

## ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Heme oxygenase-1 (HO-1) ในเลือดกับสมรรถภาพปอดในคนงานที่รับสัมผัสฝุ่นชิลิกาจากการทำงานในโรงงานไม่พิน

อนงค์ศิลป์ ดำเนินไฟบูลย์<sup>1</sup>, วิทยา หลิวเซรี<sup>1</sup>, โภวิทย์ นามบุญมี<sup>2\*</sup>, เกียรนัย ขันติพงศ์<sup>1</sup>, ชาญณรงค์ ชัยสุวรรณ<sup>1</sup>, ศุภกิจ คงอ่อนนนท์<sup>1</sup>

<sup>1</sup>สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

<sup>2</sup>สำนักวิชาชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อ.เมือง จ.เชียงราย

### บทคัดย่อ

Heme Oxygenase 1 (HO-1) เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพใหม่ที่พัฒนาขึ้นเพื่อบ่งชี้การอักเสบของปอด และมีศักยภาพในการบ่งชี้พยาธิสภาพของปอดเนื่องจากการสัมผัสฝุ่นหินทรายในสัตว์ทดลอง และผู้ป่วยโรคปอดฝุ่นหินทราย การศึกษาครั้งนี้วัดระดับของ HO-1 ในเลือดคนทำงานที่รับสัมผัสฝุ่นหินทราย จากโรงงานไม่พินจำนวน 272 คน เอกซเรย์ทรวงอกเพื่อตรวจพยาธิสภาพของเนื้อปอด และสมรรถภาพของปอดซึ่งวัดด้วยเครื่อง Spirometer ปริมาณของชิลิกาในบรรยายการทำงานตรวจด้วยวิธี ELISA ในขณะที่ระดับ HO-1 ในเลือดตรวจโดยเทคนิค Sandwich Enzyme Immunoassay

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นฝุ่นชิลิกาเท่ากับ  $9.24 \pm 6.14 \text{ mg/m}^3$  ต่ำกว่าค่าอ้างอิงตามกฎหมาย ไม่พบรอยโรคในเนื้อปอดจากผลเอกซเรย์ทรวงอก ประชากรที่รับสัมผัสฝุ่นหินทรายในปริมาณสูงมีแนวโน้มเกิดความผิดปกติกับสมรรถภาพปอด เช่นเดียวกับระดับ HO-1 ที่เพิ่มมากขึ้น HO-1 มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนกับระดับชิลิกาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นความสัมพันธ์เชิงเส้น แต่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวระหว่างค่าสมรรถภาพปอดกับระดับชิลิกา ผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงประโยชน์ของ HO-1 ในการบ่งชี้พยาธิสภาพของปอด ในประชากรที่สัมผัสชิลิกาจากการทำงาน และเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพที่มีศักยภาพสามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้บ่งชี้การเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของปอดตั้งแต่เริ่มแรก

**คำสำคัญ:** ฝุ่นหินทราย Heme Oxygenase โรงงานไม่พิน สมรรถภาพปอด

\*Corresponding author

ดร. โภวิทย์ นามบุญมี

สำนักวิชาชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง 333 หมู่ 1 ต.ท่าสุด อ.เมือง จ.เชียงราย 57100

E-mail: nunt408@hotmail.com

## The Relation Between Blood Hemeoxygenase-1 (HO-1) Levels and Lung Function Test in the Stone Mill Employees Who Are Occupationally Exposed to Silica Dust in Upper North Thailand

Anongsin Danphaiboon<sup>1</sup>, Witaya Liewsaree<sup>1</sup>, Kowit Nambunmee<sup>2\*</sup>, Jiaranai Khantipongse<sup>1</sup>, Channarong Chaisuwan<sup>1</sup>, Supakij Khacha-ananda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Office of Diseases Prevention and Control region 10, Chiangmai

<sup>2</sup>School of Health Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai

### Abstract

Heme Oxygenase 1 (HO-1) is a new biological marker to indicate lung inflammation with a high accuracy. It has advantage to show a lung pathology caused by silica exposure in rat and silicosis patient. This study was done to determine HO-1 level in 272 stone mill workers. A comparison between HO-1 level and chest x-ray result or lung function was determined. Lung function was determined by Spirometer whereas ambient silica was quantified by standard method. Serum HO-1 was measured by Sandwich Enzyme Immunoassay.

Ambient silica mean was  $9.24 \pm 6.14 \text{ mg/m}^3$  which was lower than Thai regulation guideline. The lung pathology was not found by chest X-ray result in any worker. Increase silica exposure level showed a relation to a low lung capacity whereas HO-1 was increased as silica levels increased. HO-1 showed significant correlation to silica levels while a significant correlation between pulmonary function test and silica levels was not observed. These results showed the advantage of HO-1 in a lung pathology indication in the stone mill employees who are exposed to silica dust. This marker should be further developed for early changing of lung physiology indication.

**Keywords:** Silica, Heme Oxygenase, Stone mill, Lung function

### \*Corresponding author

Dr. Kowit Nambunmee

School of Health Science, Mae Fah Luang University 333 Moo 1, Tambon Tasud, Muang, Chiang Rai 57100

E-mail: nunt408@hotmail.com

## บทนำ

โรคปอดฝุ่นหินทราย (Silicosis) เป็นโรคเรื้อรังที่เกิดจากการได้รับฝุ่นละอองเล็ก ๆ ของชิลิกาบริสุทธิ์หรือซิลิคอนได้ออกไซด์เข้าไปสะสมในเนื้อปอดเป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรัง เกิดพังผืดในเนื้อปอดจนปอดไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ มีอาการหายใจหอบ เหนื่อยง่าย และเพิ่มความเสี่ยงการเกิดมะเร็งปอด<sup>1-4</sup> การหายใจเอาฝุ่นชิลิกาเข้าไปสะสมในเนื้อปอดเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคดังกล่าวขึ้น โดยเฉพาะคนทำงานเกี่ยวกับการระเบิดหิน หัตถหิน บดหิน ซึ่งมีคนไทยที่ทำงานเกี่ยวกับฝุ่นหิน 217,057 คน และมีรายงานการเกิดโรคปอดฝุ่นหินทราย จำนวน 52 ราย ในปี 2552<sup>5</sup> โรคปอดฝุ่นหินทราย เป็นโรคที่มีระยะเวลาในการดำเนินของโรคยาวนานก่อนเกิดอาการแสดง เมื่อเกิดพยาธิสภาพกับเนื้อปอดแล้วไม่สามารถทำการรักษาให้หายกลับมาเป็นปกติได้ การป้องกันไม่ให้เกิดโรคและการคัดกรองผู้เริ่มนิยามการทำงานตั้งแต่เบื้องต้น เป็นแนวทางสำคัญที่จะช่วยป้องกันอันตรายสำหรับคนที่ต้องทำงานสัมผัสกับฝุ่นหินหรือชิลิกา<sup>4,6</sup> และช่วยติดตามเฝ้าระวังเพื่อให้การรักษาพยาบาลก่อนที่จะเกิดพยาธิสภาพร้ายแรง

การวินิจฉัยโรคปอดฝุ่นหินทรายในปัจจุบันใช้การเอกซเรย์ปอด เทียบกับฟิล์ม ILO ร่วมกับการวัดสมรรถภาพปอด และประวัติการได้รับสัมผัสซิลิกา ผู้ป่วยโรคปอดฝุ่นหินทรายจะปรากฏรอยโรคใน

เนื้อปอดร่วมกับอาการไอเรื้อรัง สมรรถภาพปอดลดลง<sup>7</sup> ซึ่งจะสามารถวินิจฉัยโรคได้ก็ต่อเมื่อถูกต้องทางสรีรวิทยา และกายวิภาคของปอดผิดปกติไปแล้ว อันยากต่อการให้การรักษาได้

การตรวจวินิจฉัยโรคดังกล่าวแต่เริ่มแรก เพื่อคัดกรองผู้ป่วยและแนะนำวิธีการทำงานที่ถูกต้อง การดูแลสุขภาพที่เหมาะสม จะช่วยป้องกันโรคที่จะเกิดขึ้นรุนแรงจนไม่สามารถรักษาได้ ในปัจจุบันยังไม่มีดัชนีที่มีความไวเพียงพอที่จะคัดกรองผู้ป่วยโรคปอดฝุ่นหินทรายก่อนมีอาการแสดง จากการศึกษาของ Sato et al. (2006)<sup>8</sup> และคณะ พบร่วม Heme Oxygenase-1 เป็นoenzymeที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในปอด มีความสัมพันธ์กับการได้รับฝุ่นชิลิกาในสัตว์ทดลอง และผู้ป่วยโรคปอดฝุ่นหินทราย ซึ่งสามารถพัฒนา HO-1 เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพเพื่อบ่งถึงความเสี่ยง หรือการเกิดโรคปอดฝุ่นหินทรายได้<sup>9,10</sup> การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาเปรียบเทียบระดับ HO-1 ตามระดับการได้รับสัมผัส Silica และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HO-1 ในเลือด กับ สมรรถภาพของปอดในผู้ทำงานเกี่ยวกับฝุ่นหินทรายเพื่อใช้เป็นแนวทางในการวินิจฉัยโรคปอดฝุ่นหินทราย ที่เกิดจากการประกอบอาชีพต่อไปในอนาคต

## วิธีการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาภาคตัดขวาง โดยมีประชากรเป็นกลุ่มคนงานที่ทำงานในโรงโม่หินที่กระจายใน 7 จังหวัดภาคเหนือตอนบนได้แก่ จังหวัด

เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา แพร่ น่าน ลำพูนและเชียงใหม่ ซึ่งมีความเสี่ยงต่อการได้รับผู้ป่วยชิลิกาสะสม โดยสุ่มเลือกคนงานคนไทยทั้งเพศชายและหญิงที่มีอายุ 18 ปีขึ้นไป จำนวน 941 คน เนื่องจาก การศึกษาสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่างระดับ HO-1 กับค่าสมรรถภาพปอด หรือระดับชิลิกายังไม่มีการรายงาน จึงกำหนดจำนวนตัวอย่างโดยใช้วิธีของ Taro Yamane (1973)<sup>11</sup> ที่ระดับความคาดเคลื่อน ± 5% เพื่อลดอคติที่เกิดจากการสุ่มตัวอย่าง ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่าง 281 คน เลือกคนงานโดยวิธีสุ่มเลือกแบบมีระบบ โดยให้หมายเลขคนงานแต่ละคน แล้วสุ่มเลือกหมายเลขทุกๆ 3 คน เป็นมา 1 คน จนครบจำนวน วิธีการศึกษาได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย กรมควบคุมโรค

เก็บตัวอย่างคนงานทั้งหมด 299 คน และคัดออกจำนวน 27 คน เนื่องจาก 1 คน มีอายุมากกว่า 80 ปี 2 คน ขาดข้อมูลอายุ ส่วนสูง และน้ำหนัก 24 คน ข้อมูลการวัดสมรรถภาพปอดไม่สมบูรณ์ ทำให้เหลือคนงานเข้าสู่การวิเคราะห์ข้อมูลจำนวน 272 คน

#### การตรวจสมรรถภาพปอด

การทดสอบสมรรถภาพของปอด (Lung function test) ในกลุ่มตัวอย่างทุกคนโดย โดยพยาบาลวิชาชีพ จากกลุ่มโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่ และยืนยันผลการตรวจและการแปลผลตามมาตรฐานของสมาคมอุรเวชแห่งประเทศไทย

ไทย โดยผู้เชี่ยวชาญ เครื่องตรวจสมรรถภาพปอด เป็นเครื่องเดียวกัน ตลอดการศึกษา (SPIROMETER ยี่ห้อ Sibelmed รุ่น Datospir-120 หมายเลข s/n 118F743) ทำการปรับความถูกต้องเครื่องก่อนการดำเนินการทุกครั้ง วัดค่า Force Vital Capacity (FVC), Forced Expiratory Volume in 1 Second (FEV1) โดยคำนวณเป็นค่าร้อยละ (%) เทียบกับค่าปกติของประชากรในกลุ่มอายุเดียวกัน ตรวจสมรรถภาพปอด 3 ชั้้า โดยก่อนทำการทดสอบคนงานต้องไม่ออกกำลังกายอย่างน้อย 30 นาทีก่อนตรวจ ไม่สูบสูบสื้อที่รักทรงอกและห้องหลีกเลี่ยงอาหารมื้อใหญ่ อย่างน้อย 2 ชั่วโมงและหยุดยาจำพวกยาขยายหลอดลม ตรวจสอบดูผลการทดสอบให้อยู่ในเกณฑ์ Acceptability & Reproducibility

การตรวจเอกซเรย์ปอด ส่งกลุ่มตัวอย่างทุกคนเข้ารับการเอกซเรย์ปอด ณ โรงพยาบาลของรัฐที่อยู่ใกล้โรงพยาบาลที่มากที่สุด และวินิจฉัยผลการเอกซเรย์โดยรังสีแพทย์ที่ผ่านการอบรมการวินิจฉัยโรคปอดผู้นิ hin รายตาม guideline ของ International Labor Organization (ILO)

#### การวัดปริมาณเอนไซม์ Heme oxygenase-1 (HO-1) ในชิ้นรัม

ทำการเจาะเลือดคนงานที่เข้าร่วมวิจัยจำนวน 3 มิลลิลิตรลงในหลอดเก็บเลือด ตั้งทึ่งไว้ให้เลือดแข็งตัวจนซีรัมแยกชั้นแล้วนำไปปั่นแยกซีรัมที่ความเร็ว 1000 g เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกซีรัมออก

จากเม็ดเลือดแดงเก็บใน Cryo tube ตัวอย่างทั้งหมดเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งทำการทดลอง การตรวจ HO-1 จะใช้ชุดตรวจของบริษัท Cusabio Biotech ของประเทศไทย ซึ่งใช้หลักการ Sandwich Enzyme Immunoassay โดยมี Monoclonal antibody ที่จำเพาะเจาะจ่อ HO-1 โดยใช้ Ultraviolet Visible Spectrometry ที่ความยาวคลื่น 450 nm

#### การเก็บอนุภาคฝุ่น

เก็บอนุภาคฝุ่นตามวิธีของ NIOSH<sup>12</sup> โดยใช้เครื่องมือเก็บตัวอย่างอากาศ Personal Air Sampler (SKC Inc.) ใช้อัตราการไหล 2.0-2.2 ลิตรต่อนาทีโดยก่อนทำการเก็บอนุภาคฝุ่นทำการซั่ง PVC membrane ด้วยเครื่องซั่งที่มีความละเอียด 5 ตัวแหน่ง จดบันทึกน้ำหนักของ PVC membrane แล้วจึงบรรจุลงในเครื่องเก็บอากาศ ทำการเก็บอนุภาคฝุ่นในบรรยากาศบริเวณที่คนงานทำงานจำนวน 3 จุดต่อ 1 โรงงาน ตลอดระยะเวลาการทำงาน 8 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องเก็บอากาศปรับอัตราการไหลของอากาศที่ 2 ลิตรต่อนาทีมี PVC membrane เป็นตัวดักจับฝุ่นในเครื่องเก็บอากาศ ปริมาณฝุ่นซิลิก้า วิเคราะห์โดยปรับปรุงวิธีจาก NIOSH Manual of Analytical Methods หมายเลข 7601<sup>13</sup> เพื่อวิเคราะห์หา Crystalline silica โดยใช้ Ultraviolet Visible Spectrometry ที่ความยาวคลื่น 420 nm

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลประกอบไปด้วย สถิติเชิงพรรณนา เช่น ค่าเฉลี่ย ร้อยละ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, S.D.) ใช้วิเคราะห์ปริมาณซิลิก้าในบรรยากาศทำงาน ค่าสมรรถภาพปอด ผลเอกซเรย์ปอด การเบริญเทียนค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบสมรรถภาพปอด ระหว่างกลุ่มระดับซิลิก้าใช้สถิติ Analysis of Variance (ANOVA) และใช้ Independent Sample t-test ทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยสมรรถภาพปอด และระดับ HO-1 ระหว่างเพศ การกระจายตัวของข้อมูลทดสอบโดยพิจารณาช่วง 2 เท่าของ standard error (S.E.) ของ skewness พนว่าค่า skewness ของตัวแปรมีค่าอยู่นอกช่วง 2 S.E. of skewness จัดเป็นการกระจายตัวแบบ non-normal distribution จึงพิจารณาใช้สถิติแบบ non-parametric ใน การวิเคราะห์ผลการศึกษา ความแตกต่างค่าเฉลี่ยสมรรถภาพปอด และ HO-1 ระหว่างกลุ่มซิลิก้าทดสอบโดยใช้ Dunnett T3 การหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ HO-1 ในเลือด และผลการทดสอบสมรรถภาพปอดกับปริมาณซิลิก้าในบรรยากาศทำงาน โดยใช้สถิติ Spearman rho correlation

## ผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงสำรวจภาคตัดขวาง (Cross-sectional survey) ตรวจเลือดหาปริมาณ HO-1 ตรวจสมรรถภาพปอด เอกซ์เรย์ทรวงอกคนงานและเก็บตัวอย่างฝุ่นชิลิกา ในบรรยายกาศการทำงานโรงโน้มหิน 7 จังหวัดภาคเหนือตอนบนระดับชิลิกาที่ตรวจด้วยในโรงงานเหล่านี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $9.24 \pm 6.14 \text{ mg/m}^3$  (ช่วง  $1.10-15.91 \text{ mg/m}^3$ ) (ตารางที่ 1) โดยค่าอ้างอิงความปลอดภัยระดับชิลิกาคริสตัลลีน ของฝุ่นทุกขนาด ตามประกาศกระทรวงมหาดไทย เรื่อง ความปลอดภัยเกี่ยวกับภาวะแวดล้อม (สารเคมี)<sup>14</sup> ซึ่งประกาศเมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2520 เท่ากับ  $30 \text{ mg/m}^3$  เมื่อแยกแข่งระดับชิลิกาออกเป็น Percentile ค่าชิลิกาที่ Percentile 25 มีค่าเท่ากับ  $1.98 \text{ mg/m}^3$  และ Percentile ที่ 50 มีค่าเท่ากับ  $10.25 \text{ mg/m}^3$  จึงแบ่งกลุ่มระดับชิลิกาออกเป็น

กลุ่มโดยใช้จุดตัดที่ 2 และ  $10 \text{ mg/m}^3$  แบ่งกลุ่มคนงานออกเป็น 3 กลุ่ม ( $<2.00$ ,  $2.00-10.00$ ,  $>10.00 \text{ mg/m}^3$ ) เพื่อเปรียบเทียบค่าสมรรถภาพปอด และระดับ HO-1 ในการวิเคราะห์ต่อไป

เก็บตัวอย่างทางชีวภาพและสัมภาษณ์ประชากรทั้งหมด 272 คน แยกเป็นเพศชาย 255 คน (93.75 %) (อายุเฉลี่ย  $40.51 \pm 10.87$  ปี) และเพศหญิง 17 คน (6.25 %) (อายุเฉลี่ย  $35.35 \pm 9.06$  ปี) (ตารางที่ 1) มีจำนวนผู้สูบบุหรี่ 124 ราย เป็นเพศชายทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยจำนวนบุหรี่ที่สูบต่อวัน 9.35 มวน (S.D.=7.21 มวน) ระดับ (ตารางที่ 2) จากการเอกซเรย์ปอด ไม่พบรอยโรคในเนื้อปอดของคนงานที่ทำการศึกษาทั้งหมด (ไม่ได้แสดงผลการตรวจเอกซเรย์ปอดเนื่องจากผลการตรวจเนื้อปอดของคนงานทุกคนไม่พบความผิดปกติโดย chest x-ray)

ตารางที่ 1 ข้อมูลเบื้องต้นในด้านอายุ น้ำหนัก ส่วนสูง พฤติกรรมการสูบบุหรี่ของประชากรกลุ่มศึกษา

| ประวัติ                        | ทั้งหมด (272) |       |        |        | ชาย (255) |       | หญิง (17) |       |
|--------------------------------|---------------|-------|--------|--------|-----------|-------|-----------|-------|
|                                | ค่าเฉลี่ย     | S.D.  | ต่ำสุด | สูงสุด | ค่าเฉลี่ย | S.D.  | ค่าเฉลี่ย | S.D.  |
| อายุ (ปี)                      | 40.19         | 10.82 | 18.00  | 70.00  | 40.51     | 10.87 | 35.35     | 9.06  |
| น้ำหนัก (กิโลกรัม)             | 65.08         | 11.44 | 42.00  | 106.00 | 65.36     | 11.40 | 60.82     | 11.67 |
| ส่วนสูง (เซนติเมตร)            | 164.43        | 6.65  | 145.00 | 180.00 | 164.91    | 6.43  | 157.26    | 5.79  |
| ฝุ่นชิลิกา ( $\text{mg/m}^3$ ) | 9.24          | 6.14  | 1.10   | 15.91  | 9.46      | 6.17  | 6.59      | 5.36  |

## ตารางที่ 2 จำนวนบุหรี่และระยะเวลาที่สูบบุหรี่ในคนงานที่สูบบุหรี่

| ประวัติการสูบบุหรี่         | เพศชาย (124 คน) |       |        |        |
|-----------------------------|-----------------|-------|--------|--------|
|                             | ค่าเฉลี่ย       | S.D.  | ต่ำสุด | สูงสุด |
| จำนวนบุหรี่ที่สูบ (มวน/วัน) | 9.35            | 7.21  | 1.00   | 40.00  |
| ระยะเวลาที่สูบบุหรี่ (ปี)   | 19.52           | 10.16 | 2.00   | 48.00  |

ระดับสมรรถภาพปอดของคนงานที่เข้าร่วมการศึกษามีค่าเฉลี่ย FVC, FEV1 สูงกว่าระดับที่บ่งชี้การมีพยาธิสภาพของปอด (ค่าเฉลี่ย FVC = 87.29 %, ค่าเฉลี่ย FEV1 = 93.68 %; ค่าบ่งชี้การมีพยาธิสภาพของปอด <80% ) (ตารางที่ 3) ค่าเฉลี่ยระดับสมรรถภาพปอดระหว่างเพศชายและเพศหญิงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (FVC ชาย = 87.35 % หญิง = 86.35%, FEV1 ชาย = 93.82% หญิง = 91.65%, p-value>0.05) ค่าเฉลี่ย HO-1 ใน

เลือดของประชากรทั้งหมดเท่ากับ  $316.05 \pm 209.29$  ng/ml และค่าเฉลี่ยของ HO-1 ในเพศชายมีแนวโน้มสูงกว่าในเพศหญิง (ชาย = 319.87 หญิง = 258.88 ng/ml) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) จึงได้รวมประชากรทั้งเพศชายและเพศหญิง สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกัน ใช้ANOVA และทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นโดยใช้ Spearman rho' method

## ตารางที่ 3 ข้อมูลการตรวจวัดสมรรถภาพปอด (FVC และ FEV1) และระดับ Heme oxygenase-1 (HO-1) ในเลือด จำแนกตามเพศ

| ตัวชี้วัดทางชีวภาพ | ประชากรกลุ่มศึกษาทั้งหมด (299 ราย) |        |               | เพศชาย (281 ราย) |        | เพศหญิง (18 ราย) |        | p-value |
|--------------------|------------------------------------|--------|---------------|------------------|--------|------------------|--------|---------|
|                    | ค่าเฉลี่ย                          | SD.    | Min – Max     | ค่าเฉลี่ย        | SD.    | ค่าเฉลี่ย        | SD.    |         |
| FVC(%)             | 87.29                              | 11.61  | 55 – 118      | 87.35            | 11.62  | 86.35            | 11.70  | N.S.    |
| FEV1(%)            | 93.68                              | 13.63  | 55 – 134      | 93.82            | 13.77  | 91.65            | 11.47  | N.S.    |
| HO-1 (ng/ml)       | 316.05                             | 209.29 | 2.35 – 953.86 | 319.87           | 206.79 | 258.88           | 243.55 | N.S.    |

- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างเพศโดยใช้ Independent sample t-test, N.S. = Not significant
- ค่าปกติของ HO-1 ยังไม่มี ค่าปกติ  $FEV1 > 80\%$  ของค่าปกติในประชากรอายุเดียวกัน และ  $FVC > 80\%$  ของค่าปกติในประชากรกลุ่มอายุเดียวกัน

เมื่อจำแนกประชากรออกตามระดับของชิลิกา (ต่ำ: <2.00, ปานกลาง: 2.00-10.00 และ สูง >10 mg/m<sup>3</sup>) ค่าเฉลี่ย FVC และ FEV1 ในกลุ่มระดับชิลิกาปานกลาง มีค่าต่ำกว่ากลุ่มระดับชิลิกาต่ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (FVC 83.25 % ต่อ 90.60%, FEV1 87.14% ต่อ 96.73%, Dunnett T3 p<0.05) (ตารางที่ 4) การจำแนกกลุ่มประชากรตามระดับชิลิกามีความสัมพันธ์กับค่าเฉลี่ยสมรรถภาพปอดที่เปลี่ยนแปลงไป (ANOVA p-value <0.01) ค่าเฉลี่ย HO-1 มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อระดับชิลิกาเพิ่มมาก

ขึ้น โดยเฉพาะค่าเฉลี่ย HO-1 ในคนงานที่รับสัมผัสกับชิลิการะดับปานกลาง และระดับชิลิกาสูง มีค่ามากกว่ากลุ่มระดับชิลิกาต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Dunnett T3 p<0.05)

ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง อายุ, ระดับชิลิกา, FVC, FEV1, และ HO-1 วิเคราะห์โดยใช้ Spearman rho method (ตารางที่ 5) พบว่า HO-1 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับชิลิกา ( $r=0.444$ ,  $p<0.01$ ) FVC ( $r=0.142$ ,  $p<0.05$ ), และ FEV1( $r=0.147$ ,  $p<0.05$ )

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสมรรถภาพปอด (FVC, FEV1) ระดับปริมาณ HO-1 ของกลุ่มประชากรศึกษาในแต่ละกลุ่มแยกตามระดับปริมาณชิลิกาในบรรยากาศทำงาน

| ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ | ระดับฝุ่นชิลิกาในบรรยากาศการทำงาน (mg/m <sup>3</sup> ) |        |            |        |           |        | ANOVA<br>p-value |  |
|--------------------|--|--------|------------|--------|-----------|--------|------------------|--|
|                    | <2.00  |        | 2.00-10.00 |        | >10.00    |        |                  |  |
|                    | ค่าเฉลี่ย  | S.D.   | ค่าเฉลี่ย  | S.D.   | ค่าเฉลี่ย | S.D.   |                  |  |
| FVC (%)            | 90.60  | 9.29   | 83.25*     | 8.54   | 90.10     | 12.25  | 0.009            |  |
| FEV1 (%)           | 96.73  | 10.85  | 87.14*     | 8.67   | 99.96     | 15.36  | <0.001           |  |
| HO-1 (ng/ml)       | 206.82   | 126.21 | 304.76*    | 149.76 | 440.83*   | 218.42 | <0.001           |  |

\* แตกต่างจากกลุ่มระดับชิลิกา <2.00 mg/m<sup>3</sup> อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

ตารางที่ 5 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างอายุ ระดับซิลิกาที่ตรวจในบรรยายการทำงาน ดัชนีชี้วัดสมรรถภาพปอด และระดับ HO-1 ในเลือด

| ตัวแปร      | อายุ   | ระดับซิลิกา          | FVC     | FEV1    | HO-1    |
|-------------|--------|----------------------|---------|---------|---------|
|             | (ปี)   | (mg/m <sup>3</sup> ) | (%)     | (%)     | (ng/ml) |
| อายุ        | 1.000  | -0.036               | 0.027   | 0.064   | 0.093   |
| ระดับซิลิกา | -0.036 | 1.000                | -0.035  | 0.069   | 0.444** |
| FVC         | 0.027  | -0.035               | 1.000   | 0.875** | 0.142*  |
| FEV1        | 0.064  | 0.069                | 0.875** | 1.000   | 0.147*  |

ค่าที่แสดงเป็น Spearman rho correlation coefficient

\* มีความสัมพันธ์ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

\*\* มีความสัมพันธ์ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.01$

## อภิปรายผล

โรคปอดฝุ่นหินทรายเป็นโรคเรื้อรังที่มีความสำคัญต่อสาธารณสุข เป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ผู้ป่วยไม่สามารถทำงานหนักได้มีอาการเหนื่อยหอบ หายใจลำบาก โดยเฉพาะประเทศไทยมีอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคดังกล่าวอยู่เป็นจำนวนมาก เช่นการทำงานเหมืองหิน ในบริเวณหน้าพระลาน จังหวัดสระบุรี ที่มีรายการการเกิดโรคปอดฝุ่นหินทราย ทั้งในคนทำงานโดยตรง และประชาชนที่ดำรงชีวิตอยู่ในบริเวณดังกล่าว การค้นหาประชาชนที่มีความเสี่ยงต่อโรคปอดฝุ่นหินทราย

ก่อนที่จะเกิดโรคจึงมีความสำคัญ เพื่อติดตามเฝ้าระวังการเกิดโรค และให้การรักษาบำบัดที่เหมาะสม ก่อนเกิดพยาธิสภาพแบบถาวร อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยโรคปอดฝุ่นหินทรายในปัจจุบันใช้การเอกซเรย์ปอดร่วมกับ การวัดสมรรถภาพปอด ซึ่งจะพบเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และเกิดรอยโรคในเนื้อปอดแบบถาวร จนยากที่จะทำการรักษา ตัวชี้วัดทางชีวภาพใหม่ที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา เพื่อใช้คัดกรองประชาชนที่มีแนวโน้มเกิดโรคนี้ จึงควรมีการศึกษาและพัฒนาขึ้น

โรคปอดผุนหินทรายเกิดจากการหายใจเอาฝุ่นละอองเล็ก ๆ ของซิลิกาบริสุทธิ์หรือซิลิคอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการทำงานเกี่ยวกับการสกัด ตัด เจียร แปรสภาพหิน เข้าไปสะสมในปอด ผลึกของซิลิกาเหล่านี้ จะทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง และเกิดเนื้อยื่อพังผืดเกาะในเนื้อปอด จนปอดไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ จากการศึกษาของ Sato et al. 2006<sup>8</sup> ในผู้ป่วยโรคปอดผุนหินทราย (silicosis) พบว่า การอักเสบของเนื้อปอด มีความสัมพันธ์กับปริมาณ HO-1 ในชีรั่ม และยังมีผลการศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยให้ซิลิกากับหนูทางหลอดลมแล้วนำเนื้อยื่อปอดมาวิเคราะห์หาปริมาณ HO-1 ก็พบว่าหนูที่ได้รับซิลิกามีระดับ HO-1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีประโยชน์ในการบ่งถึงพยาธิสภาพของปอดเนื่องจากการสัมผัสผุนซิลิกา อย่างไรก็ตามการศึกษาทั้ง 2 การศึกษานี้ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคซิลิโคลิส และหนูที่ได้รับซิลิกาเข้าไปในปริมาณสูง ที่มีพยาธิสภาพในเนื้อปอดเกิดขึ้นแล้ว ซึ่งยังมีข้อจำกัดในการแพร่ผลมาสู่ประชากรที่ได้รับซิลิกาสะสมในปริมาณต่ำ หรือประชากรที่มีความเสี่ยงต่อโรคปอดผุนหินทราย ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งค้นหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ HO-1 กับระดับซิลิกาในบริเวณทำงานและสมรรถภาพปอด ในประชากรที่ทำงานสัมผัสกับฝุ่นซิลิกา ซึ่งยังไม่มีพยาธิสภาพของเนื้อปอดเกิดขึ้น ด้วยผลเอกซเรย์ปอด

ในประชากรที่ทำการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยสมรรถภาพปอดบ่งชี้โดยค่าเฉลี่ย FVC และ FEV1 ปกติ มีค่าสูงกว่าระดับที่บ่งความผิดปกติของปอด (ตารางที่ 3) ทั้งในเพศชายและเพศหญิง ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างสมรรถภาพปอดและระดับฝุ่นซิลิกา เมื่อวิเคราะห์โดยจำแนกประชากรออกตามระดับของฝุ่นซิลิกา อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ย FVC และ FEV1 ในประชากรที่ทำงานในบริเวณที่มีฝุ่นซิลิกา 2.00-10.00 mg/m<sup>3</sup> มีค่าต่ำกว่ากลุ่มระดับซิลิกา <2.00 mg/m<sup>3</sup> อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (FVC 83.25 และ 90.60, FEV1 87.14 และ 96.73 p<0.05) (ตารางที่ 4) บ่งถึงเมื่อระดับการได้รับซิลิกาเพิ่มมากขึ้น จะเกิดพยาธิสภาพกับเนื้อปอดในระดับสรีรวิทยามากขึ้น ทำให้ค่าสมรรถภาพปอดมีค่าลดลง อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง ค่า FVC, FEV1 กับระดับฝุ่นซิลิกา ไม่พบความสัมพันธ์เชิงเส้นซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าพยาธิสภาพในประชากรกลุ่มนี้ยังไม่รุนแรงจนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาแบบถาวร เช่นเดียวกับผลเอกซเรย์ปอดที่ไม่พบความผิดปกติใด ๆ ในประชากรเหล่านี้ จึงไม่ปรากฏความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าสมรรถภาพปอดและระดับซิลิกา

ระดับของ HO-1 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับซิลิกา เมื่อระดับของซิลิกาเพิ่มมากขึ้น ค่า HO-1 ก็เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ANOVA p<0.01) (ตารางที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย HO-1

ตามระดับซิลิกา พบร่วมค่าเฉลี่ย HO-1 ในกลุ่มระดับซิลิกา  $>10.00 \text{ mg/m}^3$  มีค่ามากกว่ากลุ่ม  $<2.00 \text{ mg/m}^3$  ถึง 2 เท่า (HO-1 440.83 และ 206.82, Dunnett T3  $p<0.05$ ) (ตารางที่ 4) ซึ่งให้เห็นว่าการทำงานในบริเวณที่มีผุนซิลิกาแตกต่างกันมีผลต่อค่า HO-1 อย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง HO-1 และระดับผุนซิลิกา พบร่วม HO-1 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ ระดับซิลิกา ( $r=0.444$ ,  $p<0.01$ ) (ตารางที่ 5) ผลการศึกษาดังกล่าวซึ่งให้เห็นถึงผลกระทบของการได้รับสัมผัสซิลิกาต่อระดับ HO-1 ที่เพิ่มมากขึ้น คุณงานที่ได้รับสัมผัสซิลิกามาก เกิดการอักเสบในเนื้อปอดเพิ่มขึ้น ทำให้มีระดับ HO-1 ในเลือดที่เพิ่มมากขึ้น HO-1 จึงเป็นตัวเลือกหนึ่งที่มีประโยชน์ในการบ่งชี้พยาธิสภาพของปอดที่เกิดจาก การสัมผัสซิลิกา

Heme oxygenase เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ ในเนื้อปอด ทำหน้าที่ย่อยสลาย Heme สร้าง คาร์บอนมอนออกไซด์ และ biliverdin ซึ่ง คาร์บอนมอนออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะมีฤทธิ์เป็น vasorelaxant ป้องกันการเกิด hyperoxic lung injury<sup>10</sup> อันเป็นกลไกที่เกิดขึ้นในช่วงที่มีการอักเสบของเนื้อปอด Heme oxygenase มี 3 isoform ได้แก่ HO-1, HO-2 และ HO-3 ซึ่ง HO-2 และ HO-3 เป็น isoform ที่มีการสร้างเป็นปกติ ในขณะที่ HO-1 เป็น isoform ที่จะถูกกระตุ้นให้มีการสร้างเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการอักเสบหรือ oxidative stress<sup>15</sup> และ พบร่วมมี

ความจำเพาะกับการเกิดการอักเสบและพยาธิสภาพของปอด<sup>16,17</sup> การเกิดพยาธิสภาพของเนื้อปอดเนื่องจากการได้รับสัมผัสซิลิกาเกี่ยวข้องกับการอักเสบของเนื้อปอด ซึ่งอาจจะมีความสัมพันธ์กับ HO-1 โดยผลการศึกษาในครั้งนี้พบความสัมพันธ์ระหว่าง HO-1 กับพยาธิสภาพของปอด และระดับซิลิกา สนับสนุนสมมติฐานความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มขึ้นของ HO-1 และ โรคปอดผุนหินราย

ในการศึกษาระดับ HO-1 มีค่าเปลี่ยนแปลงคล้ายกับค่า FEV1 และ FVC โดยค่าเฉลี่ยของ FEV1, FVC, และ HO-1 ในกลุ่มระดับซิลิกา 2.00-10.00 mg/m<sup>3</sup> มีค่าสูงกว่ากลุ่มระดับซิลิกา  $<2.00 \text{ mg/m}^3$  อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4) และ HO-1 มีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนกับค่า FVC และ FEV1 เมื่อวิเคราะห์โดยใช้ Spearman rho method (ตารางที่ 5) อันซึ่งให้เห็นว่า HO-1 น่าจะเป็นตัวชี้วัดที่สามารถใช้บ่งชี้พยาธิสภาพของปอดได้ นอกจากนั้นแล้วระดับซิลิกายังมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับ HO-1 ในขณะที่ไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับ FVC และ FEV1 แสดงอย่างมีนัยว่า HO-1 เป็นตัวชี้วัดการสัมผัสผุนซิลิกาที่มีความไวมากกว่า FVC หรือ FEV1

ผลการศึกษาระดับ HO-1 ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับผุนซิลิกาและ HO-1 ในประชากรที่สัมผัสผุนซิลิกาจากการทำงาน ที่ยังไม่ปรากฏอาการของโรคปอดผุนหินราย ซึ่งควรจะมีการพัฒนา

ตัวชี้วัดดังกล่าวเป็นตัวบ่งชี้การเกิดพยาธิสภาพของปอดตั้งแต่ระยะเริ่มแรก อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาแบบภาพตัดขวาง ซึ่งขาดข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของ HO-1 อันเกิดจากการสัมผัสฝุ่นซิลิกา ในประชากรแต่ละคน จึงควรมีการติดตามการเกิดพยาธิสภาพของปอดในคนงานที่มีความเสี่ยง โดยการตรวจสุขภาพเป็นประจำทุกปี วิเคราะห์ผลการศึกษาโดยคำนึงถึงระยะเวลาในการทำงาน ปริมาณได้รับสัมผัสซิลิกาสะสม โรคประจำตัวโดยเฉพาะในกลุ่มที่เริ่มเข้ามาทำงาน เพื่อเบรียบที่บ่นก่อนและหลังการทำงานเข้าทำงาน เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของ HO-1 และนำผลการศึกษาไปพัฒนาปรับปรุงการใช้ HO-1 ในระบบการป้องกันการเกิดโรคปอดฝุ่นหินทรายในคนงานที่ได้รับสัมผัสซิลิกาจากการทำงานให้มีประสิทธิภาพต่อไป กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้มิอาจสำเร็จได้หากปราศจากคำแนะนำจาก นพ.ศุภชัย ฤกษ์งาม ผู้ทรงคุณวุฒิ กรมควบคุมโรค ความร่วมมือจาก สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด โรงพยาบาล ผู้จัดการ โรงพยาบาล คนงานที่เกี่ยวข้องทุกท่าน และ ทุนสนับสนุนการวิจัย จากกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข จึงขอขอบพระคุณทุกท่านไว้ ณ โอกาสันนี้

#### เอกสารอ้างอิง

- Hertzberg, V.S., Rosenman, K.D., Reilly, M.J. & Rice, C.H. Effect of Occupational Silica Exposure on Pulmonary Function. *Chest* 2002; 122: 721-8.
- Wagner, G.R. Asbestosis and silicosis. *Lancet* 1997; 349:1311-5.
- Thomas, C.R. & Kelley, T.R. A Brief Review of Silicosis in the United States. *Environ Health Insights*. 2010; 4: 21-6.
- Soutar, C.A., Robertson, A., Miller, B.G., Searl, A. & Bignon, J. Epidemiological Evidence on the Carcinogenicity of Silica: Factors in Scientific Judgement. *Annals of Occupational Hygiene* 2000;44: 3-14.
- สำนักโรคจาก การป้องกันอาชีพและสิ่งแวดล้อม. สถานการณ์โรคจากการป้องกันอาชีพและสิ่งแวดล้อมปี 53 ภาคอุตสาหกรรม Vol. 2554. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข 2554. กรุงเทพ.
- Churchyard, G., Ehrlich, R., teWaterNaude, J., Pemba, L., Dekker, K., Vermeijis, M., White, N. & Myers, J. Silicosis prevalence and exposure-response relations in South African goldminers. *Occup Environ Med*. 2004; 61: 811-6.
- Chen, W., Zhuang, Z., Attfield, M., Chen, B., Gao, P., Harrison, J., Fu, C., Chen, J. & Wallace, W. Exposure to silica and silicosis among tin miners in China: exposure-response

- analyses and risk assessment. *Occup Environ Med.* 2001; 58: 31-7.
8. Sato, T., Takeno, M., Honma, K., Yamauchi, H., Saito, Y., Sasaki, T., Morikubo, H., Nagashima, Y., Takagi, S., Yamanaka, K., Kaneko, T. & Ishigatubo, Y. Heme Oxygenase-1, a Potential Biomarker of Chronic Silicosis, Attenuates Silica-induced Lung Injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174: 906-14.
  9. Nagatomo, H., Morimoto, Y., Oyabu, T., Hirohashi, M., Ogami, A., Yamato, H., Kuroda, K., Higashi, T. & Tanaka, I. Expression of Heme Oxygenase-1 in the Lungs of Rats Exposed to Crystalline Silica. *Journal of Occupational Health* 2006;48: 124-8.
  10. Donnelly, L.E. & Barnes, P.J. (2001) Expression of Heme Oxygenase in Human Airway Epithelial Cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2001; 24: 295-303.
  11. Yamane, T. *Statistics: an introductory analysis.* Harper & Row 1973. New York.
  12. NIOSH. SILICA, CRYSTALLINE, by XRD (filter redeposition) 7500. In: *NIOSH manual of analytical methods* 4edn. National Institute for Occupational Health and Safety, Ohio, 2003. 7601.
  13. NIOSH. Silica, Crytalline, by VIS. In: *NIOSH manual of analytical methods* National Institute for Occupational Health and Safety, Ohio, 2003. 7601.
  14. ก ร ะ ท ร ว ง ม หา ด ท ร ย . ป ร ะ ก า ศ กระตรวจหาดไทย เรื่อง ความปลดภัยในการทำงานเกี่ยวกับภาวะแวดล้อม (สารเคมี). In: เล่มที่ 94 ตอนที่ 64, ราชกิจจานุเบกษา. 2520.
  15. Choi, A.M. & Alam, J. Heme oxygenase-1: function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1996; 15: 9-19.
  16. Dennery, P.A., Sridhar, K.J., Lee, C.S., Wong, H.E., Shokoohi, V., Rodgers, P.A. & Spitz, D.R. Heme Oxygenase-mediated Resistance to Oxygen Toxicity in Hamster Fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 14937-42.
  17. Abraham, N., Drummond, G., Lutton, J. & Kappas, A. (1996) The Biological Significance and Physiological Role of Heme Oxygenase. *Cell Physiol Biochem* 1996;6: 129-68.