

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของความแปรผันหลากหลายเมธิลีนเตตระไฮโดรโฟเลตรีดักเทส C677T และ A1982C ต่อประสิทธิผลและผลข้างเคียงของยาเมโทเทร็กซ์เททในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

The effect of Methylene tetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism on the efficacy (or toxicity) of methotrexate in psoriasis

คณะผู้วิจัย

นางเสาวรัตน์ เอื้อเพิ่มเกียรติ

นางอโณทัย โภคาธิกรณ์

นายพรพต ลีประเสริฐ

นางปารมี ทองสุกใส

นายรัชชัย เชื้อประไพศิลป์

นางสาวกนกพร จิรัฐติกาลวงศ์

นางสุนิสา ไทยจินดา

นางปนัดดา โคนันทน

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ประเภททั่วไป

ประจำปีงบประมาณ 2550 รหัสโครงการ MED5022020353S

ชื่อโครงการ ผลของความแปรผันหลากหลายเมธิลีนเตตระไฮโดรโฟเลทรีดักเทส C677T และ A1982C ต่อประสิทธิผลและผลข้างเคียงของยามเมโทเทร็กซ์เซทในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

The effect of Methylene tetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism on the efficacy (or toxicity) of methotrexate in psoriasis

ชื่อคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ สกุล นางเสาวรัตน์ เอื้อเพิ่มเกียรติ (Mrs. Sauvarat Auepemkiate)
คุณวุฒิ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พยาธิชีววิทยา)
แพทยศาสตรบัณฑิต อนุมัติบัตร ตจวิทยา
ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์
หน่วยงาน หน่วยพยาธิกายวิภาค ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
โทรศัพท์ 074 451591
สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 50 %

ผู้ร่วมวิจัย 1

ชื่อ สกุล นางอโนทัย โภคาธิกรณ์ (Mrs. Anothai Pocathikorn)
คุณวุฒิ ปรัชญาคุณวุฒิปบัณฑิต (ชีวเคมีคลินิก)
ตำแหน่ง นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ
หน่วยงาน หน่วยเคมีคลินิก ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
โทรศัพท์ 074 451563
สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 15 %

ผู้ร่วมวิจัย 2

ชื่อ สกุล นายพรพต ลีมประเสริฐ (Mr. Pornprot Limprasert)
คุณวุฒิ แพทยศาสตรบัณฑิต, PhD. (Human Genetics)

อนุมัติบัตร American Board of Medical Genetics (Clinical Molecular Genetics)

ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์
หน่วยงาน หน่วยพันธุศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
โทรศัพท์ 074 451584
ผู้มีส่วนที่ทำงานวิจัย 10 %

ผู้ร่วมวิจัย 3

ชื่อ สกุล นางปารมี ทองสุกใส (Mrs. Paramee Thongsuksai)
คุณวุฒิ แพทยศาสตรบัณฑิต วุฒิบัตร พยาธิวิทยาภายในภาค
ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์
หน่วยงาน หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
โทรศัพท์ 074 451591
ผู้มีส่วนที่ทำงานวิจัย 5 %

ผู้ร่วมวิจัย 4

ชื่อ สกุล นายธวัชชัย เชื้อประไพศิลป์ (Mr. Thavatchai Chuaprapaisilp)
คุณวุฒิ แพทยศาสตรบัณฑิต วุฒิบัตร ตจวิทยา
ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์
หน่วยงาน หน่วยโรคผิวหนัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
โทรศัพท์ 074 451755
ผู้มีส่วนที่ทำงานวิจัย 5 %

ผู้ร่วมวิจัย 5

ชื่อ สกุล นางสาวกนกพร จิรัฐติกาลวงศ์ (Miss Kanokphorn Chiratikarnwon)
คุณวุฒิ แพทยศาสตรบัณฑิต วุฒิบัตร ตจวิทยา
ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงาน หน่วยโรคผิวหนัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
โทรศัพท์ 074 451755
สัดส่วนที่ทำวิจัย 5 %

ผู้ร่วมวิจัย 6

ชื่อ สกุล นางสุนิสา ไทยจินดา (Mrs. Sunisa Thaichinda)
คุณวุฒิ แพทยศาสตรบัณฑิต วุฒิบัตร ตจวิทยา
ตำแหน่ง นายแพทย์ 9
หน่วยงาน งานโรคผิวหนัง กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลหาดใหญ่
โทรศัพท์ 074 273100
สัดส่วนที่ทำวิจัย 5 %

ผู้ร่วมวิจัย 7

ชื่อ สกุล นางปนัดดา โคนันทน (Mrs. Panadda Konandana)
คุณวุฒิ แพทยศาสตรบัณฑิต วุฒิบัตร ตจวิทยา
ตำแหน่ง นายแพทย์ 8
หน่วยงาน อายุรกรรมผิวหนัง โรงพยาบาลสงขลา
โทรศัพท์ 074338100
สัดส่วนที่ทำวิจัย 5 %

สารบัญ

สารบัญ	จ
รายการตาราง.....	ช
รายการภาพประกอบ	ฅ
กิตติกรรมประกาศ.....	ญ
บทคัดย่อ.....	ฉ
Abstract	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
หลักการและเหตุผล	1
วัตถุประสงค์.....	2
ขอบเขตของโครงการ	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	7
การคำนวณขนาดตัวอย่าง	7
กลุ่มประชากรตัวอย่าง	8
ขั้นตอนการเก็บรวบรวมข้อมูล	9
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	12
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	13
ผลของสลิปส์ตำแหน่ง <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ต่อประสิทธิผลและผลข้างเคียงใน การรักษาด้วยยา MTX	13
ลักษณะผู้ป่วย.....	13
ความสัมพันธ์ระหว่างสลิปส์ ตำแหน่ง <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ต่อประสิทธิผลของยา MTX.....	15
ความถี่ของสลิปส์ตำแหน่ง <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน	24
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา.....	34

การศึกษาความสัมพันธ์ของสปีลส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C กับประสิทธิผลและผลข้างเคียงในการรักษาด้วยยา MTX.....	34
การศึกษาความถี่ของ C677T และ A1298C ซึ่งเกี่ยวข้องกับอาการเมแทบอลิต์ ยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน.....	36
ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป.....	36
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก	42

รายการตาราง

ตารางที่ 1 ลักษณะของผู้ป่วยสะกดเงินที่ได้รับยา MTX.....14

ตารางที่ 2 ลักษณะของผู้ป่วยสะกดเงินที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อยา MTX16

ตารางที่ 3 ความถี่แอลลีลของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา17

ตารางที่ 4 ความถี่จีโนไทป์ของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา18

ตารางที่ 5 จีโนไทป์ของ C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา18

ตารางที่ 6 ความถี่แอสโทพลไทป์แบบต่างๆ ของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX กับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา20

ตารางที่ 7 ลักษณะผู้ป่วยที่มีอาการข้างเคียงจากการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง.....21

ตารางที่ 8 ความถี่แอลลีลของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจาก MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง22

ตารางที่ 9 ความถี่จีโนไทป์ของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจาก MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง22

ตารางที่ 10 จีโนไทป์ของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ระหว่างกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจากยา MTX กับกลุ่มที่ไม่มีอาการ23

ตารางที่ 11 ความถี่แอสโทพลไทป์แบบต่างๆ ของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินที่มีอาการข้างเคียงจากการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง24

ตารางที่ 12 การทดสอบสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กและค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (Observed Heterozygosity) ในกลุ่มควบคุม ของสไนป์ส์ *MTHFR* C677T และ A1298C25

ตารางที่ 13 ความถี่แอลลีลของสניป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงิน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	25
ตารางที่ 14 ความถี่จีโนไทป์ของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงิน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	26
ตารางที่ 15 จีโนไทป์ของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ระหว่างผู้ป่วยสะกัดเงินกับกลุ่มควบคุม.....	26
ตารางที่ 16 ความถี่แฮพโลไทป์แบบต่างๆ ของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในกลุ่ม ผู้ป่วยสะกัดเงินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม.....	27
ตารางที่ 17 ความถี่แอลลีลของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงินเพศ ชายเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศชาย.....	28
ตารางที่ 18 ความถี่จีโนไทป์ของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงินเพศ ชายเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศชาย.....	28
ตารางที่ 19 จีโนไทป์ของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ระหว่างผู้ป่วยสะกัดเงินเพศชายกับกลุ่มควบคุมเพศชาย.....	29
ตารางที่ 20 ความถี่แอลลีลของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงินเพศ หญิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง.....	30
ตารางที่ 21 ความถี่จีโนไทป์สนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงินเพศหญิง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง.....	30
ตารางที่ 22 จีโนไทป์ของสนิป์ส์ <i>MTHFR</i> C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ระหว่างผู้ป่วยสะกัดเงินเพศหญิงกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง.....	31
ตารางที่ 23 ผลการเปรียบเทียบความถี่แฮพโลไทป์แบบต่างๆ ของสนิป์ส์ C677T และ A1298C ในผู้ป่วยสะกัดเงินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศชาย.....	32
ตารางที่ 24 ผลการเปรียบเทียบความถี่แฮพโลไทป์แบบต่างๆ ของสนิป์ส์ C677T และ A1298C ในผู้ป่วยสะกัดเงินเพศหญิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง.....	33

รายการภาพประกอบ

รูปที่ 1	กลไกการออกฤทธิ์ของ MTX	5
รูปที่ 2	ผลการศึกษาจีโนไทป์ของ polymorphism C677T บนเจดอะคริลาไมด์	11
รูปที่ 3	ผลการศึกษาจีโนไทป์ของสลิปส์ A1298C บนเจดอะคริลาไมด์	11
รูปที่ 4	แฮพโลไทป์บลิ๊อคของสลิปส์ <i>MTHFR</i> C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX กับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา.....	19
รูปที่ 5	แฮพโลไทป์บลิ๊อคของสลิปส์ <i>MTHFR</i> C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่มีอาการข้างเคียงจากการรักษาด้วยยา MTX และกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง	23
รูปที่ 6	แฮพโลไทป์บลิ๊อคของสลิปส์ <i>MTHFR</i> C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	27
รูปที่ 7	แฮพโลไทป์บลิ๊อคของสลิปส์ C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินเพศชายกับกลุ่มควบคุมเพศชาย	31
รูปที่ 8	แฮพโลไทป์บลิ๊อคของสลิปส์ C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินเพศหญิงกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง.....	32

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “ผลของความแปรผันหลากหลายเมธิลีนเตตระไฮโดรโฟเลทรีดักเทส C677T และ A1982C ต่อประสิทธิภาพและผลข้างเคียงของยามะโรเทร็กเซทในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน” สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยได้รับความร่วมมือและสนับสนุนจากอาจารย์และบุคลากรภายในภาควิชาพยาธิวิทยา หน่วยโรคผิวหนัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ งานโรคผิวหนัง กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลหาดใหญ่และแผนกอายุรกรรมผิวหนัง โรงพยาบาลสงขลา ทางผู้วิจัยจึงขอขอบคุณอาจารย์และบุคลากรมา ณ โอกาสนี้ ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนการวิจัยในโครงการนี้

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ความรู้พื้นฐาน: methotrexate (MTX) เป็นยาที่ใช้รักษาโรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) ซึ่งเป็นโรคผิวหนังอักเสบเรื้อรัง แต่ประมาณร้อยละ 20 ของผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อยา และยาามีผลข้างเคียงรุนแรง ปัจจุบันยังไม่มีตัวบ่งชี้ถึงการตอบสนองต่อยาหรือโอกาสเกิดผลข้างเคียงรุนแรงก่อนให้ยา

วัตถุประสงค์: ศึกษาความถี่ของ *MTHFR* C677T และ A1298C polymorphism ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินเทียบกับคนปกติ และศึกษาถึงความสัมพันธ์ของ *MTHFR* C677T และ A1298C polymorphism กับประสิทธิภาพในการรักษาและผลข้างเคียงของยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

วิธีการ: สกัดดีเอ็นเอและตรวจหา *MTHFR* C677T และ A1298C จากเลือดผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โรงพยาบาลหาดใหญ่ และโรงพยาบาลสงขลา จำนวน 187 ราย เปรียบเทียบกับเลือดกลุ่มควบคุมจากผู้บริจาคโลหิตจำนวน 205 ราย ในกลุ่มผู้ป่วยมีผู้ที่ได้รับการรักษาด้วย MTX ตามข้อบ่งชี้จำนวน 103 ราย ตรวจลักษณะทางคลินิก ตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อติดตามประสิทธิผลและผลข้างเคียงของยา

ผลการศึกษา: ความถี่จีโนไทป์ *MTHFR* C677T ของผู้ป่วยสะเก็ดเงินเป็น C/C ร้อยละ 71.12 C/T ร้อยละ 25.67 T/T ร้อยละ 3.21 และในจีโนไทป์ A1298C เป็น A/A ร้อยละ 58.29 A/C ร้อยละ 30.48 C/C ร้อยละ 11.23 ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่เมื่อแยกกลุ่มตามเพศพบว่าความถี่จีโนไทป์ *MTHFR* A1298C ในรูปแบบ dominant ของเพศหญิงแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p value = 0.02) ในผู้ป่วยที่ได้รับยา MTX มีความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของสไนป์ *MTHFR* C677T และ A1298C ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อยา หรือระหว่างกลุ่มที่มีผลข้างเคียงและไม่ผลข้างเคียง รวมทั้งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อวิเคราะห์ในรูปแบบ dominant และ recessive แต่เมื่อวิเคราะห์ในรูปแบบแฮพโลไทป์ พบว่า แฮพโลไทป์แบบ TA ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา มีความถี่ต่ำกว่ากลุ่มที่ตอบสนองต่อยา (p value = 0.046)

สรุป ไม่พบความสัมพันธ์ของสไนป์ *MTHFR* C677T และ A1298C กับประสิทธิภาพและผลข้างเคียงของยา methotrexate แต่พบว่าความถี่แฮพโลไทป์แบบ TA ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยามีแนวโน้มต่ำกว่ากลุ่มที่ตอบสนองต่อยา

Abstract

Background: Methotrexate (MTX) is used to treat psoriasis, but about 20 percent of patients do not respond to medication and some have severe side effects. At present, there is no predictive indicator of response or toxicity of the drug.

Objective: To determine the frequency of *MTHFR* C677T and A1298C polymorphism which metabolize MTX in psoriasis compared with normal subjects. And to study the relationship of these polymorphisms on the efficacy and toxicity of MTX in psoriasis patients.

Methods: DNA extraction and detection of *MTHFR* C677T and A1298C of 187 psoriasis patients in Songkhla Hospital, Hat Yai Hospital and Songklanagarind university hospital were done and compared with a control group of 205 blood donors. 103 patients had been treated with MTX. The clinical data and laboratory tests were collected to monitor the effectiveness and toxicity of the drug.

Results: The genotype frequencies of the psoriasis patients for *MTHFR* C677T are C/C: 71.12%, C/T: 25.67% and T/T: 3.21%. Those for A1298C are A/A: 58.29%, A/C: 30.48% and C/C: 11.23%, which are not significantly different from the control group. However, in females, the frequency of *MTHFR* A1298C in dominant model is significantly different compared with the control group (p value = 0.02). In patients receiving MTX, the allele and genotype frequencies of the two polymorphisms between the responders and nonresponders and between groups with and without adverse side effects are not different. There was no significant difference on dominant or recessive model analysis either. However, the haplotype analysis revealed that the frequencies of TA haplotype in the nonresponders were lower than those of the responders ($p = 0.046$).

Conclusion: There was no significant association of *MTHFR* C677T and A1298C polymorphisms and effectiveness and toxicity of the methotrexate in psoriasis patients. However, the frequencies of the haplotype TA in the nonresponders showed lower trend compared to the responders.

บทที่ 1

บทนำ

หลักการและเหตุผล

โรคสะเก็ดเงิน (psoriasis) เป็นโรคผิวหนังอักเสบเรื้อรังที่พบได้บ่อย อุบัติการณ์ของโรคประมาณ ร้อยละ 2 ของประชากร(1) สาเหตุอาจเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม ความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน หรือสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม อาการของโรคสะเก็ดเงินมีหลายรูปแบบ ทั้งที่เป็นปื้นแดงหนา เป็นตุ่ม มีขุยสะเก็ดหนา ที่หนังศีรษะ ตามลำตัวและแขนขา อาจเป็นเฉพาะที่หรือรุนแรงกระจายทั่วทั้งร่างกาย บางรายเป็นหนอง หรือเป็นผื่นแดงทั้งตัวทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิต หรือมีอาการของระบบอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น ข้ออักเสบ บางครั้งรุนแรงจนถึงมีอาการพิการทางข้อ ทำให้ข้อผิดรูป มีผลกระทบต่อคุณภาพและการดำเนินชีวิตของผู้ป่วย การรักษาสะเก็ดเงินประกอบด้วยการใช้ยาทา ยากิน ยาฉีด หรือการฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต ยากินที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ methotrexate (MTX), retinoids และ cyclosporin

MTX เป็นยาที่ใช้มานาน วิธีการบริหารง่าย ราคาถูก ประสิทธิภาพในการรักษาดี ได้ผลรวดเร็ว นำมาใช้ในรายที่เป็นผื่นหรือหนองจำนวนมากและรุนแรง แต่ประมาณร้อยละ 20 ของผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อยา และยามีผลข้างเคียงที่อันตรายทั้งในระยะเฉียบพลันและแบบสะสมระยะยาว ได้แก่ เป็นพิษต่อไขกระดูก ทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวลดลง ทำลายไตและตับ ทำให้ตับอักเสบ และมีเนื้อเยื่อพังผืดเกิดขึ้นจนเกิดตับแข็งในที่สุด ประมาณร้อยละ 20-30 เกิดผลข้างเคียงของยาจนไม่สามารถใช้ยาได้(2,3) ปัจจุบันยังไม่มีปัจจัยบ่งชี้ก่อนให้ยาว่า ผู้ป่วยรายใดจะตอบสนองต่อยาได้ดี หรือรายใดจะไม่ได้ผล และรายใดมีโอกาสเกิดผลข้างเคียงรุนแรงน้อยหรือมาก ปัจจุบันในทางปฏิบัติใช้การประเมินลักษณะทางคลินิกหลังให้ยาผู้ป่วย และตรวจระดับของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับ AST และ ALT (aspartate และ alanine aminotransferase) ซึ่งไม่สามารถบอกถึงผลข้างเคียงแท้จริงที่เกิดขึ้นกับตับได้ ในสหรัฐอเมริกาใช้การเจาะชิ้นเนื้อตับส่งตรวจทางพยาธิวิทยาเพื่อบ่งบอกถึงผลข้างเคียงที่แท้จริง แต่เป็นวิธีการที่รุนแรง เสี่ยงต่ออันตรายที่จะเกิดขึ้นมาก เสียค่าใช้จ่ายสูง ต้องทำโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ ในประเทศไทยจึงมีการเจาะตรวจตับเพื่อการใช้ยา MTX น้อยมาก

MTX เป็นสารต่อต้านกรดโฟลิก (folic antagonist) ทำงานโดยยับยั้งเอนไซม์ dihydrofolate reductase (DHFR) ซึ่งเปลี่ยน dihydrofolate ไปเป็น tetrahydrofolate ความเป็นพิษของ MTX ขึ้นกับระดับ 5-methyltetrahydrofolate (5-CH₃-THF) ซึ่งถูกควบคุมโดยเอนไซม์

Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)(4) ดังนั้นการทำงานของ MTHFR จึงมีผลกับการตอบสนองต่อยาของผู้ป่วย ซึ่ง *MTHFR* gene มี single nucleotide polymorphism (SNP) สองตำแหน่งได้แก่ C677T และ A1298C ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในเอนไซม์ MTHFR และทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง การศึกษาในผู้ป่วย rheumatoid arthritis พบว่าผู้ที่มีแอลลีล T ของ C677T มีโอกาสเสี่ยงต่อผลข้างเคียงของยา MTX สูงกว่าผู้ที่มี wild type CC และยา MTX ให้ผลการรักษาในผู้ที่มีแอลลีล C ของ A1298C ดีกว่าผู้ที่มีแอลลีล A

ปัจจุบันนี้การศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง ยีน *MTHFR* SNP กับผลของ MTX ในผู้ป่วย สะเก็ดเงินมีน้อย และที่สำคัญ ขณะนี้ยังไม่มีข้อบ่งชี้ใดที่จะช่วยประเมินความเสี่ยงต่อผลข้างเคียง หรือทำนายประสิทธิภาพของยาในผู้ป่วย ก่อนและระหว่างการรักษา ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง C677T และ A1298C SNP (สลิปส์) ของยีน *MTHFR* ในผู้ป่วยสะเก็ดเงิน กับผลข้างเคียงและประสิทธิภาพของยาในผู้ที่ได้รับยาตามข้อบ่งชี้ของมาตรฐานการรักษา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไปว่าสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งนี้ของยีน *MTHFR* สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นจากยาหรือไม่ รวมถึงการตอบสนองของรอยโรคต่อยา ซึ่งอาจนำมาเป็นหลักฐานประกอบในการเลือกใช้ยาในผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยในอนาคต เพื่อเป็นแนวทางการรักษาที่ได้ผลดีที่สุด ผลข้างเคียงน้อยที่สุด จะทำให้ผู้ป่วยสามารถดำรงชีวิตได้อย่างปกติสุข

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาถึงผลของสลิปส์ C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* ต่อประสิทธิภาพในการรักษา และผลข้างเคียงของยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน
2. ศึกษาถึงความถี่ของสลิปส์ C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

ขอบเขตของโครงการ

ศึกษาความถี่ของสลิปส์ C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* และศึกษาผลของสลิปส์ C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* ต่อประสิทธิภาพในการรักษาและผลข้างเคียงของยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่มาตรวจรักษาในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โรงพยาบาลหาดใหญ่ และโรงพยาบาลสงขลา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อให้ทราบว่าสปีส์ C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* สัมพันธ์กับโรคสะกดเงินหรือการตอบสนองของโรคต่อ MTX และผลข้างเคียงของยาหรือไม่ และอาจสามารถนำไปใช้เป็นข้อบ่งชี้ถึงการตอบสนองของรอยโรคในผู้ป่วยและผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้น นำมาใช้ตรวจคัดกรองก่อนการรักษาเพื่อลดความเสียหายและความเสี่ยงจากพิษของยาในผู้ป่วยแต่ละรายในอนาคต

บทที่ 2

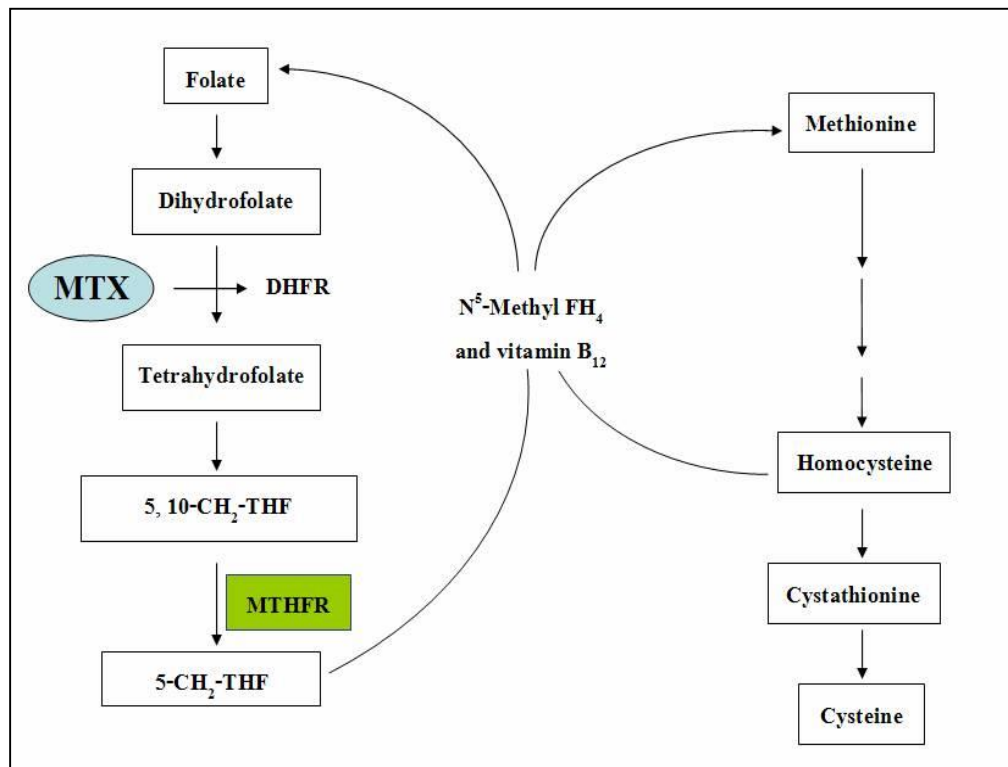
การตรวจเอกสาร

MTX เป็น folic acid antagonist เริ่มนำมาใช้ในการรักษา leukemia ในเด็กตั้งแต่ปี พ.ศ. 2490 ส่วนผลการรักษาที่ดีในคนไข้สะเก็ดเงิน psoriatic arthritis และ rheumatoid arthritis ได้มีรายงานไว้ในปี พ.ศ. 2494 โดย Gubner ต่อมาในช่วงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2503 มีการใช้ MTX ขนาดต่ำเพื่อรักษาโรคสะเก็ดเงินอย่างแพร่หลายและได้รับการรับรองให้ใช้รักษาโรคนี้โดย The United States Food and Drug Administration (FDA) ในสหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ. 2514 จนกระทั่งปัจจุบันแม้ว่าจะมีการนำยากุ่มใหม่อื่น ๆ มาใช้ในการรักษา แต่ MTX ยังคงเป็นยาที่มีประสิทธิวิพามากที่สุด และเป็นข้อบ่งชี้ของการรักษาตามมาตรฐานในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่มีอาการรุนแรง เช่น ผื่นแดงทั้งตัว เป็นหนอง หรือมีอาการปวดข้อร่วมด้วย MTX มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โดยแย่งจับกับ DHFR ลดการสร้างสารซึ่งกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนัง ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันโดยเฉพาะ T cell กลับสู่ภาวะปกติ จึงมีผลในการรักษาโรคสะเก็ดเงิน(1) ส่วนการรักษา rheumatoid arthritis เริ่มต้นในช่วงปี พ.ศ. 2523 โดยได้รับการรับรองจาก FDA เมื่อปี พ.ศ. 2531 อย่างไรก็ตามประมาณร้อยละ 20 ของผู้ป่วยสะเก็ดเงินไม่ตอบสนองต่อยา และยังมีผลข้างเคียงที่อันตรายทั้งในระยะเฉียบพลันและแบบสะสมระยะยาว โดยประมาณร้อยละ 20-30 เกิดผลข้างเคียงของยาจนไม่สามารถใช้ยาต่อไปได้ ผลข้างเคียงได้แก่ ทำให้เกิดอาการผิดปกติในทางเดินอาหาร คลื่นไส้ อาเจียน มีแผลในช่องปาก เป็นพิษต่อไขกระดูก ทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดงลดลง มีผลต่อระบบประสาท ทำลายไตและตับ ทำให้ตับอักเสบและมีเนื้อเยื่อพังผืดเกิดขึ้นจนเกิดตับแข็งในที่สุด(2,5) พบว่าบางรายเกิดผลข้างเคียงของยามาก ตั้งแต่ให้ยาในระยะแรก ทั้งๆที่ในปริมาณไม่สูงมาก แต่บางรายเกิดผลข้างเคียงน้อยมากทั้งในระยะแรกและแม้ให้ยาต่อไปอีกในระยะยาว(2)

กลไกการทำงานของ MTX เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องใน folate metabolism ซึ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ และกรดอะมิโน(4) เมื่อยา MTX เข้าสู่เซลล์แล้วจะถูกกระตุ้นด้วย folypolyglutamate synthase (FPGS) ให้เปลี่ยนเป็น MTX polyglutamate (MTXPG) ซึ่งจะไปยับยั้งการสร้าง folate(6) โดยยับยั้ง DHFR ซึ่งเปลี่ยน dihydrofolate (DHF) ไปเป็น tetrahydrofolate (THF)(7)

MTHFR เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของ folate metabolism pathway ทำหน้าที่เปลี่ยน 5,10-methylenetetrahydrofolate (5, 10-CH₂-THF) เป็น 5-methyltetrahydrofolate (5-CH₃-THF) ซึ่งเป็นตัวช่วยการสังเคราะห์ methionine จาก homocysteine(8) และมีผลต่อความเป็นพิษของ MTX เมื่อ activity ของ MTHFR ลดลง ปริมาณ 5-CH₃-THF จะน้อยลงทำให้การเปลี่ยน homocysteine เป็น

methionine ลดลงด้วย ระดับ plasma homocysteine จึงเพิ่มขึ้น มีผลกระทบไปถึงการตอบสนองต่อยา MTX(9–11) ความเกี่ยวข้องของ MTHFR และ MTX กับ folate pathway และการสังเคราะห์ methionine แสดงเป็นแผนภาพอย่างย่อได้ ดังรูป



รูปที่ 1 กลไกการออกฤทธิ์ของ MTX

MTX ยับยั้ง DHFR ซึ่งเปลี่ยน dihydrofolate ไปเป็น tetrahydrofolate เอนไซม์ MTHFR กระตุ้นให้ 5, 10-CH₂-THF เปลี่ยนเป็น 5-CH₃-THF ซึ่งเป็นตัวช่วยการสังเคราะห์ methionine จาก homocysteine และมีผลต่อความเป็นพิษของ MTX

C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* เป็น Single Nucleotide Polymorphism (SNP) สองตำแหน่ง ที่พบว่ามีผลต่อระดับการทำงานของเอนไซม์ MTHFR เนื่องจากเกิดขึ้นในส่วนที่สำคัญของ MTHFR คือใน catalytic domain และ regulatory domain(12) สำหรับ C677T เป็นการเปลี่ยนแปลงจาก Cytosine (C) เป็น Thymine (T) ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 677 ทำให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะมิโน (amino acid) ของ MTHFR จาก alanine เป็น valine(13) ส่วน A1298C เป็นการเปลี่ยนแปลงจาก adenine (A) เป็น C (cytosine) ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 1298 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจาก glutamine เป็น alanine พบว่าทั้งแอลลีล (allele) T ของ C677T และแอลลีล C ของ A1298C ทำให้ระดับของ MTHFR activity ลดลง(12,14) มีรายงานว่า C677T เป็น SNP ที่พบได้ในความถี่ค่อนข้างสูงทั้งในกลุ่มคอเคเซียนและเอเชีย โดยพบผู้ที่มียีนไทป์แบบ โฮโมไซกัส TT ร้อย

ละ 12–15 และพบผู้มีเฮเทอโรไซกัส CT สูงถึงร้อยละ 50(15,16) แต่ยังไม่มียางานมากนักถึงความชุกของ A1298C polymorphism

การศึกษาถึงผลของ SNP C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* ในผู้ป่วย rheumatoid arthritis พบว่าผู้ที่มีแอลลีล T ของ C677T มีโอกาสเสี่ยงต่อผลข้างเคียงของยา MTX สูงกว่าผู้ที่มี wild type CC(11,17) Kim et al(9) ศึกษาในผู้ป่วย rheumatoid arthritis ที่ได้รับ MTX จำนวน 385 รายพบว่าเกิดผลข้างเคียงทั้งสิ้นร้อยละ 40 เกิดในกลุ่มจีโนไทป์ TT ร้อยละ 54.2 odds ratio (OR) 4.7, 95% confidence interval (CI) 2.4-9.04 และในกลุ่มจีโนไทป์ CT ร้อยละ 49.2 มี OR 3.8, 95% CI 2.29-6.33 เมื่อเทียบกับจีโนไทป์ CC ซึ่งเกิดผลข้างเคียงเพียงร้อยละ 20.3 และการศึกษาอื่นๆ ให้ผลในทำนองเดียวกัน(10,11,17) แต่พบว่าประสิทธิภาพของยาไม่แตกต่างกันระหว่างจีโนไทป์ C677T ของ *MTHFR*(11,17) ในขณะที่มีการศึกษาพบว่าผู้ที่มีแอลลีล C ของ A1298C มีความไวต่อ ยา MTX คือต้องการระดับยาต่ำกว่าในการควบคุมอาการเมื่อเทียบกับผู้ที่มีแอลลีล A และกลุ่มที่มี แสพโทไทป์ 677CC-1298CC ตอบสนองต่อยาดีกว่าแสพโทไทป์อื่น(17) แต่ต่อมา Wessels et al กลับรายงานว่ายาทำให้อาการทางคลินิกในกลุ่มที่มีแอลลีล A ดีขึ้นกว่าผู้ที่มีแอลลีล C โดยศึกษาใน ผู้ป่วย rheumatoid arthritis ที่ได้รับ MTX จำนวน 205 ราย พบว่าผู้ที่มี 1298AC สัมพันธ์กับอาการ ทางคลินิกที่ดีขึ้นกว่ากลุ่มที่เป็นเฮเทอโรไซกัสของ 1298AC (OR 2.3, 95% CI 1.18-4.41) และ ผลการรักษาดีขึ้นในกลุ่มที่มีแสพโทไทป์ 677CC-1298AA ส่วนการเกิดผลข้างเคียงพบว่า กลุ่ม ที่มีแอลลีล C ของ A1298C สัมพันธ์กับการเกิดผลข้างเคียงมากกว่ากลุ่มที่ไม่มี(18) และกลุ่มแสพ โทไทป์ 677TT-1298AA เกิดผลข้างเคียงน้อยกว่าแสพโทไทป์อื่น(17)

การศึกษา SNP C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* ในโรคสะเก็ดเงิน มีเพียงหนึ่งรายงาน เท่านั้นจากประเทศจีน ซึ่งพบว่าผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินอาจสัมพันธ์กับ SNP C677T ในยีน *MTHFR* โดยศึกษาในผู้ป่วย 39 ราย พบผู้ป่วยมีจีโนไทป์ CC ร้อยละ 20.15 CT ร้อยละ 48.72 และ TT ร้อยละ 30.77 และความถี่แอลลีลของ C เป็น 0.45 และของ T เป็น 0.55 homozygous TT ของผู้ป่วย แตกต่างจากคนปกติ(19) และยังไม่เคยมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง ยีน *MTHFR* polymorphism กับผลของยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมาก่อน นอกจากนั้นในขณะนี้ยังไม่มีตัว วัดใดที่จะช่วยประเมินความเสี่ยงต่อผลข้างเคียงหรือทำนายประสิทธิภาพของยาในผู้ป่วยก่อนและ ระหว่างการรักษา(20)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

- ใช้ โปรแกรม Epi Info 2000, confidence level 95 %, Power 80 %, expected toxicity in CC genotype ร้อยละ 20, expected toxicity in CT ร้อยละ 49 และ TT ร้อยละ 54(13) กำหนดได้ขนาดตัวอย่าง 96 ราย สำหรับการศึกษาดังผลของ SNPs C677T (rs1801133) และ A1298C (rs1801131) ในยีน *MTHFR* ต่อประสิทธิผลในการรักษาและผลข้างเคียงของ MTX

Sample Size for Unmatched Case-Control Study	
For Two-sided confidence level (1-alpha)	95
Power (% chance of detecting)	80
Ratio of Controls to Cases	1
Hypothetical proportion of controls with exposure	20
Hypothetical proportion of cases with exposure	48.98
Least extreme Odds Ratio to be detected	3.84

Sample size/Methods	Kelsey	Fleiss	Fleiss with CC
Sample Size – Cases	43	42	48
Sample Size - Controls	43	42	48
Total sample size	86	84	96

คัดลอกจาก

Kelsey et al, Methods in Observational Epidemiology 2nd Edition, Table 12-15 Fleiss, Statistical Methods for Rates and Proportions, formulas 3.18 & 3.19, CC = continuity correction

Results are rounded up to the nearest integer. Print from the browser menu or select, copy, and paste to other programs. Results from OpenEpi, Version 2, open source calculator SSCC (<http://www.openepi.com/oe2.3/SampleSize/SSCC.htm>). Source file last modified on 09/21/2010 02:10:31.

2. การคำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อศึกษาความถี่ของ SNPs C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR*

$$\text{สูตร ขนาดตัวอย่าง} = (1.962)^2 P(1-P)/d^2,$$

Prevalence ของ C677T = 16%; d = 5%, ได้ขนาดตัวอย่าง 206 ราย

กลุ่มประชากรตัวอย่าง

กลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน โดยมี Inclusion criteria และ Exclusion criteria ดังนี้

Inclusion criteria

1. ผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน อายุมากกว่า 18 ปี ที่มีข้อบ่งชี้ในการใช้ MTX ในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โรงพยาบาลหาดใหญ่ และโรงพยาบาลสงขลาที่ยินยอมให้นำเลือดมาศึกษาผลของ SNPs C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* ต่อประสิทธิภาพการรักษาหรือผลข้างเคียงของยา และติดตามการรักษาได้ จำนวน 100 ราย (ตามวัตถุประสงค์ข้อหนึ่ง และผู้ป่วยต้องมีอายุมากกว่า 18 ปี ในกลุ่มนี้ เพื่อความปลอดภัยในการให้ยา)

ข้อบ่งชี้ในการใช้ MTX ได้แก่ ผู้ป่วยที่เป็น psoriatic erythroderma, pustular psoriasis, psoriasis ที่ฝ่ามือและฝ่าเท้าที่รุนแรง ไม่ตอบสนองต่อยาทา psoriasis ชนิด plaque ที่มีผื่นกระจายทั่วตัวมากกว่าร้อยละ 20 ของร่างกายและ psoriatic arthritis

2. ผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินทุกรายในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โรงพยาบาลหาดใหญ่ และโรงพยาบาลสงขลา ที่ยินยอมให้เจาะเลือดสำหรับการศึกษาความถี่ของ SNPs C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* จำนวน 100 ราย (ตามวัตถุประสงค์ข้อสอง)

Exclusion criteria

สำหรับผู้ป่วยที่จะศึกษาถึงผลของ SNPs C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR* ต่อประสิทธิภาพในการรักษาและผลข้างเคียงของยา MTX (ตามวัตถุประสงค์ข้อหนึ่ง) ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีข้อห้ามใช้ MTX ซึ่งได้แก่หญิงตั้งครรภ์และให้นมบุตร ผู้ป่วยที่มีประวัติโรคตับแข็ง โรคไต โรคเบาหวาน โรคเลือด วัณโรค ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ผู้ป่วยที่ดื่มแอลกอฮอล์เป็นประจำและมีผลการตรวจเลือดผิดปกติ

ขั้นตอนการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. เก็บข้อมูลผู้ป่วย โดยการซักประวัติตามแบบสอบถาม ผู้ป่วยคนละ 1 ชุด จำนวน 2 หน้า เป็นแบบสอบถามข้อมูลทั่วไป ข้อมูลส่วนตัวเกี่ยวกับโรคสะเก็ดเงินของผู้ป่วย ระยะเวลาการเกิดอาการ และการดำเนินโรค ผู้ป่วยแต่ละคนจะตอบแบบสอบถามคนละ 1 ครั้ง ใช้เวลาตอบประมาณ 10 นาที
2. ตรวจร่างกายผู้ป่วย ลักษณะอาการทางผิวหนัง ทั้งบริเวณการกระจายของโรค และความรุนแรงของโรค Psoriasis Area and Severity Index (PASI score) ในครั้งแรก
3. เจาะเลือดผู้ป่วยเพื่อนำเลือดมาสกัด DNA และตรวจหายีนตามลำดับ
4. ให้การรักษาผู้ป่วยตามมาตรฐานการรักษา
 - 4.1 การให้ยาทาเฉพาะที่ได้แก่ corticosteroid, calcipotriol และยาละลายขุย salicylic acid emollient และ urea cream ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง
 - 4.2 ยารับประทาน antihistamine ในกรณีที่มีอาการคัน และ NSAID ในกรณีที่ปวดข้อ
 - 4.3 ให้ MTX ในผู้ป่วยที่มีข้อบ่งชี้และไม่มีข้อห้ามในการใช้ MTX และให้ folic acid วันละ 5 มิลลิกรัม
 - 4.4 วิธีบริหารยาในผู้ป่วยที่มีข้อบ่งชี้ในการใช้ MTX

ให้รับประทาน MTX ขนาด 2.5 - 25 มิลลิกรัม ต่อสัปดาห์ โดยแบ่งให้ 3 ครั้ง ห่างกัน 12 ชั่วโมง จนสิ้นเรื้อยบ แล้วลดขนาดยาลง หรือให้เป็นเวลา 24 สัปดาห์ ให้หยุดยาทา corticosteroid, calcipotriol และ salicylic acid ในรายที่ผื่นยุบน้อยกว่าร้อยละ 50 ในเวลา 8 สัปดาห์ ถือว่า MTX ไม่ได้ผลในการรักษา ให้หยุดการรักษาด้วยยา MTX เปลี่ยนเป็นวิธีอื่น
5. รายที่ได้รับการรักษาด้วยยา MTX ตามข้อบ่งชี้
 - 5.1 ติดตามลักษณะอาการทางผิวหนัง ทั้งบริเวณการกระจายของโรค และความรุนแรงของโรค (ตาม PASI score) ในสัปดาห์ที่ 4, 8, 16 และ 24 บันทึกลงในแบบบันทึกลักษณะทางคลินิกและความรุนแรงของโรคสะเก็ดเงิน
 - 5.2 เจาะเลือดตรวจ complete blood count, BUN, creatinine, liver function test ในครั้งแรกก่อนการรักษา และตรวจซ้ำในสัปดาห์ที่ 4, 8, 16 และ 24 ตามมาตรฐานการรักษาสากล (ในการตรวจครั้งแรก เก็บเลือดพร้อมกับที่ใช้ตรวจ SNPs C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR*)
6. สกัดดีเอ็นเอและตรวจหา SNPs C677T และ A1298C ในยีน *MTHFR*

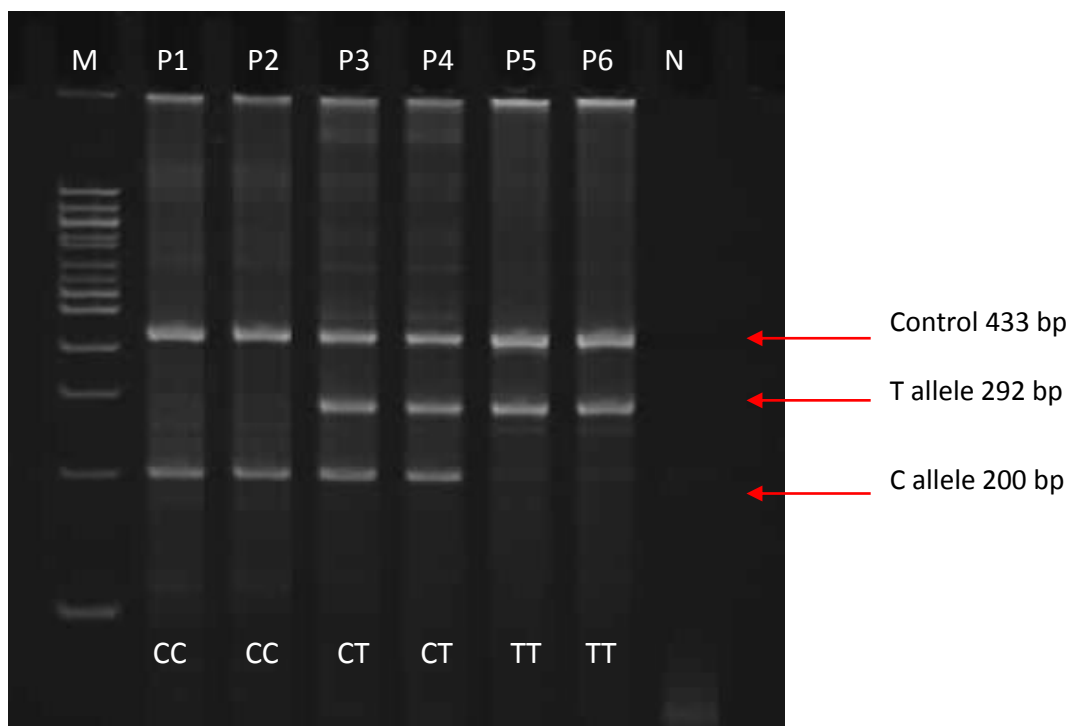
นำตัวอย่างเลือดผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA ที่ผ่านการตรวจ complete blood count มาล้างด้วย TE buffer จากนั้นย่อยเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ได้ด้วย lysis buffer incubate ที่ 37 °C overnight นำเซลล์ที่ผ่านการย่อยแล้วมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี phenol-chloroform ละลายตะกอนดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วย TE buffer นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาหา Genotype ของสปีส์ตำแหน่ง

MTHFR C677T และ A1298C ด้วยวิธี Allele specific PCR โดยใช้ primer ที่ออกแบบขึ้นมาดังนี้ สำหรับสนิปส์ตำแหน่ง *MTHFR* C677T คือ forward primer (5'- CATATCAGTCATGAGCCAG CCACTCACTG - 3') และ reverse primer (5'- GAGGACGGTGCGGTGAGAGTGG G - 3') ซึ่งใช้เพื่อเลือก amplify C677T และในขณะเดียวกันก็ออกแบบ primer ที่จำเพาะกับ C allele (5'- TT GAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGCGC - 3') ซึ่งจะได้ผลผลิต PCR ขนาด 200 เบสแพร์และที่จำเพาะกับ T allele (5'- GCCTCAAAGAAAAGCTGCGTGATG ATGAAATGGA - 3') ซึ่งจะได้ผลผลิต PCR ขนาด 292 เบสแพร์ ดังนั้นในการทำปฏิกิริยาเพียงครั้งเดียว จะได้ผลผลิต PCR ที่แตกต่างกันคือ ขนาด 433 เบสแพร์จาก primer ชุดแรกซึ่งจะเป็นตัวควบคุมคุณภาพได้ด้วยและจะได้ผลผลิตจำเพาะสำหรับ C allele หรือ T allele ที่ขนาดต่างกัณดังกล่าวแล้วที่ทำให้สามารถอ่านผลแยกจีโนไทป์ได้ชัดเจน (ดังรูปที่ 2)

ส่วนสนิปส์ตำแหน่ง *MTHFR* A1298C ก็ใช้หลักการเดียวกัน โดย forward primer (5'- GGA GCGGGAGGGCAGAAGAAGTTTGC - 3') และ reverse primer (5'-GGGAAGTCACAGCCC CGCAGCC -3') ซึ่งให้ผลผลิต PCR ขนาด 416 เบสแพร์เป็นตัวควบคุมคุณภาพ โดยออกแบบ primer ที่จำเพาะกับ A allele คือ forward primer (5'- GGGGGAGGAGCTGACCAGTGACGA - 3') ให้คู่กับ reverse primer ของตัวควบคุมได้ผลผลิต PCR ขนาด 174 เบสแพร์ ส่วน primer ที่จำเพาะกับ C allele เป็น reverse primer (5'- CGAGAGGTAAAGAACGAAGACTTCAAAGAC ACGTG - 3') ให้คู่กับ forward primer ของตัวควบคุมและให้ผลผลิต PCR ขนาด 300 เบสแพร์ ทำให้สามารถแยกชนิดของจีโนไทป์ได้ชัดเจนจากการทำปฏิกิริยาเพียงครั้งเดียว

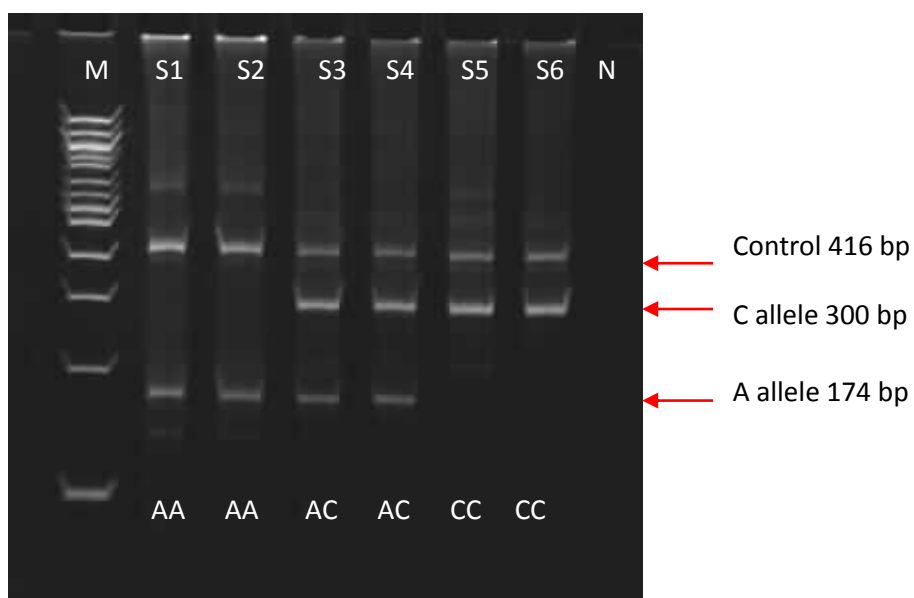
ปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วย 1X PCR buffer (20 mM Tris pH 8.4, 50 mM KCl), 200 μ M dNTP's; 0.5 mM MgCl₂, 50 ng DNA; 0.25 μ M สำหรับแต่ละ primer; 1x Q-solution (Qiagen), และ 0.05 U Taq polymerase ในปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตรในหลอดขนาด 0.2 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่อง PTC-100 HB Programmable Thermal Controller (MJ Research, Watertown, MA, USA) ซึ่งตั้งค่าดังนี้ เริ่มด้วยการ denaturation ที่ 95°C เป็นเวลา 5 นาที; denaturation ที่ 95°C เป็นเวลา 1 นาที 35 รอบ; annealing ที่ 63°C เป็นเวลา 2 นาที; และ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 1 นาที; จบด้วย extension ที่ 72°C เป็นเวลา 5 นาที

ตรวจสอบ PCR product ที่ได้โดยการ Run บน 6% polyacrylamide gel ใน 1X TBE buffer (0.04 M Tris-Boric acid, 0.001 M EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 170 โวลต์ เป็นเวลา 60 นาที ย้อมเจลที่ได้จากการ Run ด้วย ethidiumbromide ดูผลที่ได้ภายใต้กล้อง UV อ่านผลจีโนไทป์ ตามขนาดของ band PCR product ดังรูปที่ 2 (C677T) และรูปที่ 3 (A1298C) จากนั้นบันทึกผลที่อ่านได้แล้วนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป



รูปที่ 2 ผลการศึกษาจีโนไทป์ของ polymorphism C677T บนเจลอะคริลาไมด์

M หมายถึง 100 bp marker, P1-P6 เป็นตัวอย่างผู้ป่วย และ N คือ Negative control



รูปที่ 3 ผลการศึกษาจีโนไทป์ของสแนิปส์ A1298C บนเจลอะคริลาไมด์

M หมายถึง 100 bp marker, S1-S6 เป็นตัวอย่างผู้ป่วย และ N คือ Negative control

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้ Independent t-test เมื่อตัวแปรอิสระเป็นข้อมูลระดับนามบัญญัติ (Nominal Scale) และตัวแปรตามเป็นข้อมูลต่อเนื่อง (Interval or Ratio Scale) เช่น เปรียบเทียบอายุของแต่ละกลุ่ม

ใช้ Chi-square test เมื่อ expected frequency เท่ากับหรือมากกว่า 5

ใช้ Fisher's exact test เมื่อ expected frequency น้อยกว่า 5 และขนาดของข้อมูลไม่เกิน 300 ตามความเหมาะสม

ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของตัวแปรกำหนดให้ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 0.05 ($\alpha = 0.05$) อำนาจในการทดสอบเท่ากับ 80%

การวิเคราะห์จีโนไทป์ในรูปแบบ dominant, recessive model ของสניปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ซึ่งส尼ปส์ C677T มี C เป็น major allele และ T เป็น minor allele และส尼ปส์ A1298C มี A เป็น major allele และ C เป็น minor allele มีความหมายดังนี้

ส尼ปส์ C677T ในยีน *MTHFR*

Dominant model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (TT) รวมกับ heterozygous (CT) เปรียบเทียบกับ major genotype (CC) คือ จำนวน genotype TT + CT vs จำนวน genotype CC

Recessive model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (TT) เปรียบเทียบกับ heterozygous (CT) รวมกับ major genotype (CC) คือ จำนวน genotypes TT vs จำนวน genotype CC + CT

ส尼ปส์ A1298C ในยีน *MTHFR*

Dominant model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (CC) และ heterozygous (AC) เปรียบเทียบกับ major genotype (AA) คือ จำนวน genotype CC + AC vs จำนวน genotype AA

Recessive model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (CC) เปรียบเทียบกับ heterozygous (AC) และ major genotype (AA) คือ จำนวน genotypes CC vs จำนวน genotype AA + AC

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาตั้งแต่เดือนกันยายน 2550 ถึงมีนาคม 2553 ผู้วิจัยเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยโรค สะเก็ดเงินได้จำนวน 187 ราย เป็นผู้ป่วยของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ 76 ราย โรงพยาบาล หาดใหญ่ 90 ราย และโรงพยาบาลสงขลา 21 ราย ผู้ป่วยได้รับยา MTX จำนวน 103 ราย ผู้ป่วยไม่ได้ รับยา MTX 84 ราย

ผลของสปีส์ตำแหน่ง *MTHFR* C677T และ A1298C ต่อประสิทธิผลและผลข้างเคียง ในการรักษา ด้วยยา MTX

ลักษณะผู้ป่วย

ผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ได้รับการรักษาด้วยยา MTX จำนวน 103 ราย มีบางรายไม่มาพบแพทย์ ตามนัดไม่สามารถติดตามการรักษาได้ จึงมีผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การศึกษาความสัมพันธ์ของสปีส์ C677T และ A1298C กับการตอบสนองและผลข้างเคียงต่อยา MTX 86 ราย เป็นผู้ป่วยเพศชาย 59 ราย (68.60 %) เพศหญิง 27 ราย (31.40 %) โดยมีเพศชายมากกว่าเพศหญิงสองเท่า อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยที่ได้รับยาอยู่ที่ 43.14 ปี อายุเฉลี่ยของการเกิดโรค 31.72 ปี มีประวัติคนในครอบครัวเป็นสะเก็ดเงิน 16 ราย (18.60 %) จากผู้ป่วยที่ซักข้อมูลประวัติครอบครัวได้ 81 ราย ผู้ป่วยไม่ทราบว่า มีประวัติ ในครอบครัวหรือไม่ 5 ราย รอยโรคที่เป็นมากที่สุดในการป่วยแต่ละคน ได้แก่ ปื้นหนาขนาดใหญ่ (plaque) รองลงมาเป็นชนิดปื้นหนาขนาดใหญ่ร่วมกับตุ่มนูน (guttate) และเป็นผื่นแดงทั่วตัว (erythroderma) 9 ราย ในผู้ป่วยทุกรายเป็นหลายบริเวณร่วมกันทั้งที่ศีรษะ ลำตัว และ แขน ขา ผู้ป่วย มีอาการปวดข้อร่วมด้วย (arthralgia) 34 ราย และข้ออักเสบแบบ pencil 1 ราย รอยโรคที่เล็บส่วน ใหญ่เป็นหลายรูปแบบในผู้ป่วยคนเดียวกัน โดยเป็น pitting nail (67 ราย) มากที่สุด รองลงมาได้แก่ subungual hyperkeratosis, onycholysis, onychodystrophy และ oil drop ตามลำดับ ไม่มีรอยโรคที่ เล็บ 8 ราย (9.30 %) ลักษณะของผู้ป่วยที่ได้รับยา MTX ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะของผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ได้รับยา MTX

ลักษณะของผู้ป่วยสะเก็ดเงิน		จำนวน (%)
เพศ	เพศชาย	59 (68.60)
	เพศหญิง	27 (31.40)
ประวัติสะเก็ดเงินในครอบครัว	มีประวัติ	16 (18.60)
	ไม่มีประวัติ	65 (75.58)
	ผู้ป่วยไม่ทราบว่า มีประวัติหรือไม่	5 (5.82)
อายุเฉลี่ย (ปี)		43.14
อายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มเป็นโรค (ปี)		31.72
ชนิดของรอยโรค	Plaque	47 (54.65)
	Plaque and guttate	26 (30.23)
	Plaque and erythroderma	9 (10.47)
	Guttate	4 (4.65)
รอยโรคที่เล็บ	pitting nails (pitting nail อย่างเดียว 8 ราย)	67 (77.91)
	oil drop (oil drop อย่างเดียว 2 ราย)	33 (38.37)
	onycholysis (onycholysis อย่างเดียว 1 ราย)	45 (52.33)
	onychodystrophy (onychodystrophy อย่างเดียว 0 ราย)	37 (43.02)
	subungual hyperkeratosis (subungual hyperkeratosis อย่างเดียว 0 ราย)	53 (61.63)
	ไม่มีความผิดปกติของเล็บ	8 (9.30)

ความสัมพันธ์ระหว่างสปีดตำแหน่ง *MTHFR* C677T และ A1298C ต่อประสิทธิผลของยา MTX

ประเมินประสิทธิผลในการรักษาของยา MTX จากค่า PASI ที่ลดลงหลังการรักษา กลุ่มที่มีการตอบสนองต่อยา หมายถึง ผู้ป่วยที่ได้รับยา MTX แล้วรอยโรคดีขึ้น โดยดูจากค่า PASI ลดลงมากกว่าและเท่ากับร้อยละ 50 ในสัปดาห์ที่ 4 หรือ 8 เมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรกก่อนได้รับยา กลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา หมายถึง ผู้ป่วยที่ได้รับยา MTX แล้วรอยโรคไม่ดีขึ้น โดยมีค่า PASI ลดลงน้อยกว่าร้อยละ 50 ในสัปดาห์ที่ 8 ของการให้ยา เมื่อเปรียบเทียบกับครั้งแรกก่อนได้รับยา

การศึกษาครั้งนี้มีผู้ป่วยคลื่นไส้ อาเจียนมาก 2 ราย และปริมาณเอนไซม์ AST สูง 1 ราย ต้องหยุดการรักษาหลังสัปดาห์ที่ 4 จึงมีผู้ป่วยที่ประเมินประสิทธิผลของยาได้ 83 ราย พบกลุ่มที่ตอบสนองต่อยา 73 ราย (87.95%) ไม่ตอบสนองต่อยา 10 ราย (12.05 %) พบกลุ่มที่ตอบสนองต่อยาดีมากโดย PASI ลดลงมากกว่าและเท่ากับร้อยละ 75 ในสัปดาห์ที่ 4 หรือ 8 จำนวน 46 ราย (58.97 %) ลักษณะของผู้ป่วยได้แก่ เพศ อายุที่เริ่มเป็นโรค ประวัติครอบครัว ลักษณะรอยโรค ของกลุ่มที่ตอบสนอง และไม่ตอบสนองต่อยา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่กลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยา มีอายุมากกว่ากลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา (p value = 0.025) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะของผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ตอบสนองและไม่ตอบสนองต่อยา MTX

ลักษณะของผู้ป่วยสะเก็ดเงิน		กลุ่มที่ตอบสนองต่อ ยา MTX (73 ราย)	กลุ่มที่ไม่ตอบสนอง ต่อยา MTX (10 ราย)	<i>p</i> -value
เพศ	เพศชาย	51	7	1.00
	เพศหญิง	22	3	
ประวัติสะเก็ด เงินใน ครอบครัว	มีประวัติ	13	3	0.58
	ไม่มีประวัติ	55	7	
	ไม่ทราบ	5	0	
อายุ	อายุเฉลี่ย(ปี)	45.0	37.1	0.025*
	อายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มเป็น โรค(ปี)	32.9	26.9	0.10
ชนิดของรอย โรค	Plaque	40	6	1.0
	Plaque and guttate, and erythroderma, guttate	33	4	

หมายเหตุ

p value of Fisher Exact Probability Test (<http://vassarstats.net/tab2x2> and 2x3.html) และ

p value of T test

* *p* value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความถี่แอลลีลและความถี่จีโนไทป์ของสปีส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ต่อผลการรักษาของยา MTX

ความถี่แอลลีลของสปีส์ *MTHFR* C677T และความถี่แอลลีล A1298C ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังตารางที่ 3

ความถี่จีโนไทป์สปีส์ *MTHFR* C677T และความถี่จีโนไทป์สปีส์ A1298C ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังตารางที่ 4

จีโนไทป์ของสปีส์ทั้งสองในรูปแบบ dominant และ recessive ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญดังตารางที่ 5

ตารางที่ 3 ความถี่แอลลีลของสปีส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา

สปีส์	แอลลีล	กลุ่มที่ตอบสนองต่อ MTX (73 ราย)		กลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อ MTX(10 ราย)		p value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C	127	86.99	14	70.00	0.08
	T	19	13.01	6	30.00	
A1298C	A	105	71.92	17	85.00	0.28
	C	41	28.08	3	15.00	

p value of Fisher Exact Probability Test (<http://vassarstats.net/tab2x2.html>)

หมายเหตุ สปีส์ C677T; C เป็น major allele , T เป็น minor allele

สปีส์ A1298C; A เป็น major allele , C เป็น minor allele

ตารางที่ 4 ความถี่จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา

สลิปส์	จีโนไทป์	กลุ่มที่ตอบสนองต่อ MTX (73 ราย)		กลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อ MTX (10 ราย)		p value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C/C	55	75.34	5	50	0.07
	C/T	17	23.29	4	40	
	T/T	1	1.37	1	10	
A1298C	A/A	40	54.79	7	70	0.69
	A/C	25	34.25	3	30	
	C/C	8	10.96	0	0	

p value of Fisher Exact Probability Test (<http://vassarstats.net/tab2x3.html>)

ตารางที่ 5 จีโนไทป์ของ C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา

สลิปส์	รูปแบบ	ตอบสนองต่อ MTX (73 ราย)	ไม่ตอบสนองต่อ MTX (10 ราย)	p value
C677T	recessive	1/72	1/9	0.23
	dominant	18/55	5/5	0.13
A1298C	recessive	8/65	0/10	0.59
	Dominant	33/40	3/7	0.50

p value of Fisher Exact Probability Test (<http://vassarstats.net/tab2x2.html>)

สลิปส์ C677T ในยีน *MTHFR*

Dominant model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (TT) รวมกับ heterozygous (CT) เปรียบเทียบกับ major genotype (CC) คือ จำนวน genotype TT + CT vs จำนวน genotype CC

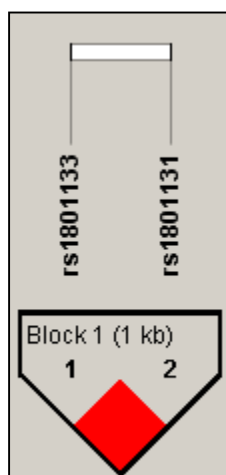
Recessive model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (TT) เปรียบเทียบกับ heterozygous (CT) รวมกับ major genotype (CC) คือ จำนวน genotypes TT vs จำนวน genotype CC + CT

สลิปส์ A1298C ในยีน *MTHFR*

Dominant model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (CC) และ heterozygous (AC) เปรียบเทียบกับ major genotype (AA) คือ จำนวน genotype CC + AC vs จำนวน genotype AA

Recessive model เป็นการทดสอบลักษณะจีโนไทป์ระหว่าง minor genotype (CC) เปรียบเทียบกับ heterozygous (AC) และ major genotype (AA) คือ จำนวน genotypes CC vs จำนวน genotype AA + AC

ศึกษาความสัมพันธ์ของสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งร่วมกัน โดยใช้โปรแกรม Haploview ดังรูปที่ 4 พบว่าสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งมีการถ่ายทอดไปด้วยกัน ในกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX และกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแฮพโลไทป์แบบ TA ดังตารางที่ 6 ซึ่งพบว่า TA ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา มีความถี่ต่ำกว่ากลุ่มที่ตอบสนองต่อยา (p value = 0.046)



รูปที่ 4 แฮพโลไทป์บล็อกของสลิปส์ *MTHFR* C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX กับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา

ตารางที่ 6 ความถี่แอสโทโทป์แบบต่างๆ ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วย สะเก็ดเงินที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX กับกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา

แอสโทโทป์	ความถี่รวม	ความถี่ (ร้อยละ)		p-Value
		กลุ่มที่ตอบสนองต่อยา MTX (75 ราย)	กลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา MTX (10 ราย)	
CA	58.4	55.0	58.9	0.74
CC	26.5	15.0	28.1	0.21
TA	15.1	30.0	13.0	0.046*

ความถี่แอลลิลและความถี่จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ต่อผลข้างเคียงของยา MTX

กลุ่มที่เกิดผลข้างเคียงของยา หมายถึง ผู้ป่วยที่ได้รับยา MTX แล้วมีอาการผิดปกติเกี่ยวกับตับและระบบทางเดินอาหาร ปริมาณเอนไซม์ AST และ ALT (aspartate และ alanine aminotransferase) สูงขึ้นเป็นสามเท่าของค่าปกติ ค่า haematocrit หรือ WBC ลดลง มีอาการคลื่นไส้ อาเจียนมากจนต้องหยุดการรักษา จากการศึกษาผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนมาก 2 ราย และปริมาณเอนไซม์ AST สูง 1 รายจึงหยุดการรักษาหลังสัปดาห์ที่ 4 และมีผลข้างเคียงจากการใช้ยาทั้งสิ้น 11 ราย (9.46 %) โดยมีปริมาณเอนไซม์ AST หรือ ALT เพิ่มขึ้น 3 ราย haematocrit ลดลง 1 ราย WBC ลดลง 1 ราย ผู้ป่วย มี haematocrit ลดลง ร่วมกับ eosinophil เพิ่มขึ้น 1 ราย คลื่นไส้ อาเจียนมาก ร่วมกับผื่นขึ้น 1 ราย เอนไซม์ AST เพิ่มขึ้นร่วมกับ eosinophil เพิ่มขึ้น 1 รายนอกจากนี้ผู้ป่วยที่มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน แต่ยังสามารถรับยาได้ 3 รายและ eosinophil เพิ่มขึ้น (eosinophil มากกว่า 6 %) 8 ราย ลักษณะของผู้ป่วยได้แก่ เพศ อายุ อายุที่เริ่มเป็นโรค ประวัติครอบครัว ลักษณะรอยโรคของกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจากยา MTX และกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ลักษณะผู้ป่วยที่มีอาการข้างเคียงจากการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง

ลักษณะของผู้ป่วยสะเก็ดเงิน		กลุ่มที่มีอาการ ข้างเคียงจากMTX (11 ราย)	กลุ่มที่ไม่มีอาการ ข้างเคียงจาก MTX (75 ราย)	p-Value
เพศ	เพศชาย	8 (72.73%)	52 (69.33%)	1.00
	เพศหญิง	3 (27.27%)	23 (30.67%)	
ประวัติสะเก็ดเงินในครอบครัว	มีประวัติ	4 (36.36%)	12 (16.00%)	0.11
	ไม่มีประวัติ	6 (54.54%)	59 (78.67%)	
	ผู้ป่วยไม่ทราบว่า มีประวัติหรือไม่	1 (9.10%)	4 (5.33%)	
อายุ	อายุเฉลี่ย (ปี)	42.55	43.44	0.836
	อายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มเป็นโรค (ปี)	28.45	32.20	0.392
ชนิดของรอยโรค	plaque	4	43 (57.33%)	0.21
	plaque and guttate, and erythroderma, guttate	7	32 (42.67%)	

p value of Fisher Exact Probability Test (http://vassarstats.net/tab2x2_and_2x3.html) และ p value of T test

จากการศึกษาความถี่แอลลีลและความถี่จีโนไทป์ของสปีส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงในการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบจีโนไทป์ในรูปแบบ dominant และ recessive ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจีโนไทป์ของสปีส์ทั้งสอง ในทั้งสองรูปแบบ ดังตารางที่ 8, 9 และ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 ความถี่แอลลีลของสไนป์ส *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจาก MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง

สไนป์ส	แอลลีล	กลุ่มที่มีอาการข้างเคียง จาก MTX (11 ราย)		กลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง จาก MTX (75 ราย)		p value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C	16	72.73	129	86.00	0.12
	T	6	27.27	21	14.00	
A1298C	A	16	72.73	110	73.33	0.10
	C	6	27.27	40	26.67	

p value of Fisher Exact Probability Test (<http://vassarstats.net/tab2x2.html>)

ตารางที่ 9 ความถี่จีโนไทป์ของสไนป์ส *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจาก MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง

สไนป์ส	จีโนไทป์	กลุ่มที่มีอาการข้างเคียง จาก MTX (11 ราย)		กลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง จาก MTX (75 ราย)		p value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C/C	6	54.55	55	73.33	0.16
	C/T	4	36.36	19	25.33	
	T/T	1	9.09	1	1.34	
A1298C	A/A	7	63.64	42	56.00	0.35
	A/C	2	18.18	26	34.67	
	C/C	2	18.18	7	9.33	

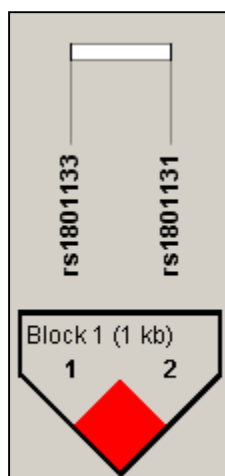
p value of Fisher Exact Probability Test (<http://vassarstats.net/tab2x3.html>)

ตารางที่ 10 จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ระหว่างกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจากยา MTX กับกลุ่มที่ไม่มีอาการ

สลิปส์	รูปแบบ	กลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจาก MTX (11 ราย)	กลุ่มที่ไม่มีอาการ MTX (75 ราย)	<i>p</i> value
C677T	recessive	1/10	1/74	0.24
	dominant	5/6	20/55	0.28
A1298C	recessive	2/9	7/68	0.60
	dominant	4/7	23/42	1.00

p value of Fisher Exact Probability Test ([http://vassarstats.net/tab 2x2.html](http://vassarstats.net/tab%202x2.html))

ศึกษาความสัมพันธ์ของสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งร่วมกัน โดยใช้โปรแกรม Haploview เพื่อดูการถ่ายทอดไปด้วยกัน และความสัมพันธ์ของแฮพลอไทป์จากสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งกับการเกิดอาการข้างเคียงจากยา MTX ในผู้ป่วย พบว่าสลิปส์ทั้งสองมีการถ่ายทอดไปด้วยกันดังรูปที่ 5 แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแฮพลอไทป์ทุกแบบ ดังตารางที่ 11



รูปที่ 5 แฮพลอไทป์บล็อกของสลิปส์ *MTHFR* C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่มีอาการข้างเคียงจากการรักษาด้วยยา MTX และกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง

ตารางที่ 11 ความถี่แอสโทไทป์แบบต่างๆ ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินที่มีอาการข้างเคียงจากการรักษาด้วยยา MTX เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง

แอสโทไทป์	ความถี่รวม	ความถี่ (ร้อยละ)		p-Value
		กลุ่มที่มีอาการข้างเคียง (11 ราย)	กลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียง (75 ราย)	
CA	57.6	45.5	59.3	0.22
CC	26.7	27.3	26.7	0.95
TA	15.7	27.3	14.0	0.11

ความถี่ของสลิปส์ตำแหน่ง *MTHFR* C677T และ A1298C ในผู้ป่วยโรคสะกดเงิน

การศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจจีโนไทป์ในผู้ป่วยสะกดเงินจำนวน 187 ราย เป็นผู้ป่วยเพศชาย 119 ราย (63.6%) เพศหญิง 68 ราย (36.4%) อายุเฉลี่ย 46.05 ปี อายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มเป็นโรค 33.14 ปี กลุ่มควบคุมที่นำมาศึกษาได้จากผู้บริจาคโลหิต หน่วยธนาคารเลือด มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จำนวน 205 ราย เพศชาย 135 ราย (65.8%) เพศหญิง 70 ราย (34.2%) อายุเฉลี่ย 30.62 ปี

กลุ่มผู้ป่วยมีสัดส่วนเพศชาย เพศหญิง และอายุเฉลี่ยเมื่อเริ่มเป็นโรคไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการตรวจจีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มควบคุมมีการกระจายตัวอยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (โดยโปรแกรม PLINK) ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 การทดสอบสมมติฐานฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กและค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (Observed Heterozygosity) ในกลุ่มควบคุมของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C

สลิปส์	จีโนไทป์	จำนวน (205 ราย)	ร้อยละ	<i>p</i> -value HWE Test	Obs HET
C677T	C/C	152	74.1	1	0.239
	C/T	49	23.9		
	T/T	4	2.0		
A1298C	A/A	100	48.8	0.5128	0.4049
	A/C	83	40.5		
	C/C	22	10.7		

เมื่อเปรียบเทียบความถี่แอลลีลและความถี่จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุมไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองกลุ่ม นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบความถี่จีโนไทป์ในรูปแบบ dominant และ recessive ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจีโนไทป์สลิปส์ทั้งสองในทั้งสองรูปแบบ ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงินและกลุ่มควบคุม ดังตารางที่ 13, 14, 15

ตารางที่ 13 ความถี่แอลลีลของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกัดเงินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

สลิปส์	แอลลีล	กลุ่มผู้ป่วย (187 ราย)		กลุ่มควบคุม (205 ราย)		<i>p</i> value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C	314	83.96	353	86.10	0.46
	T	60	16.04	57	13.90	
A1298C	A	275	73.53	283	69.02	0.19
	C	99	26.47	127	30.98	

p value of chi square (<http://www.quantpsy.org/chisq/chisq.htm>)

ตารางที่ 14 ความถี่จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงิน
เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

สลิปส์	จีโนไทป์	กลุ่มผู้ป่วย (187 ราย)		กลุ่มควบคุม (205 ราย)		p value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C/C	133	71.12	152	74.10	0.65
	C/T	48	25.67	49	23.90	
	T/T	6	3.21	4	2.00	
A1298C	A/A	109	58.29	100	48.78	0.11
	A/C	57	30.48	83	40.49	
	C/C	21	11.23	22	10.73	

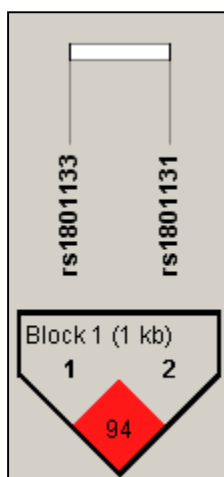
p value of Fisher Exact Probability Test เมื่อ expected frequency น้อยกว่า 5 (<http://vassarstats.net/tab2x3.html>) และ p value of chi square เมื่อ expected frequency มากกว่าหรือเท่ากับ 5 (<http://www.quantpsy.org/chisq/chisq.htm>)

ตารางที่ 15. จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ
recessive ระหว่างผู้ป่วยสะเก็ดเงินกับกลุ่มควบคุม

สลิปส์	รูปแบบ	ผู้ป่วยสะเก็ดเงิน (187 ราย)	กลุ่มควบคุม (205 ราย)	p value
C677T	recessive	6/181	4/201	0.53
	dominant	54/133	53/152	0.50
A1298C	recessive	21/166	22/183	0.89
	dominant	78/109	105/100	0.06

p value of Fisher Exact Probability Test เมื่อ expected frequency น้อยกว่า 5 (<http://vassarstats.net/tab2x3.html>) และ p value of chi square เมื่อ expected frequency มากกว่าหรือเท่ากับ 5 (<http://www.quantpsy.org/chisq/chisq.htm>)

ศึกษาความสัมพันธ์ของสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งร่วมกัน โดยใช้โปรแกรม Haploview ในกลุ่มผู้ป่วยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า สลิปส์ทั้งสองตำแหน่งดังกล่าวอยู่ในแฮพโลไทป์บล็อกเดียวกัน นั่นคือมีการถ่ายทอดไปด้วยกัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแฮพโลไทป์ทุกแบบในกลุ่มผู้ป่วยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังรูปที่ 6 และตารางที่ 16



รูปที่ 6 แสพโพลไทป์บล็อกของสลิปส์ *MTHFR* C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเท็ดเงินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 16 ความถี่แสพโพลไทป์แบบต่างๆ ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะเท็ดเงินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

แสพโพลไทป์	ความถี่รวม	ความถี่ (ร้อยละ)		p-Value
		ผู้ป่วยสะเท็ดเงิน (187 ราย)	กลุ่มควบคุม (205 ราย)	
CA	56.5	57.6	55.5	0.566
CC	28.6	26.4	30.6	0.196
TA	14.7	16.0	13.5	0.329

ความถี่แอลลีล และความถี่จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยเพศชายเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศเดียวกัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองกลุ่มนี้ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบความถี่จีโนไทป์ในรูปแบบ dominant และ recessive ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจีโนไทป์ของสลิปส์ทั้งสองในทั้งสองรูปแบบดังตารางที่ 17, 18 และ 19

ตารางที่ 17 ความถี่แอลลีลของสनिปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินเพศชายเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศชาย

สนิปส์	แอลลีล	กลุ่มผู้ป่วยเพศชาย (119 ราย)		กลุ่มควบคุมเพศชาย (135 ราย)		<i>p</i> value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C	199	83.61	231	85.56	0.40
	T	39	16.39	39	14.44	
A1298C	A	172	72.27	192	71.11	0.16
	C	66	27.73	78	28.89	

p value of chi square (<http://www.quantpsy.org/chisq/chisq.htm>)

ตารางที่ 18 ความถี่จีโนไทป์ของสนิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินเพศชายเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศชาย

สนิปส์	แอลลีล	กลุ่มผู้ป่วยเพศชาย (119 ราย)		กลุ่มควบคุมเพศชาย (135 ราย)		<i>p</i> value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C/C	85	71.43	98	72.59	0.44
	C/T	29	24.37	35	25.93	
	T/T	5	4.20	2	1.48	
A1298C	A/A	67	56.30	71	52.59	0.68
	A/C	38	31.93	50	37.04	
	C/C	14	11.77	14	10.37	

p value of Fisher Exact Probability Test เมื่อ expected frequency น้อยกว่า 5 และ *p* value of chi square เมื่อ expected frequency มากกว่าหรือเท่ากับ 5

ตารางที่ 19 จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ระหว่างผู้ป่วยสะเก็ดเงินเพศชายกับกลุ่มควบคุมเพศชาย

สลิปส์	รูปแบบ	กลุ่มผู้ป่วยเพศชาย (119 ราย)	กลุ่มควบคุมเพศชาย (135 ราย)	<i>p</i> value
C677T	recessive	5/114	2/133	0.26
	dominant	34/85	37/98	1.00
A1298C	recessive	14/105	14/121	0.89
	dominant	52/67	64/71	0.64

p value of Fisher Exact Probability Test เมื่อ expected frequency น้อยกว่า 5 และ *p* value of chi square เมื่อ expected frequency มากกว่าหรือเท่ากับ 5

สำหรับในกลุ่มเพศหญิงไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความถี่แอลลีลของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม ดังตารางที่ 20

แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างความถี่จีโนไทป์สลิปส์ A1298C ระหว่างสองกลุ่มนี้ พบว่ามีความแตกต่าง (*p* value = 0.045) โดยพบว่าความถี่ของจีโนไทป์แบบ wild type AA ในกลุ่มผู้ป่วยมี 61.76 % ขณะที่กลุ่มควบคุมมีเพียง 41.43% ดังตารางที่ 21 และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในรูปแบบ dominant ของสลิปส์ A1298C แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจีโนไทป์สลิปส์ C677T ในทุกรูปแบบ ดังตารางที่ 22

ตารางที่ 20 ความถี่แอลลีลของสไนป์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินเพศหญิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง

สไนป์	แอลลีล	กลุ่มผู้ป่วยเพศหญิง (68 ราย)		กลุ่มควบคุมเพศหญิง (70 ราย)		<i>p</i> value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C	115	84.56	122	87.10	0.65
	T	21	15.44	18	12.86	
A1298C	A	103	75.74	91	65.00	0.068
	C	33	24.26	49	35.00	

<http://www.quantpsy.org/chisq/chisq.htm>

ตารางที่ 21 ความถี่จีโนไทป์สไนป์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินเพศหญิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง

สไนป์	จีโนไทป์	กลุ่มผู้ป่วยเพศหญิง (68 ราย)		กลุ่มควบคุมเพศหญิง (70 ราย)		<i>p</i> value
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
C677T	C/C	48	70.59	54	77.14	0.49
	C/T	19	27.94	14	20	
	T/T	1	1.47	2	2.86	
A1298C	A/A	42	61.76	29	41.43	0.045*
	A/C	19	27.94	33	47.14	
	C/C	7	10.30	8	11.43	

p value of Fisher Exact Probability Test เมื่อ expected frequency น้อยกว่า 5 และ *p* value of chi square เมื่อ expected frequency มากกว่าหรือเท่ากับ 5

* *p* value น้อยกว่า 0.05

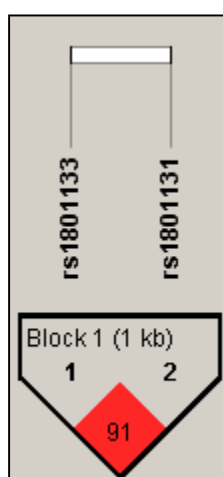
ตารางที่ 22 จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ในรูปแบบ dominant และ recessive ระหว่างผู้ป่วยสะกดเงินเพศหญิงกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง

สลิปส์	รูปแบบ	กลุ่มผู้ป่วยเพศหญิง (68 ราย)	กลุ่มควบคุมเพศหญิง (70 ราย)	<i>p</i> value
C677T	recessive	67/1	68/2	1
	dominant	20/48	16/54	0.49
A1298C	recessive	61/7	62/8	1
	dominant	26/42	41/29	0.02*

p value of Fisher Exact Probability Test เมื่อ expected frequency น้อยกว่า 5 และ *p* value of chi square เมื่อ expected frequency มากกว่าหรือเท่ากับ 5

* *p* value น้อยกว่า 0.05

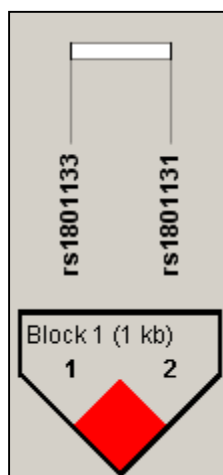
ศึกษาความสัมพันธ์ของสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งร่วมกัน โดยใช้โปรแกรม Haploview ในกลุ่มผู้ป่วยเพศชาย ผู้ป่วยเพศหญิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศเดียวกันพบว่าสลิปส์ทั้งสองตำแหน่งดังกล่าวอยู่ในแฮพโลไทป์บล็อกเดียวกัน นั่นคือมีการถ่ายทอดไปด้วยกัน และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแฮพโลไทป์ทุกแบบ ในกลุ่มผู้ป่วยต่างๆเหล่านี้ดังรูปที่ 7, 8 และตารางที่ 23 และ 24



รูปที่ 7 แฮพโลไทป์บล็อกของสลิปส์ C677T (rs1801133) และสลิปส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะกดเงินเพศชายกับกลุ่มควบคุมเพศชาย

ตารางที่ 23 ผลการเปรียบเทียบความถี่แอสโทไทป์แบบต่างๆ ของสไนป์ส์ C677T และ A1298C ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศชาย

แอสโทไทป์	ความถี่รวม	ความถี่ (ร้อยละ)		p-Value
		ผู้ป่วยเพศชาย (119 ราย)	กลุ่มควบคุมเพศชาย (135 ราย)	
CA	56.7	56.0	57.2	0.783
CC	28.1	27.6	28.4	0.834
TA	14.9	16.3	13.7	0.425



รูปที่ 8 แอสโทไทป์บล็อกของสไนป์ส์ C677T (rs1801133) และสไนป์ส์ A1298C (rs1801131) ในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงินเพศหญิงเทียบกับกลุ่มควบคุมเพศหญิง

ตารางที่ 24 ผลการเปรียบเทียบความถี่แอฟโพลไทป์แบบต่างๆ ของสไนป์ส์ C677T และ A1298C ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินเพชรหญิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพชรหญิง

แอฟโพลไทป์	ความถี่รวม	ความถี่ (ร้อยละ)		p-Value
		ผู้ป่วยเพชรหญิง (68 ราย)	กลุ่มควบคุมเพชรหญิง (70 ราย)	
CA	56.2	60.3	52.1	0.172
CC	29.7	24.3	35.0	0.051
TA	14.1	15.4	12.9	0.538

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษาความสัมพันธ์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C กับประสิทธิผลและผลข้างเคียงในการรักษาด้วยยา MTX

ผู้ป่วยสะกดเงินได้รับการรักษาด้วยยา MTX จำนวน 103 ราย ไม่มาตามนัดทำให้มีผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์การศึกษาเพียง 86 ราย เป็นผู้ป่วยเพศชาย 59 ราย (68.60%) เพศหญิง 27 ราย (31.40 %) มีผู้ป่วยที่หยุดการรักษาในสัปดาห์ที่ 4 เนื่องจากมีผลข้างเคียงมาก 3 ราย

สำหรับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา MTX พบว่ากลุ่มที่ตอบสนองต่อยา ซึ่งค่า PASI ลดลงมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 50 ในสัปดาห์ที่ 4 หรือ 8 มีจำนวน 73 ราย (87.95%) ไม่ตอบสนองต่อยา 10 ราย (12.05 %) ซึ่งกลุ่มที่ตอบสนองต่อยา มีอายุมากกว่ากลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา (p value = 0.025)

ส่วนผลข้างเคียงในผู้ป่วยพบว่า เกิดผลข้างเคียงจนต้องหยุดยา 11 ราย (9.46 %) อาการข้างเคียงที่พบได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียนมาก เอนไซม์ตับสูงขึ้น ค่าเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดงลดลง และมีผื่น ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยในกลุ่มที่มีอาการข้างเคียงจากยา MTX และกลุ่มที่ไม่มีอาการข้างเคียงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ของสลิปส์ C677T และ A1298C กับการตอบสนองต่อยา พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาในรูปแบบ Haploview พบว่าแฮพโลไทป์แบบ TA ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยา มีความถี่ต่ำกว่ากลุ่มที่ตอบสนองต่อยา (p value = 0.046)

แต่เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ของสลิปส์ C677T และ A1298C กับผลข้างเคียงของยา ไม่พบความแตกต่างระหว่างสลิปส์ทั้งสองในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

ผลการศึกษาในผู้ป่วยสะกดเงินชาวไทยครั้งนี้พบว่า จีโนไทป์ของสลิปส์ *MTHFR* C677T และ A1298C ไม่สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยา MTX ซึ่งเหมือนกับผลการศึกษาของ R.B. Warren และคณะในปี 2009(21) ซึ่งศึกษาในผู้ป่วยสะกดเงินพบว่าสลิปส์ของ *MTHFR* ไม่สัมพันธ์

กับประสิทธิผลและการเกิดพิษของ MTX นอกจากนี้การศึกษาแบบ meta-analysis ของ S A Owen และคณะใน ปี 2013(22) และ meta-analysis ของ Lee และคณะปี 2010(23) ในผู้ป่วย rheumatoid arthritis ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง C677T and A1298C กับประสิทธิผลของ MTX เช่นเดียวกัน แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ความถี่ของแอสโทไทป์แบบ TA ในกลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อยาค่าต่ำกว่า กลุ่มที่ตอบสนองต่อยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Warren et al (21) ที่ไม่พบความสัมพันธ์เมื่อวิเคราะห์แอลลีล rs1801133 T ร่วมกับ rs1801131 C แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจาก จำนวนของผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยามีน้อย การยืนยันความสัมพันธ์ของแอสโทไทป์แบบ TA ในจำนวนผู้ป่วยที่มากขึ้นจะช่วยยืนยันความสัมพันธ์ได้ดียิ่งขึ้น

ทำนองเดียวกันผลการศึกษาในผู้ป่วยสะเก็ดเงินชาวไทยครั้งนี้พบว่า C677T และ A1298C ไม่สัมพันธ์กับผลข้างเคียงของยา สนับสนุนงานของ Warren และคณะปี 2009(21) ในการศึกษาแบบ meta-analysis ของ S A Owen et al.(22) และผลการศึกษาของ Lee และคณะปี 2010 ที่ศึกษาในผู้ป่วยข้ออักเสบรูมาตอยด์ ชาวเอเชีย(23) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างสลิปส์ทั้งสองกับพิษของยา เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างสลิปส์ทั้งสองนี้กับประสิทธิผลของยาในแต่ละการศึกษาจนถึงปัจจุบัน พบว่ามีความแตกต่างหลากหลายของผลที่รายงาน เช่นจากการศึกษาแบบ meta-analysis ของ Fisher พบว่า MTHFR C677T สัมพันธ์กับการเกิดพิษของยา ขณะที่ A1298C ไม่สัมพันธ์กับการเกิดพิษ(24) แต่การศึกษาของ Berkun และคณะปี 2004(25) และ Bohanec และคณะปี 2008(26) พบว่าผู้ป่วย rheumatoid arthritis ชาวคอเคเซียนที่มีจีโนไทป์ แบบ C/C ในสลิปส์ A1298C จะมีโอกาสเสี่ยงในการเกิดอาการข้างเคียงจากการรักษาด้วยยา MTX น้อยกว่าผู้ป่วยที่มี A allele ส่วนการศึกษาของ Kantar และคณะ ปี 2009 ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวและ non Hodgkin lymphoma พบว่าจีโนไทป์แบบ A/C และ C/C ของสลิปส์ A1298C อาจเพิ่มโอกาสในการเกิดผลข้างเคียงจากยา MTX(27) ดังนั้นการศึกษานี้จึงไม่สามารถสรุปผลที่ชัดเจนเพื่อนำไปใช้ในผู้ป่วยได้

จุดอ่อนของการศึกษานี้เป็นเพราะจำนวนผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มยังไม่มากพอ ซึ่งน่าจะเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ไม่พบความสำคัญทางสถิติอย่างชัดเจน นอกจากนี้ผลการศึกษาที่แตกต่างกันในแต่ละการศึกษาอาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางเชื้อชาติ และความแตกต่างของผู้ป่วยในแต่ละโรค

การศึกษาความถี่ของ C677T และ A1298C ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมยา MTX ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

ผลการศึกษานี้พบว่าความถี่แอลลีลและความถี่จีโนไทป์ C677T และ A1298C ไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยสะเก็ดเงิน 187 ราย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 205 ราย โดยพบความถี่จีโนไทป์ *MTHFR* C677T ของผู้ป่วยสะเก็ดเงินเป็น C/C ร้อยละ 71.12 C/T ร้อยละ 25.67 T/T ร้อยละ 3.21 และในจีโนไทป์ A1298C เป็น A/A ร้อยละ 58.29 A/C ร้อยละ 30.48 C/C ร้อยละ 11.23 ซึ่งสนับสนุนการศึกษาของ Weger และคณะปี 2008(28) ซึ่งรายงานว่า C677T ไม่สัมพันธ์กับผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินชาวคอเคเซียน และสอดคล้องกับการศึกษาของ Liew และคณะ ปี 2012(29) ซึ่งศึกษาในผู้ป่วยสะเก็ดเงินชาวมาเลเซียจำนวน 200 ราย ไม่พบความแตกต่างของ C677T จากกลุ่มควบคุม 167 ราย แต่อย่างไรก็ตามมีเพียงหนึ่งรายงานเท่านั้นจากประเทศจีน โดย Baiqiu และคณะในปี 2000 ซึ่งพบว่าผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินอาจสัมพันธ์กับ SNP C677T ในยีน *MTHFR* โดยศึกษาในผู้ป่วย 39 ราย พบผู้ป่วยมีจีโนไทป์ C/C ร้อยละ 20.15 C/T ร้อยละ 48.72 และ T/T ร้อยละ 30.77 ซึ่งแตกต่างจากคนปกติ(19)

ความถี่แอลลีล และความถี่จีโนไทป์ของ C677T และ A1298C ไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มเพศชายหรือเพศหญิง แต่เมื่อแยกกลุ่มตามเพศพบว่าความถี่จีโนไทป์ *MTHFR* A1298C ในรูปแบบ dominant ของเพศหญิงแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p value=0.02) ซึ่งยังไม่พบรายงานในการศึกษาใดมาก่อน เป็นไปได้ว่าการมีจีโนไทป์ AA ในผู้ป่วยหญิงคนไทยอาจเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคสะเก็ดเงิน ซึ่งต้องมีการศึกษายืนยันเพิ่มเติมต่อไป

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับสปีส์ C677T และ A1298C ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินและการศึกษาหาความสัมพันธ์ของ C677T และ A1298C กับประสิทธิผลและพิษของยา MTX มีน้อย ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความหลากหลายและจำนวนมากขึ้น ผลการศึกษานี้อาจเป็นข้อมูลสำคัญชิ้นหนึ่งที่ช่วยให้สามารถประมวลผลและศึกษาแบบ meta-analysis ในผู้ป่วยสะเก็ดเงินได้ เพื่อจะได้ผลการศึกษาที่น่าเชื่อถือและเป็นประโยชน์กับผู้ป่วยต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Gudjonsson J, Elder J. Chapter 18. Psoriasis. In: Goldsmith L, Katz S, Gilchrest B, Paller A, Leffell D, Wolff K, editors. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine [Internet]. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2012 [cited 2014 Jun 4]. Available from: <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=392&Sectionid=41138713>
2. Van Dooren-Greebe RJ, Kuijpers AL, Mulder J, De Boo T, Van de Kerkhof PC. Methotrexate revisited: effects of long-term treatment in psoriasis. *Br J Dermatol* [Internet]. 1994 Feb [cited 2014 Jun 20];130(2):204–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8123573>
3. Haustein UF, Rytter M. Methotrexate in psoriasis: 26 years' experience with low-dose long-term treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol* [Internet]. 2000 Sep;14(5):382–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11305380>
4. Kremer JM. Toward a better understanding of methotrexate. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2004 May [cited 2014 May 7];50(5):1370–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15146406>
5. Roenigk HH, Auerbach R, Maibach HI, Weinstein GD. Methotrexate in psoriasis: revised guidelines. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 1988 Jul [cited 2014 Jun 4];19(1 Pt 1):145–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3042816>
6. Gorlick R, Goker E, Trippett T, Waltham M, Banerjee D, Bertino JR. Intrinsic and acquired resistance to methotrexate in acute leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 1996 Oct 3 [cited 2014 Jul 1];335(14):1041–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8793930>
7. Tian H, Cronstein BN. Understanding the Mechanisms of Action of Methotrexate. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2007;65(3):168–73.
8. Van Ede a. E, Laan RFJM, Blom HJ, De Abreu R a., Van de Putte LB a. Methotrexate in rheumatoid arthritis: an update with focus on mechanisms involved in toxicity. *Semin*

- Arthritis Rheum [Internet]. 1998 Apr [cited 2014 Jun 4];27(5):277–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9572710>
9. Kim S-K, Jun J-B, El-Sohehy A, Bae S-C. Cost-effectiveness analysis of MTHFR polymorphism screening by polymerase chain reaction in Korean patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *J Rheumatol* [Internet]. 2006 Jul [cited 2014 Jun 4];33(7):1266–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16758511>
 10. Weisman MH, Furst DE, Park GS, Kremer JM, Smith KM, Wallace DJ, et al. Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2006 Feb [cited 2014 May 7];54(2):607–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16447238>
 11. Van Ede AE, Laan RF, Blom HJ, Huizinga TW, Haagsma CJ, Giesendorf BA, et al. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2001 Nov [cited 2014 Jun 4];44(11):2525–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11710708>
 12. Van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM, Smeitink J a, Trijbels FJ, Eskes TK, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet*. 1998;62(5):1044–51.
 13. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* [Internet]. 1994 Jun [cited 2014 Jul 1];7(2):195–200. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7920641>
 14. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab*. 1998;64(3):169–72.
 15. Ueland PMP, Hustad S, Schneede JJ, Refsum H, Vollset SE. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2001

- Apr [cited 2014 Jul 2];22(4):195–201. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11282420>
16. Bailey LB. Folate, methyl-related nutrients, alcohol, and the MTHFR 677C-->T polymorphism affect cancer risk: intake recommendations. *J Nutr* [Internet]. 2003 Nov [cited 2014 Jul 23];133(11 Suppl 1):3748S–3753S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14608109>
 17. Urano W, Taniguchi A, Yamanaka H, Tanaka E, Nakajima H, Matsuda Y, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics* [Internet]. 2002 Apr [cited 2014 Jun 4];12(3):183–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11927833>
 18. Wessels J a M, de Vries-Bouwstra JK, Heijmans BT, Slagboom PE, Goekoop-Ruiterman YPM, Allaart CF, et al. Efficacy and toxicity of methotrexate in early rheumatoid arthritis are associated with single-nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2006 Apr [cited 2014 Apr 29];54(4):1087–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16572443>
 19. Baiqiu W, Songbin F, Guiyin Z, Pu L. Study of the relationship between psoriasis and the polymorphic site C677T of methylenetetrahydrofolate reductase. *Chin Med Sci J* [Internet]. 2000 Jun [cited 2014 Jul 2];15(2):119–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12901638>
 20. Warren RB, Griffiths CEM. The potential of pharmacogenetics in optimizing the use of methotrexate for psoriasis. *Br J Dermatol* [Internet]. 2005 Nov [cited 2014 Jul 2];153(5):869–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16225593>
 21. Warren RB, Smith RL, Campalani E, Eyre S, Smith CH, Barker JNWN, et al. Outcomes of methotrexate therapy for psoriasis and relationship to genetic polymorphisms. *Br J Dermatol* [Internet]. 2009 Feb [cited 2014 May 7];160(2):438–41. Available from:

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2680291&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

22. Owen SA, Lunt M, Bowes J, Hider SL, Bruce IN, Thomson W, et al. MTHFR gene polymorphisms and outcome of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis: analysis of key polymorphisms and meta-analysis of C677T and A1298C polymorphisms. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2013 Apr [cited 2014 Jun 4];13(2):137–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21931346>
23. Lee YH, Song GG. Associations between the C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR and the efficacy and toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Clin Drug Investig* [Internet]. 2010 Jan [cited 2014 May 7];30(2):101–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20067328>
24. Fisher MC, Cronstein BN. Metaanalysis of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms affecting methotrexate toxicity. *J Rheumatol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2014 Jun 4];36(3):539–45. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2673494&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
25. Berkun Y, Levartovsky D, Rubinow a, Orbach H, Aamar S, Grenader T, et al. Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2004 Oct [cited 2014 May 7];63(10):1227–31. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1754756&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
26. Bohanec Grabar P, Logar D, Lestan B, Dolzan V. Genetic determinants of methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis patients: a study of polymorphisms affecting methotrexate transport and folate metabolism. *Eur J Clin Pharmacol* [Internet]. 2008 Nov [cited 2014 Jun 1];64(11):1057–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18607581>
27. Kantar M, Kosova B, Cetingul N, Gumus S, Toroslu E, Zafer N, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene polymorphisms and therapy-related toxicity in children treated for acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma.

- Leuk Lymphoma [Internet]. 2009 Jun [cited 2014 Jun 4];50(6):912–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19391036>
28. Weger W, Hofer A, Stanger O, Wolf P, El-Shabrawi Y, Renner W, et al. The methylene tetrahydrofolate reductase 677C>T gene polymorphism is not associated with chronic plaque psoriasis. *Exp Dermatol* [Internet]. 2008 Sep [cited 2014 May 7];17(9):748–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18355300>
29. Liew SC, Das-Gupta E, Wong SF, Lee N, Safdar N, Jamil A. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677 C > T gene polymorphism and homo cysteine levels in psoriasis vulgaris patients from Malaysia: a case-control study. *Nutr J* [Internet]. BioMed Central Ltd; 2012 Jan [cited 2014 May 5];11(1):1. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3286399&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

ภาคผนวก

บทความวิจัยที่นำเสนอที่ประชุมวิชาการ (Proceeding)

การประชุมวิชาการประจำปีคณะแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 25 ปี 2552 การศึกษาความสัมพันธ์ของยีน
เมธิลีนเตตระไฮโดรโฟเลทรีดักเตสในผู้ป่วยสะเก็ดเงินชาวไทย 6 ส.ค. 2552.