



การเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน  
ก่อนและหลังการบำบัดฟื้นฟูเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน  
ในการเลือกตัวบ่งชี้ถึงความสำเร็จในการรักษา

Comparative transcriptomics profile from methamphetamine  
addict before and after rehabilitation treatment:  
a basic information for successful treatment marker selection

ทนาย.ธิดารัตน์	ประทุมวรรณ
ผศ.ดร.ปัทมาภรณ์	ขวัญแก้ว
ผศ.ดร.นवलพรรณ	แสงเพชร

ภารกิจด้านวิชาการและการแพทย์  
โรงพยาบาลธัญญารักษ์สงขลา  
2565-2566

## บทคัดย่อ

ปัญหาเยสพตติเป็นปัญหาสำคัญที่พบได้ทั่วโลก ในประเทศไทย จากข้อมูลของสำนักงานสถิติแห่งชาติในปี พ.ศ. 2564 จัดอันดับให้เมทแอมเฟตامينเป็นสารเยสพตติที่มีจำนวนผู้ต้องหาและจำนวนคดีมากที่สุด สะท้อนให้ว่าเห็นปัญหาเหล่านี้ควรได้รับการแก้ไขอย่างจริงจัง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวของผู้ใช้เมทแอมเฟตامينก่อนและหลังการบำบัด (หยุดใช้) เป็นระยะเวลา 20 วัน โดยใช้เทคนิค RNA sequencing พบว่ายีนที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากเข้ารับการบำบัดมีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นจำนวน 28 ยีน และน้อยลงจำนวน 5 ยีน คุณลักษณะเด่นของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปจำแนกตามข้อมูลของ gene ontology พบว่า ยีนทำหน้าที่ทางชีวภาพเกี่ยวกับ leucocyte degranulation มีหน้าที่ทางโมเลกุลคือ lipopolysaccharide binding พบได้ใน secretory granule ยีนที่เปลี่ยนแปลงไปและมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 การจำแนกนี้คือ *LTF*, *BPI* และ *CAMP* ทั้ง 3 ยีนนี้มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นโดยยีนย่นการแสดงออกของยีนด้วยวิธี qPCR ในทั้ง 3 ยีนนี้มีเพียง *BPI* เท่านั้นเป็นโปรตีนที่มีรายงานทางวิทยาศาสตร์ว่ามีคุณสมบัติครบตามลักษณะเด่นที่พบใน gene ontology จึงเลือกมาตรวจยีนย่นระดับโปรตีนในพลาสมาด้วยวิธี ELISA พบว่า ระดับโปรตีน *BPI* ในผู้ใช้เมทแอมเฟตامينสูงกว่าคนปกติและสูงขึ้นในคนที่หยุดใช้เมทแอมเฟตامين กล่าวโดยสรุป โปรตีน *BPI* สามารถใช้จำแนกคนที่ใช้เมทแอมเฟตامينออกจากคนที่ไม่ใช่ได้ แต่การจะใช้โปรตีน *BPI* เป็นตัวบ่งชี้การหยุดใช้เมทแอมเฟตامينยังมีข้อควรพิจารณาปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เพราะปริมาณเมทแอมเฟตامينที่ใช้และปัจจัยพื้นฐานของผู้ใช้เมทแอมเฟตامينมีผลต่อระดับ *BPI* จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรขนาดใหญ่เพื่อย่นย่นการผลวิจัย ศึกษาข้อจำกัดในการใช้ *BPI* เป็นตัวบ่งชี้ รวมถึงเกณฑ์ตัดสินผลบวก (cut-off) เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการจำแนกผู้ใช้เมทแอมเฟตامينออกจากผู้หยุดใช้และการใช้ยาเยสพตติประเภทอื่น ๆ

## Abstract

Substance abuse is a significant issue globally. In Thailand, the National Statistical Office Dashboard ranked methamphetamine as the narcotic substance with the highest number of suspects and drug cases in 2021, highlighting the need for serious attention to these problems. This research aims to examine the transcriptomics profile of methamphetamine addicts before and after a 20-day rehabilitation treatment using an RNA sequencing approach. The results revealed that stopping methamphetamine usage increased the expression of 28 differentially expressed genes (DEGs) and decreased 5 DEGs. The predominant characteristics of these DEGs included leucocyte degranulation in the biological function gene ontology, lipopolysaccharide binding in the molecular function gene ontology, and location in secretory granules in the cellular component gene ontology. *BPI*, *CAMP*, and *LTF* represented all these dominant gene ontology characteristics. The increase in their gene expressions was confirmed by qPCR. Among these, only BPI has a scientific incidence to confirm the function in the gene ontology as indicated above. Therefore, BPI was selected to confirm the protein expression level by ELISA. The results showed that BPI increased in methamphetamine usage compared to the normal control group. The BPI level was higher upon stopping methamphetamine usage compared to current use. Therefore, the BPI protein level could be used to categorize methamphetamine usage and non-use. If BPI was required to classify methamphetamine usage and stop-using, it should consider other parameters because BPI was affected by the dose of methamphetamine uptake and underlying factors of methamphetamine users. Further study in a larger population is required to validate the result, study the limitations of BPI as an indication, as well as cut-off criteria for the effectiveness of the classification of methamphetamine usage and stop-using and other drug addicts.

### กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ ด้วยได้รับความร่วมมือและการสนับสนุนจากบุคคลหลายท่าน ทางกลุ่มวิจัยขอขอบพระคุณผู้ที่เกี่ยวข้องดังนี้ ทุนงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ผ่านกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ 2565-2566 และทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทโครงการส่วนหนึ่งจากสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

## สารบัญ

หัวข้อ	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	(1)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	(2)
กิตติกรรมประกาศ.....	(3)
สารบัญ.....	(4)
สารบัญตาราง.....	(5)
สารบัญรูป.....	(6)
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	2
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม.....	4
2.1 เมทแอมเฟตามีน.....	4
2.2 การออกฤทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนที่ระบบประสาท.....	4
2.3 ผลของเมทแอมเฟตามีนต่อเซลล์เม็ดเลือด.....	5
2.4 ผลของเมทแอมเฟตามีนต่อสารชีวเคมีในเลือด.....	5
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	7
3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ.....	7
3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	7
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	10
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	11
4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเซลล์เม็ดเลือดของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน.....	11
4.2 การเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีในเลือดของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน.....	15
4.3 การเปลี่ยนแปลงของยีนในเม็ดเลือดขาวที่ถูกกระตุ้นด้วยเมทแอมเฟตามีน.....	16
4.4 ลักษณะของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อถูกกระตุ้นด้วยเมทแอมเฟตามีน.....	17
4.5 ระบุยีนเป้าหมายที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน.....	18
4.6 ยืนยันการเปลี่ยนแปลงยีนเป้าหมายเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนด้วยวิธี qPCR	20
4.7 การแสดงออกของโปรตีน BPI เมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน.....	21
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง.....	22
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย.....	26
เอกสารอ้างอิง.....	27
ประวัติคณะผู้วิจัย.....	35

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตาราง 3.1 Primer ที่ใช้ในการวิจัย.....	9
ตาราง 4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนปี พ.ศ. 2564 และกลุ่ม อาสาสมัครในงานวิจัยนี้ปี พ.ศ. 2565.....	11
ตาราง 4.2 ข้อมูลโลหิตวิทยาของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนเปรียบเทียบกับคนปกติ ปี พ.ศ. 2564-2565.....	13
ตาราง 4.3 การทำงานของยีนด้านชีวภาพที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน.....	17
ตาราง 4.4 การทำงานของยีนในเชิงโมเลกุลที่เปลี่ยนไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน	17
ตาราง 4.5 ตำแหน่งในเซลล์ของโปรตีนจากยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อ หยุดใช้เมทแอมเฟตามีน.....	18

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย.....	3
รูปที่ 4.1 เม็ดเลือดแดงและพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน เปรียบเทียบกับคนปกติ.....	12
รูปที่ 4.2 เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือดและพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องของ ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนเปรียบเทียบกับคนปกติ.....	14
รูปที่ 4.3 ระดับสารชีวเคมีในเลือดก่อนและหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนเป็น ระยะเวลา 20 วัน.....	15
รูปที่ 4.4 จำนวนและระดับการเปลี่ยนแปลงของยีนในเม็ดเลือดขาวของ ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังหยุดยา 20 วัน.....	16
รูปที่ 4.5 แผนภาพ venn แสดงจำนวนยีนที่ปรากฏร่วมกันหรือแยกกันใน คุณลักษณะเด่นของแต่ละ gene ontology.....	19
รูปที่ 4.6 แผนภาพภูเขาไฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่านัยยะสำคัญและจำนวน เท่าของการเปลี่ยนแปลง.....	19
รูปที่ 4.7 การแสดงออกของยีนเป้าหมายเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน.....	20
รูปที่ 4.8 การแสดงออกของโปรตีน BPI ในพลาสมาเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน....	21

## บทที่ 1 บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เมทแอมเฟตามีน (methamphetamine) หรือยาบ้า เป็นสารออกฤทธิ์ทางจิตที่ผิดกฎหมายเกินครึ่งหนึ่งของผู้เสพยาเมทแอมเฟตามีนทั่วโลกอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออก (1) เมทแอมเฟตามีนเริ่มแพร่หลายในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2533 จากการสำรวจข้อมูลในปีพ.ศ. 2546 พบว่าประชากรไทยมากกว่า 3 ล้านคนหรือประมาณ 5% ของประชากรใช้เมทแอมเฟตามีน ในปีพ.ศ. 2555 พบว่าสารในกลุ่มแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ (ยกเว้นยาอี) มีผู้ใช้โดยละเมิดกฎหมายทั้งสิ้น 13.94-54.81 ล้านคน คิดเป็นความชุก 1% ของประชากรทั้งหมดทั่วโลก การออกฤทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนคือการกระตุ้นให้เซลล์ประสาทสร้างสารสื่อประสาท เช่น โดปามีนและเซโรโทนิน กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางให้ตื่นตัวในระยะสั้น แต่ถ้าใช้เป็นระยะเวลาสั้น ผู้เสพยาเมทแอมเฟตามีนต้องไต่ยาในปริมาณสูงขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้เกิดโรคซึมเศร้า หลงผิดและมีพฤติกรรมรุนแรง เพราะเมทแอมเฟตามีนทำให้เซลล์ประสาทเสียหาย เสื่อมประสิทธิภาพการทำงานและชักนำให้เซลล์ประสาทตาย นำไปสู่การแสดงพฤติกรรมที่ควบคุมไม่ได้เช่น ก่อวิน ละเมิดกฎหมาย ซึ่งเป็นอันตรายต่อความปลอดภัยของสังคม (2) นอกจากระบบประสาทแล้ว เมทแอมเฟตามีนยังส่งผลทำลายการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และระบบย่อยอาหาร (3) รวมถึงวิธีการเสพยาที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคตับอักเสบจากเชื้อไวรัสหรือโรคเอดส์จากการใช้เข็มร่วมกัน

โรงพยาบาลธัญญารักษ์สงขลา จังหวัดสงขลาเชี่ยวชาญด้านการบำบัดรักษาและฟื้นฟูผู้ติดยาและสารเสพติดของประเทศไทยเขตภาคใต้ มีการสร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้ เทคโนโลยีทางการแพทย์ด้านยาและสารเสพติด การบำบัดรักษาผู้เสพยาเมทแอมเฟตามีนของโรงพยาบาลแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนการเตรียมการ การถอนพิษยา การฟื้นฟูสมรรถภาพ และการติดตามผล ซึ่งจะติดตามผู้ป่วยอย่างต่อเนื่องภายในระยะเวลา 1 ปี หลังผ่านการบำบัดรักษา โดยขั้นตอนการบำบัดนี้ใช้ระยะเวลา 4 เดือนนับตั้งแต่เริ่มต้นการบำบัด ปัญหาหนึ่งในการบำบัดรักษาและฟื้นฟูผู้ติดยาเสพติดคือ เมื่อแพทย์ให้การรักษาระยะเวลาจะให้ผู้ป่วยกลับไปใช้ชีวิตปกติ ถึงแม้จะมีการติดตามผู้ป่วยเป็นระยะหลังการบำบัด แต่ขาดตัวบ่งชี้ว่า ผู้ป่วยกลับไปเสพยาอีกหรือไม่ เนื่องจากระดับของเมทแอมเฟตามีนจะลดลงตามกระบวนการเผาผลาญในร่างกายและขึ้นอยู่กับปริมาณที่ผู้ป่วยเสพยา การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า เมทแอมเฟตามีนสามารถจับกับโปรตีนในกระแสเลือดได้ประมาณ 16-20% และสามารถสะสมได้ใน สมอง ปอด ตับ ไต น้ำลาย ผม และเล็บ ในผู้เสพยาและผู้ที่ไม่ได้เสพยาประจำจะมีค่าการกระจายตัวของยาในร่างกาย (volume of distribution, Vd) ไม่เท่ากัน คือเท่ากับ 6.1 ลิตรต่อกิโลกรัม และ 3.5-4.6 ลิตรต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ผู้เสพยาจะมีค่า Vd สูงกว่าเพราะเนื้อเยื่อของกลุ่มผู้เสพยามีความจำเพาะสูงในการจับกับยา เมทแอมเฟตามีนกำจัดออกทางปัสสาวะได้ 70% ใน 24 ชั่วโมง แต่หากผู้เสพยาในปริมาณมากจะขับออกทางปัสสาวะช้าลง ทั้งนี้ 50% ของเมทแอมเฟตามีนถูกขับออกทางปัสสาวะโดยไม่เปลี่ยนรูป 15% ในรูปของ



4-Hydroxymetamphetamine และ 10% ในรูปของแอมเฟตามีน (4) ดังนั้นการตรวจระดับเมทแอมเฟตามีนเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัยภาวะดังกล่าว ผู้ที่เสพเมทแอมเฟตามีนมาเป็นระยะเวลานานมักจะมีผลต่อการรับรู้หรือประเมินสภาพของตนเองและสามารถเข้าสู่สภาวะที่เสี่ยงต่อการใช้อีกครั้งหลังการบำบัดรักษาและกลับไปใช้ชีวิตตามปกติที่บ้าน ทำให้การประเมินว่าผู้ป่วยหยุดเสพจริงทำได้ยาก การพัฒนาตัวบ่งชี้เพื่อช่วยในการประเมินการหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนจะช่วยเพิ่มความแม่นยำและเพิ่มระยะเวลาการตรวจติดตามได้มากกว่าการตรวจวัดระดับเมทแอมเฟตามีนในร่างกายของผู้ป่วยที่มีอยู่ในร่างกายเพียงระยะเวลาสั้นๆ

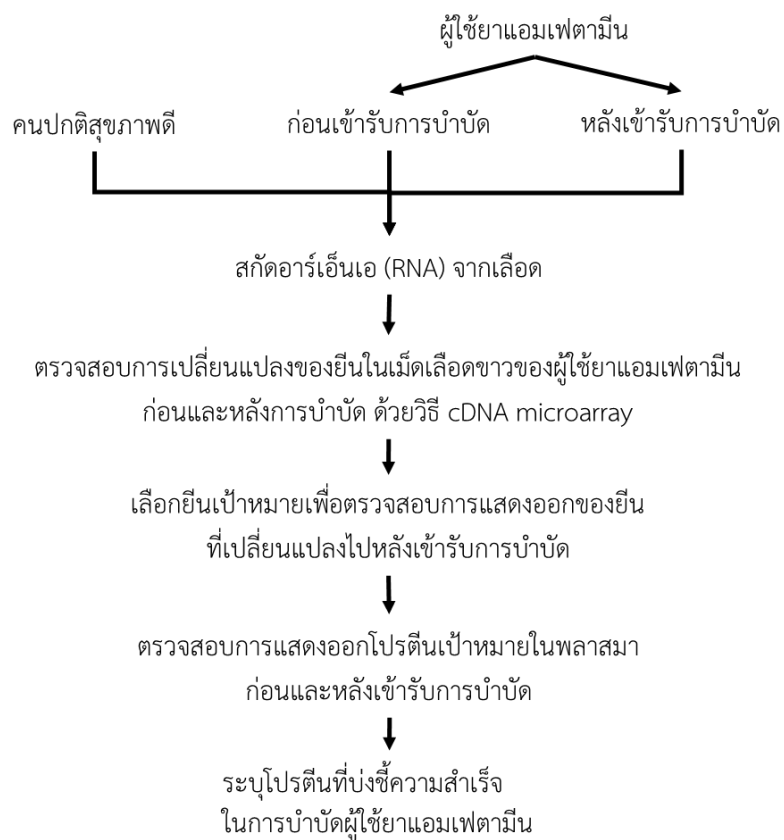
การศึกษานี้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวของผู้เสพเมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังการหยุดใช้ยาเป็นระยะเวลา 20 วัน โดยการใช้เทคนิค RNA sequencing เป็นเครื่องมือในการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน เพื่อระบุโมเลกุลเป้าหมายที่เปลี่ยนแปลงเมื่อผู้ป่วยเลิกยาหรือใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่สามารถใช้ในการพัฒนากลยุทธ์การรักษาใหม่ ๆ ผลที่ได้จะนำไปใช้ร่วมประเมินการเลิกเสพเมทแอมเฟตามีนในผู้ป่วยและอาจขยายผลไปในผู้ต้องสงสัยที่มีการใช้เมทแอมเฟตามีน งานวิจัยนี้สามารถนำไปต่อยอดตรวจโมเลกุลเป้าหมายในปัสสาวะและสร้างชุดตรวจสำเร็จรูปต่อไปในอนาคต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อระบุยีนที่เป็นตัวบ่งชี้การหยุดเสพของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนในขณะบำบัดรักษา
- 2) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงยีนในเม็ดเลือดขาวผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังการบำบัดรักษา

## 1.3 สมมติฐานของการวิจัย

การศึกษานี้ผู้วิจัยศึกษาการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังการหยุดใช้ยาเป็นระยะเวลา 20 วัน โดยการใช้เทคนิค RNA sequencing จากนั้นใช้การวิเคราะห์ทางเทคโนโลยีสารสนเทศเพื่อระบุยีนเป้าหมายที่เปลี่ยนแปลงเมื่อผู้ป่วยหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน ก่อนยืนยันการแสดงออกของยีนเป้าหมายด้วยวิธี qPCR และระดับโปรตีนด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ตามลำดับ โดยมีกรอบแนวคิดการวิจัยในรูป 1.1 ขอบเขตของประชากรกลุ่มตัวอย่างคือผู้ใช้สารเสพติดก่อนและหลังบำบัดที่โรงพยาบาลธัญญารักษ์สงขลา จังหวัดสงขลา ระหว่างปี พ.ศ. 2565 - 2566



รูปที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย

## บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม

### 2.1 เมทแอมเฟตามีน

เมทแอมเฟตามีน หรือ (N-methylamphetamine) เป็นอนุพันธ์ N-methyl ของแอมเฟตามีน จัดเป็นสารออกฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง เมทแอมเฟตามีนเป็นสารประเภทเอมีน (amine) ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มอะมิโน (-NH<sub>2</sub>) ที่ติดกับโมเลกุลเมทิล (methyl) และกลุ่มเฟนิล (phenyl) ที่ต่อกับกลุ่มอะมิโน โครงสร้างเป็นประจวบ การมีหมู่เมทิลทำให้เมทแอมเฟตามีนมีความชอบไขมัน (lipophilic) จึงทำให้สารนี้ดูดซึมเข้าสมองได้มากขึ้น เมทแอมเฟตามีนอยู่ในรูปแบบของสเตอริโอไอโซเมอร์สองแบบ คือรูปแบบ L และ D รูปแบบ D-methamphetamine เป็นรูปแบบที่ทำให้เสพติดได้ง่าย เมทแอมเฟตามีนซื้อขายในรูปแบบของ D-methamphetamine ที่บริสุทธิ์ หรือรูปแบบผสมระหว่าง D-methamphetamine และ L-methamphetamine (racemic mixture) โดยมักจะมีรูปแบบเป็นผงหรือในรูปแบบคริสตัล รูปแบบคริสตัลมีชื่อเรียกว่า "ice" หรือ "crystal meth" มีความบริสุทธิ์ของ D-methamphetamine สูงมักนิยมเสพโดยการสูบหรือฉีดเข้าเส้นเลือด (intravenous) (5, 6)

### 2.2 การออกฤทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนที่ระบบประสาท

เมทแอมเฟตามีนออกฤทธิ์กระตุ้นให้เซลล์ประสาทสร้างสารสื่อประสาท เช่น โดปามีนและเซโรโทนิน ส่งผลให้ตื่นตัวในระยะสั้น แต่ถ้าใช้เป็นระยะเวลานาน ผู้เสพเมทแอมเฟตามีนต้องใช้อย่างปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้เกิดโรคซึมเศร้า หลงผิดและมีพฤติกรรมรุนแรงเพราะเมทแอมเฟตามีนทำให้เซลล์ประสาทเสียหาย (7) เสื่อมประสิทธิภาพการทำงานและชักนำให้เซลล์ประสาทตาย (3) นอกจากระบบประสาทแล้ว เมทแอมเฟตามีนยังส่งผลทำลายการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ระบบย่อยอาหารและมีปัญหาสุขภาพอื่น ๆ ตามมา เช่น หัวใจเต้นผิดจังหวะ (cardiac dysrhythmia) โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) ความดันโลหิตสูง อุณหภูมิร่างกายสูงกว่าปกติ อาการเหล่านี้เชื่อว่าเกิดจากการสร้างและเมแทบอลิซึมของสารสื่อประสาทจำพวกโดปามีน เซโรโทนิน กลูตาเมตที่ผิดปกติ (8)

กลไกการออกฤทธิ์ของเมทแอมเฟตามีนระดับเซลล์ เมทแอมเฟตามีนทำให้เซลล์ประสาท (rat C6 astrocyte cell) หดตัวเปลี่ยนรูปร่าง การส่งสัญญาณระหว่างเซลล์เกิดขึ้นได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ รวมทั้งชักนำให้สร้างอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS), nitric oxide, เปลี่ยนเมแทบอลิซึมของไขมัน, แลคเตต (lactate), กลูตาไทโอน (glutathione, GSH) และทำให้เซลล์ประสาทตายทั้งกรณีที่ได้รับเมทแอมเฟตามีนแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังต่อเนื่องกัน (9)

### 2.3 ผลของเมทแอมเฟตามีนต่อเซลล์เม็ดเลือด

สารเสพติดหลายประเภทส่งผลโดยตรงที่ระบบประสาท แต่มีรายงานว่า ส่งผลกระทบต่อระบบอื่น ๆ ด้วย อาทิเช่น ทำให้เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นโดยไม่มีสาเหตุ (idiopathic leukocytosis) (10) เกิดจากการที่ยาเสพติดออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทรวมถึงระบบต่อมไร้ท่อทำให้มีระดับฮอร์โมน

cortisol เพิ่มขึ้นและคงอยู่ในเลือดภายใน 24 ชั่วโมงหลังใช้ยา (11) จากการทดลองในหนูทดลอง การเพิ่มขึ้นของ corticosterone สัมพันธ์กับปริมาณไซโตไคน์ IFN $\gamma$  และ interleukin-4 (IL-4) ที่เพิ่มขึ้นในกระแสเลือด ส่งผลยับยั้งการทำงานของ natural killer cell และลิมโฟไซต์ (12) ผลระยะยาวทำให้เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดสร้างเม็ดเลือดขาวหรือปล่อยเม็ดเลือดขาวออกมาจากไขกระดูกเร็วขึ้น ตามรายงานพบว่าเม็ดเลือดขาวชนิดมอนอไซต์ แกรนูโลไลต์ natural killer cell เพิ่มขึ้นแต่ลิมโฟไซต์ลดลง (10, 13) เพราะแอมเฟตามีนยับยั้งการสร้าง IL-2 มีผลลดการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์ นอกจากนี้เมทแอมเฟตามีนกระตุ้นแมโครฟาจให้สร้างไซโตไคน์ชักนำการอักเสบเช่น IL-6, IL-1 และ TNF $\alpha$  (14) การพบไซโตไคน์เหล่านี้ในกระแสเลือดแตกต่างจากผู้เสพโคเคอินที่จะพบ IL-6 ลดลง แต่พบ IL-10 เพิ่มมากขึ้น (15) แสดงให้เห็นว่า สารเสพติดนอกจากส่งผลต่อระบบประสาทแล้วยังส่งผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและการเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีในกระแสเลือด

#### 2.4 ผลของเมทแอมเฟตามีนต่อสารชีวเคมีในเลือด

เมื่อร่างกายได้รับเมทแอมเฟตามีน ปริมาณสารจะลดลงตามเวลาที่ผ่านไปเนื่องจากถูกเมแทบอลิซึมและขับออกทางปัสสาวะเช่น แอมเฟตามีนมีค่าครึ่งชีวิต 9-12 ชั่วโมง (10) ในผู้ที่เลิกยาแบบเฉียบพลันอาจมีอาการอ่อนแรง เกรียดย หงุดหงิดง่าย ซึมเศร้า วิตกกังวล นอนไม่หลับ รู้สึกหมดหวังจนอาจนำไปสู่การฆ่าตัวตายได้ (16) การศึกษาอื่นหรือโปรตีนที่เปลี่ยนแปลงไปจากขณะใช้ยาเสพติดหยุดใช้ยาเสพติดแบบมีหรือไม่มีอาการถอนยารุนแรง สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อช่วยในการวินิจฉัยผู้ที่อาจมีอาการถอนยาตั้งแต่แรกเริ่ม หรือตรวจติดตามการบำบัดรักษาได้ (17-19) การเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมในซีรัมของผู้เสพเมทแอมเฟตามีนพบ lactate, glutamine, ornithine, niacinamide, histidine, creatinine, acetylcholine, asparagine, glutamate, malic acid, 5-aminolevulinic acid, taurine, 1-methylnicotinamide, citrulline และ guanidine acetic acid เพิ่มขึ้น แต่เมแทบอลิซึมเหล่านี้พบได้ในโรคหลายชนิดเช่น โรคหัวใจ ดังนั้นการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมจึงไม่จำเพาะต่อการใช้เมทแอมเฟตามีน (20) งานวิจัยก่อนหน้าระบุ 4-hydroxymethamphetamine (pholedrine) เป็นตัวบ่งชี้หนึ่งในการได้เสพยาที่สามารถพบได้ในแหล่งน้ำทิ้ง (21) microRNA ชนิด miR-9-3p เป็นอีกหนึ่งตัวบ่งชี้ว่า มีการเสพยาเมทแอมเฟตามีน (22) ซึ่งวิธีการเก็บตัวอย่างและตรวจวิเคราะห์ซับซ้อน ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ นอกจากนี้ภาวะของผู้ป่วยเช่น ภาวะอ้วนจะทำให้มีแอมเฟตามีนสะสมในสมองมากกว่าปกติ ผู้เสพยาอาจได้ผลกระทบจากการใช้ยานานกว่าผู้มี BMI ในเกณฑ์ปกติ รวมถึงมีผลต่อระยะเวลาในกำจัดแอมเฟตามีนออกจากร่างกาย (23)

DNA เป็นข้อมูลทางพันธุกรรมถูกเก็บไว้ในเซลล์ เมื่อเซลล์ตอบสนองต่อสิ่งเร้าจะส่งสัญญาณผ่านโปรตีนเป็นทอด ๆ ไปที่ DNA ให้ถอดรหัสเป็น RNA เพื่อสร้างโปรตีนมาตอบสนองต่อสิ่งเร้า นั้น ดังนั้นการศึกษากลไกควบคุมทางชีวภาพของเซลล์จึงสามารถศึกษาได้ทั้งระดับ RNA และโปรตีน (24) การศึกษา RNA ทั้งหมดของเซลล์เรียกว่า Transcriptome หมายถึงรวมถึง Messenger RNA (mRNA) และ non-coding RNA หรือ RNA ที่ไม่ถูกถอดรหัสออกมาเป็นโปรตีน non-coding RNA การศึกษาการตอบสนองของเซลล์จะศึกษา mRNA เพราะถอดรหัสเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ภายในเซลล์ การศึกษาการแสดงออกของยีนแต่ละวิธีมีประโยชน์และข้อจำกัดแตกต่างกัน เช่น เทคนิค northern

blots และ quantitative polymerase chain reaction (qPCR) ซึ่งสามารถศึกษาได้จำนวนยีนจำกัดและใช้ปริมาณ RNA มาก จึงได้มีการพัฒนาเทคนิคให้วิเคราะห์ได้ยีนหลายยีนในการทดสอบหนึ่งครั้งเช่น microarray (25) แต่มีข้อจำกัดที่ต้องทราบลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เพื่อออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะ เป็นต้น (26, 27) เทคนิค RNA sequencing ใช้เทคโนโลยี Next-Generation Sequencing ช่วยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนทั้งหมดภายในเซลล์โดยมีหรือไม่มีฐานข้อมูลจีโนมมาก่อน (19, 24) เทคนิค RNA sequencing จึงเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงในการวิเคราะห์ตอบสนองของเซลล์ ให้ข้อมูลยีนใหม่ ๆ ที่ยังไม่มีการศึกษาหน้าที่ทางชีวภาพแต่เป็นยีนสำคัญในกลไกนั้นได้

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อตรวจติดตามผู้ที่สามารถหยุดเสพในช่วงระยะเวลาเข้ารับการบำบัด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะระบุยีนหรือกลุ่มยีนในเม็ดเลือดขาวที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากผู้ป่วยหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนเป็นระยะเวลา 20 วัน ที่โรงพยาบาลธัญญารักษ์ จังหวัดสงขลา โดยการใช้เทคนิค RNA sequencing เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลง RNA ทั้งหมด จากนั้นยืนยันการแสดงออกของ RNA ที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยวิธี qPCR และวิเคราะห์ระดับโปรตีนด้วยวิธี ELISA งานวิจัยนี้สามารถนำไปพัฒนา เป็นชุดตรวจวิเคราะห์สำเร็จรูปในอนาคต รวมถึงช่วยให้เข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาเสพติด และหลังการหยุดใช้ยาเสพติด

### บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

##### 3.1.1 วัสดุอุปกรณ์

- 1) หลอดเก็บตัวอย่างขนาด 1.5 มิลลิลิตร (1.5 ml microcentrifuge tube)
- 2) หลอดขนาด 0.1 มิลลิลิตร สำหรับทำ PCR
- 3) ปิเปตขนาด 1000, 200, 100, 20 และ 2 ไมโครลิตร
- 4) ทิปสำหรับปิเปตขนาด 1000, 200, 100, 20 และ 2 ไมโครลิตร
- 5) ทิปแบบมีตัวกรองสำหรับปิเปตขนาด 1000, 200, 100, 20 และ 2 ไมโครลิตร

##### 3.1.2 เครื่องมือ

- 1) เครื่องปั่นเหวี่ยง
- 2) เครื่องวัดปริมาณอาร์เอ็นเอ (nanodrop)
- 3) เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR)
- 4) เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบ real-time (qPCR)

##### 3.1.3 สารเคมี

- 1) น้ำยาสำหรับเตรียม complementary DNA (cDNA)
- 2) น้ำยาสำหรับ qPCR
- 3) ชุดสกัดอาร์เอ็นเอ (RNA) (Blood mini kit)

#### 3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 ขอบจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากสถาบันบำบัดและฟื้นฟูผู้ติดยาเสพติดแห่งชาติบรมราชชนนีกรมการแพทย์ รหัสโครงการวิจัยที่ 65010 ได้รับการรับรองตามเอกสารใบรับรองที่ 018/2565 และ 012/2566

3.2.2 เก็บเลือดเพื่อแยกเม็ดเลือดขาวจากผู้ป่วยเสพยาเมทแอมเฟตามีนเพียงอย่างเดียวก่อนและหลังการบำบัด เป็นระยะเวลา 20 วัน จำนวน 10 คน จากโรงพยาบาลรัฐญารักษ์สงขลา จ.สงขลา

3.2.3 สกัด RNA จากเม็ดเลือดขาวด้วย Blood mini kit มีขั้นตอนดังนี้ (QIAmp RNA blood mini kit handbook, 2021)

- 1) ผสมเลือดครบส่วน (whole blood) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับ บัฟเฟอร์ EL 5 มิลลิลิตร ในหลอด 15 มิลลิลิตร
- 2) บ่มในน้ำแข็ง 10-15 นาที ระหว่างนี้ให้ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex 2 ครั้ง
- 3) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็วรอบ 400xg เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 4) ปิเปตส่วนน้ำใสทิ้ง
- 5) เติบบัฟเฟอร์ EL ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในเม็ดเลือดขาวที่เกาะกลุ่ม ปิเปตขึ้นลงให้เซลล์กระจายได้ดี

- 6) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็วรอบ 400xg เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 7) ปิดส่วนน้ำใส่ทิ้ง และเคาะเบาๆ ให้เซลล์กระจายตัว
- 8) เติมน้ำบัฟเฟอร์ RTL ปริมาตร 350 ไมโครลิตร ปิดเขย่าขึ้นลงหลายๆครั้ง เพื่อให้เซลล์แตกอย่างสมบูรณ์
- 9) ปิดเตสสารในข้อ 8 ลงใน QIAshredder spin column ขนาด 2 มิลลิลิตร และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 13,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที
- 10) นำ QIAamp spin column ออก และเติม 70% เอทานอล 350 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากันด้วยปิเปต
- 11) ปิดเตสตัวอย่างลงใน QIAamp spin column ขนาด 2 มิลลิลิตร
- 12) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็วรอบ 8000xg เป็นเวลา 15 วินาที
- 13) นำ QIAamp spin column ใส่ในหลอดใหม่ขนาด 2 มิลลิลิตร หลอดใหม่
- 14) เติมน้ำบัฟเฟอร์ RW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็วรอบ 8000xg เป็นเวลา 15 วินาที
- 15) นำ QIAamp spin column ใส่ในหลอดใหม่ขนาด 2 มิลลิลิตร เติมน้ำบัฟเฟอร์ RPE ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็วรอบ 8000xg เป็นเวลา 15 วินาที
- 16) เติมน้ำบัฟเฟอร์ RPE ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็วรอบ 20,000xg เป็นเวลา 3 นาที
- 17) นำ QIAamp spin column ใส่ในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร หลอดใหม่ ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 1 นาที
- 18) ชะ RNA ออกจากคอลัมน์ โดยนำ QIAamp spin column ใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำ RNase free water ลงใน QIAamp membrane และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ 8000xg เป็นเวลา 1 นาที
- 19) วัดปริมาณ RNA ด้วยเครื่อง nanodrop
- 20) เก็บ RNA ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

### 3.2.4 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปในเม็ดเลือดขาวก่อนและหลังหยุดเสพเมทแอมเฟตามีน นำข้อมูล RNA sequencing มาวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

- 1) เข้าสู่โปรแกรม useGalaxy (<http://usegalaxy.org/>) ใช้คำสั่ง fastqc เพื่อตรวจสอบดูคุณภาพของข้อมูล
- 2) เลือกคำสั่ง Trimmomatic เพื่อนำ adaptor ออกจาก sequence
- 3) เลือกคำสั่ง Sailfish เพื่อระบุชนิดและนับจำนวนยีนในแต่ละตัวอย่าง
- 4) เลือกคำสั่ง DESeq2 เพื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนก่อนและหลังหยุดเสพเมทแอมเฟตามีน

**3.2.5 วิเคราะห์หน้าที่ของกลุ่มนิยแบบองค์รวมของเม็ดเลือดขาวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยเมทแอมเฟตามีน** เข้า website <http://www.webgestalt.org/> เพื่อวิเคราะห์กลุ่มนิยที่มีการเปลี่ยนแปลง (gene ontology) โดยเลือกพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้อง ตามลำดับดังนี้

- 1) Organism of interest เลือกคำสั่ง Homo sapiens
- 2) Method of interest เลือกคำสั่ง Over-Representation Analysis (ORA)
- 3) Functional Database เลือกคำสั่ง gene ontology (biological process (no redundance), molecular function (no redundance) และ cellular component (no redundance))

### 3.2.6 การคัดเลือกนิยเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้แนวโน้มการหยุดเสทเมทแอมเฟตามีน

ทำได้โดย นำนิยที่ได้จากข้อ 3.2.5 มาวิเคราะห์ด้วยแผนภาพเวน (venn diagram) และเลือกนิยที่มีการแสดงออกเด่นทุก ontology

### 3.2.7 ไพรมเมอร์ (primer)

ออกแบบไพรมเมอร์ (primer) ด้วยโปรแกรม Primer-BLAST มีรายละเอียดดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 Primer ที่ใช้ในการวิจัย

Gene	Forward primer ( 5' ---> 3' )	Reverse primer ( 5' ---> 3' )	Product Length (bp)	Annealing temperature (°C)
<i>LTF</i>	TCCTCCCAGGAACCGTACTT	CTGGCTTCCGAGTGTTGTCT	166	60
<i>BPI</i>	CCACCGGCCTTACCTTCTAC	GGGAGAGGGAAGCCTTTCTG	184	60
<i>CAMP</i>	GCTAACCTCTACCGCCTCCT	GGTCACTGTCCCCATACACC	183	60



### 3.2.8 การเตรียม cDNA

สังเคราะห์ cDNA ด้วยชุดน้ำยา RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit

- 1) เติม RNA ปริมาตร 11 ไมโครลิตร, Oligo (dT)18 primer ปริมาตร 1 ไมโครลิตร
- 2) ผสมให้เข้ากัน และปั่นเหวี่ยงให้สารละลายลงมาอยู่ที่ก้นหลอดทดลอง
- 3) บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
- 4) เตรียมน้ำยาโดยเติม 5X Reaction Buffer ปริมาตร 4 ไมโครลิตร, RiboLock RNase Inhibitor ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, dNTP Mix (ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร และ RevertAid M-MuLV RT ปริมาตร 1 ไมโครลิตร
- 5) เติมน้ำยาในหลอดข้อ 3.2.8.4 ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ในหลอดทดลองข้อ 3.2.8.3
- 6) ผสมให้เข้ากันดี บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) (GeneAmp PCR System 9700)
- 7) เก็บ cDNA ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะใช้งาน

### 3.2.9 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของยีนด้วยวิธี quantitative real-time PCR

ใช้ชุดน้ำยา Thermo Scientific test Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (2X), with separate ROX vail มีขั้นตอนดังนี้

- 1) เตรียมส่วนผสมของน้ำยาโดยเติม Maxima SYBR Green qPCR Master Mix ปริมาตร 5 ไมโครลิตร, forward Primer ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร, Reverse Primer ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร และน้ำปริมาตร 2.8 ไมโครลิตร
- 2) ปิเปิดน้ำยาในข้อที่ 3.2.9.1 ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด PCR
- 3) เติม cDNA ปริมาตร 2 ไมโครลิตร
- 4) ผสมให้เข้ากัน
- 5) นำไปใส่เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบ Real-time (qPCR) คำวนการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนตามวิธีของ Xiayu Rao คณะปี 2013

### 3.2.10 การวัดระดับ BPI ในพลาสมา

ใช้ชุดน้ำยา Human Bactericidal/Permeability Increasing Protein (BPI) ELISA Kit

## 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นอกเหนือจากการวิเคราะห์ RNA sequencing แล้ว จะทำการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังการบำบัดฟื้นฟู โดยใช้สถิติ pair t-test ในการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป graphpad prism

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเซลล์เม็ดเลือดของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน

เมทแอมเฟตามีนเป็นสารกระตุ้นกลุ่มแอมเฟตามีนที่มีผู้ใช้มากที่สุดคิดเป็น 0.7% ของประชากรโลกหรือประมาณ 33.8 ล้านคน มีอายุตั้งแต่ 15-64 ปี (28) จากข้อมูลของโรงพยาบาล วิทยาลัยการศึกษาลงพบว่า ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนที่เข้ารับการรักษาส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ย 27.862 ปี ใช้ยาครั้งละ 2.125 เม็ด มีความถี่ 3.321 ครั้งต่อสัปดาห์ (ตารางที่ 4.1)

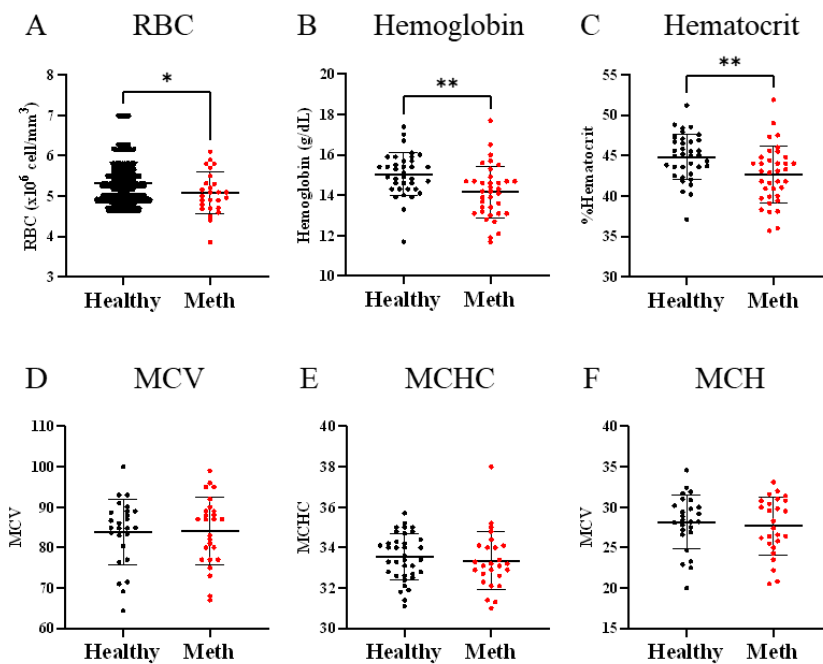
**ตารางที่ 4.1** ข้อมูลพื้นฐานของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนปี พ.ศ. 2564 และกลุ่มอาสาสมัครในงานวิจัยนี้ปี พ.ศ. 2565

List	2556 BC.	2565 BC.
Number of participants	29	7
Sex	Male (N=29)	Male (N=6), Female (N=1)
Age (year)	27.862 ± 5.416	26 ± 5.416
Weight (kg)	61.379 ± 9.756	59.28 ± 11.472
Height (cm)	NA	166 ± 8.021
BMI	NA	20 ± 2.128
Dose of methamphetamine (tablet/time)	2.125 ± 1.157 <sup>1</sup>	2.131 ± 1.011
Frequency (use/week)	3.321 ± 1.878 <sup>2</sup>	4.71 ± 2.628
Duration (year)	NA	4.71 ± 2.079

หมายเหตุ <sup>1</sup> ข้อมูลจากผู้ที่ใช้เมทแอมเฟตามีน 22 คน

<sup>2</sup> ข้อมูลจากผู้ที่ใช้เมทแอมเฟตามีน 20 คน

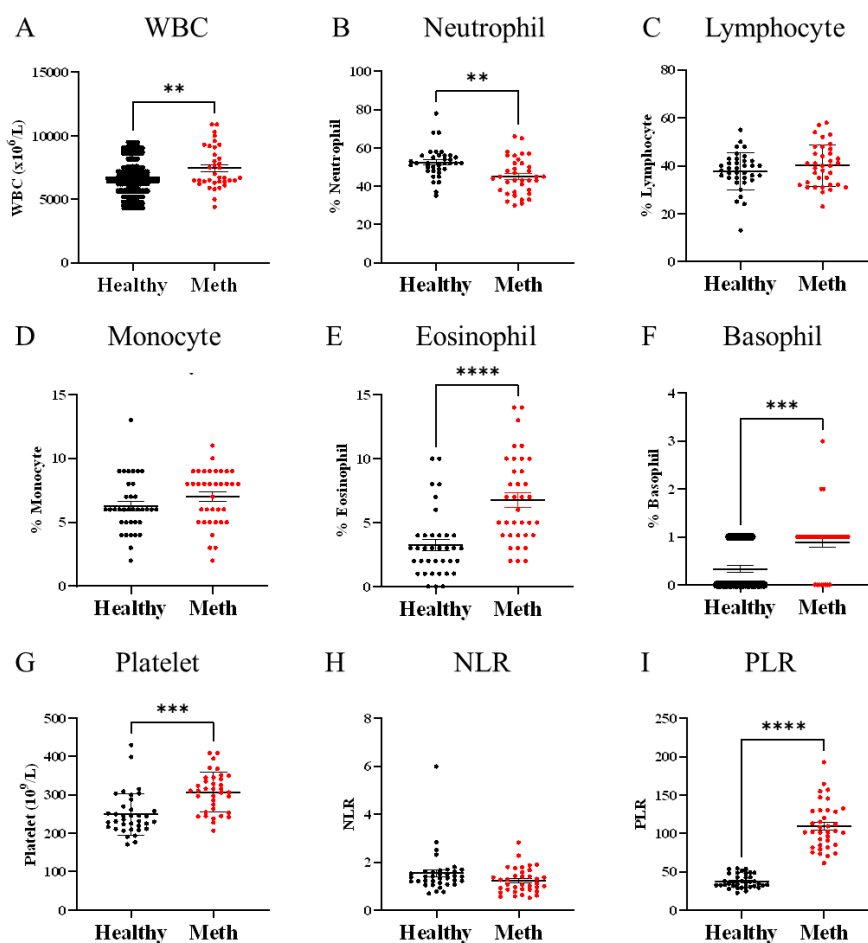
เมทแอมเฟตามีนเป็นสารออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง แต่เสพติดในรูปแบบการกิน ฉีดหรือสูดดมจะไหลเวียนผ่านกระแสเลือดก่อนไปออกฤทธิ์ที่ระบบประสาท ทำให้เมทแอมเฟตามีนสามารถส่งผลกระทบต่อเซลล์ต่าง ๆ รวมถึงเซลล์เม็ดเลือด งานวิจัยนี้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนเปรียบเทียบกับคนปกติที่มีเพศและอายุตรงกัน ดังรูป 4.1A-F 4.2A-I และตารางที่ 4.2 พบว่า ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนมีปริมาณของเม็ดเลือดแดงลดลง ปริมาณของเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น และอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ในกระแสเลือดเปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือ เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil) ลดลง ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) อีโอซิโนฟิล (eosinophil) และเบโซฟิล (basophil) เพิ่มขึ้น แต่มอนอไซต์ (monocyte) ไม่เปลี่ยนแปลงแสดงให้เห็นว่า เมทแอมเฟตามีนส่งผลกระทบต่อการสร้างเม็ดเลือดขาว



รูปที่ 4.1 เม็ดเลือดแดงและพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนเปรียบเทียบกับคนปกติ (A) ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC) (B) ฮีโมโกลบิน (C) Hematocrit (D) MCV (E) MCHC และ (F) MCH ข้อมูลจากผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลธัญญารักษ์ สงขลา และข้อมูลคนปกติที่มีเพศและอายุตรงกับผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนจากโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จำนวนอย่างละ 26 คน

ตารางที่ 4.2 ข้อมูลโลหิตวิทยาของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนเปรียบเทียบกับคนปกติปี พ.ศ. 2564-2565

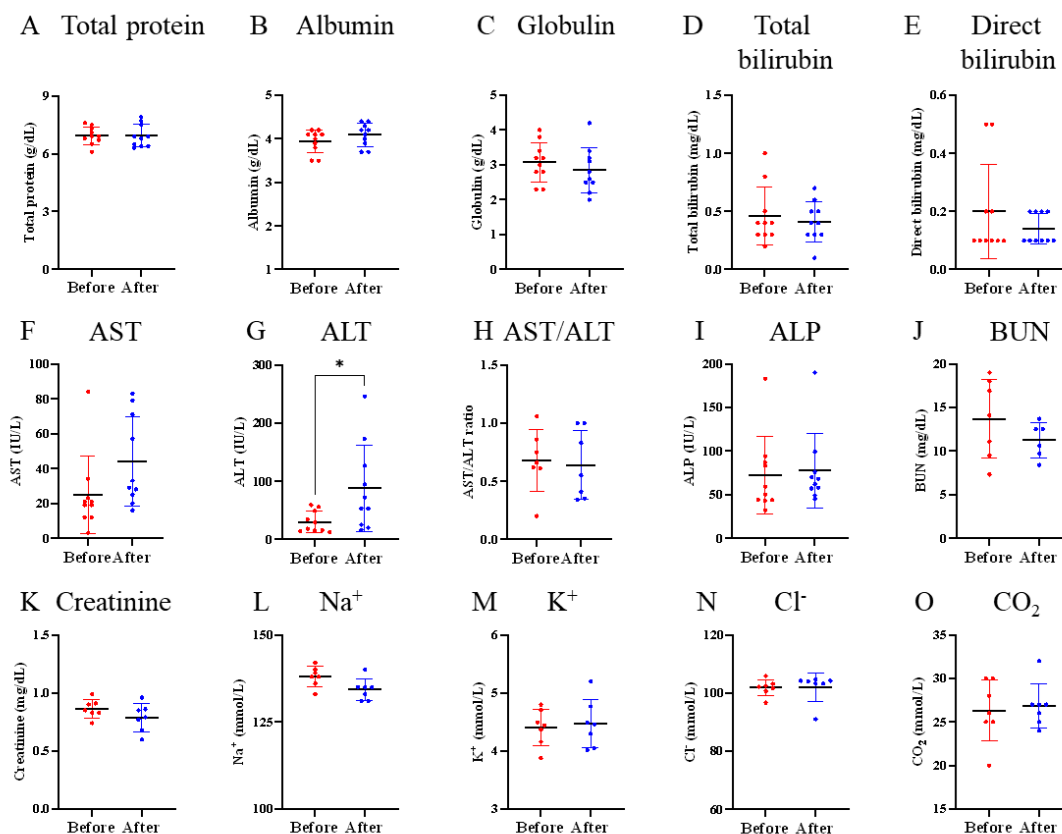
Parameter	Healthy (N=36)	Methamphetamine (N=36)	P value	Normal range
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD		
RBC ( $10^6$ cell/mm <sup>3</sup> )	5.46 $\pm$ 0.59	5.14 $\pm$ 2.11*	0.0258	4.5 - 6.5
Hemoglobin (g/dL)	14.55 $\pm$ 1.02	14.11 $\pm$ 5.10*	0.0040	13.0 - 17.0
Hematocrit (%)	43.79 $\pm$ 2.91	42.44 $\pm$ 15.25*	0.0084	40.0 - 54.0
MCV (fL)	80.75 $\pm$ 8.60	82.52 $\pm$ 33.93	0.5257	80 - 100
MCH (pg)	26.92 $\pm$ 3.34	27.51 $\pm$ 11.43	0.9675	27.0 - 32.0
MCHC (g/dl)	33.25 $\pm$ 1.38	42.92 $\pm$ 43.56	0.9139	32.0 - 36.0
Platelet ( $10^3$ /uL)	245.93 $\pm$ 36.84	310.26 $\pm$ 117.35*	0.0002	150 - 500
WBC ( $10^6$ cell/L)	8052.00 $\pm$ 2644.54	7187.10 $\pm$ 2907.11	0.8732	4000 - 10000
Neutrophil (%)	56.73 $\pm$ 9.41	44.45 $\pm$ 17.78*	<0.0001	50 - 80
Lymphocyte (%)	33.60 $\pm$ 9.93	40.74 $\pm$ 16.51*	0.0276	25 - 50
Monocyte (%)	6.33 $\pm$ 2.50	7.45 $\pm$ 3.14	0.6133	2 - 10
Eosinophil (%)	3.00 $\pm$ 2.83	6.58 $\pm$ 3.76*	<0.0001	0 - 5
Basophil (%)	0.33 $\pm$ 0.49	0.77 $\pm$ 0.53*	<0.0001	0 - 2
Neutrophil count	4669.41 $\pm$ 2059.50	3434.72 $\pm$ 1267.35	-	
Lymphocyte count	2587.50 $\pm$ 746.09	2915.97 $\pm$ 620.28	-	
N/L ratio	2.01 $\pm$ 1.30	1.23 $\pm$ 0.52*	0.0084	
P/L ratio	33.27 $\pm$ 10.23	109.93 $\pm$ 30.14*	<0.0001	



รูปที่ 4.2 เม็ดเลือดขาว เกิดเลือดและพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน เปรียบเทียบกับคนปกติ (A) ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวรวม (B) นิวโทรฟิล (C) ลิมโฟไซต์ (D) มอนอไซต์ (E) อีโอซิโนฟิล (F) เบโซฟิล (G) เกิดเลือด (H) อัตราส่วนระหว่างนิวโทรฟิลและลิมโฟไซต์ และ (I) อัตราส่วนระหว่างเกิดเลือดและลิมโฟไซต์ ข้อมูลจากผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลธัญญารักษ์สงขลา และข้อมูลคนปกติที่มีเพศและอายุตรงกับผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนจากโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จำนวนอย่างละ 36 คน

## 4.2 การเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีในเลือดของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน

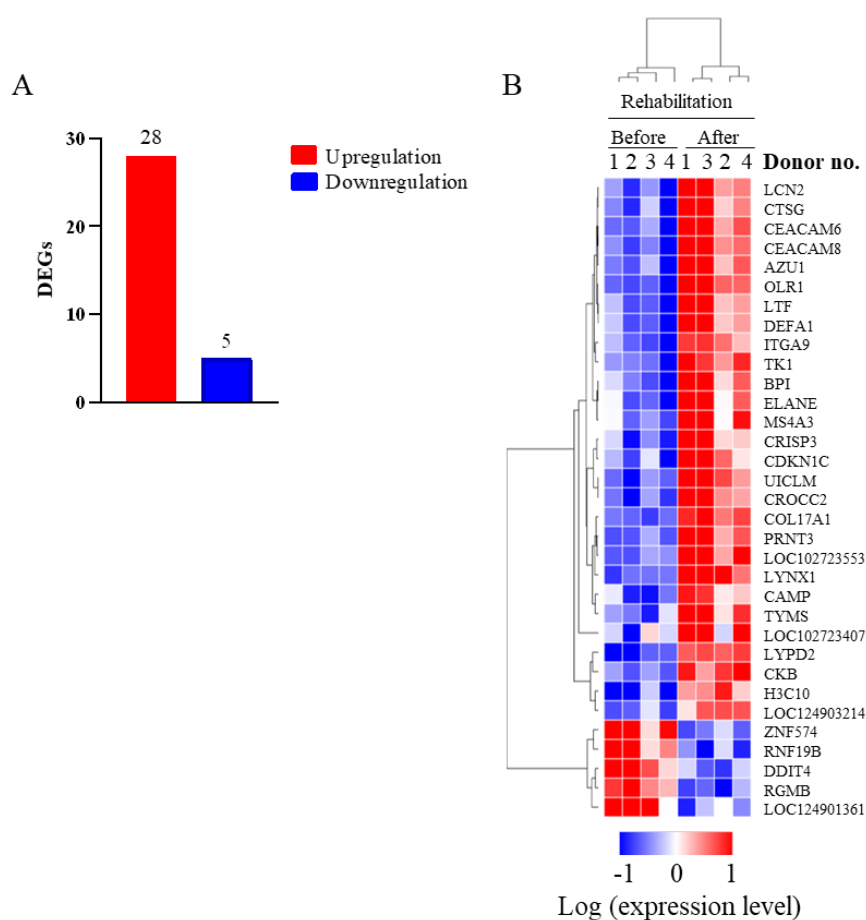
ผู้เข้ารับการบำบัดยาเสพติดหรือหยุดใช้ยาเมทแอมเฟตามีนส่งผลให้ปริมาณเมทแอมเฟตามีนในเลือดและอวัยวะต่าง ๆ ลดลงเพราะถูกเมแทบอลิซึมที่ตับและขับออกทางปัสสาวะ ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์เมื่อไม่มีเมทแอมเฟตามีน เพื่อตรวจสอบผลของการหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนต่อสารชีวเคมีในเลือด ผู้วิจัยวิเคราะห์สารชีวเคมีที่บ่งชี้ถึงหน้าที่การทำงานของตับ (รูปที่ 4.3A-I) การทำงานของไต (รูปที่ 4.3J-K) และสารอิเล็กโทรไลต์ (รูปที่ 4.3L-O) พบว่า ระดับสารชีวเคมีในเลือดส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกันระหว่างก่อนและหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน เอนไซม์อะลานีนทรานซเฟอเรส (ALT) เพิ่มขึ้นและเอนไซม์แอสปาเตสทรานอะมิเนส (AST) มีระดับเพิ่มขึ้นเล็กน้อย หลังการหยุดใช้ยา ระดับโซเดียมไอออน ( $\text{Na}^+$ ) ลดลงเล็กน้อยแต่ไม่มีนัยสำคัญ สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า เมทแอมเฟตามีนส่งผลให้ระดับ  $\text{Na}^+$  ลดลงส่งผลต่อการทำงานของเซลล์ประสาทและการแสดงของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน (29)



รูปที่ 4.3 ระดับสารชีวเคมีในเลือดก่อนและหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนเป็นระยะเวลา 20 วัน สารชีวเคมีที่บ่งชี้ถึง (A-I) หน้าที่การทำงานของตับ (J-K) ไต และ (L-O) สารอิเล็กโทรไลต์

### 4.3 การเปลี่ยนแปลงของยีนในเม็ดเลือดขาวที่ถูกกระตุ้นด้วยเมทแอมเฟตามีน

ตามที่ได้กล่าวข้างต้นว่า เมทแอมเฟตามีนไหลเวียนผ่านกระแสเลือดจึงส่งผลต่อเซลล์เม็ดเลือด ทำให้หลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนจะมีการแสดงออกของยีนแตกต่างจากขณะที่ใช้ยา เพื่อให้เข้าใจการเปลี่ยนแปลงของยีนซึ่งสามารถใช้เป็นหนึ่งในตัวบ่งชี้การหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน ผู้วิจัยสกัด RNA จากเม็ดเลือดขาวของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังเข้ารับการรักษา วิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยวิธี RNA sequencing ผลการวิเคราะห์พบว่า ยีนที่มีการแสดงออกเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (differential expressed gene, DEGs) มีทั้งหมด 33 ยีน เป็นยีนที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น 28 ยีน และยีนที่มีการแสดงออกลดลง 5 ยีน ดังรูปที่ 4.4A-B



รูปที่ 4.4 จำนวนและระดับการเปลี่ยนแปลงของยีนในเม็ดเลือดขาวของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังหยุดยา 20 วัน (A) จำนวนยีนที่เปลี่ยนแปลง แกน X แทนการเพิ่มขึ้นและการลดลงของยีน และแกน Y แทนจำนวนยีนที่เปลี่ยนแปลง (B) แผนภาพความร้อน (heatmap) แสดงระดับการเปลี่ยนแปลงของยีน

#### 4.4 ลักษณะของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อถูกกระตุ้นด้วยเมทแอมเฟตามีน

เพื่อให้เข้าใจคุณลักษณะของยีนที่แสดงออกของอาสาสมัครเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน ได้นำ DEGs มาวิเคราะห์หน้าที่การทำงานทางชีวภาพ (biological process), หน้าที่ระดับโมเลกุล (molecular biology) และตำแหน่งแสดงออกของโปรตีนของยีนนั้นภายในเซลล์ (cellular component) ด้วย gene ontology ได้ข้อมูลดังต่อไปนี้

**4.4.1 Biological process** เมื่อวิเคราะห์หน้าที่การทำงานของยีนทางด้านชีวภาพโดยคัดกรองหน้าที่ที่ซ้ำซ้อนออกด้วยอัลกอริทึม weight set cover พบยีนที่เปลี่ยนแปลงไปในอาสาสมัครเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน เกี่ยวข้องกับการทำงานของนิวโทรฟิล (neutrophil mediated immunity) ป้องกันการติดเชื้อ (defense response to other organisms) และทำลายเชื้อโรคแปลกปลอม (modification of morphology or physiology of other organisms) ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 การทำงานของยีนด้านชีวภาพที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน

Gene set	Description	FDR
GO:0002446	neutrophil mediated immunity	5.66E-13
GO:0035821	modification of morphology or physiology of other organisms	4.35E-07
GO:0098542	defense response to other organisms	2.5E-06
GO:0050900	leukocyte migration	1.38E-05

**4.4.2 Molecular biology** เมื่อศึกษาหน้าที่การทำงานของยีนในเชิงโมเลกุล จากการวิเคราะห์พบยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน (คัดกรองหน้าที่ที่ซ้ำซ้อนออก) เกี่ยวข้องกับการจับกับลิโปโพลีแซคคาไรด์ซึ่งเป็นผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (lipopolysaccharide binding) ยีนในกลุ่มนี้ ได้แก่ *LTF*, *BPI* และ *CAMP* และพบว่า ยีนที่เปลี่ยนแปลงไปมีหน้าที่เชิงโมเลกุลเป็น serine-type endopeptidase activity (blood coagulation factor activity) ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 การทำงานของยีนในเชิงโมเลกุลที่เปลี่ยนไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน

Gene set	Description	FDR
GO:0001530	lipopolysaccharide binding	0.00272
GO:0004252	serine-type endopeptidase activity	0.00272



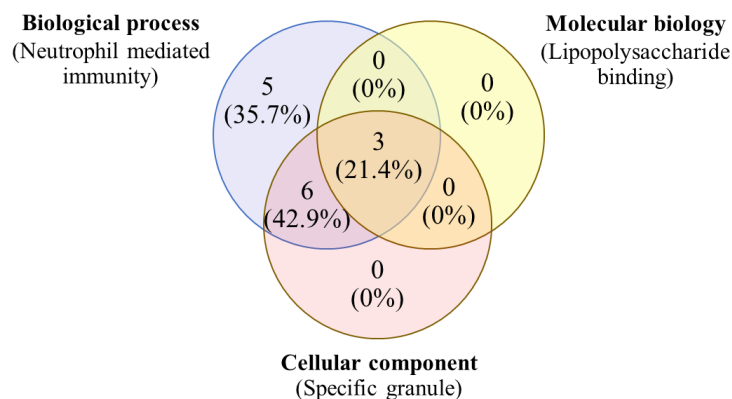
**4.4.3 Cellular component** เมื่อศึกษาตำแหน่งแสดงออกของโปรตีนของยีนนั้นภายในเซลล์พบว่า ยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน เป็นยีนที่แสดงออกในแกรนูลจำเพาะของนิวโทรฟิลตัวแก่ (specific granule) ยีนในกลุ่มนี้คือ *BPI*, *CAMP*, *CEACAM8*, *CRISP3*, *ELANE*, *LCN2*, *LTF*, *MS4A3* และ *OLR1* รวมถึงแสดงออกเป็นโปรตีนในไลโซโซม (primary lysosome) ช่วยย่อยสารต่าง ๆ เช่น ถ้าหลอมรวมกับ phagosome ช่วยย่อยสิ่งแปลกปลอมที่เซลล์จับกินด้วยกระบวนการ phagocytosis หรือย่อยองค์ประกอบของเซลล์ที่เสื่อมสภาพผ่านกระบวนการออโตฟาจี (autophagy) มีรายละเอียดเพิ่มเติมในตารางที่ 4.5

**ตารางที่ 4.5** ตำแหน่งในเซลล์ของโปรตีนจากยีนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน

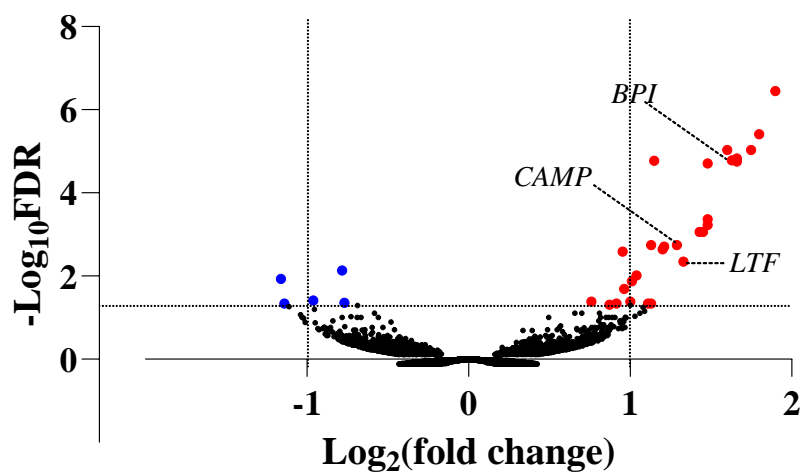
Gene set	Description	FDR
GO:0042581	specific granule	2.20E-09
GO:0005766	primary lysosome	2.57E-08
GO:0031225	anchored component of membrane	0.008536
GO:0031012	extracellular matrix	0.008536

#### 4.5 ระบุยีนเป้าหมาย (candidate gene) ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน

กลุ่มยีนที่มีนัยยะสำคัญทางสถิติสูงสุดของ biological process, molecular function และ cellular component คือ neutrophil mediated immunity, lipopolysaccharide binding และ specific granule ตามลำดับ ได้นำข้อมูลยีนใน gene ontology มาวิเคราะห์เพื่อเลือกยีนที่แสดงออกในทุกกลุ่มด้วย venn diagram ดังรูปที่ 4.5 พบทั้งหมด 3 ยีน คือ *Lactotransferrin (LTF)* เป็นโปรตีน พบได้ในน้ำนม, สารคัดหลั่งต่าง ๆ ในร่างกายทำหน้าที่เป็นด่านแรกในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย (anti-microbial peptide) นอกจากนี้ยังพบใน specific granule ของนิวโทรฟิล (30-32), *Bactericidal permeability increasing protein (BPI)* สร้างจากนิวโทรฟิล ทำหน้าที่จับกับลิโปโพลีแซคคาไรด์เพื่อลดการตอบสนองมากเกินไปของร่างกายต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (33) และ *Cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP)* เป็นโปรตีนประจวบทุกทำหน้าที่เป็นส่วนหนึ่งของภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด ช่วยยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อราและไวรัสที่มีเปลือกหุ้ม (envelop virus) (34) ประกอบกับระดับการแสดงออกของยีนทั้ง 3 นี้ มีความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนมากกว่า 1 เท่า ( $\text{Log}_2(\text{fold change}) > 1$ ) ดังรูปที่ 4.6 จึงเป็นยีนที่น่าจะมีความสัมพันธ์ต่อภาวะการหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน ดังนั้นจึงเลือกยีน *LTF*, *BPI* และ *CAMP* เป็นยีนเป้าหมายในการยืนยันการแสดงออกของยีนด้วยวิธี qPCR



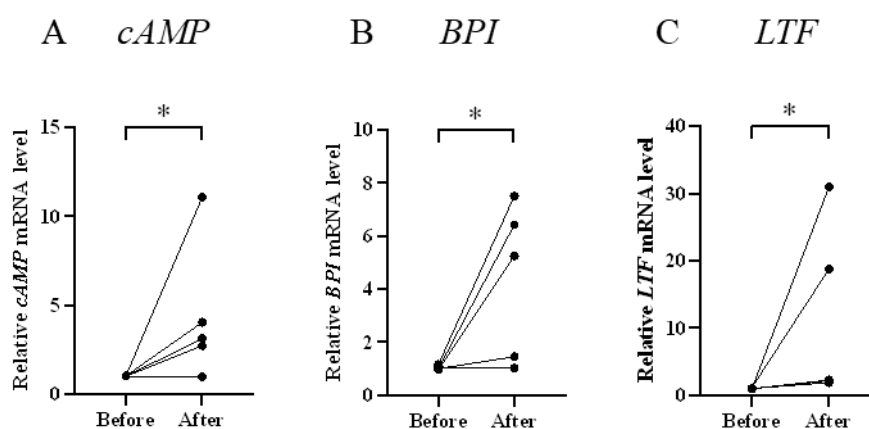
รูปที่ 4.5 แผนภาพ venn แสดงจำนวนยีนที่ปรากฏร่วมกันหรือแยกกันในคุณลักษณะเด่นของแต่ละ gene ontology เลือกยีนที่แสดงออกเป็นอันดับแรกของแต่ละด้านของ gene ontology คือ biological process, molecular biology, และ cellular component มาวิเคราะห์ยีนที่ปรากฏในทุกกลุ่มด้วยแผนภาพ venn



รูปที่ 4.6 แผนภาพภูเขาไฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่านัยยะสำคัญและจำนวนเท่าของการเปลี่ยนแปลง (แกน X) แสดงค่าลอการิทึมของจำนวนเท่าของการแสดงออกของยีน แกน Y แสดงลอการิทึมของค่านัยสำคัญทางสถิติ (Log false discovery rate (FDR))

#### 4.6 ยืนยันการเปลี่ยนแปลงยีนและโปรตีนเป้าหมายเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนด้วยวิธี qPCR

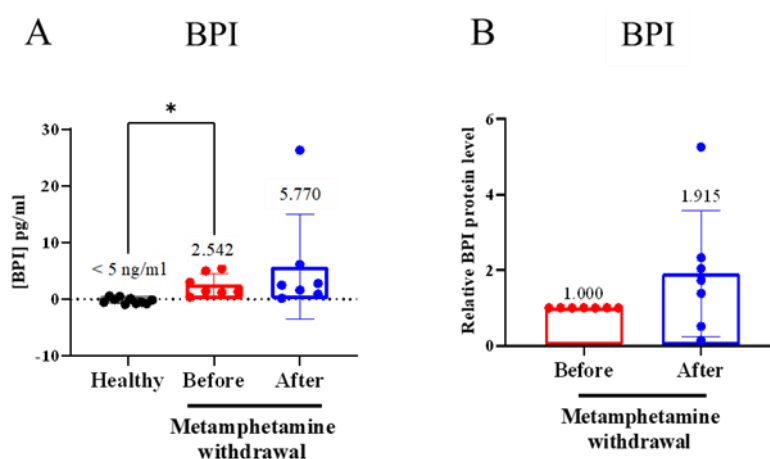
ผู้วิจัยตรวจสอบการแสดงออกของยีน *LTF*, *BPI* และ *CAMP* ในเม็ดเลือดขาวของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังหยุดใช้ยาด้วยวิธี qPCR พบว่า ยีนทั้งสามนี้มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน (รูปที่ 4.7A-C) แสดงให้เห็นว่า การหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนช่วยให้การทำหน้าที่ของนิวโทรฟิลดีขึ้นหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การใช้เมทแอมเฟตามีนส่งผลให้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อของนิวโทรฟิลต่ำลง มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อต่าง ๆ ได้ง่าย



รูปที่ 4.7 การแสดงออกของยีนเป้าหมายเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน เก็บ RNA จากเลือดครบส่วนของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังเข้ารับการบำบัดมาวิเคราะห์การแสดงออกของยีน (A) *BPI*, (B) *LTF* และ (C) *CAMP* ด้วยวิธี qPCR และวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี pair t-test เครื่องหมาย \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่  $p < 0.05$

#### 4.7 การแสดงออกของโปรตีน BPI เมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน

เพื่อยืนยันการทำหน้าที่ของยีน BPI ผู้วิจัยตรวจวัดการแสดงออกในระดับโปรตีนในพลาสมาของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังหยุดใช้ยาพบว่า BPI มีแนวโน้มแสดงออกเพิ่มขึ้นหลังหยุดใช้ยา (รูปที่ 4.8A) โดยมีการแสดงออกเพิ่มขึ้น 1.915 เท่า จากก่อนหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน (รูปที่ 4.8B) จากอาสาสมัครทั้งหมด 7 คน จำนวน 5 ใน 7 คน (คิดเป็นร้อยละ 71.43) มีการแสดงออกของโปรตีน BPI มากขึ้น 2 ใน 7 คน (คิดเป็นร้อยละ 28.57) มีการแสดงออกลดลง ซึ่งข้อมูลของอาสาสมัครในตารางที่ 4.1 ไม่สามารถอธิบายสาเหตุของการแสดงออกที่น้อยลงนี้ได้ จึงอาจมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อระดับโปรตีนนี้



รูปที่ 4.8 การแสดงออกของโปรตีน BPI ในพลาสมาเมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน เก็บพลาสมาจากเลือดผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังการหยุดใช้ยามาตรวจวัดการแสดงออกของโปรตีน BPI ด้วยวิธี ELISA วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี pair t-test เครื่องหมาย \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่  $p < 0.05$

## บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย

เมทแอมเฟตามีนเป็นสารกระตุ้นกลุ่มแอมเฟตามีนที่มีผู้ใช้มากที่สุดประมาณ 33.8 ล้านคน หรือร้อยละ 0.7% ของประชากรโลก ผู้เสพยาอายุตั้งแต่ 15-64 ปี (28) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จากข้อมูลของโรงพยาบาลรัฐอาร์คันซอพบว่า ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนที่เข้ารับการรักษาส่วนใหญ่ เป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ย 28 ปี ใช้ยาครั้งละ 2 เม็ด มีความถี่ 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เมทแอมเฟตามีนเป็น สารออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง แต่เสพได้ในรูปแบบการกิน ฉีดหรือสูดดมจะไหลเวียนผ่าน กระแสเลือดก่อนไปออกฤทธิ์ที่ระบบประสาท ทำให้เมทแอมเฟตามีนสามารถส่งผลกระทบต่อเซลล์ต่าง ๆ รวมถึงเซลล์เม็ดเลือด เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน เปรียบเทียบกับคนปกติที่มีเพศและอายุตรงกันพบว่า ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนมีปริมาณของเม็ดเลือดแดง ระดับฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริตลดลง บ่งชี้ภาวะโลหิตจางสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (35, 36) สาเหตุหนึ่งคือเมทแอมเฟตามีนส่งผลให้เยื่อบุลำไส้ถูกทำลาย มีโปรตีนไทท์จังก์ชัน (tight junction) ZO-1 และ EpCAM ที่ลำไส้เล็กลดลง เกิดการรั่วของจุลชีพที่ลำไส้เข้าสู่เนื้อเยื่อ (gut leakage) มีการอักเสบและทำลายเนื้อเยื่อดังจะเห็นได้จาก การพบโปรตีน Fatty acid binding protein 1 (FABP-1) จากวิลไลของเยื่อบุลำไส้เล็กในกระแสเลือดมากขึ้น (37) พบไซโตไคน์ IL-6 ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ในเลือดมากกว่าคนปกติ (35) ทำให้ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนเกิดโรคจิตจางจากภาวะอักเสบเรื้อรัง (35) ร่วมกับการขาดวิตามิน B12 ที่มักพบในคนกลุ่มนี้ (38, 39)

ผู้เสพยาเมทแอมเฟตามีนมีเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นกว่าคนปกติเช่นเดียวกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ (35, 36, 40, 41) และในหนู (rat) ทดลองที่ได้รับแอมเฟตามีนก็พบปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น (42) แอมเฟตามีนมีผลต่อการสร้างเม็ดเลือดผ่าน hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) เพราะแอมเฟตามีน/เมทแอมเฟตามีนส่งผลต่อระบบประสาทและฮอร์โมนแคทีโคลามีน (catecholamine) ได้แก่ โดพามีน (dopamine) เอพิเนฟริน (epinephrine) และนอร์เอพิเนฟริน (norepinephrine) ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดเลือด (10) แต่ยาเสพติดประเภทอื่นเช่น โคเค อีน ออกฤทธิ์ผ่าน HPA แต่มีฤทธิ์กดระบบประสาทส่วนกลางยับยั้งการสร้างเม็ดเลือดขาว (43, 44) catecholamine เร่งการปล่อยนิวโทรฟิล อีโอซิโนฟิลและเบโซฟิลออกสู่กระแสเลือด ยับยั้งการตาย ของเซลล์และลดการเข้าสู่เนื้อเยื่อ (45) แต่งานวิจัยนี้พบว่า นิวโทรฟิลลดลง อีโอซิโนฟิลและเบโซฟิล สูงขึ้น เมื่อพิจารณาค่า NLR ที่บ่งชี้การอักเสบแบบทั่วร่างกายแบบไม่จำเพาะ พบว่า NLR มีค่าลดลง เล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ แต่ PLR เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด PLR บ่งชี้การอักเสบจาก โรคภูมิคุ้มกันทำลายเนื้อเยื่อตนเองและโรคที่เกี่ยวข้องกับเกล็ดเลือดเช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว เป็นต้น (46) การเพิ่มขึ้นของค่า PLR สอดคล้องกับข้อมูลที่ว่า เมทแอมเฟตามีนทำให้เกิดการอักเสบ และอนุมูลอิสระซึ่งจะทำลายผนังหลอดเลือดทำให้เกิดความผิดปกติของหลอดเลือดตามมา (47) อย่างไรก็ตามค่า NLR และ PLR อาจไม่ใช่ตัวบ่งชี้ที่ดีที่สุดสำหรับบ่งบอกความรุนแรงหรือพยาธิสภาพของ ร่างกายจากการเสพยาเมทแอมเฟตามีนเพราะค่าไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันทุกงานวิจัยตามที่มียารายงาน ว่าขึ้นอยู่กับปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ใช้ในแต่ละวันหรืออาการทางประสาทของผู้ใช้ (48-51) ไซโต

โคห์นที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบสามารถสร้างได้จากแมโครฟาจที่สมอง (microglia) ระบบประสาทส่วนกลางและเนื้อเยื่ออื่น ๆ (52) ที่ไม่ได้นำมาพิจารณาด้วยในงานวิจัยนี้

เมทแอมเฟตามีนนอกเหนือจากมีผลต่อจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวแล้ว ยังมีผลต่อการทำงานของเซลล์ด้วยดังพบว่า เมื่อฉีดเมทแอมเฟตามีนในหนูทดลองจะเพิ่มการทำงานของ NK cell ภายใน 6 ชั่วโมง (53) นอกจากนี้เม็ดเลือดขาวมีการแสดงออกของตัวรับโดปามีนเช่น mast cell (เจริญพัฒนาจากเบโซฟิล) มีตัวรับชนิด D1-like และ D2-like (54, 55) D1-like receptor กระตุ้น degranulation ใน mast cell แต่ D3-receptor (ในกลุ่มของ D2-like receptor) ยับยั้งการสร้างไซโตไคน์ TNF $\alpha$ , IL-6, IL-4, IL-13 และ CCL5 ในหนูทดลอง (56) ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่า NLR ไม่แตกต่างกันระหว่างผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนและกลุ่มคนปกติ นิวโทรฟิลและอีโอซิโนฟิลตอบสนองต่อโดปามีนโดยไม่ผ่านตัวรับโดปามีนเช่น ถ้าระดับโดปามีนสูงจะมีปริมาณอีโอซิโนฟิลต่ำ แต่ถ้าระดับโดปามีนต่ำจะมีปริมาณอีโอซิโนฟิลสูง เป็นต้น (55)

เมทแอมเฟตามีนส่งผลต่อการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ (37) เช่น ไต เมื่อให้เมทแอมเฟตามีนในหนูทดลองพบระดับ creatinine เพิ่มขึ้น กลีโธแร่ โพแทสเซียม แคลเซียมและฟอสฟอรัสลดลง (57) หนูทดลองที่ได้รับเมทแอมเฟตามีนปริมาณต่าง ๆ กัน มีอุณหภูมิของร่างกายเพิ่มขึ้นตามปริมาณเมทแอมเฟตามีน อุณหภูมิเพิ่มขึ้นนี้มีผลไปทำลายเนื้อเยื่อตับและทำให้มีระดับเอนไซม์ AST และ ALT สูงขึ้นยาวนานถึง 24 ชั่วโมงหลังได้รับเมทแอมเฟตามีน (58) นอกเหนือจากนี้พบ ALP, bilirubin, cholesterol, LDL และ triglyceride สูงขึ้น แต่ total protein, albumin, globulin, albumin/globulin ลดลง ใน 7 วันหลังจากได้รับเมทแอมเฟตามีน (59) เช่นเดียวกับในคนพบ ALT, AST, ALP และ creatinine สูงขึ้นในเลือด (36) เมื่อหยุดใช้สารเสพติดพบการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในเลือด คนที่หยุดใช้ฝิ่นเป็นระยะเวลา 3 เดือนพบระดับ Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, uric, BUN, creatinine และ triglyceride เพิ่มขึ้น สารชีวเคมีหลายชนิดเช่น กลูโคส, Na<sup>+</sup> และ triglyceride ยังไม่กลับเข้าสู่ระดับปกติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (คนปกติ) (60) แสดงให้เห็นว่า ฝิ่นส่งผลต่อระดับสารชีวโมเลกุลในเลือดเป็นระยะเวลายาวนานกว่าการตรวจพบในสารเมแทบอลิต์ในปัสสาวะ งานวิจัยนี้เปรียบเทียบสารชีวเคมีในเลือดก่อนและหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนเป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า เฉพาะ ALT เพิ่มขึ้น 2.9 เท่าหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน แสดงให้เห็นว่า ยังคงมีการบาดเจ็บที่ตับ (liver injury) และต้องใช้เวลาในการฟื้นตัว อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ไม่ได้เก็บข้อมูลของคนปกติและไม่ได้ติดตามข้อมูลของคนหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนนานกว่านี้จึงยากที่จะกล่าวได้ว่า การหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนเป็นระยะเวลาเท่าใดจะทำให้สารชีวเคมีในเลือดกลับสู่ภาวะปกติ

ตามที่กล่าวไปข้างต้นว่า การใช้เมทแอมเฟตามีนเป็นระยะเวลาหนึ่งร่างกายจะเกิดการคุ้นชินเมื่อหยุดใช้ทันทีร่างกายจึงต้องปรับตัวหมายรวมถึงเซลล์ที่ได้รับผลจากเมทแอมเฟตามีนด้วย งานวิจัยที่ผ่านมาบ่งชี้ว่า เมทแอมเฟตามีนส่งผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของเม็ดเลือดขาว ซึ่งมักเป็นการศึกษาผลของเมทแอมเฟตามีนต่อเม็ดเลือดขาวจำเพาะประเภท (52, 61) งานวิจัยนี้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวทั้งหมดของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนก่อนและหลังหยุดใช้ (เข้ารับการรักษา) โดยคุณลักษณะของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปจำแนกตาม biological process,

molecular biology, cellular component คือ leucocyte degranulation, lipopolysaccharide binding, secretory granule เป็นอันดับแรกของแต่ละการจำแนกตามลำดับ เป็นการยืนยันว่า การใช้เมทแอมเฟตามีนส่งผลกระทบต่อการทำงานของเม็ดเลือดขาวและระบบภูมิคุ้มกันเช่นเดียวกับงานวิจัยก่อนหน้า ผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนมีระดับของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเพิ่มขึ้นในกระแสเลือด กลไกการกระตุ้นการอักเสบส่วนหนึ่งมาจากการกระตุ้นผ่าน Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor ( $\alpha 7$  nAChR) ของวิถีสัญญาณ cholinergic (62) เมื่อแยก astrocyte จากสมองหนูที่ได้รับเมทแอมเฟตามีนมากระตุ้นด้วย LPS เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม พบว่า astrocyte จากหนูที่ได้รับเมทแอมเฟตามีนสร้าง IL-1b และ IL-18 มากกว่าผ่านวิถีสัญญาณ NF-kb และ caspase-11 (63)

*BPI*, *CAMP* และ *LTF* เป็นยีนเป้าหมายในการวิจัยนี้ ยีนเหล่านี้ปรากฏในทุก gene ontology และมีความแตกต่างในการแสดงออกของยีนชัดเจน เมื่อยืนยันการแสดงออกของยีนด้วย qPCR พบทั้ง 3 ยีนมีการแสดงออกเพิ่มขึ้น โปรตีนเหล่านี้เป็น anti-microbial peptide แสดงออกเป็นหลักในนิวโทรฟิล (34, 64, 65) มีการแสดงออกบ้างในเซลล์ชนิดอื่น เช่น *CAMP* พบมากในนิวโทรฟิลและแมโครฟาจ รวมถึง B cell, T cell, natural killer cell และมอนอไซต์ (34) ด้วยนิวโทรฟิลมีปริมาณลดลงในผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนและมีปริมาณไม่แตกต่างกันก่อนและหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนเป็นระยะเวลา 20 วัน กล่าวได้ว่า เมทแอมเฟตามีนยับยั้งการแสดงออกของยีน *BPI*, *CAMP* และ *LTF* การหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนเพิ่มการทำงานของนิวโทรฟิล

*BPI* พบใน azurophil granule ของนิวโทรฟิล ทำหน้าที่กำจัดแบคทีเรียแกรมลบโดยเพิ่มการซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ (66) ช่วยในการจับกินแบคทีเรียเช่น *Escherichia coli* ของนิวโทรฟิลผ่านกระบวนการ opsonization โดยทำให้ C3b/iC3b จับบนเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น (67) และลดการอักเสบโดยจับกับ LPS เพื่อลดการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (67) ในงานวิจัยนี้พบ *BPI* ในพลาสมาของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนมากกว่าคนปกติ เมื่อหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน *BPI* ก็มีปริมาณเพิ่มขึ้นในอาสาสมัคร 5 ใน 7 คน กลไกการหลั่ง *BPI* ออกนอกเซลล์ไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบ *BPI* ในเลือดเพิ่มขึ้นในกรณีติดเชื้อในกระแสเลือด, ติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* การควบคุมการแสดงออกของยีน *BPI* มีลักษณะเฉพาะในแต่ละเซลล์ ตามที่กล่าวไปข้างต้นเมทแอมเฟตามีนทำให้ gut leakage เกิดการอักเสบที่ลำไส้เล็ก แต่ไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ลดการแสดงออกของโปรตีน *BPI* ที่ลำไส้เล็กแต่เพิ่มการแสดงออกของ *BPI* จากนิวโทรฟิล (68, 69) เมทแอมเฟตามีนทำให้มีการบาดเจ็บที่ตับ มีรายงานในผู้ป่วยโรคตับแข็งมีระดับ *BPI* สูงขึ้น เพื่อลดการอักเสบจากการติดเชื้อที่ช่องท้องที่พบได้บ่อยในโรคนี้ (70-72)

กล่าวโดยสรุปการใช้เมทแอมเฟตามีนทำให้การสร้างเม็ดเลือดแดงลดลง สร้างเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวมากขึ้น จำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาวที่เปลี่ยนแปลงไปคือ มีนิวโทรฟิลลดลง แต่อีโอซิโนฟิลและเบโซฟิลสูงขึ้นเมื่อเทียบกับคนปกติ เมทแอมเฟตามีนมีผลต่อดับ แม้จะหยุดใช้เป็นระยะเวลา 20 วันก็ยังตรวจพบ ALT สูง การหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนส่งผลต่อการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะนิวโทรฟิล โดยผู้วิจัยคัดกรองยีนที่เปลี่ยนแปลงไปและยืนยันการแสดงออกของยีน *BPI*,

*CAMP* และ *LTF* ด้วย qPCR พบทั้ง 3 ยีนเพิ่มขึ้นหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีน ระดับโปรตีน BPI ในผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนสูงกว่าคนปกติและสูงขึ้นในคนที่หยุดใช้เมทแอมเฟตามีน แต่การจะใช้โปรตีน BPI เป็นตัวบ่งชี้การหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนยังมีข้อควรพิจารณาเพราะอายุ (73) การใช้ยาแอสไพริน, ปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ใช้และปัจจัยพื้นฐานของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนมีผลต่อระดับ BPI จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรขนาดใหญ่เพื่อยืนยันการผลวิจัยในให้แม่นยำมากยิ่งขึ้น



## บทที่ 6

### สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ใช้ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนเปรียบเทียบกับคนปกติพบว่า การสร้างเม็ดเลือดแดงลดลง สร้างเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวมากขึ้น จำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาวที่เปลี่ยนแปลงไปคือ มีนิวโทรฟิลลดลง แต่อีโอซิโนฟิลและเบโซฟิลสูงขึ้นเมื่อเทียบกับคนปกติ จากนั้นเปรียบเทียบข้อมูลทางโลหิตวิทยาและชีวเคมีของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีน ก่อนและหลังหยุดใช้เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดไม่แตกต่างกัน สารชีวเคมีได้แก่ total protein, albumin, globulin, albumin/globulin, AST, ALP, BUN, creatinine, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, CO<sub>2</sub> ไม่แตกต่างกัน แต่พบ ALT สูงขึ้นหลังหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนแสดงให้เห็นถึงความผิดปกติของการทำงานของตับ เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนในเม็ดเลือดขาวด้วยเทคนิค RNA sequencing พบว่า ยีนที่เปลี่ยนแปลงไปได้พบหลังจากเข้ารับการบำบัด มีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นจำนวน 28 ยีน และน้อยลงจำนวน 5 ยีน คุณลักษณะของยีนที่เปลี่ยนแปลงไปจำแนกตามข้อมูลของ gene ontology พบว่า ยีนทำหน้าที่ทางชีวภาพเกี่ยวกับ leucocyte degranulation มีหน้าที่ทางโมเลกุลคือ lipopolysaccharide binding พบได้ใน secretory granule ยีนที่เปลี่ยนแปลงไปและมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 การจำแนกนี้คือ *LTF*, *BPI* และ *CAMP* ซึ่งมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นทั้ง 3 ยีนเมื่อยืนยันการแสดงออกของยีนด้วยวิธี qPCR ในทั้ง 3 ยีนนี้ BPI เป็นโปรตีนที่มีรายงานว่าจะสามารถจับกับ LPS จึงเลือกมาตรวจยืนยันระดับโปรตีนในพลาสมาด้วยวิธี ELISA พบว่า ระดับโปรตีน BPI ในผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนสูงกว่าคนปกติและสูงขึ้นในคนที่หยุดใช้เมทแอมเฟตามีน โปรตีน BPI สามารถใช้จำแนกคนที่ใช้เมทแอมเฟตามีนออกจากคนที่ไม่ใช่ได้อย่างชัดเจน แต่การจะใช้โปรตีน BPI เป็นตัวบ่งชี้การหยุดใช้เมทแอมเฟตามีนยังมีข้อควรพิจารณาปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เพราะปริมาณเมทแอมเฟตามีนที่ใช้และปัจจัยพื้นฐานของผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนมีผลต่อระดับ BPI จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรขนาดใหญ่เพื่อยืนยันการผลวิจัย ศึกษาข้อจำกัดในการใช้ BPI เป็นตัวบ่งชี้ รวมถึงเกณฑ์ตัดสินผลบวก (cut-off) เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการจำแนกผู้ใช้เมทแอมเฟตามีนออกจากผู้หยุดใช้ได้

### เอกสารอ้างอิง

1. Crime UNOoDa. Analysis. World drug report. 2007;1.
2. DiMiceli LE, Sherman SG, Aramrattana A, Sirirojn B, Celentano DD. Methamphetamine use is associated with high levels of depressive symptoms in adolescents and young adults in Rural Chiang Mai Province, Thailand. *BMC Public Health*. 2016;16:168.
3. Prakash MD, Tangalakis K, Antonipillai J, Stojanovska L, Nurgali K, Apostolopoulos V. Methamphetamine: Effects on the brain, gut and immune system. *Pharmacological research*. 2017;120:60-7.
4. Jumlongkul A. A review of forensic medicine. *Chulalongkorn Medical Journal*. 2016;60(4):399-412.
5. Cruickshank CC, Dyer KR. A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. *Addiction*. 2009;104(7):1085-99.
6. Kevil CG, Goeders NE, Woolard MD, Bhuiyan MS, Dominic P, Kolluru GK, et al. Methamphetamine Use and Cardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(9):1739-46.
7. Cho AK, Melega WP. Patterns of methamphetamine abuse and their consequences. *Journal of addictive diseases*. 2002;21(1):21-34.
8. Li MD, Wang J, Niu T, Ma JZ, Seneviratne C, Ait-Daoud N, et al. Transcriptome profiling and pathway analysis of genes expressed differentially in participants with or without a positive response to topiramate treatment for methamphetamine addiction. *BMC Medical Genomics*. 2014;7(1):65.
9. Badisa RB, Wiley C, Randell K, Darling-Reed SF, Latinwo LM, Agharahimi M, et al. Identification of cytotoxic markers in methamphetamine treated rat C6 astroglia-like cells. *Scientific Reports*. 2019;9(1):9412.
10. Richards JR, Farias VF, Clingan CS. Association of Leukocytosis with Amphetamine and Cocaine Use. *The Scientific World Journal*. 2014;2014:207651.
11. Saito M, Yamaguchi T, Kawata T, Ito H, Kanai T, Terada M, et al. Effects of methamphetamine on cortisone concentration, NK cell activity and mitogen response of T-lymphocytes in female cynomolgus monkeys. *Experimental animals*. 2006;55(5):477-81.
12. Glac W, Dunacka J, Grembecka B, Świątek G, Majkutewicz I, Wrona D. Prolonged Peripheral Immunosuppressive Responses as Consequences of Random Amphetamine Treatment, Amphetamine Withdrawal and Subsequent Amphetamine Challenges in Rats. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2021.

13. Glac W, Borman A, Badtke P, Stojek W, Orlikowska A, Tokarski J. AMPHETAMINE ENHANCES NATURAL KILLER CYTOTOXIC. *Journal of physiology and pharmacology*. 2006;57(11):125-32.
14. Liu X, Silverstein PS, Singh V, Shah A, Qureshi N, Kumar A. Methamphetamine Increases LPS-Mediated Expression of IL-8, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in Human Macrophages through Common Signaling Pathways. *PLOS ONE*. 2012;7(3):e33822.
15. Halpern JH, Sholar MB, Glowacki J, Mello NK, Mendelson JH, Siegel AJ. Diminished interleukin-6 response to proinflammatory challenge in men and women after intravenous cocaine administration. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(3):1188-93.
16. Alharbi RS, Alhowail AH, Alharbi AG, Emara AM. Evaluation of the health status outcome among inpatients treated for Amphetamine Addiction. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021.
17. Geyer PE, Holdt LM, Teupser D, Mann M. Revisiting biomarker discovery by plasma proteomics. *Mol Syst Biol*. 2017;13(9):942.
18. Gilboa T, Garden PM, Cohen L. Single-molecule analysis of nucleic acid biomarkers - A review. *Anal Chim Acta*. 2020;1115:61-85.
19. Hong M, Tao S, Zhang L, Diao LT, Huang X, Huang S, et al. RNA sequencing: new technologies and applications in cancer research. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):166.
20. Lin M, Xu J, Liu X, Dai Z, Liu Z, Zhao X, et al. Metabolomics profiling of methamphetamine addicted human serum and three rat brain areas. *RSC Advances*. 2019;9(70):41107-19.
21. Bade R, Ghetia M, Chappell A, White JM, Gerber C. Pholedrine is a marker of direct disposal of methamphetamine. *Science of The Total Environment*. 2021;782:146839.
22. Gu W-J, Zhang C, Zhong Y, Luo J, Zhang C-Y, Zhang C, Wang C. Altered serum microRNA expression profile in subjects with heroin and methamphetamine use disorder. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;125:109918.
23. Fu X, Shah AP, Keighron J, Mou T-CM, Ladenheim B, Alt J, et al. Elevated body fat increases amphetamine accumulation in brain: evidence from genetic and diet-induced forms of adiposity. *Translational Psychiatry*. 2021;11(1):427.
24. Kukurba KR, Montgomery SB. RNA Sequencing and Analysis. *Cold Spring Harb Protoc*. 2015;2015(11):951-69.

25. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*. 1995;270(5235):467-70.
26. Casneuf T, Van de Peer Y, Huber W. In situ analysis of cross-hybridisation on microarrays and the inference of expression correlation. *BMC Bioinformatics*. 2007;8:461.
27. Shendure J. The beginning of the end for microarrays? *Nat Methods*. 2008;5(7):585-7.
28. Courtney KE, Ray LA. Methamphetamine: an update on epidemiology, pharmacology, clinical phenomenology, and treatment literature. *Drug Alcohol Depend*. 2014;143:11-21.
29. T. Abood M, A. Almashhedy L. Elevated of Calcium and Sodium Levels as a Result of Methamphetamine Addiction, Causes and Consequence. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2020;928(5):052004.
30. Okubo K, Kamiya M, Urano Y, Nishi H, Herter JM, Mayadas T, et al. Lactoferrin Suppresses Neutrophil Extracellular Traps Release in Inflammation. *eBioMedicine*. 2016;10:204-15.
31. Zhao X, Ting S-M, Sun G, Roy-O'Reilly M, Mobley AS, Garrido JB, et al. Beneficial Role of Neutrophils Through Function of Lactoferrin After Intracerebral Hemorrhage. *Stroke*. 2018;49(5):1241-7.
32. Okubo K, Kamiya M, Urano Y, Nishi H, Herter JM, Mayadas T, et al. Lactoferrin Suppresses Neutrophil Extracellular Traps Release in Inflammation. *EBioMedicine*. 2016;10:204-15.
33. Bülow S, Zeller L, Werner M, Toelge M, Holzinger J, Entzian C, et al. Bactericidal/Permeability-Increasing Protein Is an Enhancer of Bacterial Lipoprotein Recognition. *Frontiers in Immunology*. 2018;9.
34. Kościuczuk EM, Lisowski P, Jarczak J, Strzałkowska N, Jóźwik A, Horbańczuk J, et al. Cathelicidins: family of antimicrobial peptides. A review. *Mol Biol Rep*. 2012;39(12):10957-70.
35. Chaidee N, Kraiwattanapirom N, Pannengpetch S, Nopparat C, Govitrapong P, Siripornpanich V, et al. Cognitive impairment and changes of red blood cell components and serum levels of IL-6, IL-18, and L-tryptophan in methamphetamine abusers. *Am J Neurodegener Dis*. 2023;12(1):1-15.
36. Tavasolian F, Abdollahi E, Samadi M, Vakili M. Analysis of Hematological and Biochemical Parameters in Methamphetamine Addicts Compared with Healthy Individuals. *mljgoums*. 2015;9(4):38-42.

37. Davidson M, Mayer M, Habib A, Rashidi N, Filippone RT, Fraser S, et al. Methamphetamine Induces Systemic Inflammation and Anxiety: The Role of the Gut-Immune-Brain Axis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19).
38. Zhai C, Cui M, Cheng X, Ao X, Zhao T, Wu W, et al. Vitamin B12 Levels in Methamphetamine Addicts. *Front Behav Neurosci.* 2018;12:320.
39. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. *Blood.* 2019;133(1):40-50.
40. Goldberg LH. Amphetamines and leukocytosis: A possible association. *Postgraduate Medicine.* 1983;73(2):113-23.
41. Goldberg LH. Amphetamines and leukocytosis. A possible association. *Postgrad Med.* 1983;73(2):113-5, 8-20, 23.
42. Llorente-García E, Abreu-González P, González-Hernández MC. Hematological, immunological and neurochemical effects of chronic amphetamine treatment in male rats. *Journal of physiology and biochemistry.* 2009;65(1):61-9.
43. Pellegrino TC, Dunn KL, Bayer BM. Mechanisms of cocaine-induced decreases in immune cell function. *International immunopharmacology.* 2001;1(4):665-75.
44. Sharkey J, Ritz MC, Schenden JA, Hanson RC, Kuhar MJ. Cocaine inhibits muscarinic cholinergic receptors in heart and brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1988;246(3):1048-52.
45. Nakagawa M, Terashima T, D'Yachkova Y, Bondy GP, Hogg JC, van Eeden SF. Glucocorticoid-induced granulocytosis: contribution of marrow release and demargination of intravascular granulocytes. *Circulation.* 1998;98(21):2307-13.
46. Balta S, Ozturk C. The platelet-lymphocyte ratio: A simple, inexpensive and rapid prognostic marker for cardiovascular events. *Platelets.* 2015;26(7):680-1.
47. Nazari A, Zahmatkesh M, Mortaz E, Hosseinzadeh S. Effect of methamphetamine exposure on the plasma levels of endothelial-derived microparticles. *Drug and Alcohol Dependence.* 2018;186:219-25.
48. Bahadir Demir SKS, Filiz Ozsoy, Abdurrahman Altindag, Gulcin Elboga. Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Platelet-Lymphocyte Ratio in Methamphetamine Use Disorder. *Psychiatry and Clinical Psychopharmacology.* 2021;31:34-9.
49. Turan Ç, Şenormancı G, Neşelioğlu S, Budak Y, Erel Ö, Şenormancı Ö. Oxidative Stress and Inflammatory Biomarkers in People with Methamphetamine Use Disorder. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2023;21(3):572-82.
50. Özdin S, Sarisoy G, Böke Ö. A comparison of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratios in schizophrenia and

- bipolar disorder patients – a retrospective file review. *Nordic Journal of Psychiatry*. 2017;71(7):509-12.
51. Medine Giynas Ayhan IEC, Ikbali Inanli, Ali Metehan Caliskan, Seda Kirci Ercan, Ibrahim Eren. Neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratios in all mood states of bipolar disorder. *Psychiatry and Clinical Psychopharmacology*. 2021;27:278-82.
  52. Miller D, Bu A-M, Gopinath A, Martinez L, Khoshbouei H. Methamphetamine Dysregulation of the Central Nervous System and Peripheral Immunity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2021;379:JPET-MR.
  53. Saito M, Yamaguchi T, Kawata T, Ito H, Kanai T, Terada M, et al. Effects of methamphetamine on cortisone concentration, NK cell activity and mitogen response of T-lymphocytes in female cynomolgus monkeys. *Exp Anim*. 2006;55(5):477-81.
  54. Martel JC, Gatti McArthur S. Dopamine Receptor Subtypes, Physiology and Pharmacology: New Ligands and Concepts in Schizophrenia. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11.
  55. Channer B, Matt SM, Nickoloff-Bybel EA, Pappa V, Agarwal Y, Wickman J, Gaskill PJ. Dopamine, Immunity, and Disease. *Pharmacological Reviews*. 2023;75(1):62-158.
  56. Xue L, Geng Y, Li M, Jin Y-F, Ren H-X, Li X, et al. The effects of D3R on TLR4 signaling involved in the regulation of METH-mediated mast cells activation. *International Immunopharmacology*. 2016;36:187-98.
  57. Tokunaga I, Kubo S-i, Ishigami A, Gotohda T, Kitamura O. Changes in renal function and oxidative damage in methamphetamine-treated rat. *Legal medicine*. 2006;8(1):16-21.
  58. Halpin LE, Gunning WT, Yamamoto BK. Methamphetamine causes acute hyperthermia-dependent liver damage. *Pharmacol Res Perspect*. 2013;1(1):e00008.
  59. Koriem KMM, Soliman RE. Chlorogenic and Caftaric Acids in Liver Toxicity and Oxidative Stress Induced by Methamphetamine. *Journal of Toxicology*. 2014;2014:583494.
  60. Afarinesh MR, Haghpanah T, Divsalar K, Dehyadegary E, Shaikh-Aleslami A, Mahmoodi M. Changes in serum biochemical factors associated with opium addiction after addiction desertion. *Addict Health*. 2014;6(3-4):138-45.
  61. Macur K, Ciborowski P. Immune System and Methamphetamine: Molecular Basis of a Relationship. *Curr Neuropharmacol*. 2021;19(12):2067-76.

62. Pohanka M. Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Is a Target in Pharmacology and Toxicology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012;13(2):2219-38.
63. Du S-H, Qiao D-F, Chen C-X, Chen S, Liu C, Lin Z, et al. Toll-Like Receptor 4 Mediates Methamphetamine-Induced Neuroinflammation through Caspase-11 Signaling Pathway in Astrocytes. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017;10.
64. Calafat J, Janssen H, Knol EF, Malm J, Egesten A. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is membrane-associated in azurophil granules of human neutrophils, and relocation occurs upon cellular activation. *Apmis*. 2000;108(3):201-8.
65. Xie X, Shi Q, Wu P, Zhang X, Kambara H, Su J, et al. Single-cell transcriptome profiling reveals neutrophil heterogeneity in homeostasis and infection. *Nat Immunol*. 2020;21(9):1119-33.
66. Weiss J, Elsbach P, Olsson I, Odeberg H. Purification and characterization of a potent bactericidal and membrane active protein from the granules of human polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 1978;253(8):2664-72.
67. Nishimura H, Gogami A, Miyagawa Y, Nanbo A, Murakami Y, Baba T, Nagasawa S. Bactericidal/permeability-increasing protein promotes complement activation for neutrophil-mediated phagocytosis on bacterial surface. *Immunology*. 2001;103(4):519-25.
68. Balakrishnan A, Marathe SA, Joglekar M, Chakravorty D. Bactericidal/permeability increasing protein: A multifaceted protein with functions beyond LPS neutralization. *Innate Immunity*. 2013;19(4):339-47.
69. Dentener MA, Francot GJ, Hiemstra PS, Tool AT, Verhoeven AJ, Vandenabeele P, Buurman WA. Bactericidal/permeability-increasing protein release in whole blood ex vivo: Strong induction by lipopolysaccharide and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Journal of Infectious Diseases*. 1997;175(1):108-17.
70. Casafont F, Sánchez E, Martín L, Agüero J, Romero FP. Influence of malnutrition on the prevalence of bacterial translocation and spontaneous bacterial peritonitis in experimental cirrhosis in rats. *Hepatology*. 1997;25(6):1334-7.
71. Guerra-Ruiz A, Casafont F, Cobo M, Terán A, De-la-Peña J, Estebanez A, Pons-Romero F. Increased bactericidal/permeability increasing protein in patients with cirrhosis. *Liver International*. 2010;30(1):94-101.
72. Bauer TM, Schwacha H, Steinbrückner B, Brinkmann FE, Ditzen AK, Aponte JJ, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in human cirrhosis is associated with systemic endotoxemia. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(9):2364-70.

73. Nupponen I, Turunen R, Nevalainen T, Peuravuori H, Pohjavuori M, Repo H, Andersson S. Extracellular Release of Bactericidal/Permeability-Increasing Protein in Newborn Infants. *Pediatric Research*. 2002;51(6):670-4.



## ประวัติคณะผู้วิจัย

### หัวหน้าโครงการ

ทนพญ.ธิดารัตน์ ประทุมวรรณ

Thidarat Prathumwan

คุณวุฒิ

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ตำแหน่งทางวิชาการ

นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ

ที่อยู่และรหัสไปรษณีย์

กลุ่มงานเวชศาสตร์การเสพติด ภารกิจด้านวิชาการและการแพทย์

โรงพยาบาลธัญญารักษ์สงขลา

เบอร์ติดต่อ

091-0342196

ประสบการณ์วิจัยที่เกี่ยวข้อง

- 1) ชื่อโครงการ: การศึกษาประสิทธิผลการบำบัดรักษาผู้ติดแอมเฟตามีนในจังหวัดสงขลา : ประเมินผลจากการตรวจแอมเฟตามีนในเส้นผม :ผู้ร่วมวิจัย
- 2) ชื่อโครงการ: การศึกษาประสิทธิผลการบำบัดโดยใช้โปรแกรม mindfulness-based relapse prevention ในผู้เสพสารเสพติด : การทบทวนอย่างเป็นระบบ :ผู้ร่วมวิจัย
- 3) ชื่อโครงการ: การพัฒนาวิธีการตรวจหาสารไมตราใจนีนในปัสสาวะของมนุษย์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง :หัวหน้าโครงการวิจัย

## ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 1

ทนาย.ดร.นवलพรรณ แสงเพชร

Dr.Naunpun Sangphech

คุณวุฒิ

ปริญญาเอก (สหสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์)

Doctor of Philosophy (Interdisciplinary program in  
Medical Immunology

ตำแหน่งทางวิชาการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ที่อยู่และรหัสไปรษณีย์/โทรศัพท์

คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ที่อยู่ เลขที่ 99 หมู่ 18 อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี อาคาร  
ปิยชาติชั้น 4 คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

เบอร์ติดต่อ

089-2191660

ประสบการณ์วิจัยที่เกี่ยวข้อง

- 1) **Sangphech N.**, Palaga T., Cross-regulation of notch/AKT and serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (SGK1) in IL-4-stimulated human macrophages., International Immunopharmacology, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108312>
- 2) **Sangphech N.**, Sillapachaiyapornb C., Nilkhetb S., Chuchawankul S., Auricularia polytricha ethanol crude extract from sequential maceration induces lipid accumulation and inflammatory suppression in RAW264.7 macrophages, Food and function, 6170-6185, 2021, <https://doi.org/10.1039/D0FO02574G>
- 3) Laksee S., Sansanaphongpricha K., Puthong S., **Sangphech N.**, Palaga T., Muangsin N., New organic/inorganic nanohybrids of targeted pullulan derivative/gold nanoparticles for effective drug delivery systems., International Journal of Biological Macromolecules, 561-577, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.089> Impact factor 5.12 Q1 (1.14, H index 128)
- 4) Taratummarat S., **Sangphech N.**, Vu C.T.B., Palaga T., Ondee T., Surawut S., Sereemasapun A., Ritprajak P., Leelahavanichkul A., Gold nanoparticles attenuates bacterial sepsis in cecal ligation and puncture mouse model through the induction of M2 macrophage polarization., BMC Microbiol. 85-95, 2018, <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1227-3> Impact factor 3.287 Q2 (1.27, H index 94)

## ผู้ร่วมวิจัยคนที่ 2

ทนาย.ดร.ปัทมาภรณ์ ขวัญแก้ว

Dr.Pattamaporn Kwankaew

คุณวุฒิ

ปริญญาเอก (ชีวเคมี)

Doctor of Philosophy (Biochemistry)

ตำแหน่งทางวิชาการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ที่อยู่และรหัสไปรษณีย์/โทรศัพท์

สำนักวิชาสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ที่อยู่ 222 ต.ไทรบุรี อ.ท่าศาลา จ.นครศรีธรรมราช 80160

เบอร์ติดต่อ

086-4733025

ประสบการณ์วิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. Kotepui, M., Mala, W., **Kwankaew, P.**, Mahittikorn, A., Ramirez Masangkay, F., & Uthaisar Kotepui, K. (2023). A systematic review and meta-analysis of changes in interleukin-8 levels in malaria infection. *Cytokine*, 169, 156262. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156262>
2. Kotepui, M., Mala, W., **Kwankaew, P.**, Kotepui, K. U., Masangkay, F. R., & Wilairatana, P. (2023). Distinct cytokine profiles in malaria coinfections: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*, 17(1), e0011061. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011061>
3. Mahittikorn, A., **Kwankaew, P.**, Rattaprasert, P., Kotepui, K. U., Masangkay, F. R., & Kotepui, M. (2022). Elevation of serum interleukin-1 $\beta$  levels as a potential indicator for malarial infection and severe malaria: a meta-analysis. *Malaria Journal*, 21(1), 308. <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04325-0>
4. Madsari, N., Maskaew, S., Obchoei, S., **Kwankaew, P.**, Senghoi, W., Utarabhand, P., & Runsaeng, P. (2022). Determination of the efficacy of using a serine protease gene as a DNA vaccine to protect against *Vibrio parahaemolyticus* infection in *Litopenaeus vannamei*. *Dev Comp Immunol*, 135, 104459. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2022.104459>
5. Kotepui, K. U., **Kwankaew, P.**, Masangkay, F. R., Mahittikorn, A., & Kotepui, M. (2022). Transforming Growth Factor- $\beta$  Concerning Malarial Infection and Severity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Trop Med Infect Dis*, 7(10). <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7100299>
6. Wilairatana, **P.**, **Kwankaew, P.**, Kotepui, K. U., & Kotepui, M. (2022). Low Interleukin-12 Levels concerning Severe Malaria: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*, 19(15). <https://doi.org/10.3390/ijerph19159345>
7. Boonhok, R., Sangkanu, S., Phumjan, S., Jongboonjua, R., Sangnopparat, N., **Kwankaew, P.**, Tedasen, A., Lim, C. L., Pereira, M. L., Rahmatullah, M., Wilairatana, P.,

Wart, C., Dolma, K. G., Paul, A. K., Gupta, M., & Nissapatorn, V. (2022). Curcumin effect on *Acanthamoeba triangularis* encystation under nutrient starvation. *PeerJ*, 10, e13657. <https://doi.org/10.7717/peerj.13657>

8. **Kwankaew, P.**, Madsari, N., Thongsoi, R., Utarabhand, P., & Runsaeng, P. (2022). Effects of the interaction between a clip domain serine protease and a white spot syndrome virus protein on phenoloxidase activity. *Developmental & Comparative Immunology*, 130, 104360. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dci.2022.104360>

9. Kuraeiad, S., Prueksatrakun, P., Chuajeen, Y., Kooltheat, N., Sookbampen, O., Mitsuwan, W., & **Kwankaew, P.** (2022). Evaluation of moisturizing property and antimicrobial activity of alcohol-based hand sanitizer formulations using coconut oil as a moisturizing agent against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*: <https://doi.org/10.12982/VIS.2022.031>. *Veterinary Integrative Sciences*, 20(2), 419-430. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/vis/article/view/257413>

