รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการศึกษาเรื่อง ผลของการสูบบุหรี่ที่มีสารอนุมูลอิสระต่อระดับโฮโมซีสตีน วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระในเลือด:ปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ

The effects of smoking oxidative stress on serum level of Homocysteine, vitamin and antioxidants: cardiovascular risk factors

สัญญเลขที่ 51-01-20

โดย

ดร. ดวงกมล วิรุฬห์อุดมผลและคณะฯ

28 กรกฎาคม 2554

สนับสนุนโดยศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ (ศจย.) และ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.)

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการศึกษาเรื่อง ผลของการสูบบุหรี่ที่มีสารอนุมูลอิสระต่อระดับโฮโมซีสตีน วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระในเลือด:ปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ

คณะผู้วิจัย

1.	ดร. ดวงกมล วิรุฬห์อุดมผล	สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ
2.	พันเอก นพ.อุปถัมภ์ ศุภสินธุ์	กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า
3.	น.ส. เสาวนีย์ กาญจนชุมพล	สำนักงานวิจัย คณะแพทยศาสตร์ รพ. รามาธิบดี ม. มหิดล
4.	น.ส. ศิริวรรณ ไตรบัญญัติกุล	ศูนย์วิจัยและพัฒนาทางวิทยาศาสตร์ ร.พ.พระมงกุฎเกล้า
5.	น.ส. กาญจนา เวียงนนท์	สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ
6.	นาย เลอสรร สุวรรณฑล	คณะเทคนิคการแพทย์ รพ.ศิริราช ม. มหิดล
7.	น.ส. อุมาพร ภิญโญศิริกุล	คณะเทคนิคการแพทย์ รพ.ศิริราช ม. มหิดล

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเกี่ยวกับ ผลของการสูบบุหรี่ที่มีสารอนุมูลอิสระต่อระดับโฮโมซีสตีน วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระในเลือด: ปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจได้ทุนสนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปี 2552

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยในการสนับสนุนทุนวิจัยนี้ จนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีในระดับหนึ่ง

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ หัวหน้าและเจ้าหน้าที่ทุกท่านของศูนย์วิจัยและพัฒนาทางชีววิทยาศาสตร์ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า รวมทั้งอาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการนี้ทั้งหมด

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ หัวหน้าและเจ้าหน้าที่ทุกท่านของคณะเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล ในการวิเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ

ขอขอบคุณ ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ ในการช่วยเตรียมสาร วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านในฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือของฝ่ายฯคณะผู้วิจัยขอขอบคุณ•สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ ที่อำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ในการดำเนินงานวิจัยนี้

The effects of smoking oxidative stress on serum level of Homocysteine, vitamin and antioxidants: cardiovascular risk factors

ABSTRACT

Smoking is not only associated with decreased concentrations of several antioxidant vitamins and trace elements but also increased morbidity and mortality risk of cardiovascular disease. We sought to determine the relation between oxidative stress, smoking status, homocysteine and circulating concentrations of vitamins, trace elements antioxidant. Studies were carried out on 150 smokers (50 of industrial cigarette smokers, 50 of passive smokers, 50 local tobacco smokers) compared with 50 nonsmoking control subjects. Levels of plasma homocysteine, vitamin B12, lead (Pb) and cadmium (Cd) were significantly higher in smokers than in controls. Whereas vitamin B6, folate, C, A, E, beta carotene, selenium (Se), chromium (Cr), zinc (Zn) and mercury (Hg) levels were significantly lower among smokers than controls. However, levels of antioxidant enzymes as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), lipid peroxidation as malondialdehyde (MDA) and conjugate diene (CD) levels did not differ statistically. In smokers total homocysteine concentration significantly and positively correlated with weight, BMI, waist, hip and smoking characteristics such as the number of cigarettes per day and pack-years and significantly but negative correlated with cholesterol, LDL, folate and B12. The percentage of hyperhomocysteinemia in smoker (37.58%) was higher than in control (20%). For dietary intake assessment, smokers consumed significantly less energy from carbohydrate, fat compared to controls, while energy derived from protein did not differ between groups. Moreover, smokers consumed less dietary fiber, vitamin A, B, C, E and beta carotene compared with controls. Increasing plasma homocysteine levels in healthy smokers may be explained by low vitamin B status that linked to homocysteine metabolism such as vitamin B6 and folate. Direct effects of smoking may include oxidative stress that not only leads to developed cardiovascular disease but also leads to increased turnover or breakdown of vitamins and micronutrients. Therefore public health should not only aim for smoking cessation, but also concern about diet in terms of vitamin and trace element content.

KEY WORDS: smoking; oxidative stress; homocysteine, vitamin; antioxidants; cardiovascular

ผลของการสูบบุหรี่ที่มีสารอนุมูลอิสระต่อระดับโฮโมซีสตีน วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระในเลือด: ปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ (The effects of smoking oxidative stress on serum level of Homocysteine, vitamin and antioxidants: cardiovascular risk factors)

บทคัดย่อ

การสูบบุหรี่ไม่เพียงแต่เป็นปัจจัยที่ทำให้ระดับสารต้านอนุมูลอิสระวิตามิน และแร่ธาตุปริมาณน้อยลดลงเท่านั้น แต่ยังคงเป็นสาเหตุของการเพิ่มอัตราการเจ็บป่วย รวมทั้งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเสียชีวิตด้วยโรคหัวใจและหลอดเลือด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์คือการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารอนุมลอิสระ การสูบบุหรี่ ความเข้มข้นของระดับโฮโมซีสเตอีนและสารต้านอนุมูลอิสระวิตามินและแร่ธาตุปริมาณน้อย โดยศึกษาในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ 150 คน ทั้งนี้ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ยังแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย คือกลุ่มผู้สูบบุหรี่จากโรงงานจำนวน 50 คน กลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่มือสองจำนวน 50 คน และผู้สูบบุหรี่แบบมวนยาเองจำนวน 50 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมจำนวน 50 คน ผลการศึกษาพบว่าระดับโฮโมซีสเตอีนในพลาสมา ระดับวิตามินบี 12ตะกั่วและแคดเมียมของผู้สูบบุหรี่จะมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางกลับกันพบว่าระดับวิตามินบี 6 โฟเลท วิตามินซี เอ อี เบต้าแคโรทีน ซีลีเนียม โครเมียม สังกะสีและปรอทในกลุ่มสูบบุหรี่จะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามพบว่าระดับอนุมูลอิสระ malondialdehyde (MDA) และ conjugate diene (CD) ระดับสารต้านอนุมูลอิสระเอ็นไซม์ superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่มนี้

ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ระดับโฮโมซีสเตอีนมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนัก ดัชนีมวลกาย รอบเอวและรอบสะโพก รวมถึงความสัมพันธ์กับลักษณะต่างๆของการสูบบุหรี่ เช่น จำนวนของบุหรี่ที่สูบต่อวัน จำนวนห่อของบุหรี่ที่สูบมาตลอดระยะเวลาทั้งหมด แต่ระดับโฮโมซีสเตอีนมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับไขมันโคเลสเตอรอล low density lipoprotein โฟเลทและวิตามินบี 12 นอกจากนั้นยังพบว่า 37.58%ของกลุ่มผู้สูบบุหรี่ที่มีระดับโฮโมซีสเตอีนสูงในกระแสเลือด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีระดับโฮโมซีสเตอีนสูงในกระแสเลือด 20% % ส่วนข้อมูลทางด้านโภชนาการพบว่า กลุ่มผู้สูบบุหรี่จะบริโภคอาหารที่ให้พลังงานจากคาร์โบไฮเดรตและไขมันน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่การบริโภคพลังงานที่ได้จากโปรตีนไม่พบความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มนี้ ส่วนการบริโภคอาหารจำพวกไฟเบอร์ เหล็ก วิตามิน เอ ซี ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ จะบริโภคในปริมาณที่น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม ซึ่งระดับโฮโมซีสเตอีนสูงในกลุ่มผู้สูบบุหรี่เกิดจากการมีระดับวิตามินบีต่ำ โดยวิตามินบี6 และ โฟเลท จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของโฮโมซีสเตอีน

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	3
บทคัดย่อ	4
สารบัญตาราง	7
สารบัญรูปภาพ	8
บทนำ	9
ทบทวนวรรณกรรม	11
วัตถุประสงค์	16
ระเบียบวิธีการวิจัย	16
ผลการวิจัย	18
การอภิปรายผล	30
บทสรุป	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	36

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

1.ตารางที่ 1 สรุปสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายและค่าปกติที่ตรวจพบใน plasma และที่พบใน epithelial lining fluid ที่เกี่ยวข้องกับการสูบบุหรี่ 13

2. ตารางที่ 2 ลักษณะข้อมูลทั่วไปทางด้านสังคมของกลุ่มสูบบุหรี่เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 19

3. ตารางที่ 3 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของอายุ ดัชนีมวลกาย สัดส่วนร่างกาย และความดันโลหิตในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม 20

4. ตารางที่ 4 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของผลเลือดทางโลหิตวิทยาในกลุ่มสูบบุหรี่ และกลุ่มควบคุม 21

5. ตารางที่ 5 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของระดับน้ำตาล ไขมัน malondialdehyde, conjugated diene และโฮโมซีสเตอีน ในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม 22

6. ตารางที่ 6 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของระดับวิตามินต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่น วิตามินซี บี6 บี12 โฟเลท วิตามินเอ อี เบต้า แคโรทีนในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม 23

7. ตารางที่ 7 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของระดับเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่น SOD, GPx, CAT และแร่ธาตุปริมาณน้อยที่เป็นสารต้านอนุมุลอิสระ เช่น Se, Cr, Cu,Zn, Pb, Cd และ Hg ในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม 24

8. ตารางที่8 สัดส่วนของอาสาสมัครที่มีค่าความดันโลหิต ไขมันในเลือด และโฮโมซีสเตอีนที่ผิดปกติใน กลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม 26

9. ตารางที่9 สัดส่วนของอาสาสมัครที่มีค่าฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต และเอ็นไซม์ ต้านอนุมูลอิสระที่ผิดปกติ ในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม 26

10. ตารางที่10 สัดส่วนของอาสาสมัครที่มีค่าวิตามินและแร่ธาตุปริมาณน้อยที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ ผิดปกติในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม 27

11. ตารางที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างอายุ น้ำหนัก สัดส่วนร่างกาย ความดันโลหิด และโฮโมซีสเตอีนใน กลุ่มสูบบุหรี่จากโรงงาน 29

12. ตารางที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างวิคามินต่างๆ และโฮโมซีสเตอีนในกลุ่มสูบบุหรี่จากโรงงาน 29

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพ	หน้า
1. รูปที่ 1 สรุปสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากการสูบบุหรี่ และสารต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง	12
2. รูปที่ 2-3 กระบวนการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ทำให้เห็นแถบไขมัน เป็นคราบแข็งโดยการก่อตัวของแคลเซี่ยม ไปเกาะตามผนังหลอดเลือดต่างๆ	14
3. รูปที่ 4-5 เครื่อง HPLC ที่ใช้วิเคราะห์วิตามินต่างๆ	37

บทนำ

จากการคาดการณ์สถิติของจำนวนผู้สูบบุหรี่ในประเทศโลกที่ 3 เพิ่มขึ้นจาก 4.5 พันล้านคนเป็น 7.1 พันล้านคนในปี ค.ศ. 2025 (1) ในอเมริกาแนวโน้มผู้สูบบุหรี่ลดลง ดังนั้นบริษัทผู้ผลิตบุหรี่จึงต้องหาตลาดใหม่ในเอเชียเพิ่ม ดังนั้นทำให้ประเทศกำลังพัฒนามีอัตราการตายจากการสูบบุหรี่เพิ่มขึ้นด้วย (2) ในประเทศไทยมีจำนวนผู้สูบบุหรี่ประมาณ 10.2 ล้านคน หรือคิดเป็น 20.5% ของประชากรทั้งหมด จากข้อมูลการสูบบุหรี่ของชาติแสดงให้เห็นว่าความชุกของการสูบบุหรี่ในเพศชายเป็น 39% และ 2.4% ในเพศหญิง ผู้สูบบุหรี่ส่วนใหญ่เริ่มสูบบุหรี่เมื่ออายุก่อน 20 ปี (3) การสูบบุหรี่มีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคถุงลมโป่งพองพบ 14.5% โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง โรคมะเร็ง และโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (artheriosclerosis) อันเป็นสาเหตุของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดพบ 37.8% โรคมะเร็งต่างๆที่พบได้แก่ โรคมะเร็งปอดพบ 25.9% (2,4) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (5) มะเร็งเต้านม (6) มะเร็งโพรงจมูก (7) ยิ่งไปกว่านั้นผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำมักจะมีการติดเชื้อได้บ่อยในระบบทางเดินหายใจ อย่างไรก็ตาม ผู้ที่สัมผัสกับบุหรี่ทางอ้อม ถึงแม้จะไม่ได้เป็นผู้สูบบุหรี่เองก็มีความเสี่ยงในการเป็นโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจได้เท่ากับผู้สูบบุหรี่เอง ควันบุหรี่อาจทำให้เกิดภาวะ hypoxia ในเนื้อเยื่อปอดและหลอดลมเป็นผลให้มีการเพิ่มระดับของ carboxyhemoglobin ทำให้ผู้สูบบุหรี่มี oxygen ไหลเวียนในเลือดน้อยลง ทำให้ปอดต้องทำงานหนักขึ้นเพื่อเพิ่ม oxygen ให้เพียงพอ นอกจากนั้นในควันบุหรี่ยังประกอบด้วยสารประกอบต่างๆมากมายเช่น tar, nicotine, carbon monoxide, carbon dioxide, cyanide, thiocyanate และbenzo(a)pyrene (8-10) ผลของ cyanide, thiocyanate และ nicotine ต่อ 5-hydroxytryptamine, norepinephrine และ epinephrine ซึ่งเป็นสารที่มีผลโดยตรงต่อสรีระของเส้นเลือดแดงและดำของปอด ทำให้มีการหดตัวเพิ่มขึ้น (11) ยิ่งไปกว่านั้นยังมีรายงานเพิ่มเติมว่าสารที่มีอยู่ในควันบุหรี่เป็นสารอนุมูลอิสระจำนวนมาก (12) สาร hydrocarbon ต่างๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขบวนการ lipid peroxidation (13) และสามารถวัดได้จากลมหายใจออก (14) จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของ pentane เพิ่มขึ้น 456% หลังจากสูบบุหรี่ 5 นาที และเพิ่มสารอนุมูลอิสระอื่นๆอีกมากมาย นอกจากนั้นมีรายงานเพิ่มเติมว่าสารที่มีอยู่ในควันบุหรี่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในขบวนการ protein oxidation (13) จากการศึกษาของ Nakayama และคณะ (15) พบว่าการสูบบุหรี่ก่อให้เกิดการแตกของ DNA สายเดี่ยว และสารอนุมูลอิสระทำลาย DNA ที่เนื้อเยื่อปอดและเนื้อเยื่อที่อวัยวะอื่นๆด้วย ซึ่งอาจจะเพิ่มเซลล์มะเร็งและเกิดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังอวัยวะอื่นๆ ถึงแม้จะมีรายงานว่า beta-carotene จะช่วยป้องกันการเกิด lipid peroxidation ในเนื้อเยื่อของปอดได้ (16) แต่ beta-carotene ก็ไม่สามารถหยุดยั้งขบวนการเปลี่ยนแปลง protein oxidation ได้ ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของ protein ในเนื้อเยื่อได้ง่ายขึ้น ผลกระทบที่สำคัญของการสูบบุหรี่ในระดับเซลล์คือ ทำให้เกิด cytotoxic ของชั้น intima ของเส้นเลือด ซึ่งสามารถวัดการเกิด toxic ได้โดยมีระดับของ von Willebrand factor เพิ่มขึ้น และมีความสัมพันธ์กับระดับของ cotinine และ thiocyanate ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดหรือ marker ของการคั่งค้างของ nicotine ในควันบุหรี่ (17)

Homocysteine เป็นกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ (sulphur amino acid) ร่างกายไม่ได้รับโดยตรงจากอาหาร แต่จะได้มาจากผลของการย่อยสลาย methionine (18) homocysteine สามารถทำปฏิกิริยากับ methyl group หรือรีเมตทิลเลต remethylated กลับมาเป็น methionine ได้โดยอาศัย enzyme หลายชนิดเช่น 5-methyltetra-hydrofolate-S- methyltransferase โดยต้องใช้ vitamin B12 และ methyltetrahydrofolate เป็น cofactor

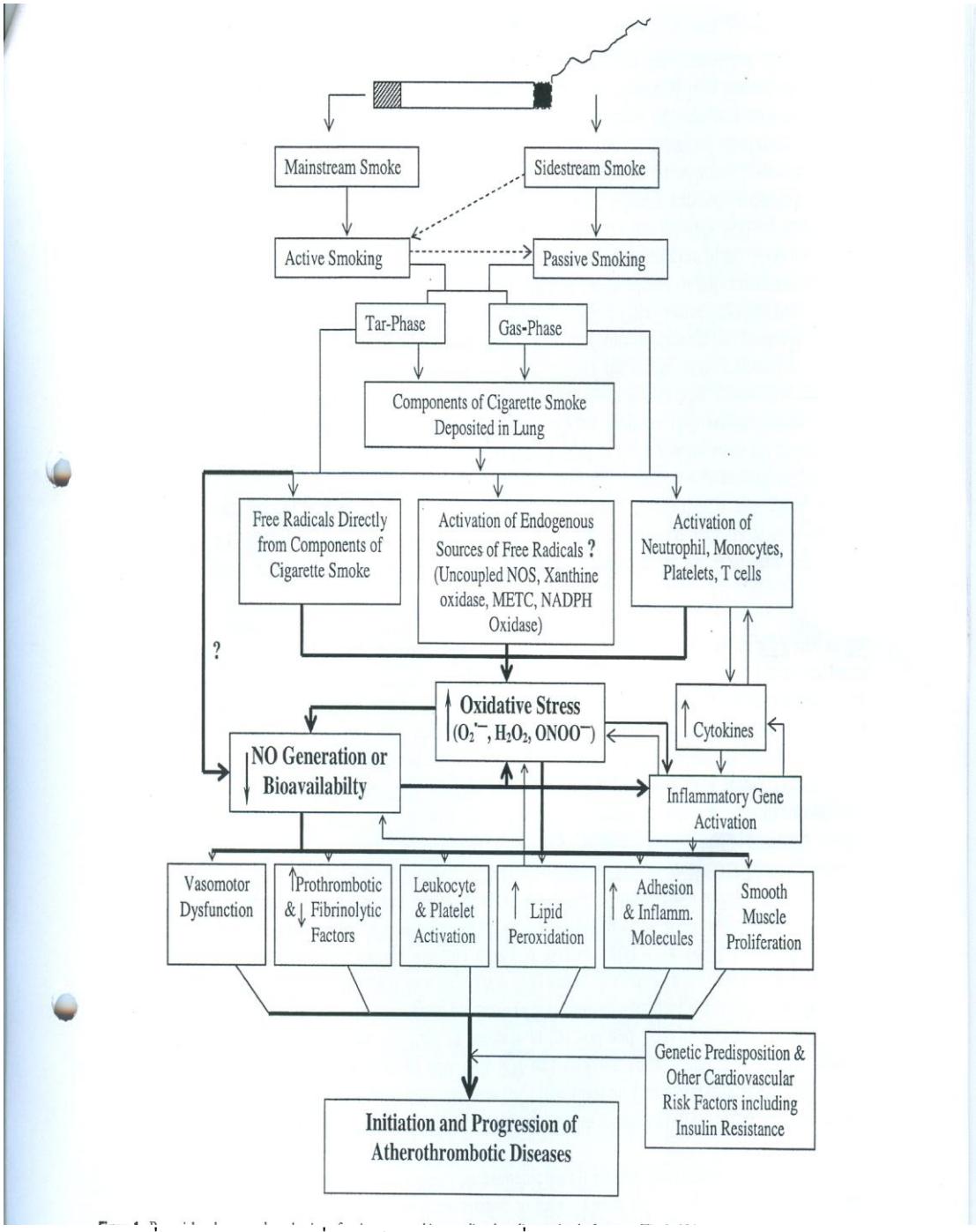
และ co-substrate ตามลำดับ การสลาย homocysteine ให้เป็น cysteine เพื่อเปลี่ยนเป็น sulphate form จำเป็นต้องใช้ vitamin B6 เป็น cofactor อย่างไรก็ตามเมื่อมีการลดลงของ enzyme หรือเกิดภาวะ การขาด vitamins ต่างๆดังกล่าวจะทำให้มีการคั่งของ homocysteine ใน extracellular fluid โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน ซีรัม (19) การมีระดับ homocysteine ในเลือดสูง จะมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (20) ซึ่งอาจจะเป็นเพราะปฏิกิริยา redox ของ sulhydryl group ของตัว homocysteine เอง (21-22) หรือในกรณีที่มีอนุมูล thiol เพิ่มมากขึ้นอาจจะเป็นสาเหตุของโรคหลอดเลือดหัวใจได้ ปัจจัยของการเพิ่มขึ้นของ homocysteine อาจเนื่องมาจากการได้รับ vitamin B12 และ folate จากอาหารไม่เพียงพอ หรือการที่ enzyme ต่างๆที่เกี่ยวข้องในขบวนการเมตาบอลิสมของ homocysteine ถูกทำลาย เคยมีรายงานการวิจัยว่าระดับ folic acid ใน serum จะลดต่ำลงในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ทั้งเพศชายและหญิงในประเทศสหรัฐอเมริกา (23-24) นอกจากนั้น นิยมศรี วุฒิวัยและคณะ ได้เคยรายงานไว้ว่าในประชากรไทยกลุ่มต่างๆขาดวิตามินบีสองประมาณ 10-20% (25)

การวิจัยนี้เป็นการเพิ่มองค์ความรู้และเป็นการศึกษานำร่องเพื่อหาสารอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ ระดับโฮโมซีสตีน วิตามินต่างๆ และความสัมพันธ์ระหว่างระดับโฮโมซีสตีน และระดับวิตามินบี 6, บี12, กรดโฟลิคในกลุ่มผู้สูบบุหรี่เปรียบเทียบกับกลุ่มคนทั่วไป ซึ่งผู้วิจัยมีความเชื่อว่าในประเทศไทย การขาดวิตามินเป็นสาเหตุที่สำคัญของ hyperhomocysteinemia ในคนไทยโดยเฉพาะกลุ่มผู้สูบบุหรี่ ซึ่งสามารถแก้ไขได้ง่าย โดยการให้ความรู้ทางโภชนาการแก่ประชาชน จึงจะช่วยป้องกันการเกิด coronary artery disease ได้

สารประกอบในบุหรี่และควันบุหรี่มีสารอนุมูลอิสระมากมาย เช่น nitric oxide (NO), superoxide ($O_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2), peroxinitrite ($ONOO^-$) และ lipid peroxidation ; malondialdehyde (MDA), conjugate dienes (CD) ประกอบกับกลุ่มผู้สูบบุหรี่มักจะละเลยในการรับประทานอาหารที่มีคุณค่าทั้ง 5 หมู่ โดยเฉพาะผัก ผลไม้ ซึ่งอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุให้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย จึงทำให้เกิดภาวะขาดวิตามินมากขึ้น วิตามินที่ขาดได้แก่ วิตามินเอ, อี, ซี, บี2, บี6, บี12, กรดโฟลิค จากสาเหตุเหล่านี้ทำให้ร่างกายต้องทำงานมากขึ้นในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ หากกำจัดได้ไม่หมดจะทำให้สารอนุมูลอิสระต่างๆไปเกาะตามอวัยวะต่างๆ เช่นที่ปอด หลอดเลือดหัวใจ หลอดเลือดสมองเกิดการอักเสบ ส่งผลให้ร่างกายกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆและเกร็ดเลือดไปล้อมรอบบริเวณที่มีอาการอักเสบ ถ้าเป็นบริเวณผนังหลอดเลือดก็จะเกิดแผ่น plaque ทำให้เลือดไหลเวียนไม่ดีเนื่องจากขนาดท่อเล็กลง หาก plaque เกิดที่หลอดเลือดบริเวณหัวใจก็ทำให้เกิดโรคลอดเลือดหัวใจขาดเลือด หาก plaque เกิดที่หลอดเลือดบริเวณสมองก็ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมองขาดเลือด ดังนั้นสารอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นและสารต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงในกลุ่มผู้สูบบุหรี่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจเพิ่มขึ้นต่างจากกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ (กลุ่มควบคุม) และการขาดวิตามินบี2, บี6, บี12, และ โฟลิค เอสิด อาจจะมีอัตราเพิ่มขึ้นเมื่อมีปัจจัยการสูบบุหรี่ร่วมด้วย ดังนั้นการศึกษาระดับของสารอนุมูลอิสระ homocysteine, vitamin B2, B6, B12, folic acid และสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น vitamin A, E, C, trace elements ในผู้สูบบุหรี่อาจจะทำให้ทราบถึงปัจจัยต่างๆที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้สูบบุหรี่ที่เป็นคนไทยและจะทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของระดับวิตามินดังกล่าวกับปริมาณและระยะเวลาของการสูบบุหรี่

ทบทวนวรรณกรรม

ยาสูบเป็นพืชในตระกูล Solanaceae ซึ่งมีประมาณ 100 สายพันธุ์กระจายตามที่ต่างๆทั่วโลก สายพันธุ์ *N. tabacum* และสายพันธุ์ *N. rustica* เป็นแหล่งกำเนิดที่สำคัญของยาสูบ (26) ในหลายๆประเทศ
ตระหนักถึงอัตราการตายของการสูบบุหรี่ต่อสุขภาพและพบว่าเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการตายจากโรคต่างๆ การสูบบุหรี่เป็นเหตุให้เสียชีวิตปีละ 300,000 คนทั่วโลก อัตราการตายก่อนกำหนดที่มีสาเหตุมาจากนิสัยการสูบบุหรี่เป็นประจำ ซึ่งสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ รวมทั้งโรคหัวใจ โรคมะเร็งปอด หลอดเลือดสมองอุดตัน และโรคถุงลมโป่งพอง เป็นต้น มีสารประกอบทางเคมีมากกว่า 3,040 ชนิดที่แยกได้จากกระบวนการต่างๆที่เกิดขึ้นจากการใช้ใบยาสูบ (27)
สารอนุมูลอิสระที่เกิดจากการสูบบุหรี่ สารต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงสามารถสรุปดังภาพ (28)



สารอนุมูลอิสระที่เกิดจากการสูบบุหรี่ สารต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงสามารถสรุปดังภาพ(1)

โดยทั่วไปร่างกายจะมีระบบทำลายสารอนุมูลอิสระซึ่งเรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในระบบทางเดินหายใจ ยกตัวอย่างเช่น เอ็นไซม์ glutathione peroxidase จะช่วยกำจัดสาร acrolein, aldehyde $RO_2^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$, HOCl, $ONOO^-$ และ $NO_2^{\cdot}$ นอกจากนั้นร่างกายจะหลั่งเยื่อเมือกออกมาจับกับสิ่งแปลกปลอมแล้วขับออกจากร่างกาย โดยทั่วไประดับ glutathione peroxidaseใน plasma จะสูง ส่วนระดับ urate และ albuminใน plasma จะลดลง เช่นเดียวกับ ascorbate

สารต้านอนุมูลอิสระ ascorbate, urate, vitamin E และ albumin จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับ $NO_2^{\cdot}$ เพื่อ

ป้องกันไม่ให้เซลปอดถูกทำลายโดยก๊าซพิษต่างๆ ซึ่งสามารถสรุปสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายและค่าปกติที่ตรวจพบใน plasma และที่พบใน epithelial lining fluid ที่เกี่ยวข้องกับการสูบบุหรี่ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายและค่าปกติที่ตรวจพบใน plasma และที่พบใน epithelial lining fluid

สารต้านอนุมูลอิสระ	ระดับความเข้มข้น (uM)	
	plasma	epithelial lining fluid
Ascorbic	40	40-100
Glutathione	1.5	100
Uric acid	300	90-250
α-Tocopherol	25	2.5
β-Carotene	3.4	0
Albumin-SH	500	70

การสูบบุหรี่กับสารอนุมูลอิสระ ผู้สูบบุหรี่สูดสารอนุมูลอิสระจากการเผาไหม้บุหรี่ สาร polycyclic aromatic hydrocarbons ระหว่างกระบวนการเผาไหม้ทำให้ออกซิเจน (O_2) เปลี่ยนเป็น ซุปเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เปลี่ยนเป็น ไฮดรอกซีแรดิคอล จะเกิดในสารน้ำทางชีววิทยา ตัวอย่างเช่น ในเลือดส่วนพลาสมาของผู้สูบบุหรี่พบว่ามีความเข้มข้น F_2-isoprostanes มากกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่ 2 เท่า พบว่าการสูบบุหรี่ก่อให้เกิดการแตกของ DNA สายเดี่ยว และสารอนุมูลอิสระทำลาย DNA โดยสามารถวิเคราะห์สารอนุมูลอิสระ 8-hydroxydeoxyguanosine ในปัสสาวะ และทำให้มีเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดมากขึ้น (29)

สำหรับการศึกษาในประเทศไทยพบว่าสารอนุมูลอิสระ malondialdehyde(MDA), conjugate dienes (CD) เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้สูบบุหรี่และไม่มีผลต่อเอ็นไซม์ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) และ catalase (CAT) ในเม็ดเลือดแดง (30) จากการศึกษาของ Gouaze และคณะ (31) พบว่าผู้สูบบุหรี่มีระดับ low density lipoprotein (LDL) สูงกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในกลุ่มผู้สูบบุหรี่อาจจะเพิ่มการ oxidation ของ LDL เป็น oxidized LDL ร่างกายจะมีกระบวนการกำจัดโดย monocytes และ macrophages มาจับกับ oxidized LDL เป็นแผ่นเกาะที่ผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนั้นมีการศึกษาอื่นที่พบว่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดและเนื้อเยื่อในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ต่ำกว่ากลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ ตัวอย่างเช่นวิตามินซี (32) ซึ่งอาจจะเกิดจากลักษณะอุปนิสัยในการรับประทานอาหารที่แตกต่างกัน โดยที่ผู้สูบบุหรี่รับประทานผักและผลไม้ที่อุดมด้วยวิตามินซีน้อยกว่ากลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่

การสูบบุหรี่กับโรคหัวใจ การสูบบุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ โดยจะเสริมการทำงานของปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ เช่น การมีระดับคลอเรสเตอรอลในเลือดสูงและความดันโลหิตสูง การสูบบุหรี่ทำให้ความเข้มข้นของไขมันชนิด high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) ต่ำในกลุ่มผู้สูบบุหรี่เปรียบเทียบกับกลุ่มไม่สูบบุหรี่ (33) สามารถกล่าวได้ว่าระยะเวลาจำนวนปีการสูบบุหรี่ที่ยาวนานมากเท่าใดก็จะทำให้ระดับ HDL-C ลดลงมากเท่านั้น และนอกจากนั้นทำให้ระดับ คลอเรสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์สูงขึ้นมากตามไปด้วย (2) โรคหลอดเลือดหัวใจอาจมีผลมาจาก ceruloplasmin โดยเกิด lipid และ lipoprotein oxidation จาก carbon monoxide และ nicotine ในบุหรี่ พบว่าอัตราการตายด้วยโรคหัวใจและหลอดเลือดในกลุ่มชายสูบบุหรี่สูงกว่ากลุ่มไม่สูบบุหรี่ 60-70% ความเสี่ยงต่อการตายจากโรคหัวใจเฉียบพลันสูงกว่ากลุ่มไม่สูบบุหรี่ 2-4 เท่า (34)

ปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจจากการสูบบุหรี่ จากการศึกษาวิจัยต่างๆพบว่าการสูบบุหรี่ทำให้บุคคลมีอาการทางคลินิกของโรคหัวใจต่างๆกันเช่น อาการเจ็บหน้าอก กลุ่มอาการของโรคหลอดเลือดเฉียบพลัน ตลอดจนเป็นสาเหตุการเสียชีวิตจากโรคหัวใจขาดเลือด รวมทั้งโรคหลอดเลือดสมองตีบหรือแตกได้ ทั้งนี้อาการเหล่านี้เกิดขึ้นหลากหลายแตกต่างกันแล้วแต่บุคคลนั้นๆ การสูบบุหรี่สามารถทำให้เกิดภาวะผนังเส้นเลือดแดงแข็ง ในส่วนที่มีผลกับระดับไขมัน จากการศึกษาวิจัยพบว่าผู้สูบบุหรี่จะมีระดับไขมัน cholesterol, triglyceride, and low-density lipoprotein (LDL) ในเลือดสูงกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ ส่วนอัตราส่วนระหว่าง triglyceride และ high-density lipoprotein (HDL) พบว่ามีความสัมพันธ์กับภาวะ การเกิด insulin resistance และภาวะ การเกิด insulin resistance เป็นตัวเชื่อมโยงสำคัญระหว่างการสูบบุหรี่กับการเกิดโรคหัวใจ การสูบบุหรี่จะเพิ่มการเกิดภาวะ oxidative LDL การศึกษาเมื่อเร็วๆนี้ในสัตว์ทดลองโดยใช้กระต่ายที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง หลังจากนั้นฉีดสารที่สกัดได้จากบุหรี่ไปในกระต่าย พบว่ากระต่ายมีการเกิดโรคหลอดเลือดมากขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของ oxidative LDL การสูบบุหรี่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มอุบัติการณ์ของการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โดยการศึกษาต่างๆได้รายงานผลจากการตรวจเลือดพบว่า ระดับไขมัน cholesterol, triglyceride, LDL จะสูง และ HDL ต่ำ ซึ่งสมมติฐานคือเมื่อมีการเพิ่มระดับ LDL ในกระแสเลือดจะเปลี่ยนเป็น oxidative modified LDL ในช่องว่างชั้นใต้ผิวหนัง และเริ่มสร้างเป็นเซลที่กินไขมันเข้าไปภายในดูคล้ายโฟม กระบวนการนี้จะเกิดอย่างต่อเนื่องทำให้เห็นเป็นแถบไขมัน มีเส้นใย เป็นคราบแข็งโดยการก่อตัวของแคลเซี่ยม ไปเกาะตามผนังหลอดเลือดต่างๆ โดยเฉพาะบริเวณเส้นเลือดหัวใจ ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและเป็นสาเหตุให้ถึงแก่ความตายได้ในที่สุด สามารถสรุปได้ดังรูป(2,3)

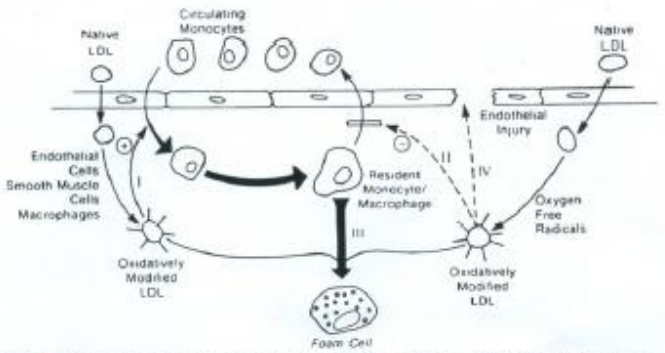


Figure 1 Schematic of atherogenesis hypothesis showing how increased plasma LDL undergoes oxidative modification in the subendothelial space with the initial formation of foam cells. This process continues to form the fatty streak, fibrous and calcified plaques (figure used with permission).[19]

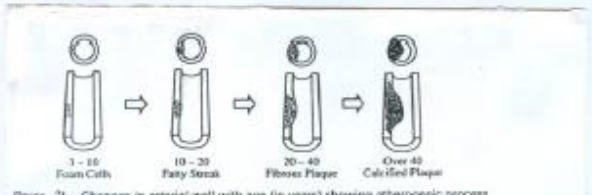


Figure 2 Changes in arterial wall with age (in years) showing atherogenic process in cross-section and longitudinally (reproduced with permission).[19]

ระดับ homocysteine และสารอนุมูลอิสระเช่น malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นสารชีวเคมีที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจจะสูงขึ้นเมื่อมีการขาดวิตามินต่างๆที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินเอ อี ซี และวิตามินบีสอง บีหก บีสิบสอง และ โฟลิค เอสิด โดยมีปัจจัยการสูบบุหรี่เป็นตัวแปรอิสระ (independent variable)

Smoking

↓

Lower of antioxidant vitamin (A,E,C) and other vitamin (B2,B6,B12, folic acid)

↓

Higher of oxidative stress (MDA), Hyperhomocysteinnemia

↓

Atherosclerosis

ระดับ homocysteine มีความสัมพันธ์กับอายุและเพศ โดยการศึกษาในประชากรเดนมาร์ก พบว่าระดับ homocysteine สูงขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่ออายุมากขึ้น การทำงานของเอ็นไซม์ลดลงและมีการกดการทำงานของไต นอกจากนั้นยังพบว่าระดับ homocysteine จะสูงในเพศชายมากกว่าเพศหญิง

ระดับ homocysteine กับการบริโภควิตามิน จากการศึกษา Rimm และคณะ(1998) (35)พบว่าผู้หญิงที่รับประทานวิตามินบี 6 และโฟเลทในปริมาณที่สูง จะสามารถลดอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้ 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่รับประทานวิตามินบี 6 และโฟเลทในปริมาณที่ต่ำ

กลไกของร่างกายในการป้องกัน ควบคุมและต่อต้านสารอนุมูลอิสระผ่านสารต้านอนุมูลอิสระ โดยปกติร่างกายจะมีกลไกป้องกันอันตรายจากสารอนุมูลอิสระ กลไกหนึ่งที่สำคัญคือ เอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอ็นไซม์ superoxide dismutase จะเปลี่ยน superoxide anion ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เอ็นไซม์ glutathione peroxidase มีบทบาทสำคัญในการกำจัด lipid peroxidation และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ส่วนเอ็นไซม์ catalase จะทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นน้ำและออกซิเจน นอกจากนั้นร่างกายจะมีกระบวนการต้านอนุมูลอิสระโดยผ่านวิตามินที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามิน E ในการป้องกันปฏิกิริยาลูกโซ่ในเนื้อเยื่อไขมัน ช่วยกำจัดสารที่เกิดจาก lipid peroxidation ยิ่งไปกว่านั้นคือ วิตามิน C จะทำหน้าที่ร่วมกันในการป้องกันไม่ให้เกิด lipid peroxidation วิตามิน Cและ E จะช่วยเพิ่มระดับเของเอ็นไซม์ glutathione ทั้งนี้ เอ็นไซม์ glutathione จะช่วยกำจัดสารอนุมูลอิสระประเภท hydroxyl และ singlet oxygen ไปยังบริเวณที่

ไม่ชอบน้ำภายในเซลล์ นอกจากนั้นพบว่าวิตามิน C จะทำหน้าที่ร่วมกับ uric acid transferrin และ ceruloplasmin ผ่านกลไกควบคุม ป้องกันสารที่ชอบน้ำที่เกิดขึ้นภายในเซลล์และของเหลวนอกเซลล์
แร่ธาตุปริมาณน้อยอื่นๆที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สังกะสี (Zn) เป็น cofactor ใน metalloenzymes รวมทั้ง Cu/Zn-SOD นอกจากนั้นเป็นตัวกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซีลีเนียม (Se) เป็น cofactor ของเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระ glutathione peroxidase ทองแดง (Cu) เป็นส่วนสำคัญของเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase

วัตถุประสงค์การวิจัย

- เพื่อวัดระดับสารอนุมูลอิสระ MDA, CD, Homocysteineในเลือดของกลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ (กลุ่มควบคุม)
- เพื่อวัดระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Antioxidant enzymes; Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GPx), Catalase (CAT) Antioxidant vitamins; วิตามินเอ, ซี, อี, วิตามินบี6, บี12, กรดโฟลิค, โฮโมซีสตีน รวมทั้งแร่ธาตุปริมาณน้อยที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Zinc (Zn), Copper (Cu) และ Selenium (Se) ในเลือดของกลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ (กลุ่มควบคุม)
- เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะระดับ MDA, CD, Homocysteine และระดับวิตามินบี 6, บี 12 กรดโฟลิคที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในเลือดของกลุ่มผู้สูบบุหรี่

ระเบียบวิธีวิจัย

รูปแบบงานวิจัย (Research Design) เป็นรูปแบบ Cross-sectional study

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

เนื่องจากเป็นการวิจัยแบบการทดลอง จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 200คน โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 50 คน คือ

1.กลุ่มผู้สูบบุหรี่โรงงาน 50 คน
2.กลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่มือสอง 50 คน
3.กลุ่มผู้สูบบุหรี่มวนเอง 50 คนและ
4.กลุ่มควบคุม 50 คน

ขั้นตอนและวิธีการเก็บข้อมูล

วิธีการศึกษา เป็นรูปแบบ Cross-sectional study โดยคัดเลือกกลุ่มประชากรที่เป็นผู้ชาย ปฏิบัติงานในหน่วยงานต่างๆ เช่นโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ส่วนกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่มือสองเป็นอาสาสมัครที่อยู่ในจังหวัดพิษณุโลก หลังจากนั้นทำการเก็บข้อมูลเบื้องต้นโดยการสัมภาษณ์และบันทึกแบบสอบถามที่คณะผู้วิจัยได้ออกแบบและทดสอบจนได้มาตรฐานแล้ว ข้อมูลที่บันทึกประกอบด้วยข้อมูลทางสังคมและเศรษฐกิจ รวมถึงประวัติการสูบบุหรี่ ระยะเวลา และปริมาณที่สูบบุหรี่ต่อวัน ประวัติการดื่มสุราและเครื่องดื่มบำรุงกำลังต่างๆ นอกจากนั้นยังได้สอบถามถึงการใช้ยารักษาโรค วิตามิน หรืออาหารเสริมด้วย ขั้นตอนต่อไปอาสาสมัครจะได้รับการชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง วัดสัดส่วนร่างกาย วัดความดันเลือดในท่านั่ง เก็บตัวอย่างเลือดประมาณ 15-20 มิลลิลิตรในช่วงเช้า โดยงดน้ำงดอาหารก่อนเจาะเลือดประมาณ 8 ชั่วโมง แบ่งเลือดเป็น 3 ส่วน ส่วนที่ 1 ที่มีเฮปาริน 10 มิลลิลิตร นำเลือดมาปั่น

และแยกซีรัมและพลาสมา เพื่อตรวจหาระดับเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระ SOD, GPx, CAT โดยแบ่งซีรัมและพลาสมาใส่ในหลอด eppendorf 1.5 มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่ –80ºC เพื่อวิเคราะห์ทางชีวเคมีหาปริมาณ homocysteine, MDA, CD, lipid profile, การตรวจทางปริมาณวิตามินต่างๆ เช่น บี 6 บี 12 โฟเลท วิตามิน เอ ซี อี แร่ธาตุปริมาณน้อย เช่น ซีลีเนียม โครเมียม ทองแดง สังกะสี ตะกั่ว แคดเมียม และปรอท การตรวจทางโลหิตวิทยาหาปริมาณ ความเข้มข้นของเลือด hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) ซึ่งสามารถคำนวณหา MCV และ MCHC) ได้จากสูตรสมการ

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Hematocrit}}{\text{Red blood cell count}} \times 100$$

$$\text{MCHC (g/dl)} = \frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Hematocrit}} \times 100$$

การวัดสัดส่วนร่างกาย เพื่อประเมินภาวะโภชนาการ เช่น การชั่งน้ำหนัก การวัดส่วนสูง การวัดรอบแขน รอบเอว รอบสะโพก ความหนาของชั้นไขมัน triceps การวัดดัชนีมวลกาย (BMI) คำนวณได้จาก น้ำหนักเป็นกิโลกรัม/(ส่วนสูงเป็นเมตร)^2 ซึ่งดัชนีมวลกายบ่งบอกถึงขนาดรูปร่างที่เหมาะสมและบ่งบอกถึงภาวะทุพโภชนาการอีกด้วย

การวัดความดันโลหิตในท่านั่ง โดยใช้เครื่องวัดความดันมาตรฐาน

แบบบันทึกรายการอาหาร ใช้แบบบันทึกรายการอาหาร 3 วัน และ 24 ชั่วโมง เพื่อคำนวณปริมาณอาหารที่ได้รับ รายการอาหารที่บันทึกจะใส่เป็นหมายเลขและปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ไฟเบอร์ วิตามิน บี1 บี2 ซี แล้วนำไปคำนวณโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Nutrisuvey

วิธีการวิเคราะห์และสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลโดยสรุป

วิธีวิเคราะห์ทางชีวเคมี

การหาระดับ homocysteine ใช้วิธี fully automated fluorescence polarization immunoassay (36)

การหาระดับ MDA ใช้วิธี the thiobarbituric acid (TBA) (37)

การหาระดับไขมัน โคเลสเตอรอล lipid profile, AST, ALT ด้วยเครื่อง Automated analyzer

การหาระดับวิตามินต่างๆ เช่น วิตามินบี 6 โฟเลท เอ อี ใช้วิธี high performance liquid chromatography ส่วนวิตามิน ซี ใช้วิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

การหาระดับเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอ็นไซม์ SOD, GPx ใช้ Randox test combination วัดการทำงานของเอ็นไซม์ที่ความยาวคลื่น 505 และ 340 นาโนเมตรใช้วิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

เอ็นไซม์ CAT วัดการทำงานของเอ็นไซม์จากปริมาณ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เหลือที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร ใช้วิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

การหาระดับแร่ธาตุปริมาณน้อย เช่นซีลีเนียม โครเมียม สังกะสี ทองแดง ตะกั่ว แคดเมียม และปรอท โดยเครื่อง Atomic absorption สเปคโตรโฟโตมิเตอร์

วิธีการวิเคราะห์และสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรม SPSS โดยดูการกระจายของข้อมูลและทดสอบ Skewness and Kurtosis ถ้าการกระจายของข้อมูลไม่ปกติ วิธีการวิเคราะห์และสถิติจะเป็นแบบ nonparametric ส่วนการเปรียบเทียบสารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างผู้ที่สูบบุหรี่และกลุ่มควบคุมใช้การทดสอบ Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank sum W test (two-tailed) ที่ระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 0.05

ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆคำนวณโดย Spearman’s Rank coefficient

ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้มีอาสาสมัครทั้งหมด 200 คน แบ่งออกเป็นกลุ่มผู้สูบบุหรี่ 150 คน เป็นกลุ่มผู้สูบบุหรี่โรงงาน 50 คน กลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่มือสอง 50 คน กลุ่มผู้สูบบุหรี่มวนเอง 50 คนและ กลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ที่เป็นกลุ่มควบคุม 50 คน ลักษณะข้อมูลทั่วไปทางด้านสังคมของอาสาสมัครดังแสดงในตารางที่ 2 อายุของกลุ่มผู้สูบบุหรี่อยู่ในช่วง 19-80 ปี ในขณะที่อายุของกลุ่มควบคุมอยู่ในช่วง 23-54 ปีตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่ส่วนใหญ่เริ่มสูบบุหรี่เมื่ออายุน้อยกว่า 20 ปีซึ่งก็คือช่วงวัยรุ่นนั่นเอง กลุ่มผู้สูบบุหรี่ประมาณ 32.88% จบการศึกษาต่ำกว่าชั้นประถมปีที่ 6 เปรียบเทียบกับ 2%ของกลุ่มควบคุมที่จบการศึกษาในระดับเดียวกัน สัดส่วนของกลุ่มควบคุมที่จบการศึกษาในระดับปริญญาตรีหรือสูงกว่ามี 42% ซึ่งสูงกว่า 3.35%ของกลุ่มผู้สูบบุหรี่ที่จบการศึกษาในระดับเดียวกัน

ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของอายุ ดัชนีมวลกาย สัดส่วนร่างกาย รอบเอว รอบสะโพก รอบแขน ความดันโลหิต ชีพจร ผลเลือดทางโลหิตวิทยา ระดับน้ำตาล ไขมัน malondialdehyde, conjugated diene, โฮโมซีสเตอีน ระดับวิตามินต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่นวิตามินซี บี6 บี12 โฟเลท วิตามินเอ อี เบต้า แคโรทีน ระดับเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่น SOD, GPx, CAT และแร่ธาตุปริมาณน้อยที่เป็นสารต้านอนุมุลอิสระ เช่น Se, Cr, Cu,Zn, Pb, Cd และ Hg ในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุมซึ่งแสดงผลดังตารางที่3-7 โดยพบว่ากลุ่มควบคุมมีอายุ ดัชนีมวลกาย สัดส่วนร่างกาย รอบเอว รอบสะโพก รอบแขน มากกว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญ แต่ทั้ง 2 กลุ่มไม่พบความแตกต่างในเรื่องความดันโลหิตและชีพจร (ตารางที่3) นอกจากนั้นผลการตรวจทางโลหิตวิทยาก็ไม่พบความแตกต่างระหว่างอาสาสมัครทั้งทั้ง 2 กลุ่ม ยกเว้นจำนวนเม็ดเลือดขาว MCHC ในกลุ่มสูบบุหรี่จะต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่4) จากตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่ากลุ่มควบคุมมีระดับไขมันในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมรนัยสำคัญของ MDA และ CD ในทางกลับกันกลับพบว่า กลุ่มผู้สูบบุหรี่กลับมีระดับโฮโมซีสเตอีนสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนตารางที่ 6 พบว่าระดับซีรัมวิตามินซี บี6 โฟเลท วิตามิน เอ อี เบต้า แคโรทีน ในกลุ่มควบคุมจะสูงกว่ากล่มผู้สูบบุหรี่ ยกเว้นวิตามินบี 12 ที่พบว่าต่ำกว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่ สารต้านอนุมูลอิสระเอ็นไซม์ SOD GPx และ CATไม่พบความแตกต่างระหว่าง อาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่ม ส่วนแร่ธาตุที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Se, Cr, Cu, Zn ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่จะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในทางตรงกันข้ามระดับแคดเมี่ยม (Cd) และตะกั่ว (Pb) ในเลือดกลับมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 2 ลักษณะข้อมูลทั่วไปทางด้านสังคมของกลุ่มสูบบุหรี่เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

	กลุ่มสูบบุหรี่			รวม จำนวน (%)	กลุ่มควบคุม จำนวน (%)
	ผู้สูบบุหรี่โรงงาน จำนวน (%)	สูบบุหรี่มือสอง จำนวน (%)	มวนยาเอง จำนวน (%)		
อายุ (ปี)					
18-30	49/50 (98)	37/50 (74)	2/49 (4.08)	88/149 (59.06)	12/50 (24)
31-40		8/50 (16)	8/49 (16.33)	16/149 (10.74)	30/50 (60)
41-50		4/50 (8)	18/49 (36.73)	22/149 (14.76)	7/50 (14)
51-60	1/50 (2)	1/50 (2)	13/49 (26.53)	15/149 (10.07)	1/50 (2)
61-70			5/49 (10.2)	5/149 (3.35)	
>70			3/49 (6.12)	3/149 (2.01)	
สถานภาพสมรส					
โสด	35/50 (70)	40/50 (80)	2/49 (4.08)	77/149 (51.68)	17/50 (34)
สมรส	12/50 (24)	9/50 (18)	46/49 (93.88)	67/149 (44.97)	32/50 (64)
แยกทาง	2/50 (4)			2/149 (1.34)	
หย่าร้าง	1/50 (2)			1/149 (0.67)	1/50 (2)
หม้าย		1/50 (2)	1/49 (2.04)	2/149 (1.34)	
การศึกษา					
ไม่ได้เรียน	1/50 (2)			1/149 (0.67)	
ต่ำกว่าประถม6	18/50 (36)	9/50 (18)	22/49 (44.9)	49/149 (32.88)	1/50 (2)
ป1ช./ม.3	23/50 (46)	18/50 (36)	26/49 (53.06)	67/149 (44.97)	3/50 (6)
ป1ส./ม.6	8/50 (16)	12/50 (24)	1/49 (2.04)	21/149 (14.09)	2/50 (4)
ปริญญาตรี		6/50 (12)		6/149 (4.03)	23/50 (46)
สูงกว่าปริญญาตรี		5/50 (10)		5/149 (3.35)	21/50 (42)
อายุที่เริ่มสูบบุหรี่					
<20 ปี	40/50 (80)	-	12/49 (24.49)	52/99 (52.52)	-
>=20 ปี	10/50 (20)		38/49 (77.55)	48/99 (48.48)	

ตารางที่ 3 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของอายุ ดัชนีมวลกาย สัดส่วนร่างกาย และความดันโลหิตในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสมัครทั้งหมด				P-value
	กลุ่มสูบบุหรี่ (149 คน)		กลุ่มควบคุม (50 คน)		
	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	
อายุ (ปี)	22 (19-80)	20.9-23.1	33.5 (23-54)	31.76-35.1	0.004^{++}
น้ำหนัก (กิโลกรัม)	62.5 (37-106)	60.5-64.0	69.0 (51-102)	66.5-73.3	0.121
ส่วนสูง (เซนติเมตร)	168 (150-184)	159.6-176.4	170.0 (160.0-184.0)	161.5-178.5	$.046^{+}$
ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/เมตร^2)	20.97 (13.27-33.83)	19.92-22.02	23.49 (17.99-31.48)	22.93-24.00	0.000^{++}
รอบเอว (เซนติเมตร)	76.00 (63.50-107.00)	72.20-79.80	81.00 (66.00-100.00)	78.85-83.44	0.001^{++}
รอบสะโพก (เซนติเมตร)	90.75 (68.00-166.00)	86.21-95.29	92.75 (79.00-110.00)	90.13-94.18	0.017^{+}
รอบแขน	26.4 (15.5-36.5)	25.1-27.7	29.0 (22.5-36.0)	27.9-30.9	0.006^{+}
ความหนาTriceps (มิลลิเมตร)	13.04 (3.90-51.00)	12.39-13.69	14.45 (6.20-40.00)	12.4-16.4	0.126
ความดัน Systolic (มิลลิเมตรปรอท)	119.5 (90.0-143.0)	113.5-125.4	120.0 (96.0-180.0)	116.1-124.2	0.867
ความดัน Diastolic (มิลลิเมตรปรอท)	76.0 (90.0-143.0)	73.0-80.0	78.0 (61.0-107.0)	75.2-80.3	0.628
ชีพจร (ครั้ง/นาที)	71.0 (44.0-112.0)	68.0-73.0	72.0 (59.0-104.0)	71.0-75.0	0.176

$^{+}$ = $p<0.05$, $^{++}$ =$p<0.01$ โดยวิธี Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W test (two-tailed)

ตารางที่ 4 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของผลเลือดทางโลหิตวิทยาในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสมัครทั้งหมด				P-value
	กลุ่มสูบบุหรี่ (149 คน)		กลุ่มควบคุม (50 คน)		
	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	
ฮีโมโกลบิน (กรัม/เดซิลิตร)	14.8 (10.7-17.2)	14.61-15.00	15.0 (12.6-16.6)	14.65-15.21	0.615
ฮีมาโตคริต (%)	44.00 (34.00-52.80)	44.19-45.11	45.00 (39.00-49.00)	44.21-45.60	0.121
เม็ดเลือดแดง (10^{12}/l)	5.20 (3.99-7.50)	5.07-5.31	5.32 (4.45-6.99)	5.16-5.52	0.153
เม็ดเลือดขาว (10^{9}/l)	6.35 (2.27-10.83)	6.03-6.67	6.21 (3.50-11.25)	5.70-6.70	0.015^{+}
เกล็ดเลือด (10^{9}/l)	247.00 (150.00-463.00)	239.00-258.88	230.50 (150.00-339.00)	216.90-243.20	0.133
MCV (fl)	86.60 (52.00-102.90)	85.23-88.50	86.209 (59.60-95.50)	83.10-89.30	0.411
MCH (pg)	28.7 (14.2-34.4)	28.2-29.3	29.4 (14.2-32.1)	27.9-31.6	0.542
MCHC (กรัม/เดซิลิตร)	32.80 (29.30-37.30)	32.60-33.10	33.55 (29.10-37.90)	33.4-34.20	0.002^{++}

MCV = mean corpuscular volume MCHC = mean corpuscular hemoblobin concentration

MCH = mean corpuscular hemoblobin

$^{+}$ = $p<0.05$, $^{++}$ =$p<0.01$ โดยวิธี Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W test (two-tailed)

ตารางที่ 5 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของระดับน้ำตาล ไขมัน malondialdehyde, conjugated diene และโฮโมซีสเตอีน ในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสมัครทั้งหมด				P-value
	กลุ่มสูบบุหรี่ (149 คน)		กลุ่มควบคุม (50 คน)		
	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	
น้ำตาล (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	85.9 (64.0-188.0)	81.61-90.19	87.0 (65.0-113.0)	84.12-90.31	0.443
โคเลสเตอรอล (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	165.00 (85.00-249.00)	156.75-173.25	204.00 (143.00-336.00)	191.80-216.80	0.000^{++}
HDL (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	49.0 (25.0-90.0)	46.55-51.45	46.5 (26.0-79.0)	43.5-49.5	0.450
LDL (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	95.2 (39.0-166.0)	90.44-99.96	131.00 (73.0-170.0)	124.45-137.5	0.015^{+}
ไตรกลีเซอไรด์ (มิลลิกรัม/เดซิลิตร)	112.07 (50.30-394.30)	106.47-117.67	134.30 (41.00-398.00)	216.90-243.20	0.000^{++}
MDA	2.15 (1.57-3. 93)	2.04-2.26	2.34 (1.56-2.95)	2.25-2.45	0.068
Conjugated diene	0.14 (0.01-0.10)	0.13-0.15	0.17 0.1-0.24)	0.16-0.18	0.542
Homocysteine (ไมโครโมล/ลิตร)	15.3 (8.00-77.66)	14.53-16.84	14.48 (11.0-36.75)	13.75-15. 20	0.017^{+}

HDL = high density lipoprotein LDL = low density lipoprotein

MDA = malondialdehyde

$^{+}$ = $p<0.05$, $^{++}$ =$p<0.01$ โดยวิธี Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W test (two-tailed)

ตารางที่ 6 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของระดับวิตามินต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่นวิตามินซี บี6 บี12 โฟเลท วิตามินเอ อี เบต้า แคโรทีนในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสมัครทั้งหมด				P-value
	กลุ่มสูบบุหรี่ (149 คน)		กลุ่มควบคุม (50 คน)		
	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	
วิตามิน ซี (มิลลิกรัม%)	0.47 (0.1-1.36)	0.44-0.79	0.98 (0.22-1.53)	0.75-1.48	0.000++
วิตามิน บี6 (ไมโครโมลาร์)	48.66 (8.61-357.19)	37.40-60.4	71.34 (22.15-220.04)	191.80-216.80	0.000++
วิตามิน บี12 (พิโคกรัม/มิลลิลิตร)	516.0 (101.5-1748.0)	46.55-51.45	409.22 (86.9-924.7)	388.76-429.68	0.008++
โฟเลท (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	6.12 (2.79-14.32)	5.6-7.01	7.84 (3.78-41.9)	5.8-9.1	0.000++
วิตามินเอ (ไมโครกรัม/ลิตร)	2.50 (0.17-5.67)	2.37-2.70	3.75 (2.08-5.92)	3.56-3.97	0.000++
วิตามินอี (ไมโครกรัม/ลิตร)	22.61 (11.77-47.20)	21.48-23.74	35.00 (21.94-51.12)	33.25-36.75	0.000++
เบต้า แคโรทีน	0.22 (0.03-1.00)	0.20-0.24	0.40 0.07-1.50)	0.38-0.42	0.000++

+ = $p<0.05$, ++ =$p<0.01$ โดยวิธี Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W test (two-tailed)

ตารางที่ 7 ค่ามัธยฐาน ช่วงและค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ของระดับเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่นSOD, GPx, CAT และแร่ธาตุปริมาณน้อยที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Se, Cr, Cu,Zn, Pb, Cd และ Hg ในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสมัครทั้งหมด				P-value
	กลุ่มสูบบุหรี่ (149 คน)		กลุ่มควบคุม (50 คน)		
	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	มัธยฐาน (ช่วง)	ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%	
SOD (มิลลิกรัม/ลิตร)	341.8 (74.0-627.3)	324.71-358.89	344.55 (115.7-628.5)	311.88-377.21	0.603
GPx (IU/กรัมฮีโมโกลบิน)	30.31 (10.35-74.81)	28.79-31.83	28.82 (17.91-49.76)	27.38-30.26	0.083
CAT ($x10^4$ IU/กรัมฮีโมโกลบิน)	10.31 (5.73-18.84)	9.79-10.82	10.35 (7.82-14.54)	9.95-10.77	0.883
ซีลีเนียม (Se) (ไมโครกรัม/เดซิลิตร)	83.0 (52.0-201.0)	5.6-7.01	95.0 (69.0-132.0)	91.8-98.8	0.000^{++}
โครเมียม (Cr) (ไมโครกรัม/เดซิลิตร)	0.38 (0.10-5.47)	0.33-0.42	0.71 (0.15-2.53)	0.56-0.86	0.000^{++}
ทองแดง (Cu) (ไมโครกรัม/เดซิลิตร)	81.00 (51.00-155.00)	77.5-84.5	85.00 (65.00-118.00)	81.72-88.56	0.245
สังกะสี (Zn) (ไมโครกรัม/เดซิลิตร)	82 (47.00-121.00)	77.90-86.10	93.0 (67.0-109.0)	89.51-95.28	0.000^{++}
ตะกั่ว (Pb) (ไมโครกรัม/เดซิลิตร)	5.5 (2.0-29.0)	3.8-4.2	3.0 (2.0-7.0)	2.7-3.4	0.000^{++}
แคดเมียม (Cd) (ไมโครกรัม/ลิตร)	0.8 (0.37-3.26)	0.77-0.91	0.7 (0.44-1.02)	0.67-0.74	0.012^{+}
ปรอท (Hg) (ไมโครกรัม/ลิตร)	3.5 (1.0-11.2)	3.06-4.02	4.1 (1.8-29.9)	2.8-5.6	0.153

$^{+}$ = $p<0.05$, $^{++}$ =$p<0.01$ โดยวิธี Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W test (two-tailed)

จำนวน สัดส่วน และเปอร์เซนต์ของอาสาสมัครที่มีค่าความดันโลหิต ไขมันในเลือด โฮโมซีสเตอีนที่ผิดปกติซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 8 จะเห็นว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่มีสัดส่วนเปอร์เซนต์ของการเกิดความดันโลหิตสูงโดยมีค่า Systolic $\geq$ 160 มิลลิเมตรปรอท 2.01% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0% ส่วนค่าความดัน Diastolic$\geq$ 95 มิลลิเมตรปรอทในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ (10.73%) สูงกว่ากลุ่มควบคุม (6%) และโฮโมซีสเตอีนในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ (37.58%) %) สูงกว่ากลุ่มควบคุม (20%) แต่ให้ผลตรงกันข้ามกับระดับไขมันโคเลสเตอรอล LDL และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงของกลุ่มผู้สูบบุหรี่ (16.11% 7.38% และ 9.39%) ที่พบต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (58% 8% และ 14%) ตามลำดับ

ค่าผิดปกติทางโลหิตวิทยาพบว่า 24% ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่และ 2%ในกลุ่มควบคุมที่มีระดับฮีโมโกลบิน <13 กรัม/เดซิลิตร19.46% ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่และ 2%ในกลุ่มควบคุมที่มีระดับฮีมาโตคริต <40% ภาวะเอ็นไซม์ GPx, CATซึ่งเป็นสาร ต้านอนุมูลอิสระต่ำพบ (1.34%, 46.98%) ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่และ(4 0%, 0%) ในกลุ่มควบคุม ในทางกลับกันสำหรับเอ็นไซม์ SOD ที่ต่ำพบ 5.37% ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่และ12%ในกลุ่มควบคุม (ตารางที่9)

สัดส่วนของการขาดวิตามินและแร่ธาตุปริมาณน้อยที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่พบในกลุ่มผู้สูบบุหรี่มากกว่ากลุ่มควบคุม เช่นวิตามินเอ อี ซี บี6 โฟเลทต่ำพบในกลุ่มผู้สูบบุหรี่31.51%, 69.8%, 7.38%, 3.30% และ 0.67% เมื่อเทียบกับ 0%, 6%, 0%, 0% และ 0% ตามลำดับ แต่สำหรับการขาดวิตามินบี12 พบในกลุ่มผู้สูบบุหรี่6.04% น้อยกว่ากลุ่มควบคุม8% ส่วนภาวะผิดปกติแร่ธาตุปริมาณน้อยก็เป็นไปในทางเดียวกับวิตามิน เช่น ภาวะ Se, Cr, Cu และ Zn ต่ำพบในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ 10.74%, 0.67%, 26.85% และ 31.54% ซึ่งพบมากกว่ากลุ่มควบคุม 0%, 0%, 18% และ 4% ระดับตะกั่วในเลือดที่สุงผิดปกติพบในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ 4.03% มากกว่ากลุ่มควบคุม 0%, แต่ระดับปรอทในเลือดที่สูงกว่าปกติพบในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ 11.41% น้อยกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่10)

ตารางที่8 สัดส่วนของอาสาสมัครที่มีค่าความดันโลหิต ไขมันในเลือด และโฮโมซีสเตอีนที่ผิดปกติใน กลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสัครที่มีค่าความดันโลหิต ไขมันในเลือด และโฮโมซีสเตอีนที่ผิดปกติ									
	กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 1		กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 2		กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 3		รวม		กลุ่มควบคุม	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
ค่าความดันโลหิตสูง										
ค่าSystolic ≥ 160 มิลลิเมตรปรอท	-	0	2/50	4	1/49	2.04	3/149	2.01	-	0
ค่าDiastolic≥95 มิลลิเมตรปรอท	-	0	6/50	12	10/49	20.41	16/149	10.73	3/50	6
ภาวะไขมันผิดปกติ										
โคเลสเตอรอล ≥200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร	1/50	2	9/50	18	14/49	28.57	24/149	16.11	29/50	58
โคเลสเตอรอล ≥250 มิลลิกรัม/เดซิลิตร	-	0	-	0	1/49	2.04	1/149	0.67	9/50	18
HDL ≤35 มิลลิกรัม/เดซิลิตร	4/50	8	7/50	14	4/49	8.16	15/149	10.07	4/50	8
LDL≥150 มิลลิกรัม/เดซิลิตร	-	0	4/50	8	7/49	14.29	11/149	7.38	4/50	8
ไตรกลีเซอไรด์≥200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร	-	0	6/50	12	8/49	16.33	14/149	9.39	7/50	14
โฮโมซีสเตอีนในเลือดสูง>15 (ไมโครโมล/ลิตร)	16/50	32	23/50	46	17/49	34.69	56/149	37.58	10/50	20

กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 1 เป็นกลุ่มสูบบุหรี่จากโรงงาน กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 2 เป็นกลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่มือ 2
กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 3 เป็นกลุ่มสูบบุหรี่ที่มวนยาเอง กลุ่มควบคุม เป็นกลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่
HDL = high density lipoprotein LDL = low density lipoprotein

ตารางที่9 สัดส่วนของอาสาสมัครที่มีค่าฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต และเอ็นไซม์ ต้านอนุมูลอิสระที่ผิดปกติ ในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสัครที่มีค่าความดันโลหิต ไขมันในเลือด และโฮโมซีสเตอีนที่ผิดปกติ									
	กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 1		กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 2		กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 3		รวม		กลุ่มควบคุม	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
ภาวะโลหิตจาง										
ค่าฮีโมโกลบิน < 13 กรัม/เดซิลิตร	21/50	42	9/50	18	6/49	12.4	36/149	24.16	1/50	2
ค่าฮีมาโตคริต < 40%	15/50	30	8/50	16	6/49	12.4	29/149	19.46	1/50	2
ภาวะเอ็นไซม์ ต้านอนุมูลอิสระที่ผิดปกติ										
SOD ≤2866 U/กรัมฮีโมโกลบิน	1/50	2	3/50	6	3/49	6.12	8/149	5.37	6/50	12
GPx ≤15.96 U/กรัมฮีโมโกลบิน	-	0	1/50	2	1/49	2.04	2/149	1.34	-	0
CAT ≤19.2 x 10^4 IU/กรัมฮีโมโกลบิน	20/50	40	13/50	26	37/49	75.5	70/149	46.98	20/50	40

SOD = superoxide dismutase GPx = glutathione peroxidase CAT = catalase

ตารางที่10 สัดส่วนของอาสาสมัครที่มีค่าวิตามินและแร่ธาตุปริมาณน้อยที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ผิดปกติในกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

พารามิเตอร์	อาสาสัครที่มีค่าความดันโลหิต ไขมันในเลือด และโฮโมซีสเตอีนที่ผิดปกติ									
	กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 1		กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 2		กลุ่มสูบบุหรี่ที่ 3		รวม		กลุ่มควบคุม	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
ภาวะการขาดวิตามิน										
วิตามินเอ < 2.02 ไมโครกรัม/ลิตร	28/50	56	18/50	36	1/49	2.04	47/149	31.54	-	0
วิตามินอี < 26.6 ไมโครกรัม/ลิตร	45/50	90	32/50	64	27/49	55.1	104/149	69.8	3/50	6
วิตามินซี < 5มิลลิกรัม/เดซิลิตร	4/50	8	2/50	4	5/49	10.2	11/149	7.38	-	0
วิตามินบี6 < 20 นาโนโมล	-	0	-	0	5/49	10.2	5/149	3.36	-	0
วิตามินบี12 <200 พิโคกรัม/มิลลิลิตร	4/50	8	4/50	8	1/49	2.04	9/149	6.04	4/50	8
โฟเลท <3 นาโน/ลิตร	-	0	1/50	2	-	0	1/149	0.67	-	0
ภาวะผิดปกติแร่ธาตุที่เป็น ต้านอนุมูลอิสระ										
Se <70 ไมโครกรัม/ลิตร	4/50	8	4/50	8	8/49	16.33	16/149	10.74	-	0
Cr <0.12 นาโนกรัม/มิลลิลิตร	-	0	1/50	2	-	0	1/149	0.67	-	0
Cu <75 ไมโครกรัม/เดซิลิตร	15/50	30	20/50	40	5/49	10.2	40/149	26.85	9/50	18
Zn <75ไมโครกรัม/เดซิลิตร	30/50	60	16/50	32	1/49	2.04	47/149	31.54	2/50	4
Cd >5ไมโครกรัม/ลิตร	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
Pb >15 ไมโครกรัม/เดซิลิตร	-	0	-	0	6/49	12.24	6/149	4.03	-	0
Hg>5ไมโครกรัม/ลิตร	3/50	6	7/50	22	7/50	22.05	17/149	11.41	20/50	40

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ต่างๆในกลุ่มผู้สูบบุหรี่แต่ละกลุ่ม ผลดังแสดงในตารางที่11-12

จากตารางที่11 พบว่า อายุและระดับโฮโมซีสเตอีนมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับน้ำหนัก ดัชนีมวลกาย รอบเอว รอบสะโพก ดัชนีมวลกาย มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอายุ น้ำหนัก รอบเอว รอบสะโพก ความดันซีสโตลิค ไดแอสโตลิค และโฮโมซีสเตอีน

ตารางที่12 ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินต่างๆ และโฮโมซีสเตอีนในกลุ่มสูบบุหรี่จากโรงงาน มีรายละเอียดดังนี้คือ วิตามินซีมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับโฟเลท อี และ เบต้า แคโรทีน วิตามินบี 12 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับโฟเลท แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับโฮโมซีสเตอีน โฟเลทมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับวิตามินซีและบี 12 และมีความสัมพันธ์เชิงลบกับโฮโมซีสเตอีน

ตารางที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างอายุ น้ำหนัก สัดส่วนร่างกาย ความดันโลหิต และโฮโมซีสเตอีนในกลุ่มสูบบุหรี่จากโรงงาน

พารามิเตอร์	อายุ	น้ำหนัก	ดัชนีมวลกาย	รอบเอว	รอบสะโพก	ซีสโตลิค	ไดแอสโตลิค	โฮโมซีสเตอีน
อายุ	1	0.331^{+}	0.352^{+}	0.507^{++}	0.374^{++}	0.202	0.187	0.135
น้ำหนัก	0.331^{+}	1	0.942^{++}	0.927^{++}	0.875^{++}	0.520^{++}	0.320^{+}	0.389^{++}
ดัชนีมวลกาย	0.352^{+}	0.942^{++}	1	0.913^{++}	0.882^{++}	0.544^{++}	0.399^{+}	0.365^{++}
รอบเอว	0.507^{++}	0.927^{++}	0.913^{++}	1	0.881^{++}	0.496^{++}	0.318^{+}	0.283^{+}
รอบสะโพก	0.374^{++}	0.875^{++}	0.882^{++}	0.881^{++}	1	0.373^{++}	0.171	0.293^{+}
ซีสโตลิค	0.202	0.520^{++}	0.544^{++}	0.496^{++}	0.373^{++}	1	0.514^{++}	0.251
ไดแอสโตลิค	0.187	0.320^{+}	0.399^{+}	0.318^{+}	0.171	0.514^{++}	1	0.225
โฮโมซีสเตอีน	0.135	0.389^{++}	0.365^{++}	0.283^{+}	0.293^{+}	0.251	0.225	1

+ ความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

++ ความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

ตารางที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินต่างๆ และโฮโมซีสเตอีนในกลุ่มสูบบุหรี่จากโรงงาน

พารามิเตอร์	วิตามินซี	บี6	บี12	โฟเลท	เอ	อี	เบต้าแคโรทีน	โฮโมซีสเตอีน
วิตามินซี	1	0.046	0,068	0.509^{++}	0.183	0.399^{++}	0.624^{++}	-0.134
บี6	0.046	1	-0.035	-0.135	0.164	0.161	0.044	-0.004
บี12	0,068	-0.035	1	0.309^{+}	0.188	-0.049	0.111	-0.378^{++}
โฟเลท	0.509^{++}	-0.135	0.309^{+}	1	0.091	0.185	-0.378^{+}	-0.259
เอ	0.183	0.164	0.188	0.091	1	0.210	0.168	-0.163
อี	0.399^{++}	0.161	-0.049	0.185	0.210	1	0.535^{++}	-0.261
เบต้าแคโรทีน	0.624^{++}	0.044	0.111	-0.378^{+}	0.168	0.535^{++}	1	-0.168
โฮโมซีสเตอีน	-0.134	-0.004	-0.378^{++}	-0.259	-0.163	-0.261	-0.168	1

+ ความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

++ ความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01

การอภิปรายผล

ในประเทศไทยสถิติการสูบบุหรี่ในเพศชายมีมากกว่าเพศหญิงและจำนวนผู้ที่เริ่มสูบบุหรี่ในวัยรุ่นก็มีมากขึ้น ดังนั้นอาสาสมัครในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้คัดเลือกอาสาสมัครจากพื้นที่ในกรุงเทพฯและจังหวัดที่ใกล้เคียง สำหรับผู้สูบบุหรี่แบบมวนยาเอง ซึ่งจะยังพบเห็นได้ในต่างจังหวัด และอายุของอาสาสมัครจะอยู่ในช่วง 19-80 ปี โดยอาสาสมัครกลุ่มสูบบุหรี่ที่มีอายุมากกว่ากลุ่มอื่น คือกลุ่มที่สูบบุหรี่แบบมวนยาเอง สถานภาพการสมรสไม่มีผลต่อการสูบบุหรี่ โดยส่วนใหญ่ประชากรไทยจะเริ่มสูบบุหรี่เมื่ออายุน้อยกว่า 20 ปี ในกลุ่มควบคุมมีระดับการศึกษาสูงกว่ากลุ่มสูบบุหรี่ มีข้อสังเกตว่าระดับการศึกษาที่สูงกว่าจะป้องกันไม่ให้คนสูบบุหรี่มากขึ้น แต่ทั้งนั้นก็ขึ้นกับปัจจัยอื่นๆประกอบกันด้วย

การสูบบุหรี่กับสารอนุมูลอิสระ ผู้สูบบุหรี่สูดสารอนุมูลอิสระจากการเผาไหม้บุหรี่ สาร polycyclic aromatic hydrocarbons มีการศึกษามากมายที่ทำการวิเคราะห์ทางชีวเคมีเพื่อหาสารประกอบสำคัญที่อยู่ในควันบุหรี่ เช่น คาร์บอนมอนอกไซด์ ไธโอไซยาเนต นิโคติน โคตินิน นิโคตินไม่เหมาะที่จะวิเคราะห์เนื่องจากมีอายุสั้น การวิเคราะห์ไธโอไซยาเนตจะเหมาะสมกว่าเนื่องจากอยู่ได้นาน และระดับที่ตรวจวัดได้ก็สามารถใช้วิธีสเปตโตรโฟโตเมตริคได้ ในระหว่างกระบวนการเผาไหม้ทำให้ออกซิเจน (O_2) เปลี่ยนเป็น ซุปเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เปลี่ยนเป็น ไฮดรอกซีแรดิคอล จะเกิดในสารน้ำทางชีววิทยา ตัวอย่างเช่น ในเลือดส่วนพลาสมาของผู้สูบบุหรี่พบว่ามีความเข้มข้น F_2-isoprostanes มากกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่ 2 เท่า พบว่าการสูบบุหรี่ก่อให้เกิดการแตกของ DNA สายเดี่ยว และสารอนุมูลอิสระทำลาย DNA โดยสามารถวิเคราะห์สารอนุมูลอิสระ 8-hydroxydeoxyguanosine ในปัสสาวะ และทำให้มีเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดมากขึ้น (29) สำหรับการศึกษาในประเทศไทยพบว่าสารอนุมูลอิสระ malondialdehyde (MDA), conjugate dienes (CD) เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้สูบบุหรี่และไม่มีผลต่อเอ็นไซม์ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) และ catalase (CAT) ในเม็ดเลือดแดง (30) จากการศึกษาของ Gouaze และคณะ (31) พบว่าผู้สูบบุหรี่มีระดับ low density lipoprotein (LDL) สูงกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในกลุ่มผู้สูบบุหรี่อาจจะเพิ่มการ oxidation ของ LDL เป็น oxidized LDL ร่างกายจะมีกระบวนการกำจัดโดย monocytes และ macrophages มาจับกับ oxidized LDL เป็นแผ่นเกาะที่ผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนั้นมีการศึกษาอื่นที่พบว่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดและเนื้อเยื่อในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ต่ำกว่ากลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ ตัวอย่างเช่นวิตามินซี (32) ซึ่งอาจจะเกิดจากลักษณะอุปนิสัยในการรับประทานอาหารที่แตกต่างกัน โดยที่ผู้สูบบุหรี่รับประทานผักและผลไม้ที่อุดมด้วยวิตามินซีน้อยกว่ากลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ การศึกษาวิจัยนี้ยังได้วิเคราะห์ระดับโฮโมซีสเตอีน วิตามินต่างๆที่เกี่ยวข้องนอกจากวิตามินซีที่กล่าวข้างต้นแล้ว เช่น วิตามินบี6 บี12 โฟเลท เอ อี เบต้า แคโรทีน ซึ่งพบว่ากลุ่มสูบบุหรี่มีปริมาณวิตามินเหล่านี้น้อยกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนที่ขาดวิตามินซีกลุ่มสูบบุหรี่ประมาณ 8% เป็นที่ทราบกันดีว่าวิตามินซีมีบทบาทเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยิ่งไปกว่านั้นวิตามินซีจะทำงานร่วมกับวิตามินอี ช่วยยับยั้งความชราได้ ลดการทำลายของสารอนุมูลอิสระในไขมัน การเพิ่มสารอนุมูลอิสระจากการสูบบุหรี่ก่อให้เกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจไม่ทำงาน กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด มีการวิจัยที่พบว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่มีระดับความเข้มข้นของวิตามินซีต่ำ ระดับวิตามินซีที่ต่ำขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆอย่าง เช่นการรับประทานอาหารที่มีวิตามินซีน้อย และอาหารที่อุดมด้วยวิตามินซี เช่นผักและผลไม้ วิตามินบี 6 และโฟเลทก็พบว่าต่ำในกลุ่มสูบบุหรี่ เช่น การศึกษาของ Kimและคณะ(44) (ตารางที่ 6 และ 10) ซึ่งการศึกษาวิจัยนี้ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน นอกจากนั้น สารประกอบในบุหรี่เปลี่ยนโฟเลทและบี12 ให้อยู่ในรูปที่ไม่ทำงาน ยิ่งไปกว่านั้น ระดับวิตามิน บี 6 บี 12 และโฟเลทที่ต่ำในกลุ่ม

สูบบุหรี่อาจเกิดจากการบริโภคน้อยด้วย อาจกล่าวได้ว่าการบริโภควิตามินที่น้อยเพราะคนกลุ่มนี้มีแนวโน้มรับประทานผัก ผลไม้น้อยกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากโฟเลทจำเป็นสำหรับการเปลี่ยนโฮโมซีสเตอีนไปเป็นเมธไธโอนีน การขาดโฟเลทจึงมีความสัมพันธ์กับภาวะโฮโมซีสเตอีนในเลือดสูงและนำไปสู่โรคหัวใจด้วย Kato และคณะ (45)แสดงให้เห็นว่า กลุ่มสูบบุหรี่มีระดับโฟเลทต่ำและมีระดับโฮโมซีสเตอีนสูงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ภาวะโฮโมซีสเตอีนในเลือดสูงในคนไทยที่สูบบุหรี่พบเป็น 2เท่าเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่สูบบุหรี่ พบภาวะโฮโมซีสเตอีนสูงในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (Leowattana และคณะ 2001) (46) ค่าเฉลี่ยโฮโมซีสเตอีนในเพศชาย 11.5 ไมโครโมล/ลิตร ในการศึกษาวิจัยนี้พบว่า กลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม มีระดับโฮโมซีสเตอีน 15.3 และ14.48 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยโฮโมซีสเตอีนในเพศหญิง 8.55 ไมโครโมล/ลิตร (Leowattana และคณะ 2001) โดยทั่วไปผู้มีอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจในรายที่มีระดับสูบบุหรี่โฮโมซีสเตอีนสูง โฮโมซีสเตอีนกระตุ้นให้เกิดโรคหลอดเลือดโดยทำให้เพิ่มสารอนุมูลอิสระ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเติบโต และเป็นสาเหตุเยื่อบุกล้ามเนื้อหัวใจไม่ทำงาน จากการศึกษาของKennedy และคณะ พบความสัมพันธ์ระหว่างความดันซีสโตลิคกับระดับโฮโมซีสเตอีนโดยการสูบบุหรี่ทำให้ระดับโฮโมซีสเตอีนสูงแล้วอาจทำให้ความดันซีสโตลิคสูงด้วย Kennedy และคณะ2003 (47) แต่ในการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างความดันซีสโตลิคและความดันไดแอสโตลิคของทั้งกลุ่มสูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม

บทสรุป

การศึกษาวิจัยนี้มีข้อสรุปที่สำคัญเกี่ยวกับระดับสารอนุมูลอิสระ MDA, CD, Homocysteineในเลือด สารต้านอนุมูลอิสระ Antioxidant enzymes; Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GPx), Catalase (CAT) Antioxidant vitamins; วิตามินเอ, ซี, อี, วิตามินบี6, บี12, กรดโฟลิค, โฮโมซีสตีน รวมทั้งแร่ธาตุปริมาณน้อยที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Zinc (Zn), Copper (Cu) และ Selenium (Se) ในเลือดของกลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ (กลุ่มควบคุม) ได้ดังนี้

1. ชายไทยส่วนใหญ่ (80%) เริ่มสูบบุหรี่เมื่อเข้าสู่วัยรุ่นอายุน้อยกว่า 20 ปี (52.52%) และจบการศึกษาชั้นปวช.หรือม.3 (44.97 %) (ตารางที่ 2)
2. การศึกษาวิจัยนี้พบว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่มีระดับโฮโมซีสเตอีนสูงกว่ากลุ่มควบคุม
3. เมื่อใช้ค่าความผิดปกติระดับโฮโมซีสเตอีนสูงที่ >15 ไมโครโมล/ลิตรกลุ่มผู้สูบบุหรี่พบภาวะโฮโมซีสเตอีนสูง 38% เทียบกับกลุ่มควบคุม 20%
4. ผลการตรวจทางโลหิตวิทยาไม่พบความแตกต่างยกเว้น MCHC ที่ต่ำกว่าแต่พบจำนวนเม็ดเลือดขาวที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม
5. ค่าสัดส่วนร่างกาย ดัชนีมวลกายในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่พบความแตกต่างของความดันโลหิตในกลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม
6. ระดับสารต้านอนุมูลอิสระ Antioxidant enzymes; Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GPx), Catalase (CAT) ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม
7. Antioxidant vitamins; วิตามินเอ, ซี, อี, วิตามินบี6, กรดโฟลิค, รวมทั้งแร่ธาตุปริมาณน้อยที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Zinc (Zn), Copper (Cu) และ Selenium ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่วิตามินบี12 สูงกว่ากลุ่มควบคุม
8. ระดับโฮโมซีสเตอีนมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนัก ดัชนีมวลกาย รอบเอวและรอบสะโพก รวมถึงความสัมพันธ์กับลักษณะต่างๆของการสูบบุหรี่ เช่น จำนวนของบุหรี่ที่สูบต่อวัน จำนวนห่อของบุหรี่ที่สูบมาตลอดระยะเวลาทั้งหมด แต่ระดับโฮโมซีสเตอีนมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับไขมันโคเลสเตอรอล low density lipoprotein โฟเลทและวิตามินบี 12
9. กลุ่มผู้สูบบุหรี่จะบริโภคอาหารที่ให้พลังงานจาก คาร์โบไฮเดรตและไขมันน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่การบริโภคพลังงานที่ได้จากโปรตีนไม่พบความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มนี้ ส่วนการบริโภคอาหารจำพวกไฟเบอร์ เหล็ก วิตามิน เอ ซี ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ จะบริโภคในปริมาณที่น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม

เอกสารอ้างอิง

1. United Nations. World Population Prospects 1990. New York: United Nation; 1991.226-31.
2. Thailand Health Research Institute. Asia-Pacific conference on tobacco or health. 4th ; Nov 22-24;Chiangmai, Thailand;1995:63-107.
3. Statistic Year Book Thailand 2003; Survey of Thai smokers practice. Ministry of Information and communication Technology, ISBN 974-338-584-3,2003.
4. Doll R. The effects of smoking on health. Siriraj Hosp Gazette 1993; 634-46.
5. Siegel M. Smoking and leukemia:Evaluation of a causal hypothesis. Am J Epidemiology 1993;138:1-9.
6. Calle EE, Miracle-McMahillHL, Thun MJ, Health CW Jr. Cigarette smoking and risk of fatal breast cancer. Am J Epidemiology 1994;139:1001-7.
7. Chow WH, McLaughlin JK, Hrubec Z, Nam JM, Blot WJ. Tobacco use and nasopharyngeal carcinoma in a cohort of US veterans. Int J Cancer 1993;55:538-40.
8. US Department of Health, Education, and Welfare. Smoking and health: a report of the Surgeon General. Washington, DC: US GPO, 1979. (DHEW publication no. (PHS) 79-50066).
9. Adams JD, O'Mara-Adams KJ, Hoffmann D. Toxic and carcinogenic agents in undiluted mainstream smoke and side stream smoke of different types of cigarettes. Carcinogenesis 1987;729-31.
10. Iwase A, Aiba M, Kira S. Respiratory nicotine absorption in non-smoking females during passive smoking. Int Arch Occup Environ Health 1991;63:139-43.
11. Tuncel N,Aydin Y, Tikiz H. The effect of three products of cigarette smoke (cyanide, thiocyanate and nicotine) on the concentration-response curves of 5-hydroxytryptamine, norepinephrine and epinephrine in the isolated human umbilical veins and arteries. Pharmacol-Toxicol 1994;74:84-8.
12. Church DF,Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. Environ Heath Perspect 1985;64:111-26.
13. Cross CE, O'Neill CA, Reznick AZ, HuMI, Marcocci L, Parker L, Frei B. Cigarette smoke oxidation of human plasma stituents. Ann N Y Acad Sci 1993;686:72-89.
14. Knight JA, Hopfer SM,Reid MC, et al. Ethene (ethylene) and ethane exhalation in Ni[II]-treated rats, using an improved re-breathing apparatus. Ann Clin Lab Sci 1986;16:386-94.
15. Nagayama T, Kaneko M, Kodama M, Nagata C. Cigarette smoke induces DNA single-strand breaks in human cells. Nature 1985;314:462-64.
16. Allard JP, Royall D, Kurian R, Muggi R, Jeejeebhoy KN. Effects of beta-carotene supplementation on lipid peroxidation in humans. Am J Clin Nutr 1994;59:884-90.
17. Blann-AD, McCollum CN. Adverse influence of cigarette smoking on the endothelium. Thromb Haemost 1993;70:707-11.

18. Mudd SH, Levy HL, et al. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. eds. The Metabolic and Molecular basis of Inherited Disease. 1st edn, Vol 1. New York: McGraw-Hill, 1995:1279-327.
19. Ueland PM, Refsum H, Brattstrom L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. In: Francis: RB Jr, ed. Atherosclerotic cardiovascular disease, hemostasis, and endothelial function. New York: Marcel Dekker, Inc, 1992:183-236.
20. Refsum H, Ueland PM, Nygardn O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. Annu Rev Med 1998;49:31-62.
21. Stamler JS, Slivka A. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular relayed disease. Nutr Rev 1996;54:1-30.
22. Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A. The role of sulfur-containing amino acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by aterial smooth muscle cells. J Biol Chem 1987;262:10098-103.
23. Piyathilake CJ, Macaluso M, Hine RJ, Richards EW, Krumdieck CL. Local and systemic effects of cigarette smoking on folate and vitamin B-12. Am J Clin Nutr 1994;60:559-66.
24. Mansoor MA, Kristensen O, Hervig T, Drablos PA, Stakkestad JA, Woie L, et al. Low concentrations of folate concentrations in serum and erythrocytes of smokers: methionine loading decreases folate concentrations in serum of smokers and nonsmokers. Clin Chem 1997;43:2192-4.
25. Vudhivai N, Pongpaew P, Tungtrongchitr R, Phonrat B, Horsawat V, Schelp FP. Riboflavin and nutritional status of Thai road sweepers in Bangkok. Intern Med 1997;13:77-80.
26. Tso TC. Production physiology and biochemistry of tobacco plants. Belsvills, Maryland,IDEALS;1990.p753.
27. IPCS. Environmental Health Criteria 211:Health effect of interactions between tobacco use and exposure to other agents, Geneva, World Health Organization 1999:1-91.
28. John A, Ambrose, MD, FACC, Rajat S. Barua, MD, PhD. The Pathophysiology of Cigarette Smoking and Cardiovascular Disease. Journal of the American College of Cardiology 2004;43:1731-7.
29. Duthie GG. Nature antioxidants in the protection against cigarette smoke injury. In:Packer L, editor. Antioxidant food supplements in human health. Academic Press;1999;35-42.
30. Kanjanachumpol S, Mahisiriyodom A, Phengbhumiphanich P, Vong S. Effect of cigarette smoking on blood lipid peroxides and antioxidants. Rama Med J 1999;22:11-6.
31. Gouaze V, Dousset N, Dousset JC, Valdiguie P. Effect of nicotine and cotinine on the susceptibility to in vitro oxidation of LDL in healthy non smokers and smokers.Clin Chim Acta 1998;14:25-37.
32. Pongpaew P, Tungtrongchitr R, Phonrat B, Vudhivai N. Tobacco smoking in relation to the phenotype of alpha-1-antitrypsin and serum vitamin concentration. Journal of Nutrition & Environmental Medicine 2001;11:167-73.
33. Roongpisuthipong C, Kulapongse S, Boontawee A, Puchaiwatananon O, Songchitsomboon S, Saenghirunvattana S. Changes in body weight and serum levels of lipid and vitamin C following smoking cessation and nicotine patch replacement therapy. Rama Med J 1999;22:18-24.

34. US DHHS (U.S. Department of Health and Human Services). The Health Consequences of Smoking: Cardiovascular Disease. A report of the Surgeon General. Office on Smoking and Health, Rockville, Md: DHSS (PHS) 84=50205, 1984.
35. Knight JA. Laboratory Medicine and the Aging Process. Chicago: ASCP Press;1996:112.
36. Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoprotein: A potential role in recruitment and retention of monocytes/macrophages during atherosclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 1987;84:2995-8.
37. Shipchandler MT., et al. Rapid, fully automated measurement of plasma homocysteine with the Abbott Imx Analyzer. Clin Chem 1995;41:991-4.
38. Bhabani S Das, David T, Jaya P, Debabrata B Das, Radhanath S, Tarit B. Increased plasma lipid peroxidation in riboflavin-deficient, maralia-infected children. Am J Clin Nutr 1990;51:859-63.
39. Carroll C, Maret T, Jason E, Albert van der V. Micronutrient antioxidants and smoking. British Medicine Bulletin 1999;55(3):691-704.
40. Francesco V., et al. Olive Phenol Hydroxytyrosol Prevents Passive Smoking-Induced Oxidative Stress. Circulation 2000;102:216971.
41. Rungsunn T., et al. Relationship of tobacco smoking with serum vitamin B12, folic acid and hematological indices in healthy adults. Public Health Nutrition 2003;6(7)675-81.
42. Mustafa K, Ozcan E, Eylem S and Sahabettin S. Increased oxidative stress in children expose to passive smoking. International Journal of Cardiology 2005; 100(1):61-4.
43. Ali A, Ozcan E and Abdurrahim K. Increased oxidative stress in infants exposed to passive smoking. Eur J Pedatr 2005; 164:775-8.
44. Richard J B. Decreased blood antioxidant capacity and increased lipid peroxidation in young cigarette smokers compared to nonsmokers: Impact of dietary intake. Nutrition Journal 2007;6:39.
45. Kim SH, Kim JS, Shin HS, Keen CL. Influence of smoking on markers of oxidative stress and serum mineral concentrations in teenage girls in Korea. Nutrition 2003;19:240-3.
46. Kato L, Dnistriam AM, Schwartz M, Toniorto P, Koenig K, Shore RE, et al. Epidemiologic correlated of serum folate and homocys teine levels among users and non-users o0f vitamin supplement. Int J Vitam Nutr Res 1999l;69:322-9.
47. Leowattana W, Mahanonda N, Bhuripanyo K, Pokum S. Association between serum homocysteinemia in normal healthy Thai Subjects. J Med Assoc Thai 2001;84:S722-9.
48. Kennedy BP, Farag NH, Ziegler MG, Mills PJ. Relationship of systolic blood pressure with plasma homocysteine; importance of smoking status. J Hypertens 2003;21:1307-12.

ภาคผนวก

แผนการดำเนินงานวิจัย

กิจกรรม/ ขั้นตอนการดำเนินงาน	เดือนที่											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. วางแผนการปฏิบัติการวิจัยเบื้องต้น	↔	↔										
2. เตรียมการติดต่อประสานงานเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง	↔	↔	↔	↔								
3. เก็บตัวอย่างและข้อมูลที่เกี่ยวข้อง		↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔			
4. ดำเนินการในห้องปฏิบัติการ		↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔		
5. เก็บและวิเคราะห์ข้อมูล				↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	
7. ทำรายงานและสรุปผล											↔	↔

หมายเหตุ: โครงการวิจัยที่ใช้ระยะเวลามากกว่า 1 ปี ควรจัดทำแผนการวิจัยเป็นระยะๆ

- วางแผนการปฏิบัติการวิจัยเบื้องต้น ได้แก่การติดต่อประสานงานกับหน่วยงานที่คาดว่าทีมงานวิจัยต้องขอความร่วมมือ เช่นหน่วยงานทหาร โรงพยาบาล มหาวิทยาลัย เพื่อดำเนินการคัดเลือกตัวอย่างและอาสาสมัคร
- คัดเลือกอาสาสมัคร ติดต่อประสานงานเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง
- เก็บตัวอย่างและข้อมูลที่เกี่ยวข้อง กำหนดผู้รับผิดชอบและจัดเตรียมเครื่องมือเมื่อต้องดำเนินการนอกสถานที่
- ดำเนินการในห้องปฏิบัติการ เมื่อเก็บตัวอย่าง เช่น แบบสอบถาม ตัวอย่างเลือด ต้องทำการตรวจสอบข้อมูลให้ครบถ้วน รวมทั้งจัดเตรียมตัวอย่างเพื่อพร้อมที่จะวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป ตัวอย่างบางชนิดอาจจำเป็นต้องเก็บรวบรวมเพื่อให้ได้มากพอที่จะวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง
- เมื่อได้ผลทั้งในแบบสอบถามและจากห้องปฏิบัติการ จะนำผลมาวิเคราะห์ข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์ โดยตรวจสอบความถูกต้อง คัดและจำแนกข้อมูลเพื่อจัดกลุ่มการวิเคราะห์ แล้วนำมาเปรียบเทียบโดยใช้สถิติที่ถูกต้อง
- เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลแล้ว จะประมวลผลสรุปมาเป็นตารางและแผนภูมิ โดยเปรียบเทียบและอภิปรายผลที่ได้เพื่อนำมาเขียนเป็นรายงานการวิจัย

รูปที่ 4 เครื่อง HPLC ที่ใช้วิเคราะห์วิตามินต่างๆ

รูปที่ 5 ปั๊มสุญญากาศ Pico-Taq Work Station

การแก้ไขและปรับปรุงข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะรายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยเรื่อง “ผลของการสูบบุหรี่ที่มีสารอนุมูลอิสระต่อระดับโฮโมซีสตีน วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระในเลือด: ปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ” ได้มีการปรับปรุงแก้ไขดังต่อไปนี้

1. หน้า 2 เพิ่มคณะผู้วิจัย 2 ราย
2. หน้า 4 abstract บรรทัดที่ 21 จากเดิม lower เป็น higher และจาก 56**%** เป็น 20% เนื่องจากได้ปรับข้อมูลผู้ที่มีระดับไขมันโคเลสเตอรอลมากกว่า 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตรที่ส่งผลให้มีระดับโฮโมซีสเตอีนสูงใน กลุ่มควบคุมออก
3. หน้า 5 บทคัดย่อ บรรทัดที่ 22 จาก 56**%** เป็น 20%
4. หน้า 10 บทนำ บรรทัดที่ 8 จากเนื้อหาเป็นเพื่อหา
5. หน้า 16 วัตถุประสงค์การวิจัย ตัดข้อความ และกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ (กลุ่มควบคุม)
6. หน้า 19 ตอบคำถาม ตารางที่ 1 อยู่หน้า 13
7. หน้า 22 ตารางที่ 5 หลังจากได้ปรับข้อมูลในข้อ 2 แล้ว แก้ไขระดับโฮโมซีสเตอีนใน กลุ่มควบคุมจาก 15.26 เป็น 14.48 จาก 14.10-16.44 เป็น 13.75-15.20 และจาก 0.024 เป็น 0.017
8. หน้า 25 บรรทัดที่ 4-6 และโฮโมซีสเตอีนในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ (37.58%) %) สูงกว่ากลุ่มควบคุม (20%) แต่ให้ผลตรงกันข้ามกับระดับไขมันโคเลสเตอรอล LDL และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงของกลุ่มผู้สูบบุหรี่ (16.11% 7.38% และ 9.39%) ที่พบต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (58% 8% และ 14%) ตามลำดับ
9. หน้า 26 ตารางที่ 8 บรรทัดที่ 15 แก้ไขโฮโมซีสเตอีนในเลือดสูง>15 (ไมโครโมล/ลิตร) ของกลุ่มควบคุมจาก 28/50 เป็น 10/50 และจาก 56 เป็น 20
10. หน้า 31 บรรทัดที่ 5 เพิ่มข้อความ ในการศึกษาวิจัยนี้พบว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่และกลุ่มควบคุม มีระดับโฮโมซีสเตอีน 15.3 และ14.48 ไมโครโมล/ลิตร ตามลำดับ
11. หน้า 32 บทสรุป บรรทัดที่ 6 เพิ่มข้อความ (52.52%) และบรรทัดที่ 7 เพิ่มข้อความ (44.97 %) (ตารางที่ 2) บรรทัดที่ 10 แก้ไขจาก 56**%** เป็น 20%