บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษาค้นคว้าแบบอิสระครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเพื่อหาปริมาณสาร Protein Hydroperoxide, Malondialdehyde และ Glutathione ในเลือดกลุ่มนักกีฬา และ กลุ่มคนปกติที่ออกกำลังกายไม่สม่ำเสมอ และเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร Protein Hydroperoxide, Malondialdehyde และ Glutathione หลังจากการออกกำลังกายอย่างหนัก ระหว่างกลุ่มนักกีฬาเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติที่ออกกำลังกายไม่สม่ำเสมอ

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา มีจำนวน 40 คน อายุระหว่าง 18-24 ปี แบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน ดังนี้ กลุ่มที่ 1 กลุ่มทดลอง เป็นกลุ่มนักกีฬาสมัครเล่น ที่มีการฝึกฝนอย่างสม่ำเสมอไม่ต่ำกว่า 3 ครั้งต่อสัปดาห์ และฝึกฝนติดต่อกันไม่ต่ำกว่า 1 ปี ส่วนกลุ่มที่ 2 กลุ่มควบคุม เป็นกลุ่มคนทั่วไปที่ไม่ออกกำลังกาย หรือออกกำลังกายไม่สม่ำเสมอ คือ ต่ำกว่า 3 ครั้งต่อสัปดาห์ โดยทั้งสองกลุ่มที่ไม่เคยได้รับสารกระตุ้นหรือวิตามินที่เสริมฤทธิ์ต้านอนุมลอิสระ และมี Body Mass Index (BMI) อยู่ในเกณฑ์ปกติ (18.5-24.9 Kg/m^2) โดยไม่มีโรคหรืออาการบาดเจ็บที่เป็นอุปสรรคต่อการศึกษา

ผู้ศึกษากำหนดให้ทำการเจาะเลือดกลุ่มตัวอย่างก่อน และหลังการวิ่งออกกำลังกายอย่าหนักบนสายพานเลื่อน (Treadmill) ตามโปรแกรม Modified Bruce Protocol แล้วนำไปตรวจวัดสาร Hydroperoxide, Malondialdehyde และ Glutathione ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณสารก่อนการออกกำลังกายระหว่างกลุ่มด้วยทางสถิติ Mann-Whitney U Test (Two Independent Sample Test) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารชีวเคมีในเลือดทั้งสามก่อนและหลังการออกกำลังกายอย่างหนักด้วยสถิติ Wilcoxon Signed Ranks-Test (Two Related Pair T-Test) ทั้งในกลุ่มนักกีฬาและกลุ่มคนปกติ โดยสามารถสรุป อภิปรายผล และเสนอแนะการศึกษา ดังนี้

สรุปผลการศึกษา

1. กลุ่มนักกีฬามีปริมาณ Malondialdehyde ในเลือด น้อยกว่ากลุ่มคนปกติที่ไม่ได้ออกกำลังกายสม่ำเสมอ ($P < 0.05$) ส่วนปริมาณ Protein Hydroperoxide น้อยกว่าคนปกติแต่ไม่แตกต่างกัน

2. กลุ่มนักกีฬามีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิด Glutathione ในเม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างกับกลุ่มคนปกติที่ไม่ได้ออกกำลังกายสม่ำเสมอ

3. ปริมาณของ Protein Hydroperoxide หลังจากการออกกำลังกายอย่างหนักทั้งกลุ่มนักกีฬากับกลุ่มคนปกติที่ไม่ได้ออกกำลังกายสม่ำเสมอ มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณ Malondialdehyde ในกลุ่มคนปกติมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับก่อนออกกำลังกาย แต่ในกลุ่มนักกีฬาไม่มีการเปลี่ยนแปลง

4. ปริมาณของ Protein Hydroperoxide และ Malondialdehyde ที่ลดลงภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนัก ระหว่างกลุ่มนักกีฬากับกลุ่มคนปกติที่ไม่ได้ออกกำลังกายสม่ำเสมอ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

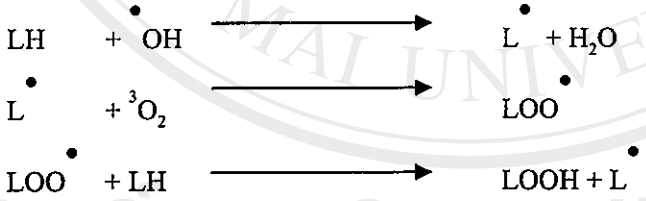
5. ปริมาณของ Glutathione ที่เพิ่มขึ้นภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนัก ระหว่างกลุ่มนักกีฬากับกลุ่มคนปกติที่ไม่ได้ออกกำลังกายสม่ำเสมอ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

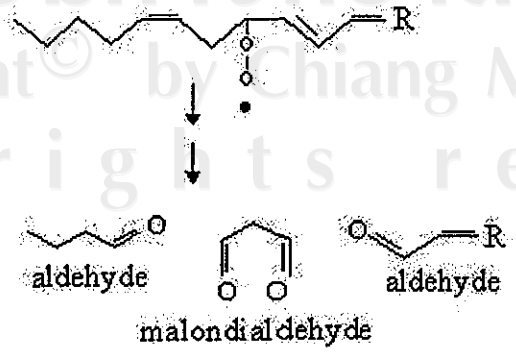
อภิปรายผลการศึกษา

จากผลการศึกษาครั้งนี้ สามารถอภิปรายได้ดังต่อไปนี้

ในการศึกษาครั้งนี้ต้องการตรวจวัดการตอบสนองภาวะ Oxidative Stress ที่เกิดขึ้นภายในร่างกายคนที่ออกกำลังกายเป็นประจำกับคนที่ไม่ได้ออกกำลังกาย สามารถตรวจวัดได้หลายวิธี ซึ่งตัวแปรทางชีวเคมีที่สำคัญที่นิยมนำมาติดตามตรวจวัดดังกล่าว สามารถวัดได้จากไขมัน โปรตีน หรือ DNA ในเลือด

ในส่วนของไขมัน ส่วนใหญ่ยังคงติดตามผลผลิตจากไขมันที่ถูกทำลายออกมาในกระแสเลือดจากขบวนการ Lipid Peroxidation ทำให้ได้สารที่สำคัญคือ Malondialdehyde โดยเริ่มต้นจากการโครงสร้างของโมเลกุลไขมัน (LH) ถูกอนุมูลอิสระ เช่น Hydroxyl Radical ($^{\bullet}OH$) ดังสมการต่อไปนี้ (Girotti, 1998)





ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากสมการดังกล่าวจะพบว่าทำให้เกิด Peroxyl Radical ตามมาได้แก่ Lipid Peroxyl Radical ($LOO^{\bullet}$) ซึ่งจะสามารถกลับไปจับโครงสร้างโมเลกุลของไขมันได้อีก และกลายเป็น Lipid hydroperoxide แต่ในส่วนอนุมูลอิสระที่เกิดจากไขมันก็สามารถทำให้สายของกรดไขมันที่ยาว ถูกตัดออกเป็นสารสั้นๆ และสุดท้ายกลายเป็น Malondialdehyde ปล่อยออกมาในกระแสเลือดได้นั่นเอง

ปริมาณสาร Malondialdehyde (MDA) ในนักกีฬามีค่าต่ำกว่ากลุ่มคนปกติที่ออกกำลังกายไม่สม่ำเสมออย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ทั้งในภาวะพัก และภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนัก สอดคล้องกับการศึกษาของ Metin และคณะ (2003) ที่พบว่านักกีฬาฟุตบอลที่มีการฝึกฝนอย่างสม่ำเสมอ จะมีระดับของ MDA ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.001$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Robertson และคณะ (1991) ซึ่งพบว่าระดับของ MDA ในผู้ออกกำลังกายไม่สม่ำเสมอจะมีค่าสูงกว่ากลุ่มนักกีฬาสมัครเล่น หรือ กลุ่มนักกีฬาอาชีพภายหลังจากการออกกำลังกายทันที โดย Yagi (1992) กล่าวว่า MDA จะมีการลดระดับลง หากมีการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอติดต่อกันไม่ต่ำกว่า 9 เดือน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการกำลังกายสม่ำเสมอที่มีผลต่อการลดระดับสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากกระบวนการ Lipid Peroxidation

ในการออกกำลังกายมีผลต่อโปรตีนในร่างกาย โดยอนุมูลอิสระในรูปแบบต่างๆ สามารถกระตุ้นทำให้โครงสร้างของโมเลกุลของโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงไป โดยทำให้เกิดอิเลคตรอนโดดเดี่ยวบนสารคาร์บอน (Carbon-Centered Free Radical ; $Pr^{\bullet}$) ซึ่งจะทำให้เกิด Protein Peroxyl Radical ($PrOO^{\bullet}$) และสุดท้ายเกิดเป็น Protein Hydroperoxide (PrOOH) (Gebicki, 1997)

$$PrH + H_2O_2/{}^{\bullet}OH \longrightarrow Pr^{\bullet} + H_2O$$
$$Pr^{\bullet} + O_2 \longrightarrow PrOO^{\bullet}$$
$$PrOO^{\bullet} + e \longrightarrow PrOO^{-}$$
$$PrOO^{-} + H \longrightarrow PrOOH$$
$$PrOO^{\bullet} + PrH \longrightarrow PrOOH + Pr^{\bullet}$$

ส่วนในการเกิดออกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงนั้น สารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญชนิดหนึ่งคือ Glutathione (GSH) โดยมีโครงสร้างเป็นกรดอะมิโน 3 ตัวต่อกัน และมีกลุ่มไทออลด์ (Thoil Group) ตรงกลาง ในเม็ดเลือดแดง จะมีปริมาณของโปรตีนที่มีไทออลด์แตกต่างกัน คือ มาจากฮีมาโกลบิน จำนวน 80-85 เปอร์เซ็นต์ Glutathione จำนวน 10-15 เปอร์เซ็นต์ และเป็นโปรตีนที่ผิวเซลล์จำนวน 5% (Morell, 1964) ซึ่งกลไกในการต้านอนุมูลอิสระพบว่า Glutathione (GSH) จะมีกลุ่มไทออลด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(Thiol Group) (Ogus et al, 1998) ในการจับกับอนุมูลอิสระได้โดยตรง เช่น Hydroxyl Radical ($^{\bullet}OH$) หรือ Hydrogen Peroxide (H_2O_2) และยังสามารถจับ Malondialdehyde, Lipid Hydroperoxide (LOOH), Protein Hydroperoxide (PrOOH) (Jones., 2002)

$$^{\bullet}OH + GSH \longrightarrow H_2O + GS^{\bullet}$$

$$H_2O_2 + GSH \longrightarrow 2H_2O + GSS$$

$$LOO^{\bullet} + GSH \longrightarrow LOOH + GS^{\bullet}$$

$$PrOO^{\bullet} + GSH \longrightarrow ROOH + GS^{\bullet}$$

ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างของ Protein Hydroperoxide และ Glutathione ในเลือด ($P > 0.05$) ระหว่างกลุ่มนักกีฬาและกลุ่มคนปกติที่ออกกำลังกายไม่สม่ำเสมอ ซึ่งขัดแย้งกับสมมติฐานที่ตั้งไว้ และงานวิจัยของ Cazzola และคณะ (2003) ที่พบว่านักกีฬาฟุตบอลอาชีพมีระดับของ Glutathione Peroxidase ในเลือดมากกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับการศึกษาของของ Brites และคณะ (1999) ที่พบว่าระดับสารต้านอนุมูลอิสระในนักกีฬาสูงกว่ากลุ่มควบคุม 25% ($P < 0.005$) ซึ่งแสดงถึงชดเชยการเกิด Oxidative Stress ซึ่งมาจากการทำกิจกรรมทางกายภาพได้

เมื่อนำปริมาณ Protein Hydroperoxide, Malondialdehyde และ Glutathione มาหาความต่างระหว่างก่อนและหลังการออกกำลังกายอย่างหนัก พบว่ากลุ่มนักกีฬามีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารทั้งสามไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Mastaloudis และคณะ (2001) ซึ่งพบว่าในกลุ่มนักกีฬาและกลุ่มควบคุมมีค่าเหล่านี้ใกล้เคียงกัน แต่อย่างไรก็ตาม ทิศทางการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีตรงข้ามกับสมมุติฐานที่ตั้งไว้ นั่นคือ มีการลดลงของ Protein Hydroperoxide และ Malondialdehyde และมีการเพิ่มขึ้นของ Glutathione เล็กน้อยภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนัก ซึ่งผลดังกล่าวขัดแย้งกับหลายการศึกษาที่ผ่านมา Kemal และคณะ (2001) พบว่าการออกกำลังกายทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับ Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) และ H_2O_2 ทั้งในกลุ่มที่ได้รับการฝึกฝนเป็นเวลา 1 เดือน และกลุ่มควบคุม ขณะที่ Mastaloudis และคณะ (2001) ที่ได้ศึกษาผลของ Oxidative Stress จากการออกกำลังกายเพื่อความทนทานโดยการวิ่งระยะไกล ในนักกรีฑาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า การวิ่งระยะไกลมีผลให้เกิดการผลิตสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ในขณะที่วิตามินอีซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระลดลง อย่างไรก็ตาม Simplicio และคณะ (1997) พบว่า Glutathione ในหนูหลังจากการว่ายน้ำอย่างหนักมีปริมาณเพิ่มขึ้น 10 % ซึ่งสนับสนุนคำกล่าวของ Leeuwenburgh และ Ji (2002) ปริมาณของ Glutathine จะเพิ่มขึ้นหลังจากการออกกำลังกาย โดยให้เหตุผลว่าตับอาจถูกกระตุ้นจาก Vasopressin

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือฮอร์โมนอื่นๆที่หลั่งจากการออกกำลังกายทำให้มีการเพิ่มปริมาณการหลั่ง Glutathione ในตับได้ นอกจากนี้ยังกล่าวว่า การออกกำลังกายอย่างหนักบนจักรยานเป็นเวลา 10-15 นาทีจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ Glutathione เพียงเล็กน้อย ต่างจากการออกกำลังกายระดับปานกลาง (Submaximal Exercise) ประมาณ 65% VO_2max ที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ Glutathione อย่างมีนัยสำคัญ

จากข้อมูลดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นผลของการออกกำลังกายและการฝึกฝนอย่างสม่ำเสมอ ดังนี้

1. การที่ระดับ MDA ของกลุ่มนักกีฬามากกว่ากลุ่มคนปกติ แสดงให้เห็นถึงภาวะที่ร่างกายมีภาวะออกซิเดชันตลอดเวลา อันเนื่องมาจากการถูกกระตุ้นจากการฝึกประจำวันอยู่แล้ว แต่มีปริมาณของ Protien Hydroperoxide ที่ต่ำกว่าและ Glutathione ที่สูงกว่ากลุ่มคนปกติ แสดงให้เห็นว่านักกีฬามีการปรับสภาพร่างกายให้มีความพร้อมอยู่แล้ว

2. ระดับ Glutathione ที่เพิ่มขึ้น และระดับ Malondialdehyde และ Protein Hydroperoxide ที่ลดลงภายหลังจากการออกกำลังกายอย่างหนัก แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการออกกำลังกายอย่างหนักในการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ และสามารถลดสารอนุมูลอิสระในเลือดที่จะเกิดขึ้นได้ ถึงแม้ว่าจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม

3. จากผลการทดลองที่พบว่า มีเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีทั้งสามระหว่างกลุ่มทดลองทั้งสองไม่แตกต่างกันนั้น Leeuwenburgh และ Ji (2002) กล่าวว่าการออกกำลังกายอย่างหนักจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ Glutathione เพียงเล็กน้อย ต่างจากการออกกำลังกายระดับปานกลาง (Submaximal Exercise) ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ Glutathione อย่างมีนัยสำคัญ นั่นหมายถึงการออกกำลังกายอย่างหนักอาจสามารถทำให้ร่างกายมีการปรับตัวต่อภาวะ Oxidative Stress ได้ดีกว่าการมีความหนักของการออกกำลังกายในระดับปานกลาง (Submaximal)

4. การรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกวิตามินซี และอี เสริมสามารถช่วยในการลดผลเสียที่อาจเกิดขึ้นจากภาวะ Oxidative Stress ต่อร่างกายได้ (Brites et.al, 1999/ Kelle et.al, 1999) ดังนั้นผู้ที่นิยมการออกกำลังกาย หรือนักกีฬาที่ต้องเผชิญกับภาวะ Oxidative Stress ที่เกิดขึ้นจากการออกกำลังกายนั้น จึงควรมีการบริโภควิตามินซี และอี เสริมด้วยเนื่องจากการรับประทานสารอาหารเหล่านี้ตามปกติ อาจไม่เพียงพอต่อความต้องการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อเสนอแนะในการศึกษาครั้งต่อไป

1. ควรมีการศึกษาโดยใช้โปรแกรมการออกกำลังกายอื่นๆที่เบากว่าหรือหนักกว่าการศึกษาครั้งนี้ เพื่อทำการเปรียบเทียบความหนักของการออกกำลังกายต่อการตอบสนองในนักกีฬาต่อไป

2. การเพิ่มจำนวนคนในการทดลองอาจช่วยให้แสดงค่าทางสถิติได้ดีขึ้น และอาจแบ่งชนิดของนักกีฬาให้มากขึ้น เพื่อเปรียบเทียบชนิดของกีฬาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารดังกล่าว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved