



Elevated Urinary Iron, Zinc and Nickel Associate with Increased Oxidative Stress in Bladder Cancer Patients

Chawalit Saelim M.D. *, Julin Opanuraks M.D.*,
Charnchai Boonla** Ph.D., Maturada Patchsung**,
Piyaratana Tosukhowong **

Abstract

Objective: To determine urinary calcium, magnesium and heavy metals in patients with bladder cancer. Whether levels of urinary elements were associated with oxidative stress markers and patients' occupation were investigated.

Design: Analytical observational study

Methods: Forty-one patients with bladder cancer (aged 62.5 ± 12.4 years) and 29 healthy controls (aged 68.2 ± 13.1 years) were recruited for the study. Urinary levels of 18 elements, i.e., arsenic, calcium, cadmium, cobalt, chromium, copper, iron, lithium, magnesium, manganese, molybdenum, nickel, lead, stibium, selenium, strontium, vanadium and zinc were analyzed. Urinary total antioxidant status (TAS) and plasma protein carbonyl concentration, as oxidative stress biomarkers were measured.

Results: Plasma protein carbonyl content in patients was significantly greater than that in controls. Inversely, urinary TAS was significantly decreased in patients group compared to the controls. The urinary levels of iron, zinc and nickel in bladder cancer group was significantly higher, while calcium, magnesium, lithium, arsenic, strontium and lead were lower, than the control group. Urinary nickel (Spearman's $\rho=0.463$, $p<0.001$) and zinc (Spearman's $\rho=0.295$, $p=0.014$) were positively correlated with protein carbonyl content. Urinary iron (Spearman's $\rho=-0.254$, $p=0.034$), nickel (Spearman's $\rho=-0.453$, $p<0.001$) and zinc (Spearman's $\rho=-0.269$, $p=0.025$) were inversely correlated with urinary TAS. A trend of higher urinary iron in patients with high grade tumor ($n=23$) compared to those with low grade ($n=18$) was observed, although it was not statistically significant. Urinary nickel and zinc in patients who were mining and metal workers were higher than in patients worked in farms and those worked in offices, respectively.

Conclusion: Urinary levels of iron, nickel and zinc were elevated in patients with bladder cancer. The elevation of these elements was associated with an increased oxidative stress. We hypothesized that iron, zinc and nickel may play an important role in tumorigenesis of the bladder in Thai patients.

ความสัมพันธ์ของ เหล็ก สังกะสีและนิกเกิลในปัสสาวะกับภาวะเครียดจากออกซิเดชันในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ

ชวลิต แซ่ลิม*, จุลินทร์ โอภาณุรักษ์*,
ชาญชัย บุญหล้า**, มธุรดา เพชรสังข์**, ปิยะรัตน์ ไตสุโขวงศ์**

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อวัดระดับ calcium magnesium และธาตุโลหะหนักในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ รวมถึงศึกษาหาความสัมพันธ์ของแร่ธาตุดังกล่าวกับภาวะเครียดจากออกซิเดชัน และอาชีพของผู้ป่วย

รูปแบบการศึกษา: แบบสังเกตเชิงวิเคราะห์ (analytical observational study)

สถานที่ทำวิจัย: โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ซึ่งเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ

วิธีการศึกษา: ทำการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ 41 ราย อายุเฉลี่ย 62.5 ± 12.4 ปี และกลุ่มควบคุม 29 ราย อายุเฉลี่ย 68.2 ± 13.1 ปี เก็บปัสสาวะ (morning urine) จากทั้ง 2 กลุ่มเพื่อตรวจวัดระดับ creatinine และแร่ธาตุ 18 ชนิด ได้แก่ arsenic, calcium, cadmium, cobalt, chromium, copper, iron, lithium, magnesium, manganese, molybdenum, nickel, lead, stibium, selenium, strontium, vanadium และ zinc ด้วยเครื่อง Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) วัดระดับ total antioxidant status (TAS) ในปัสสาวะ และวัดปริมาณ protein carbonyl ในพลาสมา

ผลการศึกษา: ระดับของ iron, zinc และ nickel ในปัสสาวะของผู้ป่วยสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับของ calcium, magnesium, lithium, arsenic, strontium และ lead ในปัสสาวะของผู้ป่วยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ protein carbonyl ในพลาสมาของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางตรงกันข้ามระดับของ TAS ในปัสสาวะของผู้ป่วยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ยังพบว่าระดับ nickel และ zinc ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับ protein carbonyl ในพลาสมา ขณะที่ระดับ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์เป็นแบบผกผันกับระดับ TAS ในปัสสาวะ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของ iron ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่เป็น high grade tumor มีแนวโน้มที่จะสูงกว่าใน low grade tumor แต่ยังไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.062$) และยังพบว่าระดับ nickel และ zinc ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่มีอาชีพทำเหมืองหรือเกี่ยวกับโลหะหนักมีปริมาณสูงกว่าในผู้ป่วยที่ทำอาชีพเกษตรกรรมและสำนักงานตามลำดับ

สรุป: ผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะมีภาวะเครียดจากออกซิเดชันและการขับออกของ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้น และการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุเหล่านี้สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดจากออกซิเดชัน คณะผู้วิจัยตั้งสมมุติฐานว่า iron, nickel และ zinc น่าจะมีบทบาทสำคัญในการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะในคนไทย

* หน่วยศัลยศาสตร์ระบบทางเดินปัสสาวะ, ** หน่วยชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

โรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (bladder cancer, BCA) เป็นมะเร็งที่พบบ่อยอันดับสองในกลุ่มมะเร็งทางเดินปัสสาวะ และจัดเป็นมะเร็งที่พบบ่อยที่สุดลำดับที่หกจากมะเร็งทุกชนิดทั่วโลก และเป็นโรคลำดับที่ห้าที่ทำให้ประชากรในประเทศตะวันตกเสียชีวิตโดยพบว่าอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะในประชากรชายมากกว่าหญิง 3-4 เท่า[1,2] สำหรับในประเทศไทยมีอุบัติการณ์ 4.2 และ 1.3 ต่อแสนประชากรในผู้ชายและผู้หญิงตามลำดับ[7]

มะเร็งเกิดจากการสะสมของการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรม (accumulation of genetic mutations) โดยเฉพาะการกลายพันธุ์ของยีนมะเร็ง (oncogenes) และยีนต้านมะเร็ง (tumor suppressor genes) ซึ่งสาเหตุการกลายพันธุ์ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 90-95) มาจากการได้รับสารเคมีต่างๆ จากสิ่งแวดล้อมหรือการดำเนินชีวิต[3] สารเคมีเหล่านั้นอาจปนเปื้อนอยู่ในอาหารที่บริโภค ซึ่งเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วสามารถเปลี่ยนเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogens) และก่อการกลายพันธุ์ (mutagens) เหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการก่อมะเร็ง (carcinogenesis) นอกจากนี้สารก่อมะเร็งยังส่งเสริมให้เกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชันและกระบวนการอักเสบ ส่งผลให้เซลล์มีความผิดปกติมากขึ้นนำไปสู่การสูญเสียการควบคุมภายในเซลล์ ทำให้เซลล์แบ่งตัวมากผิดปกติ (uncontrolled cell proliferation) หลีกเลียงโปรแกรมการตาย (apoptosis escape) มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและสร้างเนื้อเยื่อผิดปกติเป็นก้อนเนื้อใหญ่ขึ้นจนเป็นมะเร็ง[4]

ปัจจัยเสี่ยงที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะนอกจาก aromatic amines ซึ่งเป็นสารเคมีในบุหรี่แล้ว ยังมีแร่ธาตุและกลุ่มธาตุโลหะหนักที่เป็นพิษต่อร่างกาย (heavy metals) ได้แก่ เหล็ก (Iron, Fe) โคบอลต์ (Cobalt, Co) ทองแดง (Copper, Cu) แมงกานีส (Manganese, Mn) โมลิบดีนัม (Molybdenum, Mo) วานาเดียม (Vanadium, V) สารหนู (Arsenic, As) แคดเมียม (Cadmium, Cd) ตะกั่ว (Lead, Pb) สังกะสี (Zinc, Zn) แคลเซียม (Calcium, Ca) โครเมียม (Chromium, Co) ลิเทียม (Lithium, Li)

แมกนีเซียม (Magnesium, Mg) นิกเกิล (Nickel, Ni) พลวง (Stibium, Sb) ซีลีเนียม (Selenium, Se) และสตรอนเทียม (Strontium, Sr) แร่ธาตุบางชนิดเป็น trace elements เช่น iron, copper, manganese, Zinc ร่างกายต้องการในระดับต่ำมีความสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึม เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของร่างกาย และยังเป็นส่วนประกอบของฮอร์โมนและโปรตีนหลายชนิดแต่จะเกิดเป็นพิษหรือก่อมะเร็งถ้าได้รับเข้าสู่ร่างกายปริมาณมากเกินไป เช่น การได้รับสารสารหนูในน้ำดื่มและอาหารทะเลบางชนิด[5] รายงานวิจัยพบว่า ผู้ประกอบอาชีพทาสีบ้าน ทำสีย้อมผ้า สีย้อมผม ขับขี่รถบรรทุก หรือทำงานเกี่ยวกับโลหะหนัก ถ่านหิน เครื่องจักร และก๊าซจากการเผาไหม้ มีอุบัติการณ์การเกิดโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะสูงขึ้น[6-10] กระบวนการก่อมะเร็งโดยโลหะหนัก (metal-induced carcinogenesis) มีกลไกหลักคือการกระตุ้นให้สร้างสารอนุมูลอิสระในเซลล์มากขึ้น ส่งผลให้เกิด Oxidative DNA damage และการกลายพันธุ์ของยีน การศึกษาของ Galanis และคณะ[11] เกี่ยวกับกลไกที่โลหะหนักใช้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับวิถี hypoxia signaling โดยโลหะหนักจะเหนี่ยวนำให้มีการสร้างอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่ว่องไว (reactive oxygen species: ROS) และนำไปสู่การกระตุ้น hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) จากนั้น HIF-1 จะไปกระตุ้น vascular endothelial growth factor (VEGF) เพื่อตอบสนองต่อการลดลงของระดับออกซิเจน ซึ่ง VEGF จะส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาของมะเร็ง (tumor progression) และการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) มาหล่อเลี้ยงเซลล์มะเร็ง[12] มีรายงานการศึกษาพบว่า iron และ copper ในอาหารสามารถเร่งปฏิกิริยา Haber-Weiss ในเซลล์ได้ และผลิต hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$)[13] สารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีความสามารถในการออกซิไดส์ชีวโมเลกุลต่างๆ ทำให้ชีวโมเลกุลเหล่านั้นเสียสภาพหรือเสียคุณสมบัติในการทำงาน เช่น รายงานการพบ oxidized proteins ในรูปของ carbonyl protein[14] และ oxidized DNA ในรูปของ 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)[15] สูงในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดระดับ arsenic, calcium, cadmium, cobalt, chromium, copper, iron, lithium, magnesium, manganese, molybdenum, nickel, lead, stibium, selenium, strontium, vanadium และ zinc ในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคนปกติ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของแร่ธาตุดังกล่าวกับภาวะเครียดจากออกซิเดชั่น รวมทั้งวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับอาชีพของผู้ป่วย เพื่อทราบแหล่งที่มาของการสัมผัสโลหะหนัก

วิธีการศึกษา

ทำการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2553 โดยมีเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยดังนี้

เกณฑ์การคัดเลือกผู้เข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria)

1. ได้รับการรักษามะเร็งกระเพาะปัสสาวะโดยการผ่าตัด (Transurethral resection of bladder tumor หรือ radical cystectomy)

2. ผลพยาธิวิทยายืนยันเป็นมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ

เกณฑ์การคัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ปัสสาวะเป็นเลือด (gross hematuria)
2. ผู้ป่วยไตวายเรื้อรังที่มีปริมาณปัสสาวะน้อยกว่า 100 มิลลิลิตร

ผู้เข้าร่วมโครงการทุกคนยินยอมเข้าร่วมโครงการด้วยความสมัครใจและเซ็นติดยินยอมการเข้าร่วมโครงการ คณะวิจัยเก็บข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ น้ำหนัก ส่วนสูง การสูบบุหรี่ และอาชีพโดยละเอียดทุกราย เก็บตัวอย่างปัสสาวะผู้ป่วยตั้งแต่หลังเที่ยงคืนจนถึงเช้าวันผ่าตัดรวม 8 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างเลือด 6 มิลลิลิตรใส่ในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin) กลุ่มควบคุม (Control) คืออาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่มีโรคประจำตัวใดๆ ทำการเก็บปัสสาวะและเลือดเช่นเดียวกับในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะ

ปัสสาวะ

ตรวจวัดปริมาณ protein carbonyl ในพลาสมา โดยวิธี spectrophotometric DNPH assay ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Levine และคณะ[16] และวัดปริมาณแร่ธาตุในปัสสาวะ จำนวน 18 ชนิด ได้แก่ arsenic, calcium, cadmium, cobalt, chromium, copper, iron, lithium, magnesium, manganese, molybdenum, nickel, lead, stibium, selenium, strontium, vanadium และ zinc โดยใช้เครื่อง Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES, PerkinElmer) และตรวจวัด total antioxidant status (TAS) ในปัสสาวะโดยวิธี 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรม STATA version 8.0 (Collage Station, TX) และ SPSS version 13 (Chicago, IL) รายงานผลเป็น mean±SD สำหรับข้อมูลที่กระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) หรือ median (range) สำหรับข้อมูลที่กระจายตัวแบบไม่ปกติ (skewed distribution) ใช้สถิติ Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแร่ธาตุระหว่างทั้งสองกลุ่ม และสถิติ Spearman correlation test ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับภาวะเครียดจากออกซิเดชั่นและปริมาณโลหะหนักในปัสสาวะ กำหนดระดับนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ แบบ two-tailed

ผลการศึกษา

การศึกษานี้รวบรวมผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะจำนวน 41 ราย อายุเฉลี่ย 62.5 ± 12.4 ปี เป็นเพศชาย 39 ราย (ร้อยละ 95) เพศหญิง 2 ราย (ร้อยละ 5) และกลุ่มควบคุมคนปกติ จำนวน 29 ราย อายุเฉลี่ย 68.2 ± 13.1 ปี เป็นเพศชาย 4 ราย (ร้อยละ 14) เพศหญิง 25 ราย (ร้อยละ 86) (ตารางที่ 1)

ผลการวิเคราะห์พบว่าระดับของ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะสูงกว่า

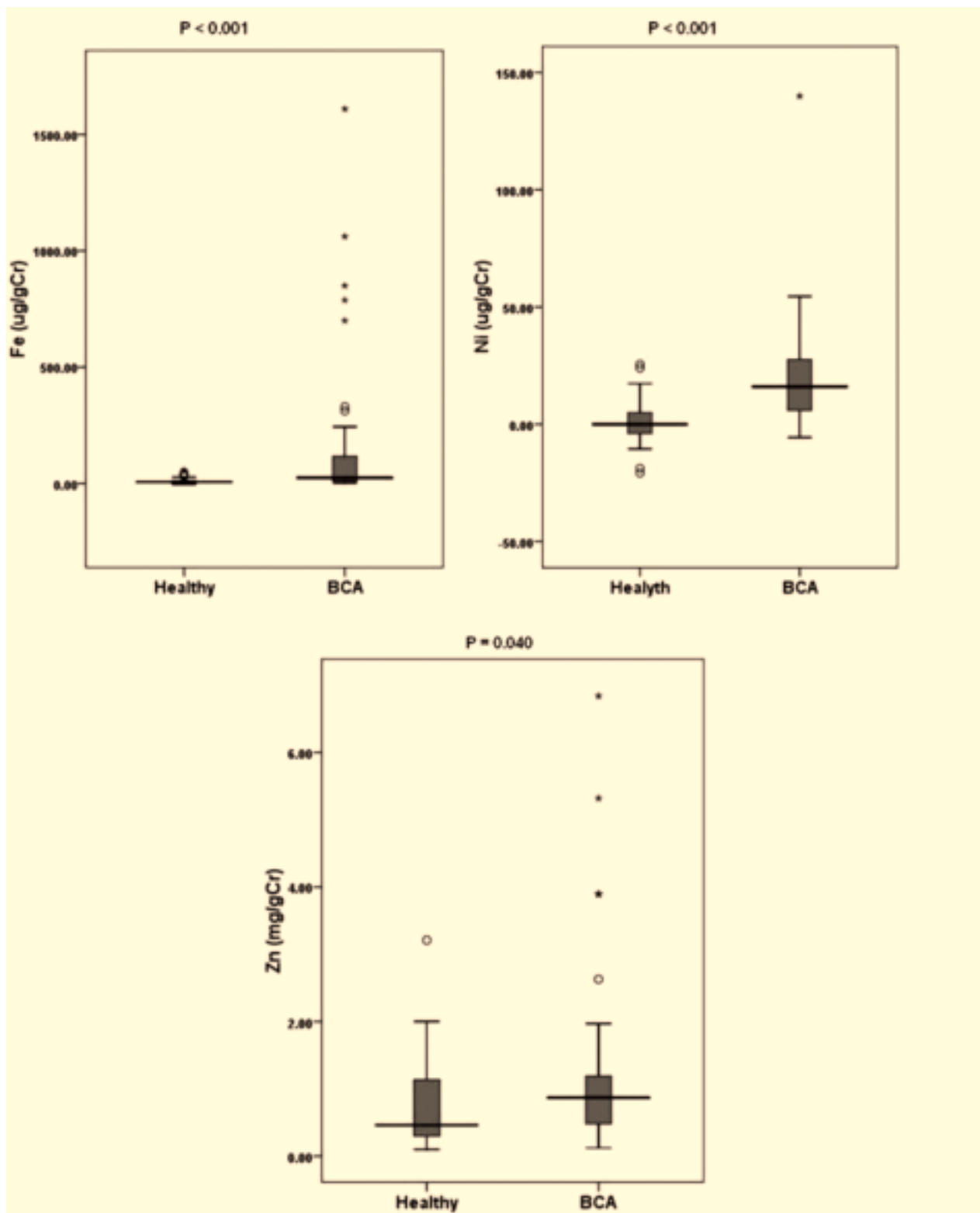
ตารางที่ 1 แสดงปริมาณแร่ธาตุในปัสสาวะ (median and ranges) ของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (bladder cancer; BCA) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีสุขภาพดี (Healthy)

Variable	Healthy	BCA	p value
n	29	41	
Age (mean $\pm$ SD)	62.52 $\pm$ 12.40	68.18 $\pm$ 13.10	
Gender (M:F)	4 : 25	39 : 2	
As (μ g/g Cr)	100 (0-718)	25.31 (0-380)	< 0.001
Ca (mg/g Cr)	72.61 (11-965)	38.31 (1.52-198)	< 0.001
Cd (μ g/g Cr)	4 (0-14)	4.44 (0-20)	0.929
Co (μ g/g Cr)	0 (0-1.79)	0 (0-1.47)	0.524
Cr (μ g/g Cr)	18.87 (3.57-130)	26.23 (3.47-240)	0.26
Cu (μ g/g Cr)	5.66 (0-104)	9.23 (0-185.71)	0.058
Fe (μ g/g Cr)	6.41 (0-56.52)	24.39 (2.52-1609)	< 0.001
Li (μ g/g Cr)	21.43 (0-343.75)	3.83 (0-118.75)	0.006
Mg (mg/g Cr)	59.04 (26.43-367.25)	34.69 (0-235)	< 0.001
Mn (μ g/g Cr)	0 (0-1)	0 (0-26)	0.45
Mo (μ g/g Cr)	9.76 (0-215.79)	0 (0-400)	0.051
Ni (μ g/g Cr)	0 (0-25.64)	16.05 (0-140)	< 0.001
Pb (μ g/g Cr)	3.92 (0-84.21)	0 (0-50.62)	0.003
Sb (μ g/g Cr)	0 (0-4.49)	0 (0-7.84)	0.199
Se (μ g/g Cr)	115.79 (10-600)	88.1 (4.55-920)	0.085
Sr (μ g/g Cr)	132 (0-1725)	75 (0-520)	0.002
V (μ g/g Cr)	0 (0-21)	0 (0-126)	0.363
Zn (mg/g Cr)	0.46 (0.11-6.84)	0.87 (0.31-6.84)	0.04

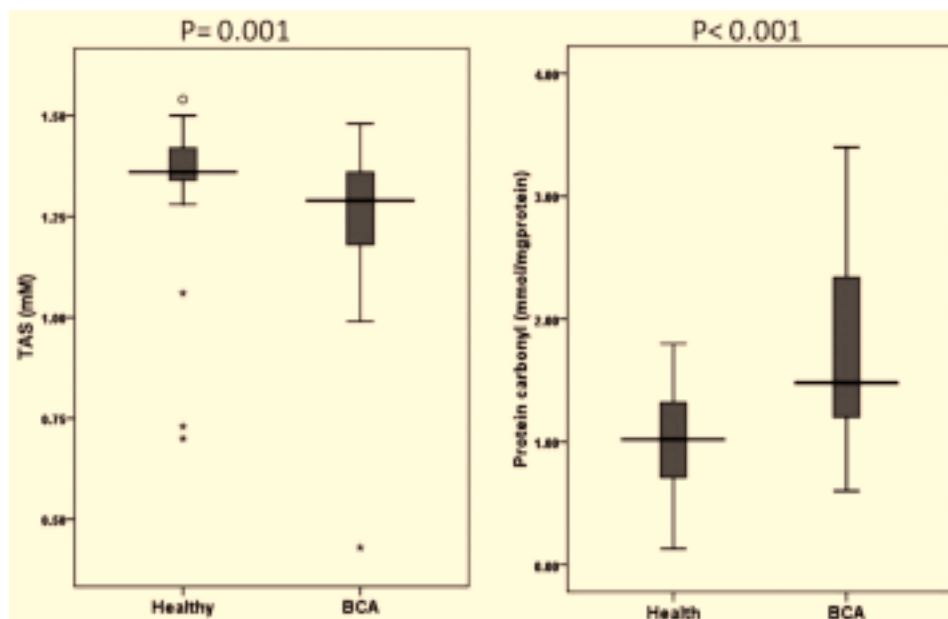
กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$, $p < 0.001$ และ $p = 0.040$ ตามลำดับ) (รูปที่ 1) ระดับของ copper ในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.058$) (ตารางที่ 1) ในทางตรงกันข้ามพบว่า lithium และ strontium ในปัสสาวะของผู้ป่วยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.006$ และ $p = 0.002$ ตามลำดับ) ในทำนองเดียวกันระดับของ calcium และ magnesium ในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)

สำหรับกลุ่มธาตุ toxic metals พบว่าระดับของ arsenic และ lead ในปัสสาวะของผู้ป่วยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$ และ $p = 0.003$ ตามลำดับ) (ตารางที่ 1)

ผลการวิเคราะห์ภาวะเครียดทางออกซิเดชัน (รูปที่ 2) พบว่าระดับของสารต้านอนุมูลอิสระรวม (TAS) ในปัสสาวะในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ขณะที่ระดับของสารผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันของโปรตีน (protein carbonyl) ในพลาสมาของผู้ป่วยสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทาง



รูปที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบค่า Fe, Ni และ Zn ในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะและกลุ่มควบคุม



รูปที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบค่า TAS และ Protein carbonyl ในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะและกลุ่มควบคุม

สถิติ ($p < 0.001$) บ่งชี้ว่าผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะมีภาวะเครียดจากออกซิเดชันสูงกว่ากลุ่มควบคุมคนปกติ

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่า TAS และ Protein carbonyl กับแร่ธาตุ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด ($n=70$) พบว่า ระดับ nickel และ zinc ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับ protein carbonyl ในพลาสมา แต่มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับระดับ TAS ในปัสสาวะ ส่วนระดับ iron ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับระดับ TAS ในปัสสาวะ และพบ

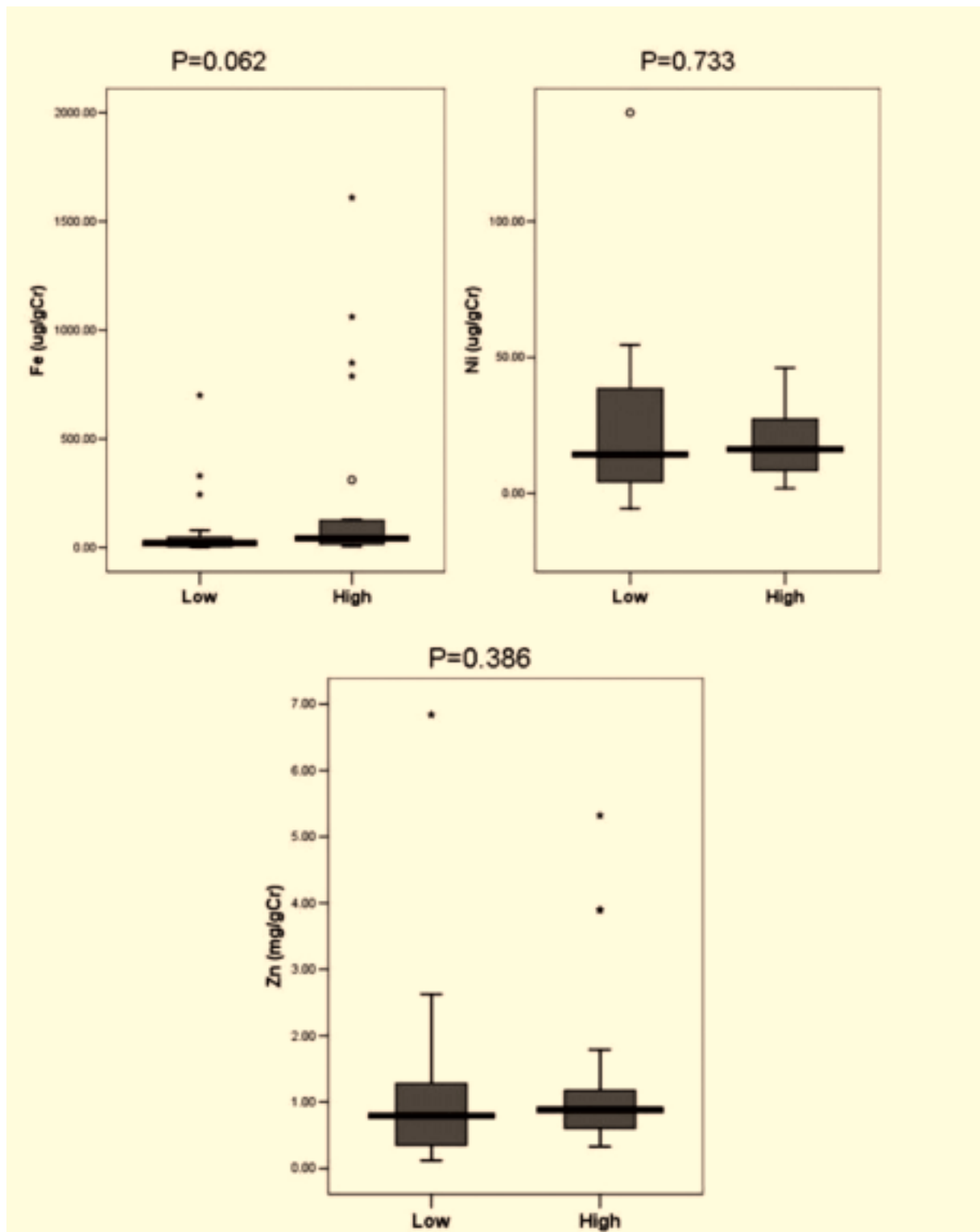
แนวโน้มความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับ protein carbonyl ในพลาสมาแต่ยังไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ผลศึกษาเปรียบเทียบระดับ iron, nickel และ zinc ระหว่างผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ กลุ่ม low grade ($n=18$) และ high grade tumor ($n=23$) พบว่าระดับของ iron ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่เป็น high grade tumor มีแนวโน้มที่จะสูงกว่าใน low grade tumor แต่ยังไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p = 0.062$) (รูปที่ 3)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับโลหะหนัก

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะ กับ Protein carbonyl ในพลาสมาและ TAS ในปัสสาวะ ($n=70$)

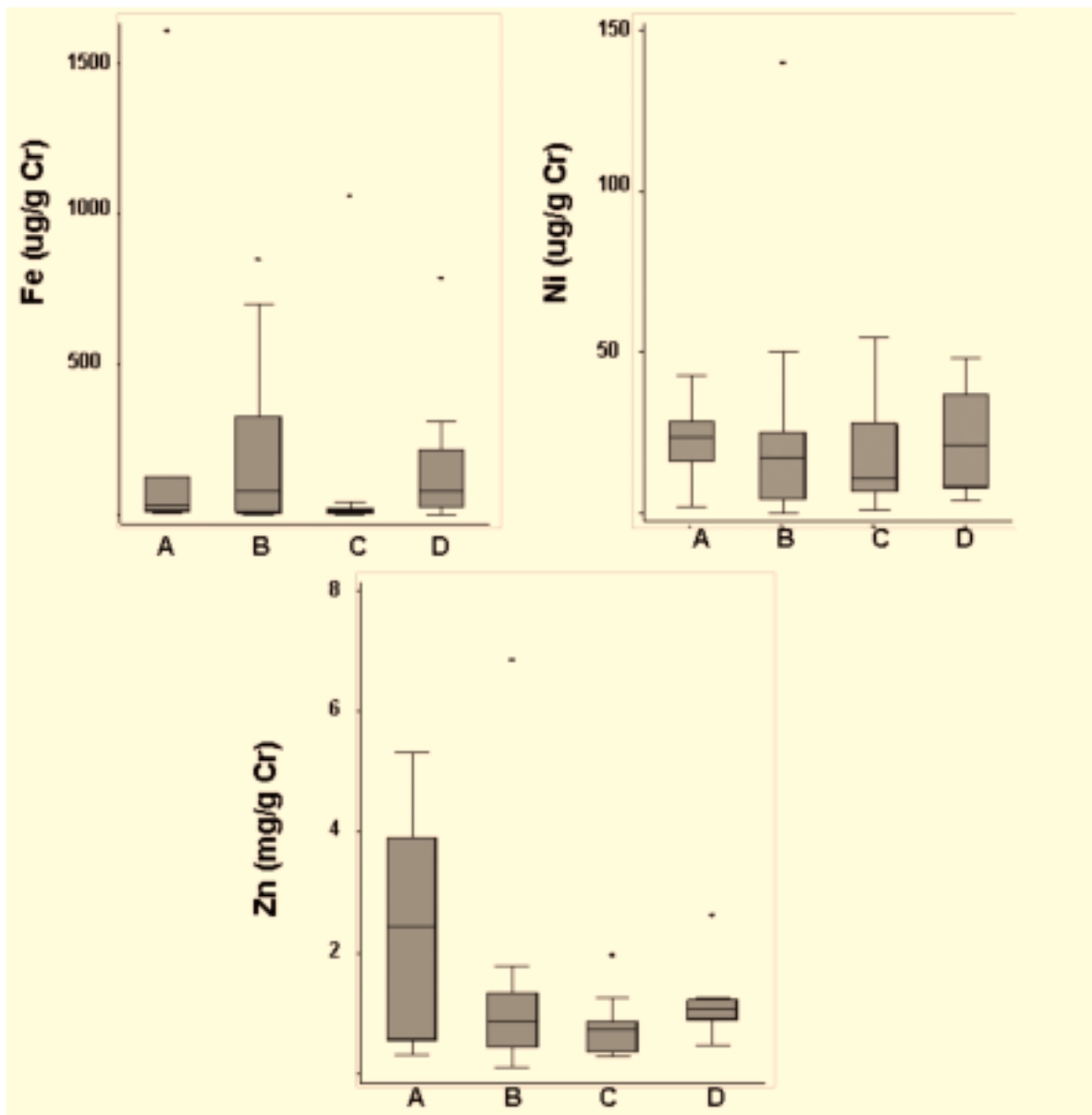
Elements	Protein carbonyl		TAS	
	Spearman's rho	p value	Spearman's rho	p value
Fe	0.208	0.084	-0.254	0.034
Ni	0.463	<0.001	-0.453	<0.001
Zn	0.295	0.014	-0.269	0.025



รูปที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบค่า Fe, Ni และ Zn ในปัสสาวะของผู้ป่วย low grade tumor และ high grade tumor

กับอาชีพของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ พบว่า ผู้ป่วยส่วนใหญ่ทำงานในสำนักงานหรือเป็นข้าราชการร้อยละ 39 (16/41) รองลงมาคือ อาชีพเกษตรกรทำนา ทำไร่ ปลูกพืช และเลี้ยงสัตว์ ร้อยละ 27 (11/41) อาชีพทำเหมืองแร่หรือทำงานเกี่ยวกับโลหะหนักร้อยละ 15 (6/41) และอาชีพอื่นๆ ร้อยละ 19 (8/41) เช่น ค้าขายผัก ค้าขายทั่วไป ชาย

ปาท่องเที่ยว เป็นต้น การศึกษานี้พบว่าระดับ nickel และ zinc ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่มีอาชีพทำเหมืองแร่หรืองานเกี่ยวกับโลหะหนักมีปริมาณสูงกว่าในผู้ป่วยที่ทำอาชีพเกษตรกรและทำงานในสำนักงานตามลำดับ (รูปที่ 4) สำหรับปริมาณ iron ในปัสสาวะของกลุ่มอาชีพเกษตรกรพบสูงกว่าในกลุ่มอาชีพอื่น



รูปที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบค่าของ Fe, Ni และ Zn จำแนกตามอาชีพของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (A = ทำเหมืองแร่หรือทำงานเกี่ยวกับโลหะหนัก, B = เกษตรกร, C = ทำงานในสำนักงานหรือเป็นข้าราชการ, D = อื่นๆ เช่น ค้าขาย)

วิจารณ์

ในชีวิตประจำวันคนเรามีความเสี่ยงต่อการได้รับสารเคมีที่ก่อมะเร็ง เข้าสู่ร่างกายผ่านทางอาหารหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนสารก่อมะเร็ง โดยเฉพาะคนในชุมชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณโรงงานอุตสาหกรรมที่ขาดจิตสำนึกรับผิดชอบต่อสังคม มีการปล่อยกากของเสีย สารเคมี รวมถึงเศษโลหะหนัก สู่สิ่งแวดล้อมโดยไม่ผ่านการบำบัดที่เหมาะสม ซึ่งเป็นปัญหาลึกลับแฝงตัวที่สำคัญของทั้งประเทศกำลังพัฒนาและประเทศที่พัฒนาแล้ว อันเป็นผลพวงมาจากการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจและการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม ปัญหามลพิษในสิ่งแวดล้อมเหล่านี้สัมพันธ์กับอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมะเร็งที่สูงขึ้น รวมทั้งมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ ทำให้ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อหาสาเหตุของโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะที่เกิดจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมและอาชีพการทำงานกันมากขึ้น จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะร้อยละ 5-25 มีปัจจัยเสี่ยงจากอาชีพการงาน เช่น ผู้ป่วยที่ทำงานในเหมืองหรืองานเกี่ยวกับโลหะมีระดับของโลหะหนักในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้นในอีกหลายกลุ่มอาชีพ เช่น บาร์เทนเดอร์ บริการด้านสุขภาพ เกษตรกรรม ช่างซ่อมเครื่องใช้ไฟฟ้า การสื่อสาร การขนส่ง และโรงงานต่างๆ[17,18]

ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งกระเพาะปัสสาวะมีระดับของแร่ธาตุ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับคนปกติ และยังพบการเพิ่มขึ้นของตัวบ่งชี้ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน แสดงว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะมีภาวะเครียดจากออกซิเดชันสูงกว่าคนปกติ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเครียดจากออกซิเดชันกับระดับ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะ พบว่าระดับ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับภาวะเครียดจากออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Lin และคณะ[19] ที่พบว่าระดับ zinc และ selenium ในปัสสาวะของผู้ป่วย

มะเร็งกระเพาะปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ Mena และคณะ[20] รายงานว่าธาตุ iron และ nickel สามารถเร่งปฏิกิริยา Fenton reaction ได้ จึงสามารถเพิ่มการผลิตอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะ superoxide anion และ hydroxyl radical ในเซลล์ได้ ทำให้เกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชันขึ้น

Amaral และคณะ[21] พบว่าระดับของ nickel ในเส้นผมมีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ และสามารถใช้ระดับของ nickel ในเส้นผมเป็น biomarker ได้ ผลการศึกษานี้แนะนำว่าการวัดระดับ nickel ในปัสสาวะน่าจะใช้เป็นตัวบ่งชี้ภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งกระเพาะปัสสาวะได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อประเมินคุณค่าทางคลินิกของ urinary nickel และควรมีการศึกษาต่อไปถึงกลไกระดับเซลล์และโมเลกุลของ nickel-induced bladder cancer development สำหรับค่า calcium ที่ต่ำลงในปัสสาวะของผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะอาจเกิดจากการได้รับ calcium จากอาหารน้อยกว่าปกติ ทำให้ร่างกายมีการดูดซึม calcium กลับทางไตเพิ่มมากขึ้นเพื่อรักษาระดับของ calcium ในเลือดให้อยู่ในระดับปกติ ส่งผลให้ calcium ที่ขับออกทางปัสสาวะลดลง

ในการศึกษานี้ยังพบผู้ป่วยรายหนึ่งที่เคยทำงานเหมืองแร่ (หยุดทำงานมาแล้วประมาณ 10 ปี) มีระดับ iron สูงถึง 1609.52 $\mu\text{g/g}$ Cr (ค่าอ้างอิงไม่เกิน 250 $\mu\text{g/g}$ Cr[9]) มีระดับ nickel 28.57 $\mu\text{g/g}$ Cr (ค่าอ้างอิงไม่เกิน 5 $\mu\text{g/g}$ Cr[8]) และมีระดับ zinc 3.90 mg/g Cr (ค่าอ้างอิงไม่เกิน 0.375 mg/g Cr[9]) แสดงว่าการเป็นมะเร็งกระเพาะปัสสาวะของผู้ป่วยรายนี้น่าจะมีสาเหตุมาจากการได้รับโลหะหนักปริมาณมากอย่างเรื้อรัง ซึ่งเน้นย้ำว่าอาชีพที่สัมผัสกับโลหะหนักเป็นประจำเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ ดังนั้น คณะวิจัยแนะนำว่าผู้ที่มิอาชีพที่สัมผัสกับโลหะหนักควรได้รับการตรวจระดับโลหะหนักในร่างกายอย่างสม่ำเสมอ เพื่อเฝ้าระวังการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ

การศึกษาค้นหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของมะเร็ง (high / low grade) กับระดับของโลหะหนักยัง

ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบแนวโน้มของ iron ในปัสสาวะที่สูงขึ้นในกลุ่ม high grade tumor ($p = 0.062$) คาดว่าหากมีจำนวนตัวอย่างที่เพิ่มมากขึ้นน่าจะช่วยให้บ่งบอกความสัมพันธ์ได้ดีขึ้น ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือมีจำนวนกลุ่มตัวอย่างน้อยทั้งกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะและกลุ่มควบคุม

โดยสรุปผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะปัสสาวะมีภาวะเครียดจากออกซิเดชันและการขับออกของ iron, nickel และ zinc ในปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้น และการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุเหล่านี้สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดจากออกซิเดชัน คณะผู้วิจัยตั้งสมมติฐานว่า iron, nickel และ zinc น่าจะมีบทบาทสำคัญในการเกิดมะเร็งกระเพาะปัสสาวะในคนไทย

เอกสารอ้างอิง

- Messing EM. Urothelial tumors of the bladder In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. Campbell-Walsh Urology 9th ed. Philadelphia: **WB Saunders**; 2007. p. 2407.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun M. Cancer statistics. **CA Cancer J. Clin.** 2009; 59: 225-49.
- Mitra AP, Birkhahn M, Penson DF, Cote RJ. Molecular screening for bladder cancer. In UpToDate, ed. BD Rose. Waltham, MA. 2009; UpToDate. <http://www.uptodate.com>. In press.
- Pelucchi C, Bosetti C, Negri E, Malvezzi M, La Vecchia C. Mechanisms of disease: the epidemiology of bladder cancer. *Nat. Clin. Pract. Urol* 2006; 3: 327-40.
- Cote RJ, Mitra AP, Amin MB. Bladder and urethra. In: Weidner N, Cote RJ, Suster S, Weiss LM, editors. Modern Surgical Pathology. Philadelphia: **Saunders**; 2009. In press.
- Ward EM, Sabbioni G, DeBord DG, Teass AW, Brown KK, et al. Monitoring of aromatic amine exposures in workers at a chemical plant with a known bladder cancer excess. *J. Natl. Cancer Inst.* 1996; 88: 1046-52.
- Hutaha S. Urinary bladder. In: Khuaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P. editors. Cancer in Thailand Vol. IV 1998-2000. Bangkok: **Bangkok Medical Publisher**, 2007; 61-62.
- Sadetzki S, Bensal D, Blumstein T, Novikov I, Modan B. Selected risk factors for transitional cell bladder cancer. **Med Oncol.** 2000; 17(3): 179-82.
- Porru S, Aulenti V, Donato F, Boffetta P, Fazioli R, Cosciani CS, et al. Bladder cancer and occupation: a case-control study in northern Italy. **Occup Environ Med.** 1996; 53(1): 6-10.
- Volanis D, Kadiyska T, Galanis A, Delakas D, Logotheti S, Zoumpourlis V. Environmental factors and genetic susceptibility promote urinary bladder cancer. **Toxicol Lett.** 2010; 193(2): 131-37.
- Galanis A, Karapetsas A, Sandaltzopoulos R. Metal-induced carcinogenesis, oxidative stress and hypoxia signaling. **Mutat Res.** 2009; 674: 31-35.
- Yuan JM, Chan KK, Coetzee GA, Castella JE, Watson MA, Bell DA, et al. Genetic determinants in the metabolism of bladder carcinogens in relation to risk of bladder cancer. **Carcinogenesis** 2008; 29: 1386-93.
- Reid TM, Feig DI, Loeb LA. Mutagenesis by metal-induced oxygen radicals. **Environ Health Perspect.** 1994; 102: 57-61.
- Yilmaz IA, Akçay T, Cakatay U, Telci A, Ataus S, Yalçın V. Relation between bladder cancer and protein oxidation. **Int Urol Nephrol.** 2003; 35(3): 345-50.
- Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT. Urinary 8 hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. **Clin Chim Acta.** 2003; 334(1-2): 87-94.
- Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Schacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol** 1994; 233: 346-57.