสมัคร (100% ของ maximum heart rate)
   - ค่า RER มากกว่า 1.15
   - RPE มากกว่า 17 โดยใช้ Borg scale (6-20)
   - เหนื่อยจนไม่สามารถทดสอบต่อได้ไหว

ข้อบ่งชี้ทั่วไปสำหรับหยุดการทดสอบการออกกำลังกายในคนปกติ

1. มีอาการของ angina หรืออาการคล้าย angina
2. ค่าความดันซิสโตลิกตกลงอย่างมีนัยสำคัญ (20 mmHg) หรือค่าความดันซิสโตลิกไม่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่ม exercise intensity
3. ความดันเพิ่มสูงเกินไป (ความดันซิสโตลิก >260 mmHg; หรือไดแอสโตลิก >115 mmHg)
4. มีอาการแสดงของ poor perfusion ได้แก่ เวียนศีรษะ สับสน เซ ผิวหนังซีด เขียว คลื่นไส้ หรือผิวหนังเย็นขึ้น
5. อัตราการเต้นของหัวใจไม่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มของ exercise intensity
6. จังหวะการเต้นหัวใจผิดปกติไป
7. ผู้ถูกทดสอบร้องขอให้หยุดการทดสอบ
8. ลักษณะทางกายหรือการพูดจาที่บ่งถึงอาการอ่อนแรงอย่างมาก
9. เครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบไม่ทำงานตามปกติขณะทดสอบ

Chulalongkorn University

ตารางที่ 2 **แสดง Bruce treadmill protocol**

Stage	Time (min)	Km/hr	Slope (%)
1	0	2.74	10
2	3	4.02	12
3	6	5.47	14
4	9	7.08	15
5	12	9.17	15
6	15	9.82	15
7	18	10.94	15
8	21	13.00	15
9	24	14.60	15
10	27	16.30	15

การรวบรวมข้อมูล

1. เก็บข้อมูลส่วนสูง น้ำหนัก โดยผู้วิจัยลงในแบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคล
2. เก็บข้อมูลค่า VO_2max, RER, RPE, heart rate โดยผู้วิจัยด้วยเครื่องวิเคราะห์ลมหายใจแบบอัตโนมัติและเครื่องคอมพิวเตอร์
3. เก็บตัวอย่างเลือดโดยผู้ช่วยผู้วิจัยที่มีใบประกอบวิชาชีพ นักเทคนิคการแพทย์ หรือพยาบาล โดยค่าที่ได้บันทึกลงในแบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคล
4. ตรวจหาปริมาณสารเคมีในเลือดประเมินค่า Total plasma thiol, FRAP และ lactate ที่ห้องปฏิบัติการ 723 ชั้น 7 อาคารแพทยพัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. แสดงผลข้อมูล น้ำหนัก, ส่วนสูง, VO_2max, RER, RPE, heart rate และสารเคมีในเลือดด้วยค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)
2. วิเคราะห์ตัวแปรทางสถิติ
   - เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการให้ สารละลาย Sodium citrate และการให้สารละลายPlacebo โดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) with repeated measures เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลของค่า Total plasma thiol, FRAP และ lactate ที่เวลาต่างๆ กัน
   - ทดสอบสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 95% ของความเชื่อมั่น ด้วย Pearson's correlation

ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (Ethical consideration)

1. อาสาสมัครทุกคนจะได้รับการชี้แจงโดยละเอียดเกี่ยวกับงานวิจัยชิ้นนี้ก่อนการลงนามยินยอมเข้าร่วมวิจัย
2. อาสาสมัครทุกคนมีสิทธิ์ในการตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัยได้โดยอิสระ และสามารถถอนตัวจากการวิจัยได้ทุกเมื่อ ไม่ว่าเหตุผลใดๆก็ตาม
3. อาสาสมัครทุกคนมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
4. อาสาสมัครทุกคนได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยง และความไม่สบายที่อาจจะได้รับจากการวิจัย
5. การวิจัยจะต้องไม่ทำให้อาสาสมัครได้รับการบาดเจ็บ ถ้ารู้สึกมีอาการผิดปกติของร่างกายที่เกิดจากการเข้าร่วมวิจัย อาสาสมัครมีสิทธิ์ขอถอนตัวได้ทันที
6. ข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครทุกคนจะถูกเก็บเป็นความลับ แต่ข้อมูลอาจถูกเปิดเผยต่อสาธารณะเพื่อประโยชน์ต่อทางวิชาการ โดยไม่ระบุชื่อของอาสาสมัคร

อาสาสมัครจะถูกคัดเลือกด้วยเกณฑ์การคัดเข้าและคัดออกอย่างชัดเจน และถูกสุ่มรับการทดสอบด้วยความเท่าเทียมกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยนี้ออกแบบการศึกษาในรูป การวิจัยเชิงทดลองในมนุษย์ (Human experimental study with cross over design) เพื่อศึกษา ผลของการใช้สารละลายโซเดียมซิเตรตจำนวน 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ต่อปริมาณของแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง เปรียบเทียบกับการให้สารหลอก คือ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ จำนวน 0.045 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เนื่องจากเป็นการทดลองกับกลุ่มตัวอย่างที่เป็นคน ดังนั้น ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับทราบถึงวัตถุประสงค์ของโครงการ และประโยชน์ที่จะได้รับของผู้เข้าร่วมวิจัยเองและส่วนรวม โดยผู้เข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยลงนามยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัยเป็นลายลักษณ์อักษร และสามารถยกเลิกการเข้าร่วมโครงการในช่วงเวลาใดก็ได้ ไม่ว่าจะเป็นด้วยเหตุผลใดก็ตาม

ผู้เข้าร่วมการวิจัยมีจำนวนทั้งสิ้น 24 ราย โดยแต่ละคน จะได้รับการทดสอบทั้งหมดสองครั้ง คือ ครั้งควบคุมได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และครั้งทดลองได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต โดยมีช่วงพักระหว่างการทดสอบทั้ง 2 ครั้ง (washout period) ไม่น้อยกว่า 7 วัน ผู้เข้าร่วมการวิจัยทั้งหมดจะต้องดื่มเครื่องดื่มจำนวน 1500 มล.เป็นเวลา 2 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) ผู้วิจัยจะทำการเก็บและบันทึกข้อมูลที่ได้จากการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) รวมถึงค่าเวลาที่ทำได้ในแต่ละรอบ และผู้เข้าร่วมการวิจัยจะถูกขอเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงก่อนดื่มสารทดสอบและหลังดื่มสารทดสอบ 2 ชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกายที่เวลา 5,10 และ 30 นาที เพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่า blood lactate, FRAP, Total plasma thiol ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจะถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 16.0 นำเสนอข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และร้อยละความเปลี่ยนแปลง โดยกำหนดระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไว้ที่ $p<0.05$

ลักษณะทั่วไปของผู้เข้าร่วมวิจัย

ผู้เข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ เป็นเพศชายที่มีสุขภาพดี มีจำนวนรวมทั้งสิ้น 24 ราย อายุของผู้เข้าร่วมการวิจัยอยู่ในช่วง 18 ถึง 30 ปีตามที่ระบุในเกณฑ์การคัดเข้าศึกษา และเป็นผู้ที่ออกกำลังกาย 1-3 ครั้งต่อสัปดาห์ ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวคือ 68.06 ± 9.49 กิโลกรัม ค่าเฉลี่ยส่วนสูงของผู้เข้าร่วมการวิจัยคือ 173.71 ± 5.91 เซนติเมตร ค่าดัชนีมวลกายของผู้เข้าร่วมการวิจัยคือ 22.55 ± 2.85 กิโลกรัมต่อเมตร^2 ค่าประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของผู้เข้าร่วมการวิจัย คือ 46.80 ± 8.38 ลิตรต่อนาทีต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ลักษณะทั่วไปของผู้เข้าร่วมการวิจัย จำนวน 24 ราย (แสดงข้อมูลด้วยค่า Mean + S.D.)

คุณลักษณะทั่วไปของผู้เข้าร่วมการวิจัย (n=24)	Mean ± S.D.
อายุ (ปี)	23.38 ± 2.9
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	68.06 ± 9.49
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	173.71 ± 5.91
ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัมต่อเมตร^2)	22.55 ± 2.85
ค่าประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุด (ลิตรต่อนาทีต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) (ครั้งที่ได้รับสารควบคุม)	46.80 ± 8.38

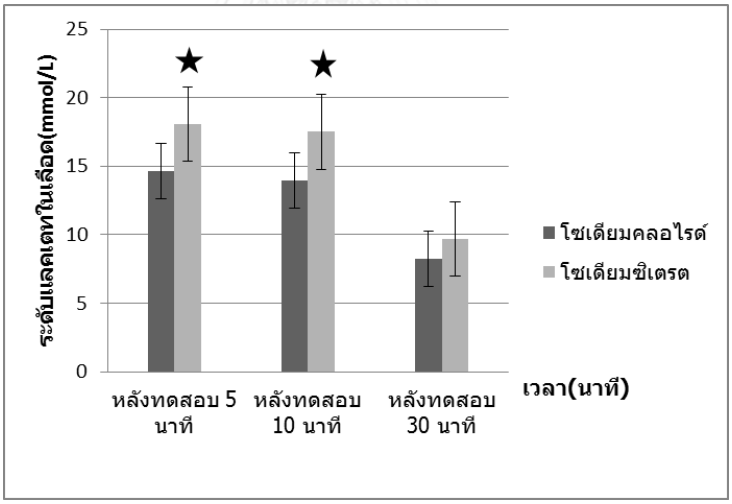
ผลของเครื่องดื่มต่อปริมาณแลคเตทในเลือดหลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง

การประเมินค่าระดับแลคเตทในเลือดในช่วงเวลาหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) (หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง) ที่เวลา 5,10 และ 30 นาที แสดงค่าระดับแลคเตทในเลือดในหน่วยมิลลิโมลต่อลิตรในตารางที่ 4 วิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับแลคเตทที่เวลาต่าง ๆ กันเปรียบเทียบระหว่างการทดสอบ 2 ครั้ง พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต มีการเปลี่ยนแปลงค่าระดับแลคเตทแตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ที่หลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) (หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง) ที่ 5,10 นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อทดสอบด้วยวิธี ANOVA with repeated measured ดังแสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 14 และเมื่อเปรียบเทียบช่วงเวลาก่อนทดสอบกับหลังทดสอบทั้ง 3 ช่วงเวลา พบว่าช่วงเวลาหลังการทดสอบที่เวลา 5,10 และ 30นาที มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับช่วงก่อนเริ่มการทดสอบทั้งสองครั้งการทดสอบ ดังแสดงในรูปที่ 15 และ 16

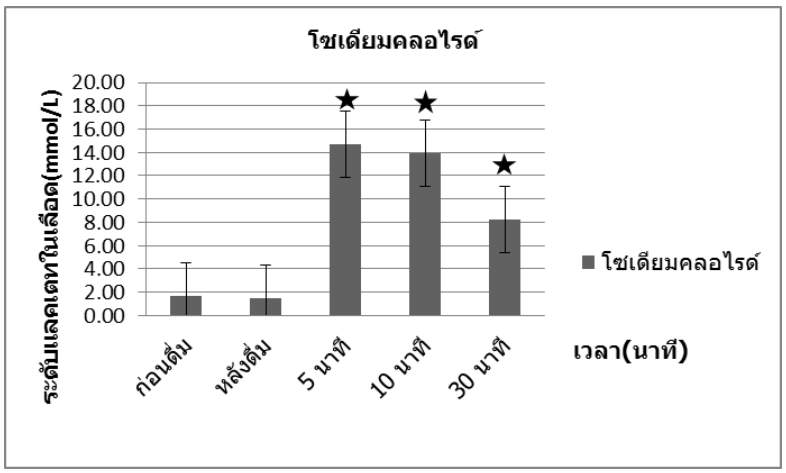
ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแลคเตทในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่มสารทดสอบ หลังดื่มสารทดสอบ สองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) (หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง) ที่เวลา 5, 10, และ 30 นาที ระหว่างครั้งที่ได้รับสารสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และครั้งที่ได้รับสารสารละลายโซเดียมซิเตรท (n=24) มีผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 24 คน (แสดงข้อมูลด้วยค่า Mean + S.D.)

รูปแบบการทดสอบ	**ปริมาณแลคเตท (mmol/L) ณ จุดเวลาที่ต่างกัน**		
	เวลาหลังการทดสอบที่		
	5 นาที	**10 นาที**	**30 นาที**
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ **กลุ่มที่ได้รับโซเดียมซิเตรต**	14.66 ± 3.04 18.10 ± 3.52	13.96 ± 3.45 17.50 ± 3.26	8.25 ± 2.87 9.68 ± 3.07
p-value	0.003*	0.003*	0.157

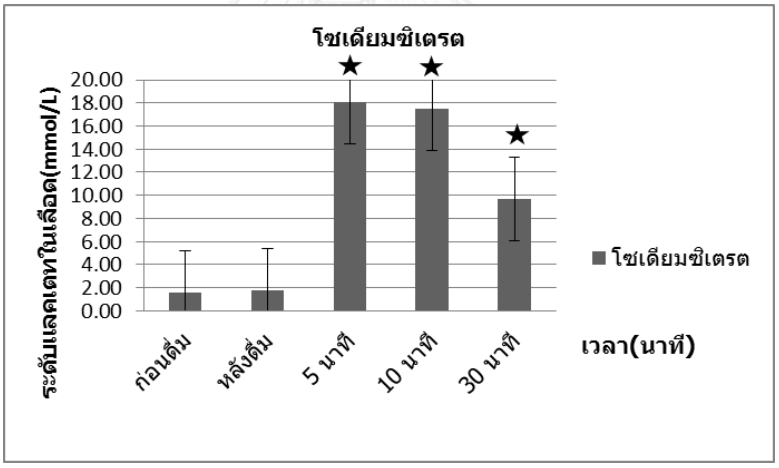
* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างครั้งการทดสอบ โดยใช้สถิติ Anova with repeated measure test ($p<0.05$)



รูปที่ 14 แสดงระดับแลคเตท ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต โดย★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$)



รูปที่ 15 แสดงระดับแลคเตทในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) โดย ★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบที่ช่วงเวลาก่อนดื่มกับช่วงเวลาต่างๆ โดยใช้สถิติ repeated measure test ($p<0.05$)



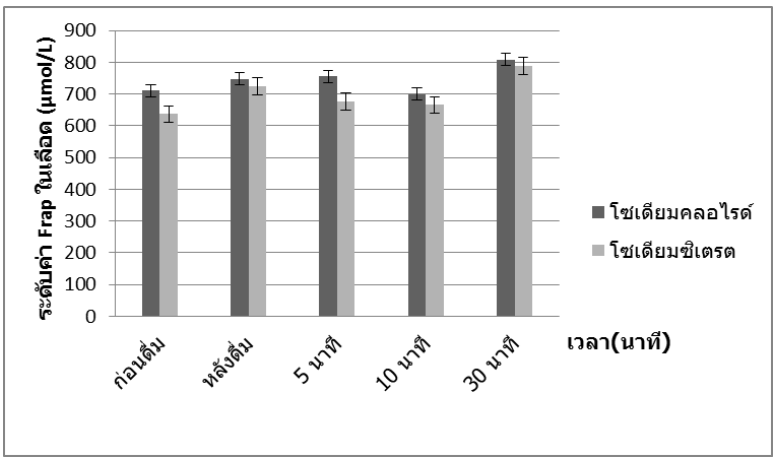
รูปที่ 16 แสดงระดับแลคเตทในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) โดย★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบที่ช่วงเวลาก่อนดื่มกับช่วงเวลาต่างๆ โดยใช้สถิติ repeated measure test ($p<0.05$)

ผลของเครื่องดื่มต่อ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดแสดงโดยวิธี FRAP หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง

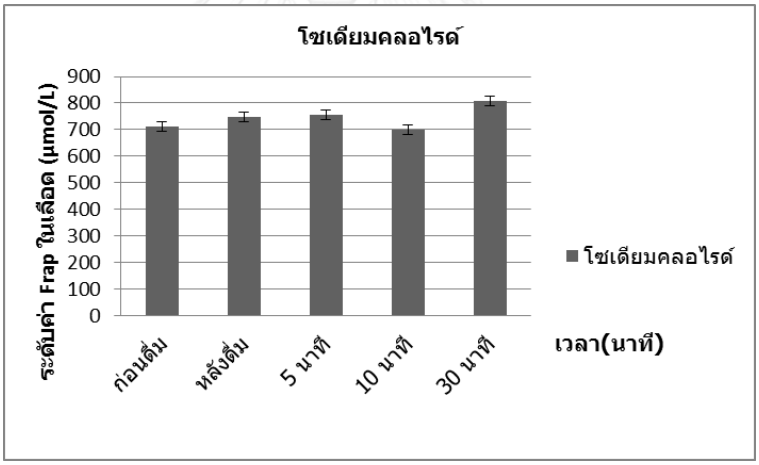
การประเมินระดับ FRAP ในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่มสารทดสอบ หลังดื่มสารทดสอบสองชั่วโมง และหลังทดสอบที่ 5, 10 และ 30 นาที แสดงค่าระดับ FRAP ในเลือดในหน่วยไมโครโมลต่อลิตรดังตารางที่ 5 และรูปที่ 17 จากการวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับ FRAP ในเลือด พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสารละลายโซเดียมซิเตรต และกลุ่มที่ได้รับสารสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ค่าระดับ FRAP ในเลือด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทดสอบด้วย ANOVA with repeated measured ทุกช่วงเวลาที่ทดสอบ และเมื่อเปรียบเทียบช่วงเวลาก่อนทดสอบกับหลังทดสอบทั้ง 3 ช่วงเวลา พบว่าช่วงเวลาหลังการทดสอบที่เวลา 5,10 และ 30 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับช่วงก่อนเริ่มการทดสอบ โดยมีค่าสูงสุดอยู่ที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบที่เวลา 30 นาที ดังแสดงในรูป 18 และ 19

ตารางที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่มสารทดสอบ หลังดื่มสารทดสอบ สองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) (หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง) ที่เวลา 5, 10, และ 30 นาที เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) มีผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 24 คน (แสดงข้อมูลด้วยค่า Mean ± S.D.)

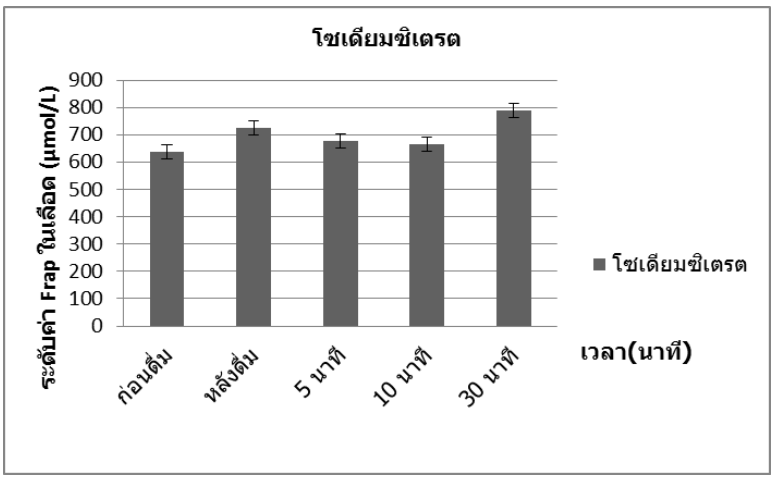
รูปแบบการทดสอบ	**ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (μmol/L) ณ จุดเวลาที่ต่างกัน**				
	ก่อนดื่ม	**หลังดื่ม 2 ชั่วโมง**	**เวลาหลังการทดสอบที่**		
			5 นาที	**10 นาที**	**30 นาที**
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ กลุ่มที่ได้รับโซเดียมซิเตรต	711.36 ± 204.65 636.34 ± 194.10	747.34 ± 212.32 724.29 ± 168.15	754.95 ± 230.93 676.68 ± 196.64	699.81 ± 212.06 665.45 ± 166.67	808.10 ± 158.45 788.53 ± 208.64
p-value	0.199	0.678	0.212	0.535	0.716



รูปที่ 17 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24)



รูปที่ 18 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24)



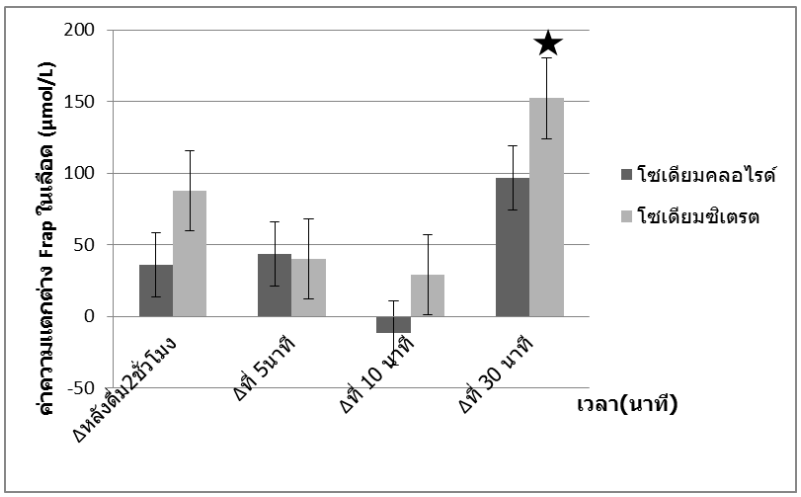
รูปที่ 19 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24)

การประเมินระดับ FRAP ในเลือดด้วยค่าความแตกต่างโดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มต่อช่วงเวลาหลังดื่มสารทดสอบสองชั่วโมง และหลังทดสอบที่ 5,10 และ 30 นาที แสดงค่าความแตกต่างระดับ FRAP ในเลือดในหน่วยไมโครโมลต่อลิตรดังตารางที่ 6 และรูปที่ 20 จากการวิเคราะห์ผลค่าความแตกต่างระดับ FRAP พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ จุดความแตกต่างที่หลังการทดสอบ 30 นาที เมื่อทดสอบด้วยวิธี ANOVA with repeated measured

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบค่าความแตกต่างปริมาณ FRAP โดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มต่อช่วงเวลาหลังดื่มสารทดสอบสองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) (หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง) ที่เวลา 5, 10, และ 30 นาที เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) มีผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 24 คน (แสดงข้อมูลด้วยค่า Mean)

รูปแบบการทดสอบ	**ค่าความแตกต่างปริมาณ FRAP (mmol/L) ณ จุดเวลาที่ต่างกัน โดยเปรียบเทียบกับก่อนดื่ม**			
	Δหลังดื่ม2ชั่วโมง	**Δที่หลังทดสอบ 5นาที**	**Δที่หลังทดสอบ 10 นาที**	**Δที่หลังทดสอบ 30 นาที**
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์	35.98	43.58	-11.55	96.74
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมซิเตรต	87.94	40.33	29.10	152.18
p-value	0.058	0.330	0.472	**0.003***

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดสอบ โดยใช้สถิติ repeated measure test ($p<0.05$)



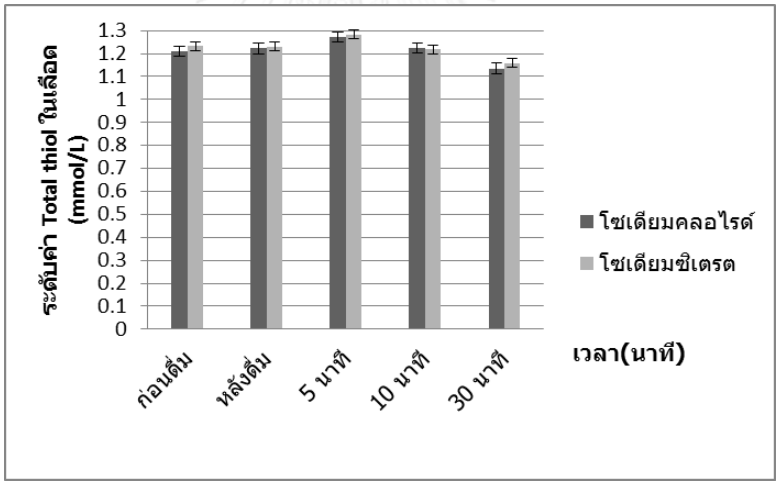
รูปที่ 20 แสดงค่าความแตกต่างระดับสารต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในเลือดโดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ โดย ★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) โดยใช้สถิติ repeated measure test ($p<0.05$)

ผลของเครื่องดื่มต่อปริมาณ Total plasma thiol หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง

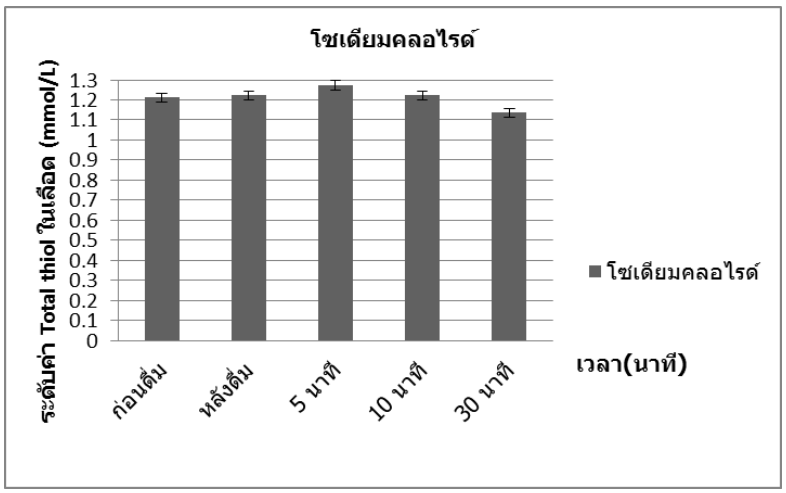
การประเมินค่าระดับ Total plasma thiol ในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่ม หลังดื่ม และหลังทดสอบที่ 5, 10 และ 30 นาที แสดงค่าระดับ Total plasma thiol ในเลือดในหน่วยมิลลิโมลต่อลิตรในตารางที่ 7 และรูปที่ 21 จากการวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับ Total plasma thiol พบว่า กลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ค่าระดับ Total plasma thiol ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วยวิธี ANOVA with repeated measured ทุกช่วงเวลาที่ 5, 10 และ 30 นาที และเมื่อเปรียบเทียบช่วงเวลาก่อนทดสอบกับหลังทดสอบทั้ง 3 ช่วงเวลา พบว่าช่วงเวลาหลังการทดสอบที่เวลา 5, 10 และ 30นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับช่วงก่อนเริ่มการทดสอบ โดยมีค่าสูงสุดอยู่ที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบที่เวลา 5 นาที และมีแนวโน้มลดลงที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบที่เวลา 10 และ 30 นาที ดังแสดงในรูป 22 และ 23

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total plasma thiol ในช่วงเวลาก่อนดื่มสารทดสอบ หลังดื่มสารทดสอบ สองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) (หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง) ที่เวลา 5, 10, และ 30 นาที เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) มีผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 24 คน (แสดงข้อมูลด้วยค่า Mean + S.D.)

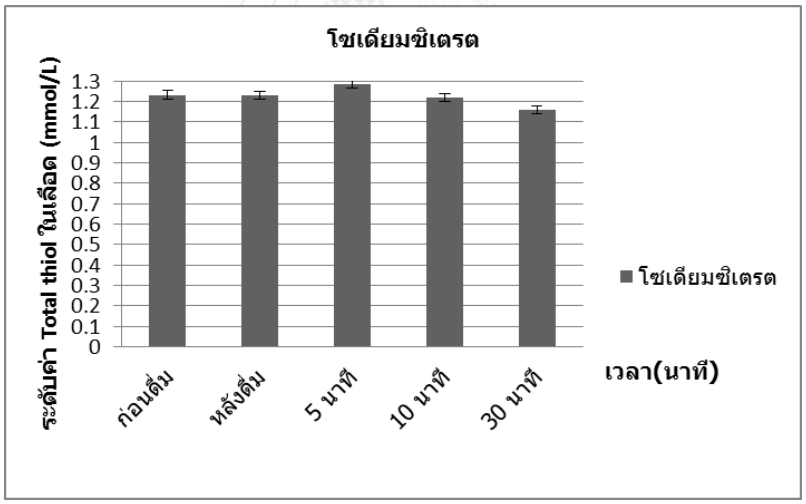
รูปแบบการทดสอบ	**ปริมาณ Total plasma thiol (mmol/L)ณ จุดเวลาที่ต่างกัน**				
	ก่อนดื่ม	**หลังดื่ม 2 ชั่วโมง**	**เวลาหลังการทดสอบที่**		
			5 นาที	**10 นาที**	**30 นาที**
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์	1.21 ± 0.15	1.22 ± 0.19	1.27 ± 0.20	1.22 ± 0.23	1.14 ± 0.21
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมซิเตรต	1.23 ± 0.19	1.23 ± 0.14	1.28 ± 0.15	1.22 ± 0.17	1.16 ± 0.17
p-value	0.673	0.859	0.843	0.934	0.668



รูปที่ 21 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรท (n = 24)



รูปที่ 22 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24)



รูปที่ 23 แสดงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดที่ช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกันภายในกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24)

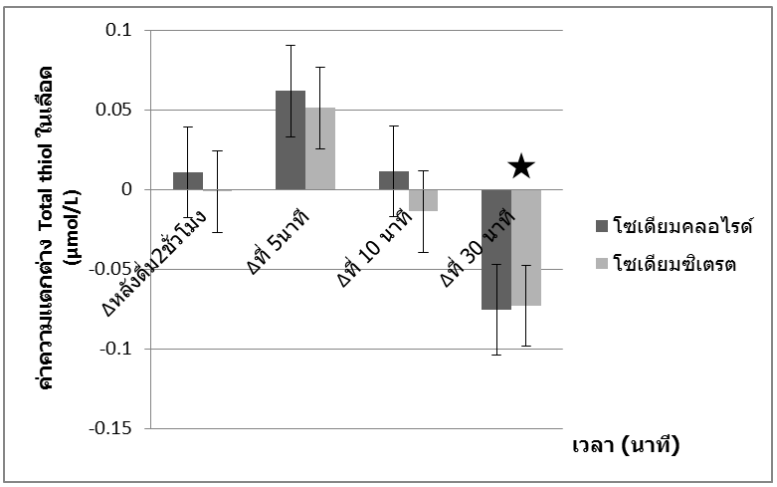
การประเมินระดับ Total plasma thiol ในเลือดด้วยค่าความแตกต่างโดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มต่อช่วงเวลาหลังดื่มสารทดสอบสองชั่วโมง และหลังทดสอบที่ 5, 10 และ 30 นาที แสดงค่าความแตกต่างระดับ Total plasma thiol ในหน่วยไมโครโมลต่อลิตรดังตารางที่ 8 และรูปที่ 24 จากการวิเคราะห์ผลค่าความแตกต่างระดับ Total plasma thiol พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตเปรียบเทียบกับครั้งที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ จุดความแตกต่างที่หลังการทดสอบ 30 นาที เมื่อทดสอบด้วยวิธี ANOVA with repeated measured

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบค่าความแตกต่างปริมาณ Total plasma thiol โดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มต่อช่วงเวลาหลังดื่มสารทดสอบสองชั่วโมง และหลังการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) (หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง) ที่เวลา 5, 10, และ 30 นาที เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) มีผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 24 คน (แสดงข้อมูลด้วยค่า Mean)

รูปแบบการทดสอบ	**ค่าความแตกต่างปริมาณ Total plasma thiol (mmol/L) ณ จุดเวลาที่ต่างกัน โดยเปรียบเทียบกับก่อนดื่ม**			
	Δหลังดื่ม2ชั่วโมง	**Δที่หลังทดสอบ 5นาที**	**Δที่หลังทดสอบ 10 นาที**	**Δที่หลังทดสอบ 30 นาที**
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์	0.0106	0.0617	0.0115	-0.0757
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมซิเตรต	-0.0015	0.0512	-0.0140	-0.0731
p-value	0.967	0.140	0.691	0.036*

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างครั้งการทดสอบ โดยใช้สถิติ repeated measure test ($p<0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

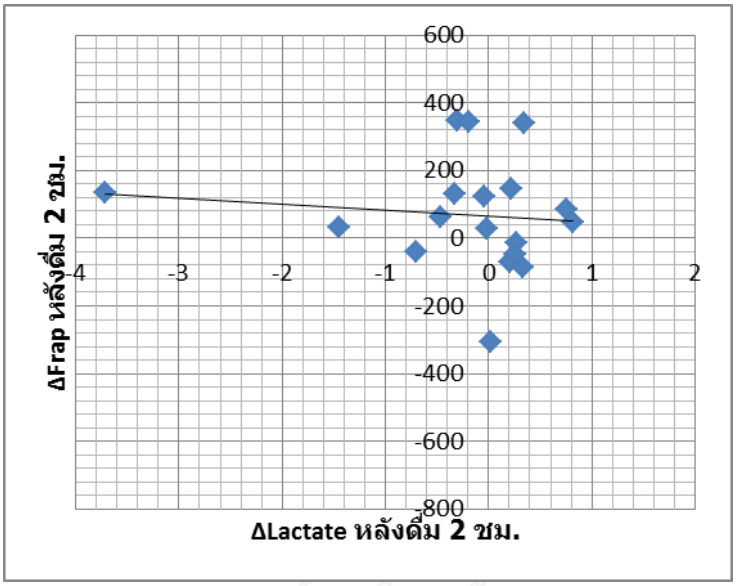


รูปที่ 24 แสดงค่าความแตกต่างระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Total plasma thiol ในเลือดโดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ โดย★ แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) โดยใช้สถิติ repeated measure test ($p < 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

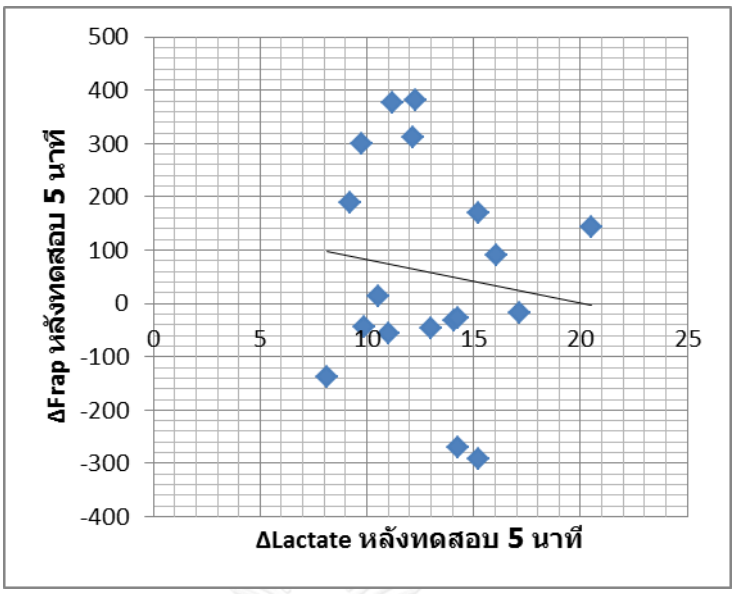
ความสัมพันธ์ระหว่างระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP

การวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตท กับค่าความแตกต่างระดับ FRAP ในเลือด โดยเทียบกับช่วงเวลาก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วย Pearson's correlation พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 25, 26, 27 และ 28)

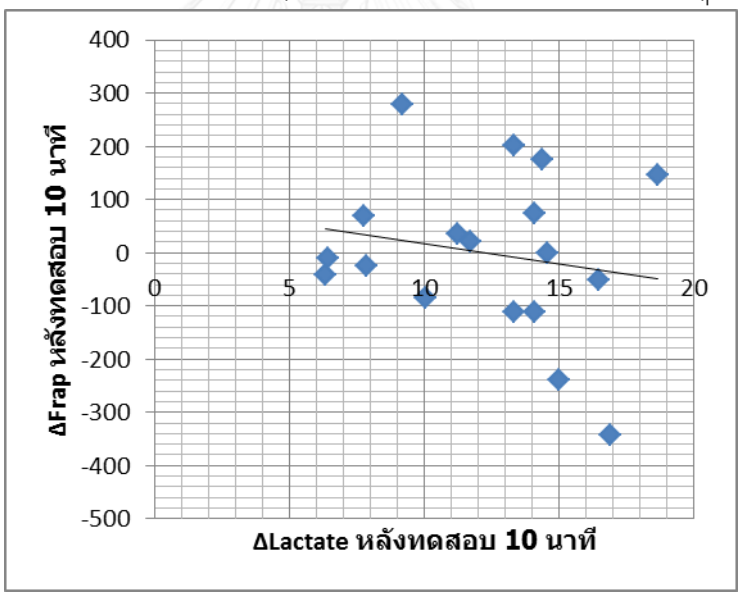


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

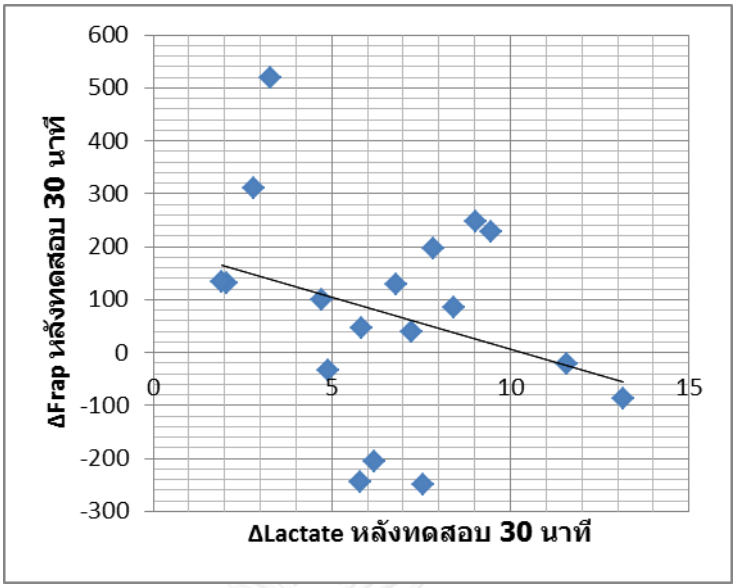
รูปที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = 0.062 (p=0.719))



รูปที่ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = -0.161 (p=0.349))



รูปที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = -0.077 (p=0.655))

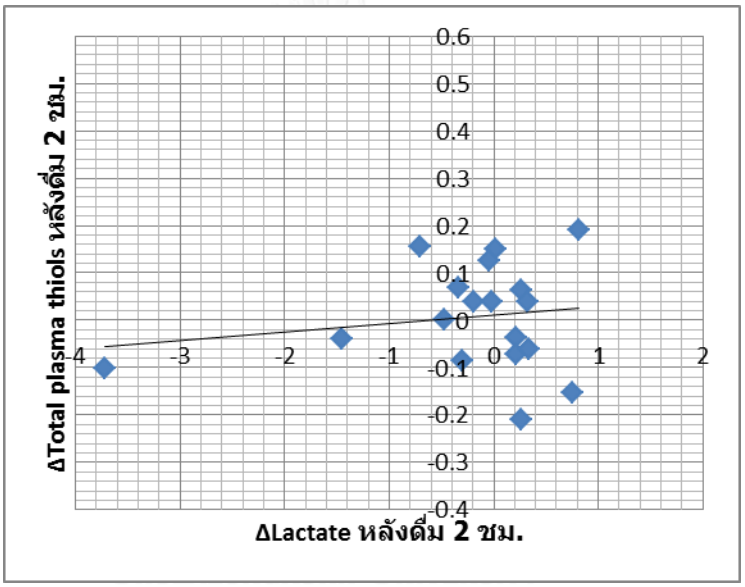


รูปที่ 28 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี FRAP ที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = -0.279 (p=0.099))

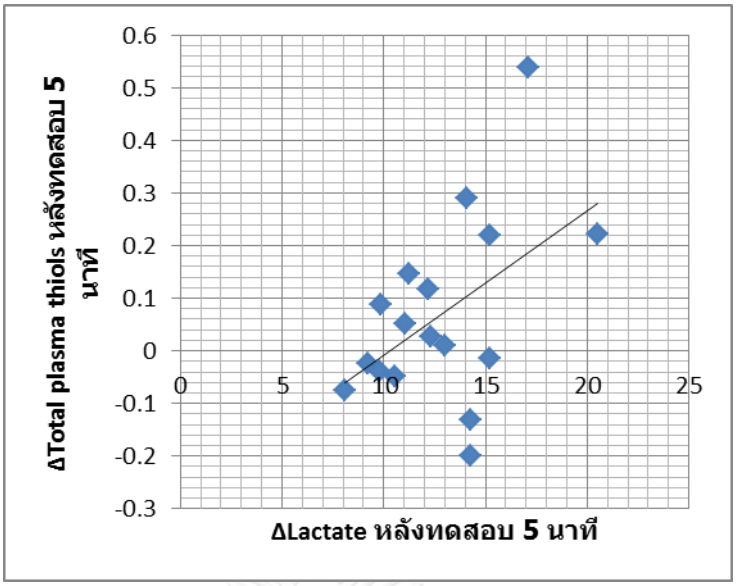
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol

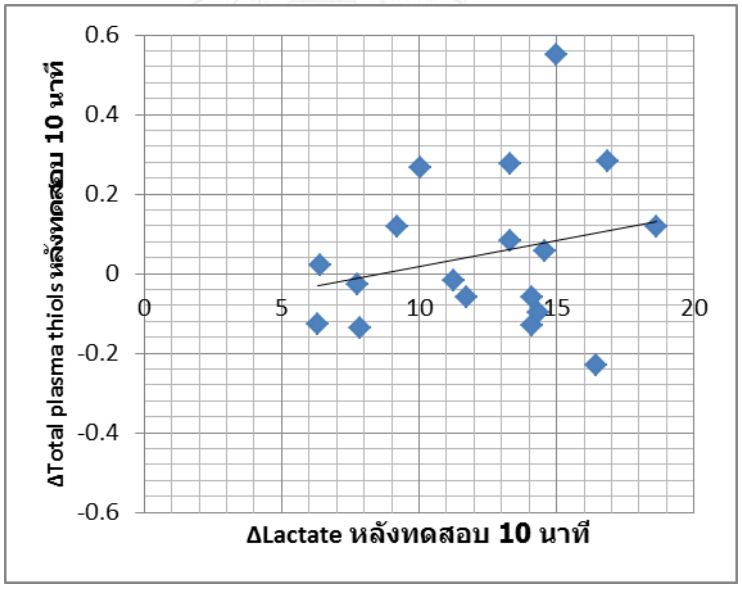
การวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตท กับค่าความแตกต่างระดับ Total plasma thiol โดยเทียบกับช่วงเวลาก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วย Pearson's correlation (รูปที่ 4.16, 4.17, 4.18, 4.19) พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่าความแตกต่างระดับแลคเตทและระดับ Total plasma thiol ที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบ 5 นาที โดยมีค่าความสัมพันธ์เท่ากับ 0.365 (p = 0.029)



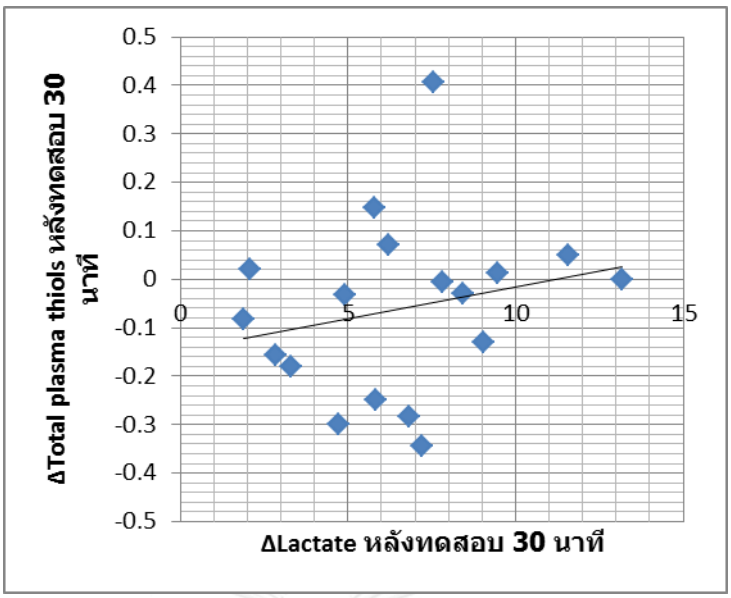
รูปที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังดื่ม 2 ชั่วโมง วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = 0.229 (p=0.179))



รูปที่ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังการทดสอบ 5 นาที วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = 0.365 (p=0.029))



รูปที่ 31 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังการทดสอบ 10 นาที วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = 0.276 (p=0.103))



รูปที่ 32 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างระดับแลคเตทที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที และค่าความแตกต่างระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดโดยวิธี Total plasma thiol ที่เวลาหลังการทดสอบ 30 นาที วิเคราะห์โดยวิธี Pearson's correlation (Correlation coefficient = 0.189 (p=0.271))

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลของเครื่องดื่มต่อ Time to exhaustion ในการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max)

การประเมินค่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบเหนื่อยจนทนไม่ไหว โดยแสดงค่าเวลาที่ใช้ในแต่ละการทดสอบในหน่วยวินาทีดังตารางที่ 9 จากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม การเปลี่ยนแปลงของค่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบ หรือ time to exhaustion พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตและกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ค่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบเหนื่อยจนทนไม่ไหวมีค่าต่างกันเท่ากับ 6.70 ± 7.61 วินาที โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยวิธี paired –t-test

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงเวลาเหนื่อยจนทนไม่ไหว (Time to exhaustion) ที่ใช้ในการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (n = 24) และครั้งที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต (n = 24) มีผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 24 คน

รูปแบบการทดสอบ	**เวลาที่ใช้ (วินาที)**	**p-value**
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ **กลุ่มที่ได้รับโซเดียมซิเตรต**	690.63 ± 103.60 697.33 ± 111.21	0.83

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

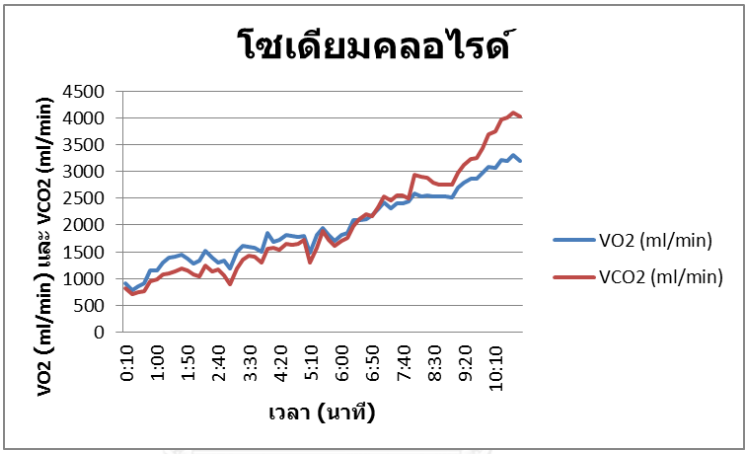
ผลของเครื่องดื่มต่อ Ventilatory threshold ในการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max)

การประเมินค่า Ventilatory threshold จากการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจน ซึ่งได้จากจุดตัดเส้นกราฟระหว่างค่า VCO2 กับ VO2 ต่อแกนเวลาที่ทำการทดสอบ (รูปที่ 33 และ 34) โดยแสดงค่าเปรียบเทียบในหน่วยวินาที ดังตารางที่ 10 จากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารควบคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) และกลุ่มที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรต) พบว่า กลุ่มที่ได้สารทดลองเกิด Ventilatory threshold ขณะทดสอบช้ากว่ากลุ่มที่ได้สารควบคุม โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยวิธี paired –t-test

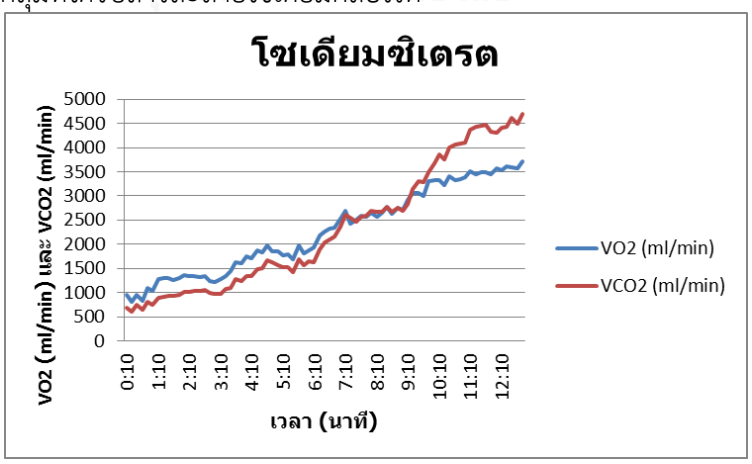
ตารางที่ 10 ค่า Ventilatory threshold จากการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต มีผู้เข้าร่วมวิจัยจำนวน 24 คน

รูปแบบการทดสอบ	เวลาที่เกิด Ventilatory threshold (วินาที)	p-value
กลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ **กลุ่มที่ได้รับโซเดียมซิเตรต**	514.50 ± 130.72 536.00 ± 138.85	0.049

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดสอบโดยใช้สถิติ paired - t-test ($p<0.05$)



รูปที่ 33 กราฟแสดงค่า VCO2 และ VO2 ต่อเวลา (นาที) โดยแสดงจุดตัดซึ่งเป็นค่า Ventilatory threshold ของกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์



รูปที่ 34 กราฟแสดงค่า VCO2 และ VO2 ต่อเวลา (นาที) โดยแสดงจุดตัดซึ่งเป็นค่า Ventilatory threshold ของกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาในผู้เข้าร่วมการวิจัยเพศชายจำนวน 24 รายที่มีอายุระหว่าง 18 ถึง 30 ปีเป็นการศึกษาเชิงทดลอง แบบ cross over design เพื่อศึกษาผลของการดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรตต่อระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง โดยผู้เข้าร่วมการวิจัยทั้งหมดจะได้รับการทดสอบทั้งหมด 2 ครั้งคือ ครั้งควบคุมดื่มเครื่องดื่มผสมโซเดียมคลอไรด์ และครั้งทดลองดื่มเครื่องดื่มผสมโซเดียมซิเตรต โดยแต่ละครั้งมีช่วงพักห่างกันอย่างน้อย 7 วัน เพื่อให้การทดสอบในครั้งแรกไม่มีผลกระทบกับครั้งที่สอง และแต่ละครั้งของการทดสอบจะมีการเก็บตัวอย่างเลือดทั้งหมด 5 ครั้งคือ ก่อนดื่มเครื่องดื่ม หลังดื่มเครื่องดื่มสองชั่วโมง หลังทำการทดสอบด้วยการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรงที่เวลา 5, 10, และ 30 นาที เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีในเลือด คือ ระดับแลคเตท ระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในรูปของ Frap และ Total plasma thiol

สรุปผลการวิจัย

การเปรียบเทียบผลของการรับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรตจำนวน 0.05กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวในสารละลาย 1,500 มล.) กับสารควบคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์ จำนวน 0.045 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ในสารละลาย 1,500 มล.) ต่อการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรงด้วยการทดสอบประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย (VO_2max) พบว่า

1. ระดับแลคเตทในเลือดมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง และระหว่างทั้งสองกลุ่มการทดสอบ ที่จุดเวลาหลังการทดสอบนาทีที่ 5 และนาทีที่ 10

2. ระดับภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือด (FRAP และ Total plasma thiol) เมื่อเปรียบเทียบกันที่ทุกช่วงเวลา พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. เวลาที่สามารถออกกำลังกายได้จนหมดแรง (Time to exhaustion) พบว่า การทดสอบกลุ่มที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรท) มีแนวโน้มทำการทดสอบได้ยาวนานขึ้น คือ ทำเวลาได้นานขึ้น 6.71 ± 7.61 วินาที

4. ค่า Ventilatory threshold จากการทดสอบหาประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจน ซึ่งได้จากจุดตัดเส้นกราฟระหว่างค่า VCO2 กับ VO2 ต่อแกนเวลาที่ทำการทดสอบ โดยแสดงค่าเปรียบเทียบในหน่วยวินาที พบว่า กลุ่มที่ได้สารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรต)เกิด Ventilatory threshold ขณะทดสอบช้ากว่ากลุ่มที่ได้สารควบคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยวิธี paired - t-test

อภิปรายผลการวิจัย

การประเมินค่าระดับแลคเตทในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่ม หลังดื่ม และหลังทดสอบที่ 5, 10, และ 30 นาที วิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับแลคเตทด้วยค่าเฉลี่ยหน่วยเป็นมิลลิโมลต่อลิตร พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรต) มีค่าระดับแลคเตทแตกต่างกับครั้งที่ได้รับสารควมคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) ที่ช่วงเวลาหลังดื่มสองชั่วโมงและหลังทดสอบที่ 5,10 นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ข้อมูลที่ได้จากการศึกษามีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ V Oo¨pik และคณะ(2004)[6] ได้ทำการศึกษาผลของการดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรตกับสารควบคุมต่อเวลาที่ใช้ในการวิ่ง 5 กิโลเมตร และวัดเปรียบเทียบระดับค่าแลคเตทในเลือด พบว่าระดับค่าแลคเตทในเลือดหลังการทดสอบที่ 5 นาทีของครั้งการดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรตมีค่ามากกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับครั้งการดื่มสารควบคุม (สารควบคุมและสารละลายโซเดียมซิเตรต 9.8 ± 2.8 mmol/L และ 11.9 ± 3.0 mmol/L ตามลำดับ) เนื่องจากโซเดียมซิเตรตทำหน้าที่ในการลดความเข้มข้นปริมาณ H^+ จึงทำให้เกิดอาการล้าของกล้ามเนื้อช้าลง ร่างกายจึงรักษาประสิทธิภาพสูงสุดไว้ได้นานกว่า

การประเมินค่าระดับสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด FRAP ช่วงเวลาก่อนดื่ม หลังดื่ม และหลังทดสอบที่ 5,10 และ 30 นาที วิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับ FRAP ด้วยค่าเฉลี่ยหน่วยเป็นไมโครโมลต่อลิตร พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรต) และกลุ่มที่ได้รับสารควมคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) มีค่าระดับ FRAP ลดลงเล็กน้อยหลังการทดสอบ 5 นาที และเพิ่มขึ้นที่หลังการทดสอบ 30 นาที โดยไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับ Frap ของทั้งสองกลุ่มการทดสอบ แต่เมื่อนำค่าความแตกต่างของระดับค่า FRAP โดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มสารละลายที่ช่วงเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์ พบว่าค่าความแตกต่างของระดับค่า FRAP หลังการทดสอบที่ 30 นาทีของกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.003$) ซึ่งสอดคล้องกับกับงานวิจัยของ Steven R. McAnulty และคณะ(2005)[30] ได้ศึกษาผลของการรับประทานวิตามินอีต่อการเกิด oxidative stress จากการแข่งขันไตรกีฬา โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับ FRAP พบว่าระดับค่าสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด FRAP หลังการ

แข่งขัน 1.5 ชั่วโมง มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารหลอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าระดับ FRAP เปลี่ยนแปลงเกิดจากระดับวิตามินซีและกรดยูริคถูกปล่อยเข้ากระแสเลือด ตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของกระบวนการ oxidative stress ซึ่งกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต มีการเพิ่มขึ้นของระดับค่า FRAP มากกว่าเนื่องจาก โซเดียมซิเตรตได้เข้าไปช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ภาวะต้านอนุมูลอิสระในร่างกายจึงคงเหลือมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์

การประเมินค่าระดับ Total plasma thiol ในเลือดในช่วงเวลาก่อนดื่ม หลังดื่ม และหลังทดสอบที่ 5,10 และ 30 นาที วิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงของค่าระดับ Total plasma thiol ด้วยค่าเฉลี่ยหน่วยมิลลิโมลต่อลิตร พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรต) และกลุ่มที่ได้รับสารควมคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) ค่าระดับ Total plasma thiol ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทุกช่วงเวลา และทั้งสองกลุ่มการทดสอบมีระดับ Total plasma thiol เพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบ 5 นาที และลดลงต่ำสุดที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบ 30 นาที แต่เมื่อนำค่าความแตกต่างของระดับค่า Total plasma thiol โดยเทียบกับช่วงก่อนดื่มสารละลาย ที่ช่วงเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์ พบว่าค่าความแตกต่างของระดับค่า Total plasma thiol หลังการทดสอบที่ 30 ของกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.036$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Agnieszka Zembron-Lacny และคณะ(2009)[22] ที่พบว่าระดับ Total plasma thiol มีค่าสูงสุดหลังทำการทดสอบทันทีและมีค่าลดลงกลับสู่ภาวะปกติภายใน 24 ชั่วโมง โดย protein thiol สามารถทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ถึง 50-70% ของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในช่วงแรก และค่า Total plasma thiol ที่ลดลงเนื่องจากสัดส่วนของอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากับไขมันเพิ่มขึ้น[31] การทำงานของ Total plasma thiol จึงลดบทบาทลง โดยกลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตมีค่าความแตกต่างของระดับค่า Total plasma thiol ลดน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ จึงหมายถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระถูกนำมาใช้น้อยกว่า เนื่องจากมีสารละลายโซเดียมซิเตรตเป็นตัวช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระ

การประเมินความสัมพันธ์ระหว่างค่าระดับแลคเตทในเลือดและระดับค่าภาวะสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด FRAP จากค่าความแตกต่างระดับค่า FRAP ในเลือด โดยเทียบกับช่วงเวลาก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกช่วงเวลา ส่วนการประเมิณความสัมพันธ์ระหว่างค่าระดับแลคเตทในเลือดและระดับ Total plasma thiol โดยใช้ค่าความแตกต่างระดับค่า Total plasma thiol โดยเทียบกับช่วงเวลาก่อนดื่มกับที่ช่วงเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ พบว่าค่าความแตกต่างของระดับแลคเตท และ Total plasma thiol ที่ช่วงเวลาหลังการทดสอบ 5 นาที มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.029$) และมีค่าความสัมพันธ์เชิงบวกเท่ากับ 0.365 อันเนื่องมาจากขณะที่ร่างกายมีการใช้พลังงาน

จากกระบวนการ glycolysis มากขึ้น ทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดมากขึ้น ซึ่งสนับสนุน superoxide ในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่น[4] และเกิด hyperoxide โดยจะไปทำปฏิกิริยากับเซลล์โปรตีน ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม thiol ถูกปล่อยออกมาเพิ่ม เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เช่นเดียวกับการเพิ่มระดับแลคเตทในเลือดซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ glycolysis จึงทำให้ค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับแลคเตทในเลือดและ Total plasma thiol ที่ได้เป็นไปในทิศทางบวก

การประเมินค่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบตั้งแต่เริ่มกระทั่งเหนื่อยจนทนไม่ไหว วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบด้วยค่าเฉลี่ยหน่วยเป็นวินาที พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรต) และกลุ่มที่ได้รับสารควมคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) ค่าเวลาที่ใช้ในการทดสอบกระทั่งเหนื่อยจนทนไม่ไหว พบว่า สามารถทำได้นานขึ้น 6.70 ± 7.61 วินาที แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ ผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับ V Oo¨pik และคณะ(2002)[6] โดยพบว่ากลุ่มการทดสอบที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรต ใช้เวลาในการวิ่งด้วยระยะทาง 5 กิโลเมตรน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสารควบคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์และสารละลายโซเดียมซิเตรต 1183.8 ± 91.4 วินาที และ 1153.2 ± 74.1 วินาที ตามลำดับ) โดยสารละลายโซเดียมซิเตรตที่รับเข้า ทำหน้าที่เป็น buffer ลดภาวะความเป็นกรดทำให้กล้ามเนื้อสามารถใช้พลังงานจากกระบวน glycolysis ได้มากขึ้น ผลคือมีความทนทานมากขึ้น ชะลอการล้าของกล้ามเนื้อ คงประสิทธิภาพทางกายสุงสุดไว้ได้นานกว่า

การประเมินค่า Vetilatory threshold เพื่อวิเคราะห์ความสามารถการเป็น alkalinization ของกลุ่มที่ได้รับสารทดลอง (สารละลายโซเดียมซิเตรต) และกลุ่มที่ได้รับสารควมคุม (สารละลายโซเดียมคลอไรด์) พบว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตมีช่วงเวลาก่อนการเกิด Ventilatory threshold มากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (สารละลายโซเดียมคลอไรด์และสารละลายโซเดียมซิเตรต 515 วินาที และ 536 วินาที ตามลำดับ) เนื่องจากโซเดียมซิเตรตเข้าไปช่วยลดความเข้มข้นของ H^+ ก่อนในช่วงแรก จึงชะลอการทำงานของระบบบัฟเฟอร์โดย HCO_3^- ซึ่งมีผลิตภัณฑ์เป็น CO_2 ถูกระบายออกมาได้ช้ากว่า เวลาที่เกิด Ventilatory threshold จึงช้ากว่ากลุ่มที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์[32]

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมสารละลายโซเดียมซิเตรต (sodium citrate) 2 ชั่วโมงก่อนการออกกำลังอย่างหนักจนหมดแรง มีข้อจำกัดในเรื่องของการได้รับผลข้างเคียงจากการรับประทานสารละลายโซเดียมซิเตรตคือ อาการท้องเสีย แต่แสดงให้พบเพียงบางรายเท่านั้น ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้าได้มีการระบุผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นและปริมาณที่เหมาะสมคือ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ทำให้เกิดผลข้างเคียงน้อยที่สุดและมีประสิทธิภาพมากที่สุด ต่อการลดภาวการณ์คั่งของกรดแลคติคทำให้ร่างกายเกิดการทำงานของกระบวนการ Glycolysis มาเป็นพลังงานได้นานขึ้น มี

การทนต่อการล้าของกล้ามเนื้อได้นานขึ้น และลดภาวะการเกิด oxidative stress ที่มีผลในการลดประสิทธิภาพทางกาย ดังนั้นจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการได้รับสารละลายโซเดียมซิเตรตมีแนวโน้มที่จะช่วยลดการเกิดภาวะ oxidative stress และช่วยคงประสิทธิภาพสูงสุดของร่างกายไว้ได้นานกว่า

ข้อจำกัดในงานวิจัย

1. ผู้วิจัยไม่สามารถควบคุมการทำกิจกรรม หรือกิจวัตรประจำวันของผู้เข้าร่วมการวิจัยได้ทั้งหมด

2. การวัดผลการทดสอบอาจมีความลำเอียงของผู้วิเข้าร่วมวิจัย แต่ได้ทำการกระตุ้นและเชียร์ขณะผู้เข้าร่วมการวิจัยทำการทดสอบในทุกครั้งๆ เหมือนกันจนกระทั่งผู้เข้าร่วมวิจัยขอหยุดทำการทดสอบเองในแต่ละครั้ง จึงลดอคติหรือความลำเอียงลงได้

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดเนื่องจากการคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยการคำนวณจากผลการเปลี่ยนแปลงของระดับ lactate ในเลือดจากการดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรต ทำให้เห็นผลการเปลี่ยนแปลงของภาวะต้านอนุมูลอิสระไม่ชัดเจน การศึกษาต่อไปควรนำผลจากการศึกษานี้ไปคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างเพื่อให้ผลที่ชัดเจนและน่าเชื่อถือมากขึ้น

2. การศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ขนาดของสารละลายโซเดียมซิเตรตตามคำแนะนำโดยอ้างอิงจากงานศึกษาที่ผ่านมา พบว่าผู้เข้าร่วมการวิจัยมีอาการท้องเสียเมื่อได้รับสารทดลองที่มีส่วนผสมของสารละลายโซเดียมซิเตรต อาจเพราะเนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาได้ทำการทดลองในผู้เข้าร่วมการวิจัยที่ไม่ใช่คนไทย การศึกษาครั้งต่อไปจึงควรหาปริมาณโซเดียมซิเตรตที่เหมาะสมกับคนไทยเพื่อป้องกันการเกิดผลข้างเคียงและเพิ่มประสิทธิภาพทางกายได้ดีที่สุด

รายการอ้างอิง

1. Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology. 2004;287(3):R502-16.

2. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. Physiological reviews. 2008;88(4):1243-76.

3. McArdle WD KF, Katch VL. Exercise Physiology: Energy, Nutrtion and Human Performance. Lippincott Williams&Wilki. 2007:896.

4. Siesjo BK, Bendek G, Koide T, Westerberg E, Wieloch T. Influence of acidosis on lipid peroxidation in brain tissues in vitro. Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism. 1985;5(2):253-8.

5. Deaton CM, Marlin DJ. Exercise-associated oxidative stress. Clinical Techniques in Equine Practice. 2003;2(3):278-91.

6. Oopik V, Saaremets I, Timpmann S, Medijainen L, Karelson K. Effects of acute ingestion of sodium citrate on metabolism and 5-km running performance: a field study. Canadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie appliquee. 2004;29(6):691-703.

7. Kowalchuk JM, Maltais SA, Yamaji K, Hughson RL. The effect of citrate loading on exercise performance, acid-base balance and metabolism. European journal of applied physiology and occupational physiology. 1989;58(8):858-64.

8. Requena B, Zabala M, Padial P, Feriche B. Sodium bicarbonate and sodium citrate: ergogenic aids? Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association. 2005;19(1):213-24.

9. นคร พรณ. สรีรวิทยาของการออกกำลังกาย 2013. Available from: http://med.md.kku.ac.th/site_data/mykku_med/701000019/Health&Sports/Exercise_physiology.pdf.

10. McNaughton LR. Sodium citrate and anaerobic performance: implications of dosage. European journal of applied physiology and occupational physiology. 1990;61(5-6):392-7.

11. BJC. RJB. Relationship Between Blood Lactate and Oxidative Stress Biomarkers Following Acute Exercise. Open Sports Med J. 2009;3:44–8.

12. Cheetham ME, Boobis LH, Brooks S, Williams C. Human muscle metabolism during sprint running. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985). 1986;61(1):54-60.

13. Ashton T, Young IS, Peters JR, Jones E, Jackson SK, Davies B, et al. Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985). 1999;87(6):2032-6.

14. Bloomer RJ. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. Advances in clinical chemistry. 2008;46:1-50.

15. Ji LL. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. Free radical biology & medicine. 1995;18(6):1079-86.

16. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology. 2003;189(1-2):41-54.

17. Lukaski HC. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif). 2004;20(7-8):632-44.

18. Louis J, Hausswirth C, Bieuzen F, Brisswalter J. Vitamin and mineral supplementation effect on muscular activity and cycling efficiency in master athletes. Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme. 2010;35(3):251-60.

19. Bryer SC, Goldfarb AH. Effect of high dose vitamin C supplementation on muscle soreness, damage, function, and oxidative stress to eccentric exercise. International journal of sport nutrition and exercise metabolism. 2006;16(3):270-80.

20. Thompson D, Williams C, Garcia-Roves P, McGregor SJ, McArdle F, Jackson MJ. Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. European journal of applied physiology. 2003;89(3-4):393-400.

21. Inayama T KM, Oka J, Higuchi M, Umegaki K, Saito M. Physical Exercise Induces Oxidation of Plasma Protein Thiols to Cysteine Mixed Disulfides in Humans. J Health Sci. 2002;48(5):399-403.

22. Zembron-Lacny A, Ostapiuk J, Szyszka K. Effects of sulphur-containing compounds on plasma redox status in muscle-damaging exercise. The Chinese journal of physiology. 2009;52(5):289-94.

23. McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Utter AC, Dumke CL. Effect of resistance exercise and carbohydrate ingestion on oxidative stress. Free radical research. 2005;39(11):1219-24.

24. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. Dynamic medicine : DM. 2009;8:1.

25. Matuszczak Y, Farid M, Jones J, Lansdowne S, Smith MA, Taylor AA, et al. Effects of N-acetylcysteine on glutathione oxidation and fatigue during handgrip exercise. Muscle & nerve. 2005;32(5):633-8.

26. Gebicki JM, Bielski BHJ. Comparison of the capacities of the perhydroxyl and the superoxide radicals to initiate chain oxidation of linoleic acid. Journal of the American Chemical Society. 1981;103(23):7020-2.

27. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. The Biochemical journal. 1984;219(1):1-14.

28. Aisen P. Some Physicochemical Aspects of Iron Metabolism. Ciba Foundation Symposium 51 - Iron Metabolism: John Wiley & Sons, Ltd.; 2008. p. 1-18.

29. Paques EP, Paques A, Crichton RR. A kinetic study of the mechanism of ferritin formation: the effects of buffer, of pH, and of the iron content of the molecule. Journal of Molecular Catalysis. 1979;5(5):363-75.

30. McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Shooter LA, Holmes S, et al. Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. The Journal of nutritional biochemistry. 2005;16(9):530-7.

31. Prakash M SM, Tilak P, Anwar N. Total Thiols: Biomedical Importance And Their Alteration In Various Disorders. Online J Health Allied Scs. 2009;8(2):2.

32. Farrell PA, Wilmore JH, Coyle EF, Billing JE, Costill DL. Plasma lactate accumulation and distance running performance. Medicine and science in sports. 1979;11(4):338-44.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

เอกสารชี้แจง/คำแนะนำผู้เข้าร่วมโครงการ

ชื่อโครงการวิจัย ผลของการใช้โซเดียมซิเตรตต่อระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง

ผู้สนับสนุนการวิจัย ทุนอุดหนุนวิจัยบัณฑิตศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นิสิตผู้ทำวิจัย

ชื่อ นาย ศาศวัต สุนทรกิติ

ที่อยู่ 67/126 ถนนเพชรเกษม ซอยเพชรเกษม 55/2 แขวงหลักสอง เขตบางแค กรุงเทพมหานคร 10160

เบอร์โทรศัพท์ 084-3615168, 02-4545590

อาจารย์ที่ปรึกษา

ชื่อ รศ. ดร. วิไล อโนมะศิริ

ที่อยู่ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-256-4482

แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ รศ. นพ. สมพล สงวนรังศิริกุล

ที่อยู่ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-256-4267

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากเป็นประชากรที่มีสุขภาพดี และไม่ได้รับประทานอาหารเสริม ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของนิสิตผู้ทำวิจัย หรือนิสิตผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

<u>เหตุผลความเป็นมา</u>

เนื่องจากปัจจุบันการออกกำลังกายเป็นกิจกรรมทางกายที่ได้รับความสนใจ อันเนื่องมาจากความหลากหลายของรูปแบบในการออกกำลังกายที่มีให้เลือก และประโยชน์ที่ได้รับ เช่น กล้ามเนื้อแข็งแรงขึ้น เพิ่มความยืดหยุ่น ระบบไหลเวียนโลหิตที่ดีขึ้น ลดความอ้วน ชะลอวัย เพิ่มภูมิคุ้มกัน และส่งเสริมบุคลิกภาพให้ดียิ่งขึ้น เป็นต้น จึงเป็นที่นิยมของคนทุกเพศทุกวัย แต่นอกจากผลดีที่ได้นั้น การออกกำลังกายหนักมากเกินอาจก่อให้เกิดภาวะที่ไม่ดีขึ้นได้ เช่น การคั่งของกรดแลคติก (lactic acid) และภาวะออกซิเดทีฟสเตรส (oxidative stress)

ในขณะออกกำลังกายร่างกายจะใช้พลังงานจากสองแหล่งคือ พลังงานจากกระบวนการสลายพลังงานที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic metabolism) และกระบวนการสลายพลังงานที่ใช้ออกซิเจน (aerobic metabolism) โดยในช่วง 3-4 นาทีแรกของการออกกำลังกายนั้นจะใช้พลังงานจากกระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจน และต่อด้วยการใช้พลังงานจากกระบวนการที่ใช้ออกซิเจน แต่เมื่อมีการออกกำลังกายนานขึ้น และความหนักมากขึ้น ร่างกายต้องการพลังงานเพื่อนำมาใช้ในการทำงานของกล้ามเนื้อมากขึ้นเช่นกัน แต่ออกซิเจนที่เข้าไปในระบบเผาผลาญพลังงานนั้นไม่สามารถสนับสนุนการให้พลังงานได้พอเพียงกับความต้องการของเซลล์กล้ามเนื้อในการหดตัวได้ ดังนั้นร่างกายจึงกลับไปใช้พลังงานจากกระบวนการเผาผลาญพลังงานที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งนำมาใช้ได้รวดเร็วกว่า

โดยกระบวนการเผาผลาญพลังงานที่ไม่ใช้ออกซิเจน นอกจากสามารถทำให้เกิดพลังงานเอทีพี (ATP) แล้วยังให้ผลิตภัณฑ์อื่นด้วย คือ กรดแลคติก ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้กล้ามเนื้อเกิดอาการล้า ปวด และประสิทธิภาพการทำงานของกล้ามเนื้อลดลง โดยตรวจพบการคั่งของกรดแลคติกได้จากระดับแลคเตท (lactate) ในเลือดมากขึ้น นอกจากนั้นการคั่งของกรดแลคติก ยังเป็นสาเหตุในการสนับสนุนการเกิดกระบวนการออกซิเดทีฟสเตรสด้วย (Oxidative stress)

ออกซิเดทีฟสเตรส หมายถึง อนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ และขณะใช้พลังงานจากกระบวนการสลายพลังงานใช้ออกซิเจน โดยปกติจะมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น แต่ในสภาวะที่มีการทำงานของเซลล์จนเกิดอนุมูลอิสระจำนวนมาก เกินกว่าที่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ไม่เพียงพอต่อการกำจัดและป้องกัน ทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไปทำปฏิกิริยาและสร้างความเสียหายต่อไขมัน โปรตีน และดีเอน

เอ โดยเมื่อเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรส การทำงานของกล้ามเนื้อจะลดลงเนื้อจากเกิดการรบกวนการสร้างพลังงานเอทีพี รวมถึงการจับตัวกันของเซลล์กล้ามเนื้อ

จากข้อมูลข้างต้นทำให้ทราบว่า การออกกำลังกายอย่างหนักจะทำให้เกิดการคั่งของกรดแลคติกและกระบวนการออกซิเดทีฟสเตรส แต่เราสามารถป้องกันไม่ให้เกิดภาวะเหล่านี้ได้ ด้วยการฝึกหรือออกกำลังกายที่ความหนักระดับที่ไม่เหนื่อยเกินไปหรือรับประทานอาหารเสริม เช่น โซเดียมซิเตรต (sodium citrate)

โซเดียมซิเตรตนิยมนำมาศึกษาถึงประสิทธิภาพในการช่วยให้ทนต่อการคั่งของกรดแลคติก ที่เกิดจากการออกกำลังกาย ทำให้ร่างกายมีความล้าช้าลง แต่ยังไม่มีงานศึกษาเกี่ยวกับผลของโซเดียมซิเตรตต่อออกซิเดทีฟสเตรตและแลคเตทในเลือดร่วมกันภายหลังการออกกำลังกาย ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงได้สนใจการศึกษาผลของการให้สารละลายโซเดียมซิเตรต ก่อนการออกกำลังกายต่อระดับแลคเตทและภาวะสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด หลังจากออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง เพื่อเป็นตัวเลือกในการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อประสิทธิภาพในการออกกำลังกาย และเป็นแนวทางให้ผู้อื่นที่มีความสนใจ สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้นต่อไป

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อศึกษาผลการดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรตก่อนการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง ต่อระดับแลคเตทและสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด และเพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือด โดยการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มได้รับโซเดียมซิเตรตและกลุ่มที่ไม่ได้รับโซเดียมซิเตรต จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 36 คน

<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

หากท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมและให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านจะได้รับเชิญให้มาพบผู้ทำวิจัยตามวันเวลาที่นัดหมาย โดยตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย คือ ประมาณ 14 วันและมาพบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยทั้งสิ้น 3 ครั้ง

<u>ครั้งที่ 1</u> ท่านมาเพื่อให้ข้อมูลส่วนบุคคลโดยผู้ทำวิจัย เพื่อสอบถามข้อมูลทั่วไป และประวัติสุขภาพทั้งอดีต และปัจจุบัน และผู้วิจัยจะขอตรวจ น้ำหนัก ส่วนสูง และอธิบายการเตรียมตัวของผู้เข้าร่วมงานวิจัย โดยท่านจะได้รับการขอร้องให้เตรียมตัวตามขั้นตอนที่แนะนำก่อนที่จะมาพบครั้งต่อไป

<u>ครั้งที่ 2 วันทดสอบครั้งแรก</u> หลังได้รับคำอธิบายและควบคุมอาหารโดยจดลงสมุดบันทึกเป็นเวลา 3 วันก่อนมาทดสอบ ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมงในการตรวจเลือดเพื่อวิเคราะห์หาระดับ แลคเตท และภาวะต้านอนุมูลอิสระ ทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจน

<u>ครั้งที่ 3 วันทดสอบครั้งที่สอง</u> หลังจากทดสอบเสร็จในครั้งที่ 2 เป็นเวลา 7 วันและควบคุมอาหารโดยจดลงสมุดบันทึกเป็นเวลา 3 วันก่อนมาทดสอบ ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมงในการตรวจเลือดเพื่อวิเคราะห์หาระดับ แลคเตท และภาวะต้านอนุมูลอิสระ ทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจน

การเตรียมตัวของผู้เข้าร่วมงานวิจัย ท่านจะได้รับการขอร้องให้

- ควบคุมอาหารก่อนการทดสอบ 3 วัน โดยหลีกเลี่ยงการทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง และบันทึกรายการอาหารลงในสมุดบันทึก
- งดเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีน อย่างน้อย 12 ชั่วโมง
- งดเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์อย่างน้อย 48 ชั่วโมง
- หลีกเลี่ยงกิจกรรมที่มีความหนักมาก (vigorous activity) อย่างน้อย 24 ชั่วโมง
- แต่งกายให้เหมาะสมกับการออกกำลังกาย สวมใส่รองเท้ากีฬา

<u>วันทดสอบ</u>

ท่านจะได้รับเชิญให้มาที่ห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์การกีฬา อาคารแพทยพัฒน์ ชั้น 4 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในเวลา 7.30 น. นั่งพัก 30 นาที จากนั้นท่านจะได้รับการประเมินและทดสอบร่างกายตามขั้นตอน ดังนี้

<u>ขั้นตอนดำเนินการวิจัย</u>

10. ท่านจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 6 ซีซี (1.2 ช้อนชา) บริเวณหลังมือ โดยมีการคาเข็มไว้ตลอดการทดสอบ ลงในหลอดเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อวิเคราะห์ระดับสารเคมีในเลือด เพื่อใช้เป็นค่าตั้งต้น โดยการเจาะเลือดทำโดยพยาบาลท่านจะได้รับประทานอาหารเช้าที่จัดเตรียมไว้ให้และดื่มสารละลายโซเดียมซิเตรต หรือโซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 500 ซีซี (2 แก้ว) ให้หมด และนั่งพักเป็นเวลา 2 ชั่วโมงบริเวณห้องปฏิบัติการ ก่อนการทดสอบ
11. เมื่อครบ 2 ชั่วโมง ท่านจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 6 ซีซี (1.2 ช้อนชา) จากเข็มที่คาไว้บริเวณหลังมือ ลงในหลอดเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อวิเคราะห์ระดับสารเคมีในเลือด เพื่อใช้เป็นค่าหลังรับประทานสารละลาย และท่านจะถูกขอให้สวมอุปกรณ์วิเคราะห์ลมหายใจแบบอัตโนมัติ และเข้าสู่โปรแกรมการทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจนของร่างกายด้วยการวิ่งบนลู่วิ่งจนหมดแรง การทดสอบจะมีการเพิ่มความเร็วและความชันในทุกๆ 3 นาที โดยจะหยุดการทดสอบเมื่อ
    1.11.1 ท่านรู้สึกเหนื่อยจนหมดแรงและร้องขอให้หยุดทำการทดสอบ

1.11.2 อัตราการเต้นของหัวใจขณะทดสอบ เพิ่มสูงถึงอัตราการเต้นของหัวใจสูงสุดของท่าน (100% ของอัตราการเต้นของหัวใจสูงสุด)

1.11.3 ค่าความเหนื่อยตาม Borg scale เท่ากับหรือมากกว่า 17

การทดสอบใช้เวลาประมาณ 15-20 นาที ซึ่งท่านอาจเกิดอาการเหนื่อย หัวใจเต้นเร็วขึ้น เมื่อยล้าของกล้ามเนื้อ แต่อาการดังกล่าวจะหมดไปเมื่อท่านได้หยุดทดสอบ และยืดเหยียดกล้ามเนื้อหลังการทดสอบ

12. หลังการทดสอบวัดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจนของร่างกาย ท่านจะได้รับการเก็บเลือดอีก 3 ครั้ง คือหลังการทดสอบ 5, 10 และ 30 นาที ครั้งละ 6 ซีซี (1.2 ช้อนชา) จากเข็มที่คาไว้บริเวณหลังมือ และแบ่งลงในหลอดเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อวิเคราะห์ระดับสารเคมีในเลือด เพื่อใช้เป็นค่าหลังการทดสอบ
13. ท่านจะได้รับคำขอให้หยุดพัก 7 วัน และกลับมาทดสอบอีกครั้งโดยได้รับสารละลายต่างจากครั้งแรก โดยท่านจะถูกขอให้ควบคุมอาหารและจดลงสมุดบันทึกเป็นเวลา 3 วันก่อนมาทดสอบ

<u>ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ ผู้วิจัยจะรับผิดชอบค่ารักษาพยาบาลที่เกิดขึ้นทั้งหมดหากมีเหตุการณ์ฉุกเฉินหรือได้รับอันตรายที่เกิดจากการเข้าร่วมโครงการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

1) ความเสี่ยงจากการออกกำลังกาย ท่านอาจมีอาการปวดเมื่อย จากการออกกำลังกาย ผู้วิจัยจะให้คำแนะนำเกี่ยวกับการอบอุ่นร่างกาย การยืดเหยียดกล้ามเนื้อ เพื่อลดอาการดังกล่าว
2) ความเสี่ยงจากการเจาะเลือด ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก ความเสี่ยงต่าง ๆ ลดลงได้ด้วยการเจาะเลือดโดยผู้ที่เชี่ยวชาญในการเจาะเลือด ซึ่งในงานวิจัยนี้ผู้เจาะเลือดเป็นพยาบาลวิชาชีพ ใช้อุปกรณ์ที่ปราศจากเชื้อตามมาตรฐานการเจาะเลือด
3) ความเสี่ยงจากการทดสอบหาค่าการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกายขณะออกกำลังกาย (VO_{2peak}) โดยการวิ่งบนลู่วิ่ง ท่านมีโอกาสเกิดอาการหัวใจเต้นผิดปกติ เจ็บหน้าอก หรืออาการซึ่งเกิดได้น้อยมากเนื่องจากผู้วิจัยได้ลดความเสี่ยงจากการใช้เกณฑ์คัดเลือกอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการแล้วเบื้องต้น แต่ผู้วิจัยยังคงเฝ้าระวังและเตรียมการช่วยเหลือหากเกิดเหตุการณ์ดังกล่าวขึ้น โดยมีอุปกรณ์เฝ้าระวังการทำงานของหัวใจ อุปกรณ์ประเมินปริมาณ

ออกซิเจนในเลือด อุปกรณ์วัดความดันเลือด รวมถึงอุปกรณ์ช่วยชีวิตพื้นฐาน ประจำหน่วยทดสอบ ตลอดการทดสอบหากมีอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นกับระบบหัวใจขณะทำการทดสอบ ท่านจะได้รับการช่วยเหลือเบื้องต้นจากผู้ทดสอบและพยาบาลวิชาชีพที่มีประสบการณ์ในการดูแลในภาวะฉุกเฉินและการช่วยชีวิตขั้นสูง และมีการติดต่อหน่วยงานให้ความช่วยเหลือจากโรงพยาบาลต่อไปในเวลารวดเร็ว

กรุณาแจ้งผู้ทำวิจัยในกรณีที่พบอาการดังกล่าวข้างต้น หรืออาการอื่น ๆ ที่พบร่วมด้วยระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

<u>ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน</u>

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากการวิจัย

<u>การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง</u>

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

<u>ประโยชน์ที่อาจได้รับ</u>

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้จะทำให้ท่านได้ทราบค่า วีโอทูแมก (VO_{2max}) หรือทราบประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้ออกซิเจนของร่างกาย ว่าร่างกายของท่านมีความสามารถในการนำออกซิเจนจากอากาศ มาอยู่ในเลือดเพื่อส่งไปยังกล้ามเนื้อที่กำลังทำงานได้สูงสุดแค่ไหน โดยทางทฤษฎีนั้น หากมีค่าวีทูแมกมาก แสดงว่ามีความสามารถในการออกกำลังกายแบบใช้ออกซิเจน

(aerobic exercise) ได้ดี ดังนั้น ค่าวีโอทูแมก จึงใช้เป็นตัวบ่งชี้ระดับความฟิตของร่างกายได้ แต่ไม่ได้รับรองว่าสุขภาพของท่านจะต้องดีขึ้นหรือลดลงอย่างแน่นอน

อย่างไรก็ตามการเข้าร่วมวิจัยนี้จะทำให้ได้องค์ความรู้ที่เป็นประโยชน์ของการใช้โซเดียมซิเตรตต่อการเกิดออกซิเดทีฟสเตรตและการคั่งของกรดแลคติก สำหรับผู้ที่สนใจและนำไปศึกษาต่อไปในอนาคต

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้อาหารเสริมหรือวิตามิน
- ขอให้ท่านร่วมมือปฏิบัติตามที่ได้กำหนดไว้ในโครงการอย่างเคร่งครัด

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นายศาศวัต สุนทรกิติ ที่เบอร์ 084-3615168 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ท่านไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใด ๆ ในการเข้าร่วมโครงการวิจัย ค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัย แต่ท่านจะได้รับค่าเดินทางและเงินชดเชยการสูญเสียรายได้ หรือความไม่สะดวก ไม่สบาย ในการมาทดสอบทุกครั้ง ครั้งละ 500 บาท รวมทั้งหมด 2 ครั้ง เป็นเงินรวม 1000 บาท

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาหรืออาหารเสริมหรือวิตามินที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับสารอาหารที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้สารอาหารที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านไม่สามารถทำการออกกำลังกายตามที่กำหนดได้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ที่ นายศาศวัต สุนทรกิติ สาขาเวชศาสตร์การกีฬา อาคารแพทยพัฒน์ ชั้น 4 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมิน

ผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

<u>การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ</u>

ตัวอย่างชีวภาพที่ได้จากอาสาสมัคร ได้แก่ เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยจะทำลายทั้งหมดตามขั้นตอนมาตรฐานของการกำจัดตัวอย่างทางชีวภาพ

<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งสารอาหารและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
6. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
7. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
8. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4493 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....

ภาคผนวก ข

เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง ผลของการใช้โซเดียมซิเตรตต่อระดับแลคเตทและภาวะต้านอนุมูลอิสระในเลือดภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักจนหมดแรง

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ..... .....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....
ที่อยู่.....
ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่.....
และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนามและ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผลและการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้าทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ภาคผนวก ค แบบสอบถามและแบบบันทึกผลการวิจัย

ลำดับที่ .....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ตอนที่ 1 ข้อมูลเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถาม

1. เพศ❒ หญิง ❒ ชาย

วัน/เดือน/ปีเกิด..... อายุ.....ปี.....เดือน

เชื้อชาติ..... สัญชาติ.....อาชีพ.....

2. น้ำหนัก..... กิโลกรัม ส่วนสูง.....เมตร BMI..... kg/m^2

ตอนที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับสุขภาพ

โปรดตอบคำถามต่อไปนี้ตามความเป็นจริง โดยทำเครื่องหมาย ✓ลงใน ❒ หรือเติมข้อความลงในช่องว่างที่เว้นไว้

1) ท่านมีโรคประจำตัวหรือไม่
   ❒ ไม่มี ❒ มี โปรดระบุ.....

2) ท่านมีอาการบาดเจ็บที่กล้ามเนื้อหรือข้อต่อบริเวณขาท่อนบนและล่างครั้งล่าสุดเมื่อไร
   ❒น้อยกว่า 6 เดือน ❒มากกว่า 6 เดือน

3) ท่านรับประทานอาหารเสริมหรือวิตามินอยู่หรือไม่
   ❒ ไม่ ❒รับประทาน โปรดระบุ.....

4) ท่านออกกำลังกายหรือไม่
   ❒ ไม่ ❒ ใช่

5) ท่านออกกำลังกายชนิดใด
   ❒ เดิน ❒ วิ่ง ❒ว่ายน้ำ ❒ ปั่นจักรยาน
   ❒ อื่นๆ.....

6) ท่านออกกำลังกายกี่ครั้งต่อสัปดาห์
   ❒1-3ครั้งต่อสัปดาห์ ❒≥3ครั้งต่อสัปดาห์

7) ท่านออกกำลังกายเป็นระยะเวลาเท่าไรต่อครั้ง

❒<30 นาที ❒≥30 นาที

8) ท่านสูบบุหรี่หรือไม่

❒ ไม่เคยสูบ ❒ สูบ.....มวน/วัน เป็นระยะเวลา.....ปี

❒ เลิกสูบมาแล้ว ..... ปี ❒อื่นๆ โปรดระบุ.....

9) ท่านดื่มเครื่องดื่มที่ผสมแอลกอฮอล์หรือไม่

❒ ไม่เคยดื่ม ❒ นานๆครั้ง โปรดระบุ.....

❒ ดื่มเป็นประจำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แบบบันทึกผลการวิจัย(Exercise)

รหัสอาสาสมัคร.....

❒Experiment trial ❒Placebo trial

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....เวลา.....

อายุ.....ปี Weight.....kg. Height.....cm.BMI.....kg/m^2

Maximum Heart rate (Exs test).....bpm

Resting Heart Rate.....bpm Resting Blood pressure.....mmHg

ตารางบันทึกค่าขณะทดสอบวัดประสิทธิภาพการใช้ออกซิเจน

Stage	Time (min)	Km/hr	Slope (%)	Heart rate	RPE
1	0	2.74	10		
2	3	4.02	12		
3	6	5.47	14		
4	9	7.08	15		
5	12	9.17	15		
6	15	9.82	15		
7	18	10.94	15		
8	21	13.00	15		
9	24	14.60	15		
10	27	16.30	15		

สิ้นสุดที่ stage ..... ใช้เวลาทั้งหมด ..... นาที ค่า VO_2max .....

ตารางบันทึกค่าสารเคมีในเลือด

ข้อมูล	Baseline	ก่อนทดสอบ	หลังการทดสอบ		
			5 นาที	10 นาที	30 นาที
Total plasma thiol					
FRAP					
Blood lactate					

รหัสอาสาสมัคร.....

❒Experiment trial ❒Placebo trial

ตารางแสดง Cardiorespiratory Fitness Classification

VO_2max ($ml.kg^{-1}.min^{-1}$)					
Age (yr)	Poor	Fair	Good	Excellent	Superior
Women					
20-29	≤31	32-34	35-37	38-41	42+
30-39	≤29	30-32	33-35	36-39	40+
40-49	≤27	28-30	31-32	33-36	37+
50-59	≤24	25-27	28-29	30-32	33+
60+	≤23	24-25	26-27	28-31	32+
Men					
20-29	≤37	38-41	42-44	45-48	49+
30-39	≤35	36-39	40-42	43-47	48+
40-49	≤33	34-37	38-40	41-44	45+
50-59	≤30	31-34	35-37	38-41	42+
60+	≤26	27-30	31-34	35-38	39+

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ง

วิธีวิเคราะห์หาค่า Total plasma thiol

สารเคมีที่ใช้

1. Reaction buffer : 0.1 M sodium phosphate pH 8.0 ที่มี 1mM EDTA

2. Cysteine Hydrochloride monohydrate MW = 175.6 เป็นสารละลาย standard

3. Ellman's Reagent โดยชั่ง DTNB จำนวน 4 mg หรือ 0.004 g ละลายใน reaction buffer(0.1M sodium phosphate pH 8.0) จำนวน 1 mL.

วิธีทำ

1. เตรียมสารละลาย cysteine hydrochloride monohydrate สารละลายstandard

Standard	ปริมาตรของ Reaction buffer	จำนวน Cysteine (M.W. = 175.6)	ความเข้มข้นสุดท้ายที่ได้
A	100 mL.	26.34 mg.	1.5 mM
B	100 µL.	500 µL. ของ A	1.25 mM
C	200 µL.	400 µL. ของ A	1.0 mM
D	300 µL.	300 µL. ของ A	0.75 mM
E	400 µL.	200 µL. ของ A	0.50 mM
F	500 µL.	100 µL. ของ A	0.25 mM
G	600 µL.	0 µL. ของ A	0 mM

2. เตรียมสารละลายใส่ในหลุม microplate แต่ละหลุมมีสารละลายคือ

- ใส่สารละลาย reaction buffer 235 µL.
- ใส่ Ellman's reagent 25 µL.
- ใส่สารที่ต้องการทดสอบได้แก่ blank(reaction buffer), standard(cysteine), plasma 25 µL.
- ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที
- นำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 412 nm.

ภาคผนวก จ

วิธีวิเคราะห์หาค่า FRAP

การเตรียม Reagent FRAP

1. เตรียมสาระละลาย sodium acetate buffer (0.3 M, pH = 3.6) โดยการเตรียม sodium acetate trihydate 0.15 g. ละลายใน acetic acid 800 µL. และเติมน้ำกลั่นจนครบ 50 mL.
2. เตรียม TPTZ (10 mM) โดยการชั่ง TPTZ 31.23 mg. ละลายใน 40 mM HCL เป็นปริมาตร 10 mL.
3. เตรียม 20 mM $FeCL_3$ โดยการชั่งสาร $FeCl_3$ 32.44 mg. ละลายในน้ำกลั่น 10 mL.
4. ผสมสารละลายสามชนิดที่กล่าวมาข้างบน ตามสัดส่วน 10 mL. : 1 mL. : 1 mL. ตามลำดับ (sodium acetate buffer : TPTZ : $FeCl_3$)

การเตรียม standard

1. เตรียมโดยชั่ง $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 5.56 mg. ละลายในน้ำกลั่น 10 mL. จะได้ความเข้มข้น 2 mM. หรือ 2000 µM.

Standard	ปริมาตรของน้ำกลั่น	จำนวน $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (M.W. = 278.02)	ความเข้มข้นสุดท้ายที่ได้
A	100 µL.	5.56 mg.	2000 µM.
B	50 µL.	50 µL. ของ A	1000 µM.
C	50 µL.	50 µL. ของ A	500 µM.
D	50 µL.	50 µL. ของ A	250 µM.
E	50 µL.	50 µL. ของ A	125 µM.
F	50 µL.	50 µL. ของ A	72.5 µM.
G	50 µL.	50 µL. ของ A	0 µM.

วิธีการวัด

1. ใส่ plasma หรือสารละลาย standard ลงใน microplate 10 µL.

2. ใส่ FRAP reagent 90 µL.

3. ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องที่มืด 30 นาที
4. นำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm.

ภาคผนวก ฉ

วิธีวิเคราะห์หาค่า Lactate

การเตรียมสาร Lactate reagent

- Lactate reagent 1 ขวด ใช้ผสมกับน้ำกลั่น 10 ml.
- ผสมลงในหลอดทดลอง ทำให้เข้ากันด้วยการกลับขวดไปมาอย่างนุ่มนวล ห้ามเขย่าเด็ดขาด

การเก็บสาร Lactate reagent

- ถ้าเป็นขวดที่ยังไม่เปิดเก็บในอุณหภูมิ 2-8°C ได้นานจนกระทั่งหมดอายุตามฉลาก
- หากผสมแล้วเก็บได้นาน 8 ชั่วโมง 18-26°C หรือได้นาน 7 วัน 2-8°C หรืออย่างน้อย 1 เดือน ด้วยการแช่แข็ง

คุณสมบัติ Lactate standard solution

- มีความเข้มข้น 40 mg/dl (4.44 mmol/l)
- เก็บในอุณหภูมิ 2-8°C ได้นานจนกระทั่งหมดอายุตามฉลาก

การเก็บ specimen

- ใช้หลอดที่มี fluoride-oxalate เป็น anticoagulant : NaF
- พลาสม่าที่แยกแล้วเก็บในอุณหภูมิ 2-8°C ได้นาน 48 ชั่วโมง หรือ -20°C ได้ 1 เดือน
- เมื่อเก็บเลือดจาก Subject แล้วให้กลับหลอดไปมา 6 ครั้ง และแช่น้ำแข็ง
- แยกพลาสม่าภายใน 30 นาที ด้วยวิธี centrifugation ที่ความเร็ว 400xg เป็นเวลา 10 นาที
- ถ้าแยกพลาสม่าช้า จะทำให้ค่าคลาดเคลื่อน 10 % หลังเก็บ 1 ชั่วโมง และ 15% หลัง 2 ชั่วโมง

วิธีการตรวจ

ตรวจด้วย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 nm.

1. เตรียม lactate reagent
2. ใส่ lactate reagent 200 µL. ลงในหลอดทดลอง Blank, Standard, Test1, Test2 ... ที่ทำการเขียนข้างหลอดเตรียมไว้แล้ว
3. ตามด้วยการใส่ lactate standard 10 µl , ใส่พลาสม่าที่เจือจางแล้ว 5 เท่า 10 µl ลงไปในmicroplate
4. ทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 10 นาที
5. อ่านค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm.
6. นำค่าที่ได้มาคำนวณด้วยสูตร

$$\text{Lactate (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbance Test}}{\text{Absorbance Standard}} \times 40^*$$

*Concentration of lactate in standard.

ภาคผนวก ช

การทดสอบความน่าเชื่อถือรูปแบบการทดลองของการศึกษาแบบไขว้กัน

ผลของระยะเวลาพักระหว่างสองการทดสอบ : โดยใช้ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของค่าระดับแลคเตทในเลือดหลังการทดสอบที่ 5 นาทีกับค่าระดับแลคเตทในเลือดก่อนดื่มสารละลาย เพื่อมาเปรียบเทียบระหว่างผู้เข้าร่วมการวิจัยที่ได้รับโปรแกรม ก. และโปรแกรม ข. แสดงในตาราง ช.1 ผลการวิเคราะห์พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างโปรแกรม ก.และโปรแกรม ข. ($p=0.518$) ดังนั้นการพักระหว่างการทดสอบทั้งสองครั้งอย่างน้อย 7 วันเพียงพอและไม่มีผลแทรกแซงต่อการทดสอบครั้งถัดไป

ผลของความแตกต่างทางลำดับการได้รับสาร : คำนวณโดยใช้ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างของค่าระดับแลคเตทในเลือดหลังการทดสอบที่ 5 นาทีกับค่าระดับแลคเตทในเลือดก่อนดื่มสารละลาย เพื่อมาเปรียบเทียบภายในตัวผู้เข้าร่วมการวิจัยที่ได้รับโปรแกรม ก. และโปรแกรม ข. แสดงในตาราง ช.2 ผลการวิเคราะห์พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.793$) ดังนั้นการรับโปรแกรม ก. หรือโปรแกรม ข. ไม่มีความแตกต่างกัน

คำนิยามของสัญลักษณ์แสดงในตาราง ช.1 และ ช.2

โปรแกรม ก. = ผู้เข้าร่วมการวิจัยที่ได้รับสารทดสอบในการทดสอบครั้งแรกและเว้นช่วงพักเป็นเวลาอย่างน้อย 7 วัน จึงได้รับสารควบคุมในการทดสอบครั้งที่สอง

โปรแกรม ข. = ผู้เข้าร่วมการวิจัยที่ได้รับสารควบคุมในการทดสอบครั้งแรกและเว้นช่วงพักเป็นเวลาอย่างน้อย 7 วัน จึงได้รับสารควบทดลองในการทดสอบครั้งที่สอง

ΔS = ค่าความแตกต่างของค่าระดับแลคเตทในเลือดระหว่างหลังการทดสอบที่ 5 นาทีกับก่อนดื่มสารละลาย ในครั้งที่ได้รับสารทดสอบโซเดียมซิเตรต

ΔP = ค่าความแตกต่างของค่าระดับแลคเตทในเลือดระหว่างหลังการทดสอบที่ 5 นาทีกับก่อนดื่มสารละลาย ในครั้งที่ได้รับสารควบคุม

*** = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองโปรแกรม ($p<0.05$) โดยใช้สถิติ independent sample t-test

ตาราง ช.1 เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับค่าเฉลี่ยแลคเตทในเลือดระหว่างหลังการทดสอบที่ 5 นาทีและก่อนการดื่มสารละลาย ในผู้เข้าร่วมการวิจัยโปรแกรม ก. และโปรแกรม ข. เพื่อดูผลของระยะเวลาพักระหว่างสองการทดสอบ (washout period effect) (n=14 และ 10 ตามลำดับ)

ลำดับผู้เข้าร่วมงานวิจัย	ระดับแลคเตทในเลือด (mmol/L)		
	ΔS	ΔP	ΔS - ΔP
โปรแกรม ก.			
1	13.33	16.06	-2.73
2	17.30	12.17	5.13
3	16.28	11.21	5.07
4	11.87	12.30	-0.43
5	16.14	9.87	6.27
8	25.25	20.53	4.73
9	17.41	15.24	2.18
13	11.67	12.98	-1.30
14	13.98	14.26	-0.28
16	19.61	11.04	8.58
21	17.11	11.96	5.15
22	16.23	11.40	4.83
23	11.21	12.08	-0.87
24	15.02	10.20	4.82
Mean	15.89	12.95	2.94
SD	3.66	2.81	3.45
โปรแกรม ข.			
6	16.25	14.09	2.16
7	21.60	17.13	4.46
10	18.01	9.20	8.81
11	14.51	10.56	3.95
12	19.88	15.21	4.66
15	17.29	14.27	3.01
19	13.38	16.36	-2.98
17	14.55	8.11	6.45
18	13.22	9.78	3.44
20	17.64	13.27	4.37
Mean	16.63	12.80	3.83
SD	2.78	3.17	3.04
P value*** ของค่า ΔS - ΔP ของโปรแกรม ก. และ ข. = 0.518			

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตาราง ช.1 เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับค่าเฉลี่ยแลคเตทในเลือดระหว่างหลังการทดสอบที่ 5 นาทีและก่อนการดื่มสารละลาย ในผู้เข้าร่วมการวิจัยโปรแกรม ก. และโปรแกรม ข. เพื่อดูผลของระยะเวลาพักระหว่างสองการทดสอบ (washout period effect) (n=14 และ 10 ตามลำดับ)

ลำดับผู้เข้าร่วมงานวิจัย	ระดับแลคเตทในเลือด		
	ΔS	ΔP	(ΔS + ΔP)/2
โปรแกรม ก.			
1	13.33	16.06	14.70
2	17.30	12.17	14.74
3	16.28	11.21	13.75
4	11.87	12.30	12.09
5	16.14	9.87	13.01
8	25.25	20.53	22.89
9	17.41	15.24	16.33
13	11.67	12.98	12.33
14	13.98	14.26	14.12
16	19.61	11.04	15.33
21	17.11	11.96	14.54
22	16.23	11.40	13.82
23	11.21	12.08	11.65
24	15.02	10.20	12.61
Mean	15.89	12.95	14.42
SD	3.66	2.81	2.77
โปรแกรม ข.			
6	16.25	14.09	15.17
7	21.60	17.13	19.37
10	18.01	9.20	13.61
11	14.51	10.56	12.54
12	19.88	15.21	17.55
15	17.29	14.27	15.78
19	13.38	16.36	14.87
17	14.55	8.11	11.33
18	13.22	9.78	11.50
20	17.64	13.27	15.46
Mean	16.63	12.80	14.72
SD	2.78	3.17	2.57
P value*** ของค่า (ΔS - ΔP)/2 ของโปรแกรม ก. และ ข. = 0.793			

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ศาศวัต สุนทรกิติ เกิดเมื่อวันที่ 5 พฤศจิกายน พ.ศ. 2531 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (กายภาพบำบัด) สาขากายภาพบำบัด คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553และได้เข้าศึกษาในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเวชศาสตร์การกีฬา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2554

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University