

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษาการกำหนดรูปแบบการศึกษาทางคลินิกที่เหมาะสม

ผู้ที่ไม่บริโภครถั่วเหลืองมีค่าความเข้มข้นสูงสุดของ genistein ในกระแสเลือด (C_{max}) เท่ากับ 1.339 mcg/ml , T_{max} ประมาณ ชั่วโมงที่ 12 หรือ 8 ชั่วโมงนับจากการเริ่มเห็นการดูดซึม พื้นที่ใต้กราฟของ Cp VS Time (AUC_{4-inf}) เท่ากับ 72.25 mcg.hr/ml ค่าคงที่ของการกำจัด (K_{el}) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.019 hr^{-1} ขณะที่ผู้ที่บริโภครถั่วเหลืองเป็นประจำมีค่าความเข้มข้นสูงสุดของ genistein ในกระแสเลือด (C_{max}) เท่ากับ 0.967 mcg/ml , T_{max} ประมาณ ชั่วโมงที่ 8 พื้นที่ใต้กราฟของ Cp VS Time (AUC_{0-inf}) เท่ากับ 19.930 mcg.hr/ml ค่าคงที่ของการกำจัด (K_{el}) มีค่าเท่ากับ 0.016 hr^{-1} ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่าความเข้มข้นสูงสุดของ genistein ในกระแสเลือด (C_{max}) และพื้นที่ใต้กราฟของ Cp VS Time (AUC_{0-inf}) บ่งชี้ว่าผู้ที่ไม่บริโภครถั่วเหลืองมีการดูดซึมสาร genistein ที่สูงกว่าผู้ที่บริโภครถั่วเหลืองเป็นประจำ ขณะที่กระบวนการกำจัดสารใกล้เคียงกัน

5.2 อภิปรายผล

จากการวิเคราะห์หาปริมาณ genistein ในกระแสเลือดของอาสาสมัครที่ไม่บริโภครถั่วเหลืองพบว่า ในช่วงสี่ชั่วโมงแรก (0-4 hr) ความเข้มข้นของ genistein ลดลง และเริ่มเห็นการเพิ่มขึ้นของระดับยาเมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง เนื่องจากการศึกษานี้ใช้วิธีวิเคราะห์ (ในเบื้องต้น) ที่อาจไม่เหมาะสมในการนำไปใช้หาปริมาณ genistein ในขนาดต่ำในกระแสเลือดได้ ทำให้ผลการศึกษาอาจไม่เป็นตัวแทนที่ถูกต้องสำหรับการศึกษาในคน แต่อาจใช้เป็นแนวทางเบื้องต้นในการกำหนดรูปแบบการทดลองทางคลินิกในครั้งถัดมา อย่างไรก็ตามอาจอธิบายผลที่ได้ดังนี้ ในช่วงแรกร่างกายมีกระบวนการกำจัดสารที่เด่นชัดกว่ากระบวนการดูดซึม จึงเห็นการลดลงของกราฟ ทั้งนี้ อาจเกิดจากการที่ร่างกายกำจัดสาร genistein ที่ตกค้างเนื่องจากการรับประทานน้ำมันถั่วเหลืองมาก่อนล่วงหน้าแล้ว 40 ชั่วโมง และขณะเดียวกันการดูดซึมสารก็เป็นไปได้ช้า จนเกือบ 4 ชั่วโมงจึงเห็นกราฟสูงขึ้น แสดงถึงความเด่นชัดของกระบวนการดูดซึมเหนือกระบวนการกำจัดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 – 12 และหลังจากชั่วโมงที่ 12 ด้วยจึงเห็นกำจัดอย่างเด่นชัด

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ของอาสาสมัครทั้ง 2 คน พบว่า ค่า C_{max} และ AUC ของอาสาสมัครที่ไม่รับประทานน้ำมันถั่วเหลืองสูงกว่าค่า C_{max} และ AUC ของอาสาสมัครรับประทานน้ำมันถั่วเหลืองเป็นประจำ แสดงถึงกระบวนการดูดซึมที่เร็วและสูงกว่า จ า ก ก า ร

บททวนวรรณกรรมได้มีการกล่าวถึงความแตกต่างของปริมาณการดูดซึม genistein ในร่างกายคนไว้ว่า อาจเนื่องมาจากความแตกต่างในปริมาณเอนไซม์ β -glucosidases, α - rhamnosidase , และ β - galactosidase ในลำไส้ ทั้งนี้เอนไซม์ β -glucosidases ทำหน้าที่ hydrolyse glycosides ได้ผลิตผลคือ aglycone ขณะที่เอนไซม์ α - rhamnosidase และ β - galactosidase ก็มีผลในการทำลาย aglycone ส่งผลให้มีปริมาณ genistein ต่ำลง (Aisling Aherne S., Nora M., Dietary Flavonols : chemistry, food content, and me)

อย่างไรก็ตามข้อเท็จจริงดังกล่าวไม่สามารถนำมาอธิบายผลการศึกษาที่เกิดขึ้นนี้ได้ เนื่องจากไม่ได้มีการตรวจสอบปริมาณเอนไซม์ทั้งหมดในลำไส้ของอาสาสมัครมาก่อน อีกทั้งเป็นผลการศึกษาจากอาสาสมัครเพียง 2 คน จึงไม่อาจที่จะอ้างอิงถึงความเป็นตัวแทนอาสาสมัครของแต่ละกลุ่มไปในประชากรอื่นได้ และเมื่อพิจารณาในด้านของการกำจัดการนี้ พบว่าอาสาสมัครทั้ง 2 คน มีอัตราการกำจัด genistein ที่ใกล้เคียงกัน (พิจารณาจากค่า k_{el} และ $t_{1/2}$) แต่ผลนี้ก็ต่างจากผลการศึกษาอื่น ที่ได้แสดงค่า $t_{1/2}$ ของ genistein ในสตรีไทยวัยหมดประจำเดือน หลังจากรับประทานอาหารแข็งและเหลวที่มีสารสกัด genistein เข้มข้น ไว้ที่ประมาณ 5-9 ชั่วโมง (Anupongsanugool E., et. al., 2005) อย่างไรก็ตามไม่อาจกล่าวได้ว่าความแตกต่างนี้เกิดจากสาเหตุใดที่ชัดเจน เนื่องจากคุณลักษณะของอาสาสมัครและวิธีการศึกษาของทั้งสองการศึกษามีความแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง รูปแบบการรับสารแบบ multiple dose การทับซ้อนของสาร genistein จากการศึกษาในครั้งนี้อาจมีผลต่อการสะสมของสาร genistein ในร่างกาย และส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงระดับสารไปจุ่มในเลือด ทำให้ค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ผิดไปจากความเป็นจริง อีกทั้งงานวิจัยที่มีการศึกษานี้ก็เป็นงานวิจัยเพียงเรื่องเดียวที่มีการศึกษาในคนไทยมาก่อน

5.3 ข้อเสนอแนะจากผลการศึกษา

1. กระบวนการดูดซึมสาร genistein ที่พบในการทดลองนี้ เกิดจากการรับประทาน น้ำนมถั่วเหลืองที่มีสาร genistin (glycoside) และร่างกายมีการเปลี่ยนแปลงให้เป็นสาร genistein (aglycone) ซึ่งกระบวนการเปลี่ยนแปลงนี้ย่อมมีความแตกต่างระหว่างบุคคลได้ ดังนั้นในการศึกษาจริงซึ่งเป็นการรับประทานสารสกัด genistein โดยตรงน่าจะทำให้การดูดซึมที่บ่งชี้ถึงกระบวนการดูดซึมสาร genistein ได้ดีกว่าการให้รับประทานน้ำนมถั่วเหลืองที่มีสาร genistin

2. การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ multiple dose เพื่อต้องการให้สารในร่างกายมีปริมาณสูงพอที่จะวิเคราะห์ด้วยวิธีที่มีในเบื้องต้นได้ ซึ่งลักษณะการศึกษานี้ต้องได้รับสารยาวนานประมาณ 5 1/2 เนื่องจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงสาร genistin โดยเอนไซม์ ของแต่ละคนจะไม่

เท่ากัน จึงอาจทำให้เกิดการสะสม (accumulation) และการซ้อนทับ (superposition) กันตามจำนวน dose ที่ให้ ผลการสะสมของสารทำให้ปริมาณที่พบในกระแสเลือดต่างกัน การศึกษาจริงจึงควรเป็นการศึกษาแบบ single dose เพื่อขจัดปัญหาดังกล่าว

3. จากผลการศึกษาส่วนที่ 1 ในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความไม่เหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ที่มีอยู่เดิม เนื่องจากปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ในกระแสเลือดมีขนาดต่ำมาก อีกทั้งค่า retention time ที่ได้ใช้เวลายาวนาน มากกว่าครึ่งชั่วโมง ซึ่งไม่เหมาะสมกับงานวิเคราะห์ตัวอย่างจากอาสาสมัคร จำนวนมากจึงสมควรจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์ขึ้นมาใหม่ เพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้อง แม่นยำมากขึ้น

5.4 รูปแบบการทดลองทางคลินิกที่เหมาะสม

รูปแบบการทดลองทางคลินิกของสาร genistein ที่เหมาะสม ควรเป็นการศึกษาโดยการให้อาสาสมัครรับประทานสารสกัด genistein เข้าสู่ร่างกายโดยตรง อาจอยู่ในรูปแบบสารสกัด เพื่อที่จะเห็นการเปลี่ยนแปลงระดับ genistein ในร่างกายได้เพียงตรงและแม่นยำว่าการรับประทานผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง รูปแบบการรับประทานควรเป็นแบบรับประทานครั้งเดียว (single dose) เพื่อลดปัญหาการสะสมของสารในร่างกาย อันอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของระดับสารปัจจุบันในเลือด และทำให้ค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ผิดไปจากความเป็นจริงเวลาที่น่าจะเหมาะสมในการเจาะเลือด คือที่เวลา 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36 และ 48 ชั่วโมง หลังการรับประทานสารสกัด เพื่อให้การประมาณค่าคงที่ในการกำจัดยามีความแม่นยำมากขึ้น ปริมาตรเลือดที่จะเก็บ ควรมากกว่า 7 มิลลิลิตร เพื่อเป็นส่วนสำรองในการตรวจสอบซ้ำเมื่อมีความจำเป็น

5.5 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ genistein ในกระแสเลือด

การวิเคราะห์ปริมาณ genistein ในกระแสเลือด ระบบในการวิเคราะห์มีผลต่อการวิเคราะห์เป็นอย่างมาก นั่นคือ matrix ที่ใช้ต้องเป็นระบบเดียวกันเมื่อจะวิเคราะห์หาปริมาณ genistein ในกระแสเลือด ดังนั้น matrix ที่จะใช้ต้องเป็น plasma solution ในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน genistein เพื่อทำการสร้าง standard curve ของ genistein ใน plasma นั้น จากผลการทดลองเพื่อการพัฒนาและตรวจสอบวิธีวิเคราะห์ genistein ในกระแสเลือด พบว่า HPLC เป็นวิธีที่มีความเหมาะสม มากกว่า CE เนื่องจากผลการเกิด interference ในการดูดกลืนแสงของ plasma มีผลทำให้เกิดการบิดเบือนสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ สภาวะที่เหมาะสมในการใช้เทคนิค HPLC นี้ทำให้ได้ retention time ที่เร็วขึ้นมาก (3-10 นาที ขึ้นอยู่กับ flow rate และสัดส่วนของ mobile phase) โดย

สภาวะที่เหมาะสม คือ mobile phase: 0.2% acetic acid (A) และ acetonitrile (B); column temperature: 40⁰C/ detection wavelength: 254 nm; Atlantis dC18 reversed-phase chromatographic column (150 mm x 2.1 mm, 5.0 μ m particle size, Waters, USA) อัตราส่วน A:B; 60:40 หรือ 50:50. Flow rate 0.4 mL/min

แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยต้องการพัฒนาเทคนิคที่รวดเร็ว สะดวก และใช้สารเคมีปริมาณน้อยในระดับนาโนลิตร ซึ่งเป็นข้อเด่นของเทคนิค CE สามารถแก้ปัญหการเกิด interference ได้โดยการทำ pretreatment plasma ก่อนวิเคราะห์