

การประเมินอายุชีวภาพด้วยความยาวเทโลเมียร์

The Assessment of Biological Age Using Telomeres Length

บัณฑิตวรรณ ฐระพระ (Buntarawan Trapra)* ดร.โมลิน ว่องวัฒนากุล (Dr.Molin Wongwattanakul)**
ดร.พัชรี เจียรนัยกูร (Dr.Patcharee Jearanaikoon)*** ดร.จूरรัตน์ ดาดวง (Dr.Jureerut Daduang)***

บทคัดย่อ

อายุทางชีวภาพ (Biological age) เป็นอายุที่แสดงถึงสภาวะภายในร่างกาย ซึ่งอาจเท่ากับหรือต่างจากอายุตามวันเกิดจากปฏิทิน (Chronological age) ขึ้นอยู่กับการดูแลสุขภาพและปัจจัยเสี่ยงจากภายในร่างกายและสภาพแวดล้อมของแต่ละบุคคล วิธีประเมินอายุชีวภาพหนึ่งที่ได้รับการยอมรับมากในปัจจุบันคือการศึกษาความยาวของเทโลเมียร์ ซึ่งความยาวของเทโลเมียร์จะหดสั้นลงในทุก ๆ ขั้นตอนการแบ่งเซลล์ การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับอายุปฏิทินและยังทำการเปรียบเทียบอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพที่ได้จากความยาวเทโลเมียร์และเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกาย จากกลุ่มตัวอย่างเพศหญิงจำนวน 15 คน ที่มีอายุตั้งแต่ 21-58 ปี เปรียบเทียบกับอายุปฏิทิน และยังทำการเปรียบเทียบอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพที่ได้จากความยาวเทโลเมียร์และเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกาย ผลการศึกษาแสดงให้เห็นความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างอายุปฏิทินและอายุทางชีวภาพจากความยาวของเทโลเมียร์ และเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกาย ($p\text{-value} = 0.000$) อย่างไรก็ตามควรมีการพิจารณาขนาดตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อการศึกษาต่อไป

ABSTRACT

Biological age represents the real age of cells or organs depends on the health conditions. This age may be equal or different from chronological age which is identified by a person's birthdate. Recently, the length of telomere is an accepted method to identify biological age due to the shortened during each cell division process. This study aimed to evaluate the biological age from telomere length and, minor, compared the biological age with another approach, body scan machine. 15 women with 21-58 years old were include in this study. The result shown the significant correlation between chronological age and biological age from telomere length and body scan machine ($p\text{-value} = 0.000$). However, more sample size should be considered for further study.

คำสำคัญ: เทโลเมียร์ อายุทางชีวภาพ อายุตามปฏิทิน

Keywords: Telomere, Biological age, Chronological age

*นักศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**อาจารย์ สายวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

อายุชีวภาพคืออายุร่างกายที่แท้จริงจากการทำงานของร่างกาย ที่เกิดความเสื่อมตามกระบวนการธรรมชาติตามช่วงวัยของมนุษย์ และอาจมีแนวโน้มที่อายุชีวภาพแตกต่างจากอายุตามปฏิทิน แสดงให้เห็นว่าอายุตามปฏิทินไม่สามารถบ่งบอกสภาวะสุขภาพตามช่วงวัยของมนุษย์แต่ละคนได้ การตรวจประเมินหาอายุชีวภาพสามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งวิธีหนึ่งที่ได้รับการยอมรับคือ การตรวจหาความยาวของเทโลเมียร์ ซึ่งเทโลเมียร์ (Telomere) คือโครงสร้างส่วนปลายของโครโมโซม ประกอบด้วยลำดับเบส TTAGGG เรียงตัวซ้ำ ๆ บนสายคู่ของดีเอ็นเอ มีความยาวประมาณ 5-15 กิโลเบส ทำหน้าที่ช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการรวมกันของโครโมโซม ช่วยคงสภาพโครโมโซมไม่ให้หดสั้นหรือถูกทำลายจากการแบ่งเซลล์ (End replication problem) ในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งความยาวเทโลเมียร์จะหดสั้นลง 50-100 คู่เบส (Srettabunjong S, 2014) โดยอายุ 20 ปี มีความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 8 กิโลเบส เมื่ออายุ 50 ปีจะเหลืออยู่ประมาณ 7 กิโลเบส และที่อายุ 100 ปีเหลือเพียง 4 กิโลเบส ซึ่งการหดสั้นของเทโลเมียร์จนถึงจุดวิกฤต (Hayflick limit) ส่งผลให้เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวได้อีกนำไปสู่สภาวะเสื่อมสภาพของเซลล์ (replicative senescence) แม้จะมีเอ็นไซม์เทโลเมอเรสทำหน้าที่ช่วยเพิ่มความยาวของเทโลเมียร์ด้วยกันเติมลำดับเบสไปยังส่วนปลายของโครโมโซม แต่กระบวนการทำงานของเอ็นไซม์ในร่างกายมีขีดจำกัด (Carlos LO et al, 2013) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมและการดูแลสุขภาพในแต่ละบุคคลที่แตกต่างกันส่งผลต่อความยาวเทโลเมียร์ เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ ขาดการออกกำลังกาย มลพิษทางอากาศ และโรคต่าง ๆ เช่น โรคอ้วน เบาหวาน ความดัน หัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น (Carulli L et al, 2016) พบว่าเทโลเมียร์มีความยาวสั้นกว่าปกติทำให้เกิดสภาวะชราเร็วขึ้น (Aging) หากมีความยาวกว่าปกติจะเข้าสู่สภาวะอมตะ (Immortalization) เสี่ยงต่อการเป็นเนื้องอกหรือมะเร็ง จากการศึกษาของ Elizabeth H. และคณะ ในปี ค.ศ. 2009 ซึ่งได้รับรางวัลโนเบลทางการแพทย์ ค้นพบกลไกการป้องกันโครโมโซมไม่ให้ถูกทำลายด้วยโครงสร้างเทโลเมียร์ที่ปลายโครโมโซม และเอนไซม์เทโลเมอเรส (Telomerase) ที่ช่วยซ่อมแซมเทโลเมียร์ให้เป็นปกติ ซึ่งจากหลักการนี้ถือว่าความยาวของเทโลเมียร์มีคุณสมบัติเป็นตัวบ่งชี้อายุชีวภาพและเป็นองค์ความรู้ทางด้านการชะลอวัย แนวทางในการดำรงชีวิตให้มีอายุยืนยาว และนำไปสู่การพัฒนาวิธีการรักษาโรคอื่น ๆ อีกด้วย (Carlos LO et al, 2013)

สำหรับเทคนิคในการวิเคราะห์เพื่อหาความยาวเทโลเมียร์เพื่อประเมินอายุชีวภาพ มีหลากหลายวิธี ได้แก่ วิธี Terminal Restriction Fragmentation เป็นวิธีดั้งเดิมและยังเป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard) สามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นดีเอ็นเอ สามารถบอกความยาวเทโลเมียร์ในหน่วยกิโลเบส แต่ก็มีข้อจำกัดใช้ปริมาณดีเอ็นเอจำนวนมาก มีขั้นตอนซับซ้อน (Alison JM et al, 2014) วิธี Quantitative Real-time polymerase chain reaction เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากใช้ง่าย รวดเร็ว เหมาะแก่การนำมาวิเคราะห์หาเทโลเมียร์จากตัวอย่างเลือด (Naglaa FA et al, 2016) วิธี Real-time PCR มีหลักการในการช่วยเพิ่มดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาและสามารถวัดปริมาณดีเอ็นเอในแต่ละรอบของการทำปฏิกิริยาแบบทันที โดยอาศัยหลักการตรวจวัดสัญญาณสารเรืองแสงที่ถูกปล่อยออกมา ซึ่งปริมาณแสงที่วัดได้จะสัมพันธ์กับปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาในแต่ละรอบ จะแสดงผลอยู่ในรูปของค่า Ct (Cycle threshold) จากนั้นนำค่า Ct แทนในสูตรจะได้ค่า Relative telomere length (Sudinna H et al, 2008)

นอกจากนี้ยังสามารถประเมินอายุชีวภาพจากองค์ประกอบของร่างกายด้วยเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกาย ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันเนื่องจากใช้งานได้ง่าย โดยเครื่องมือชนิดนี้อาศัยหลักการส่งกระแสไฟฟ้าระดับต่ำไปยังร่างกายแล้ววัดความต้านทานต่อการไหลของกระแสในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย จากนั้นคำนวณองค์ประกอบภายในร่างกายเป็นอายุชีวภาพได้

ดังนั้นการศึกษาประเมินอายุชีวภาพของมนุษย์แต่ละบุคคล จากความยาวของเทโลเมียร์ และองค์ประกอบของร่างกาย จะช่วยเป็นแนวทางส่งเสริมป้องกันทางด้านสุขภาพของประชากร ให้มีสภาพร่างกายที่แข็งแรงมีแนวโน้มของสุขภาพที่ดีแม้มีอายุที่เพิ่มมากขึ้น ช่วยลดสัดส่วนจำนวนประชาชนที่จะเกิดโรคก่อนวัยอันควร

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อประเมินอายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์ และเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของอายุจากปฏิทินกับความยาวเทโลเมียร์
2. เพื่อศึกษาความแตกต่างของอายุชีวภาพที่ได้จากความยาวเทโลเมียร์และเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกาย

วิธีการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครเพศหญิง จำนวน 15 คน ช่วงอายุ 21-58 ปี การศึกษาได้ผ่านการรับรองจริยธรรมโดยคณะกรรมการการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE 602172 ซึ่งอาสาสมัครทุกรายได้ลงนามยินยอมให้ใช้ตัวอย่างเพื่อการศึกษาวิจัย

สถานที่และระยะเวลาในการทำการทดลอง

เก็บตัวอย่าง ณ ห้องปฏิบัติการชุมชน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง ตุลาคม 2561- มีนาคม 2562 การศึกษาอายุทางชีวภาพด้วยความยาวเทโลเมียร์

การสกัดจีโนมิกส์ ดีเอ็นเอ (Genomics DNA) จากชุดสกัด

ทำการวิเคราะห์ความยาวเทโลเมียร์ด้วยดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเม็ดเลือดขาว โดยนำเลือดจากหลอดเก็บเลือดชนิด EDTA มาปั่นเหวี่ยงตัวอย่างเลือดจำนวน 3,500 rpm 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการเก็บส่วนชั้นเม็ดเลือดขาว เพื่อนำไปสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอ (Genomics DNA) ด้วยชุดสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอสำเร็จรูป Thermo scientific GeneJET whole blood Genomic DNA Purification mini kit ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีขั้นตอนตามรายละเอียดในเอกสารประกอบน้ำยาโดยย่อ คือ เติมน้ำยา Proteinase K Solution 20 มิลลิลิตร ลงในเม็ดเลือดขาวปริมาตร 200 ไมโครลิตร ที่ได้จากการแยกเก็บ จากนั้นเติมน้ำยา Lysis Solution 400 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส 10 นาที เติมน้ำยา Ethanol 200 มิลลิลิตร ดูดสารละลายลงชุดคอลัมน์ (Spin column) จากนั้นปั่นล้างด้วยสารละลาย Wash Buffer 3 ครั้ง ทำการชะล้างเพื่อให้ได้ส่วนของดีเอ็นเอ (Elution) ด้วยสารละลาย Elution Buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในชุดคอลัมน์ บ่ม 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm เวลา 1 นาที และเก็บส่วนดีเอ็นเอที่ได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การวัดปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมดและการแยกทางไฟฟ้าโดยใช้เจล (Gel Electrophoresis)

วัดความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเอ จากการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260/280 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Nanodrop thermo scientific® ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของดีเอ็นเอ (A260) และ โปรตีน (A280) โดยค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ควรมีค่าอยู่ไม่ต่ำกว่า 1.8-1.9 ซึ่งถ้าต่ำกว่านี้แสดงว่ามีการปนเปื้อนของโปรตีนสูง จากนั้นตรวจสอบดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยวิธีการแยกทางไฟฟ้า ทำการเตรียมอะกาโรสเจล (Agarose gel) 0.3 กรัม ต่อ 0.5X TAE buffer 30 มิลลิลิตร ผสมและละลายให้เข้ากัน เติมน้ำยา red safe ปริมาณ 1 ไมโครลิตร และหยดดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตรที่ผสมกับสารละลาย VC1kb DNA lab 2 ไมโครลิตรแล้ว ลงในเจล แยกดีเอ็นเอโดยใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ เวลา 25 นาที และอ่านผลด้วยเครื่องกำเนิดแสงยูวี (UV transilluminator)

การศึกษาความยาวเทโลเมียร์ด้วยวิธี Quantitative Real-time PCR

แสดงผลการศึกษาความยาวเทโลเมียร์ด้วยค่า Relative telomere length ที่ได้จากการเปรียบเทียบค่า ct (Cycle threshold) จากการทำ Quantitative Real-time PCR ระหว่างไพรเมอร์เทโลเมียร์ และ single copy gene ชนิด 36B4 (60S acidic ribosomal protein P0) ซึ่งเป็นยีนควบคุมการแสดงออก โดยลำดับเบสไพรเมอร์ (Primers) ที่ใช้ได้แก่

Telomere (Forward): CGG TTT GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT TGG GTT
Telomere (Reward): GGC TTG CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT TAC CCT
36B4 (Forward): CAG CAA GTG GGA AGG TGT AAT CC และ
36B4 (Reward): CCC ATT CTA TCA TCA ACG GGT ACA A

ปริมาณสารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย SYBR master mix ปริมาณ 12.5 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ชนิด Forward ปริมาณ 0.75 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ชนิด Reward ปริมาณ 0.75 ไมโครลิตร น้ำ (Nuclease free) ปริมาณ 6 ไมโครลิตร DNA template ปริมาณ 5 ไมโครลิตร สภาวะที่ใช้ในการทำ Quantitative Real-time PCR เริ่มจาก 95 °C เวลา 10 นาที 95 °C เวลา 15 วินาที และ 54 °C เวลา 1 นาที จำนวน 40 รอบ

การศึกษาอายุทางชีวภาพด้วยเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย

การวิเคราะห์อายุชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกายรุ่น AccunIQ BC300 ประเทศเกาหลี โดยทำการชั่งน้ำหนัก กรอกข้อมูลเพศ อายุ ส่วนสูง เครื่องจะทำการวัดองค์ประกอบของร่างกายจากการคำนวณความต้านทานไฟฟ้าที่มีกระแสไฟฟ้าระดับต่ำขนาดน้อยกว่า 1 มิลลิแอมป์ผ่านร่างกาย (Bioelectrical Impedance Analysis) และประมวลผลแสดงข้อมูลค่าองค์ประกอบของร่างกายดัชนีมวลกาย (BMI) เปอร์เซ็นต์ไขมันในร่างกาย วิเคราะห์สภาวะโรคอ้วนบริเวณช่องท้อง วิเคราะห์ไขมันและกล้ามเนื้อแบบแยกจากส่วนแขนซ้าย-ขวา, ขาซ้าย-ขวา และลำตัว พร้อมทั้งประเมินอายุทางชีวภาพ

วิเคราะห์ผลความยาวเทโลเมียร์จากโนมิสดีเอ็นเอ

นำจีโนมิกส์ดีเอ็นเอส่งไปวิเคราะห์เพื่อหาความยาวเทโลเมียร์จากบริษัท Mediage® ประเทศเกาหลี ผลการวิเคราะห์แสดงความยาวเทโลเมียร์ในหน่วยกิโลเบสแฟร์และอายุชีวภาพที่วิเคราะห์จากความยาวเทโลเมียร์

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพ และวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูล โดยการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อการวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบสมมติฐานของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่สัมพันธ์กัน (Paired Samples t-test) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสองค่าว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ โดยค่าเฉลี่ยทั้งสองค่านี้นี้มาจากกลุ่มตัวอย่างที่สัมพันธ์

ผลการวิจัย

การวัดปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอ

ผลการวัดปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอ พบว่าปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ในกลุ่มตัวอย่างมีปริมาณ 10 - 51.5 ng/μl และการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ที่การดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 260/280 นาโนเมตร ค่าที่ได้อยู่ที่ 1.80 - 1.97 ถือว่าอยู่ในช่วงมาตรฐาน ดีเอ็นเอมีความบริสุทธิ์ไม่ปนเปื้อนโปรตีน

ผลการประเมินอายุปฏิทินกับอายุทางชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์

ผลการประเมินอายุปฏิทินกับอายุทางชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์ ในกลุ่มตัวอย่างที่มีอายุตามปฏิทินอยู่ระหว่าง 21- 58 ปี พบว่ามีอายุชีวภาพที่วิเคราะห์ได้จากความยาวเทโลเมียร์อยู่ระหว่าง 16.60-60.90 ปี โดยมีความยาวเทโลเมียร์ระหว่าง 6.36-10.79 กิโลเบส ดังแสดงในตารางที่ 1

ผลการประเมินอายุปฏิทินกับอายุทางชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกายรุ่น AccunIQ BC300

ผลการประเมินในกลุ่มตัวอย่างที่มีอายุตามปฏิทินอยู่ระหว่าง 21- 58 ปี พบว่ามีอายุชีวภาพที่วิเคราะห์ได้จากเครื่องวัดองค์ประกอบอยู่ระหว่าง 21-57 ปี ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการประเมินอายุตามปฏิทินและอายุทางชีวภาพ

ลำดับ	อายุตามปฏิทิน	อายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์	อายุชีวภาพจากเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกาย	ความยาวเทโลเมียร์
	(ปี)	(ปี)	(ปี)	(กิโลเบส)
1	21.00	23.30	21.00	10.12
2	22.00	16.60	23.00	10.79
3	24.00	27.40	22.00	9.71
4	26.00	19.80	24.00	10.47
5	32.00	27.30	31.00	9.72
6	33.00	41.70	35.00	8.28
7	35.00	43.20	34.00	8.13
8	38.00	35.30	38.00	8.92
9	40.00	40.60	39.00	8.39
10	42.00	39.60	41.00	8.49
11	48.00	40.90	48.00	8.36
12	50.00	52.30	49.00	7.22
13	51.00	50.30	51.00	7.42
14	57.00	60.90	59.00	6.36
15	58.00	51.50	57.00	7.30

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติระหว่างอายุปฏิทินกับอายุทางชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์และจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย

การคำนวณทางสถิติระหว่างอายุปฏิทินกับอายุทางชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์และอายุชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย อายุปฏิทินมีอายุเฉลี่ย 38.47 ปี ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 12.38 ปี อายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์มีอายุเฉลี่ย 38.05 ปี ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 12.98 ปี และอายุชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย มีอายุเฉลี่ย 38.13 ปี ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 12.65 ปี

ค่าสถิติสหสัมพันธ์ระหว่างอายุปฏิทินกับอายุทางชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์มีค่าเท่ากับ 0.918 เมื่อทดสอบค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์ มีค่า mean $\pm$ SD เท่ากับ 0.42 $\pm$ 5.17 ปี

และ มีค่า t-test เท่ากับ 0.31 ที่ *p-value* เท่ากับ 0.76 ดังนั้นการประเมินอายุทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กัน และอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์ที่ตรวจวิเคราะห์ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 2

ค่าสถิติสหสัมพันธ์ระหว่างอายุปฏิทินกับอายุทางชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย มีค่า 0.995 เมื่อทดสอบค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างทั้งอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย ค่า $maen \pm SD$ เท่ากับ 0.33 ± 1.23 ปี และค่า t-test เท่ากับ 1.04 ที่ *p-value* เท่ากับ 0.31 สถิติทดสอบ แสดงว่าอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพจากเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3

ค่าสถิติสหสัมพันธ์ระหว่างอายุทางชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์และจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย มีค่า 0.926 และเมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่าง 2 วิธี มีค่าความแตกต่างเฉลี่ยเท่ากับ 4.95 ± 1.27 ปี และ t-test 0.07 ที่ *p-value* เท่ากับ 0.9 แสดงว่าอายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์และจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 2 แสดงผลทางสถิติระหว่างอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์

อายุ	Mean (ปี)	SD	ความแตกต่างของสองวิธี	Correlation	t-test	<i>p-value</i>
			$maen \pm SD$ (ปี)			
อายุปฏิทิน	38.47	12.38	0.42 $\pm$ 5.17	0.918	0.31	0.76
อายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์	38.05	12.98				

ตารางที่ 3 แสดงผลทางสถิติระหว่างอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย

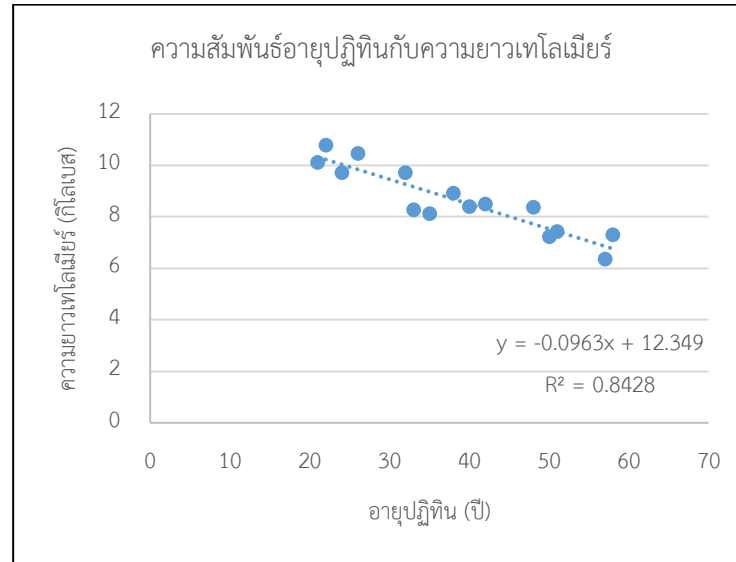
อายุ	Mean (ปี)	SD	ความแตกต่างของสองวิธี	Correlation	t-test	<i>p-value</i>
			$maen \pm SD$ (ปี)			
อายุปฏิทิน	38.47	12.38	0.33 $\pm$ 1.23	0.995	1.04	0.31
อายุชีวภาพจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย	38.13	12.65				

ตารางที่ 4 แสดงผลทางสถิติระหว่างอายุทางชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์และจากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย

อายุชีวภาพ	Mean (ปี)	SD	ความแตกต่างของสองวิธี	Correlation	t-test	<i>p-value</i>
			$maen \pm SD$ (ปี)			
จากความยาวเทโลเมียร์	38.05	12.98	0.09 $\pm$ 4.95	0.926	0.07	0.95
จากเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบร่างกาย	38.13	12.65				

จากการศึกษาอายุทางชีวภาพด้วยความยาวเทโลเมียร์ เป็นการประเมินในระดับดีเอ็นเอของตัวอย่างความยาวเทโลเมียร์แสดงผลในหน่วยกิโลเบส ซึ่งความยาวเทโลเมียร์จะสะท้อนอายุชีวภาพของแต่ละบุคคล โดยความยาวเทโลเมียร์ที่วัดได้จากตัวอย่างเปรียบเทียบกับความยาวเทโลเมียร์อ้างอิงในแต่ละกลุ่มช่วงอายุ ผลความสัมพันธ์ระหว่างอายุปฏิทินกับ

ความยาวเทโลเมียร์ R^2 เท่ากับ 0.8428 สมการเส้นตรงเป็นสมการเชิงถดถอย $y = -0.0963x + 12.349$ ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ในเชิงลบ กล่าวคือ เมื่อมีอายุเพิ่มมากขึ้น พบว่ามีความยาวเทโลเมียร์สั้นลง



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุปฏิทิน (ปี) กับความยาวเทโลเมียร์ (กิโลเบส)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการประเมินอายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์ในกลุ่มตัวอย่าง ด้วยการวิเคราะห์ผลต่างระหว่างอายุตามปฏิทินกับอายุชีวภาพ พบว่าข้อมูลมีการกระจายแตกต่างกันในแต่ละบุคคล โดยอายุชีวภาพของกลุ่มตัวอย่างอยู่ระหว่าง 21-58 ปี และมีความยาวเทโลเมียร์ 6.36-10.79 กิโลเบส เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์อายุชีวภาพกับความยาวเทโลเมียร์ในกลุ่มตัวอย่างมีค่า R^2 เท่ากับ 0.8428 การวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบอายุปฏิทินกับอายุชีวภาพที่วิเคราะห์ด้วยความยาวเทโลเมียร์และเครื่องวัดองค์ประกอบร่างกาย พบว่าอายุปฏิทินและอายุชีวภาพที่วัดได้จาก 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p\text{-value} < 0.01$ ซึ่งการที่มีอายุชีวภาพน้อยกว่าอายุปฏิทินถือว่าเป็นแนวโน้มที่ดีทางด้านสุขภาพ มีเกณฑ์สุขภาพที่ดีกว่าช่วงอายุ

การศึกษานี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าของ Srettabunjong S และคณะในปี 2014 ที่ได้ทำการประเมินอายุจากความยาวของเทโลเมียร์เพื่อใช้ในทางอาชญากรรมจากผู้เสียชีวิต ด้วยวิธี Telomere restriction fragment (TRF) ผลการทดลองอายุเพิ่มมากขึ้นความยาวเทโลเมียร์มีแนวโน้มลดลง และศึกษาความสัมพันธ์เทโลเมียร์กับอายุระหว่างเพศชายหญิง ในเพศชายและเพศหญิงมีความยาวของเทโลเมียร์ไม่แตกต่างกัน ผลการทดสอบพบว่าผู้ที่มีอายุน้อยกว่า 28 ปี จะมีความยาวเทโลเมียร์มากกว่า 6.3 กิโลเบส กลุ่มอายุ 30-44 ปี มีความยาวเทโลเมียร์อยู่ที่ช่วง 5.5-6.3 กิโลเบส และในกลุ่มที่อายุมากกว่า 46 ปี มีความยาวเทโลเมียร์น้อยกว่า 5.5 กิโลเบส นอกจากนี้ Ren F และคณะ 2009 ได้ทำการประเมินอายุของชาวทิเบตด้วยวิธี Telomere restriction fragment (TRF) ตั้งแต่แรกเกิดถึง 81 ปี พบว่า ช่วงอายุ 5-14 ปี มีความยาวเทโลเมียร์ 12.92 ± 0.89 กิโลเบส อายุ 15-64 ปี มีความยาวเทโลเมียร์เท่ากับ 11.61 ± 0.84 กิโลเบส และอายุมากกว่า 65 ปี มีความยาวเทโลเมียร์ 10.36 ± 0.41 กิโลเบส และจากการศึกษาของ Carulli L และคณะ ในปี 2016 ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบความยาวเทโลเมียร์ด้วย Quantitative Real-time polymerase chain

reaction เปรียบเทียบความยาวเทโลเมียร์ในหน่วย T/S Ratio ก่อนหลังการลดน้ำหนัก พบว่าเมื่อมีน้ำหนักลดลงมีนัยสำคัญต่อความยาวเทโลเมียร์

อย่างไรก็ตามยังมีรายงานที่พบค่าความคลาดเคลื่อนของอายุชีวภาพจากความยาวเทโลเมียร์ที่ต่างจากอายุปฏิทิน โดย Karlsson AO และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 ทำการวิเคราะห์ความยาวเทโลเมียร์เพื่อใช้ประเมินอายุชีวภาพเทียบกับอายุปฏิทิน ด้วยวิธี Quantitative Real-time polymerase chain reaction แสดงผลเป็นอัตราส่วนระหว่างเทโลเมียร์ต่อ single copy gene (T/S ratio) เป็นยืนยันควบคุมการแสดงออก พบว่าเมื่ออายุมากขึ้นอัตราส่วนระหว่างเทโลเมียร์ต่อ single copy gene จะลดลง แต่การนำอายุชีวภาพที่ได้ความยาวเทโลเมียร์มาวิเคราะห์อายุตามปฏิทินของตัวอย่าง มีค่าความคลาดเคลื่อนถึง 22 ปี การศึกษา Márquez RA และคณะ ในปี 2018 ทำการประเมินอายุจากความยาวของเทโลเมียร์ในทางอาชญากรรมจากตัวอย่างฟัน วิเคราะห์ด้วยวิธี Quantitative Real-time polymerase chain reaction ช่วงอายุ 18- 85 ปี อายุชีวภาพที่ได้ความยาวเทโลเมียร์มาวิเคราะห์อายุตามปฏิทินของตัวอย่าง มีค่าความคลาดเคลื่อนถึง 13.18 ปี

การศึกษานี้ช่วยยืนยันความสัมพันธ์ของความยาวเทโลเมียร์ที่สั้นลงเมื่อมีอายุที่เพิ่มมากขึ้น และพบว่าสามารถใช้ความยาวเทโลเมียร์ในการทำนายอายุชีวภาพซึ่งเป็นอายุจริงของร่างกายได้ รวมทั้งได้ทำการเปรียบเทียบอายุชีวภาพของร่างกายจากความยาวเทโลเมียร์และเครื่องมือที่สามารถวัดองค์ประกอบของร่างกาย และอายุตามปีปฏิทิน ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของทั้ง 3 วิธี อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น และควรเพิ่มกลุ่มตัวอย่างที่เป็นเพศชายเพื่อเปรียบเทียบว่าเพศมีผลต่อความยาวเทโลเมียร์

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยภายใต้โครงการวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนสนับสนุนโครงการวิจัยของศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์ สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- Alison JM, Areej AA, Marty M, Angela RS, Lynne WE, , & Kristin F et al. Telomere Length: A Review of Methods for Measurement. NIH Public access 2014; 63(4): 289–299.
- Carlos LO, Maria AB, Linda P, Manuel S, & Guido K. The Hallmarks of Aging. Europe PMC Author Manuscripts 2013; 153(6): 1194–1217.
- Carulli L, Anzivino C, Baldelli E, Zenobii MF, Rocchi MB, & Bertolotti M. Telomere length elongation after weight loss intervention in obese adults. Molecular Genetics and Metabolism 2016; 118(2): 138-142.
- Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider, & Jack W. Szostak. (2009). The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009. ค้นเมื่อ 18 ตุลาคม 2562, จาก<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2009/summary/>.
- Karlsson AO, Svensson A, Marklund A, & Holmlund G. Estimating human age in forensic samples by analysis of telomere repeats. Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2008; 1(1): 569–571

- Márquez RA, González HL, & Valenzuela A. Usefulness of telomere length in DNA from human teeth for age estimation. *The International Journal of Legal Medicine* 2018; 132(2): 353-359.
- Naglaa FA, & Abdelmonem GM. Telomere Length Measurement by Quantitative Real-time PCR: A Molecular Marker for Human Age Prediction. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2016; 12(1): 64-71.
- Ren F, Li C, & Xi H. et al. Estimation of human age according to telomere shortening in peripheral blood leukocytes of Tibetan. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 2009; 30: 252-255.
- Srettabunjong S, Satitsri S, Thongnoppakhun W, & Tirawanchai N. The Study on Telomere Length for Age Estimation in a Thai Population. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 2014; 35: 148-153.
- Sudinna H, Roland AO, Paul L, & Swati BH. Investigation of telomere lengths measurement by quantitative real-time PCR to predict age. *Legal Medicine* 2008; 10(5): 236-242.