การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรค
และลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย

นางสาวลิลลี่ ปฐมหยก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

ASSOCIATION BETWEEN HLA-B*46 POLYMORPHISM AND THE SUSCEPTIBLITY AND CLINICAL MANIFESTATION OF GRAVES' DISEASE IN THAI PATIENTS

Miss Lilly Pathomyok

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคและลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย
โดย	นางสาวลิลลี่ ปฐมหยก
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สนับบุญ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ โศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ประวิตร อัศวานนท์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธิติ สนับบุญ)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร. แพทย์หญิงชนิดา วินะยานุวัติคุณ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ทิพาพร ธาระวานิช)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ลิลลี่ ปฐมหยก : การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคและลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย. (ASSOCIATION BETWEEN HLA-B*46 POLYMORPHISM AND THE SUSCEPTIBLITY AND CLINICAL MANIFESTATION OF GRAVES' DISEASE IN THAI PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. นพ. ธิติ สนับบุญ, 68 หน้า.

ที่มา : โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ เป็นโรคออโตอิมมูน พบมีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางพันธุกรรม โดยยีนที่มีรายงานมากที่สุดยีนหนึ่งคือ HLA ทั้ง HLA class II และ HLA class I ซึ่งอัลลีลที่พบมีความแตกต่างกันระหว่างเชื้อชาติ ในชาวเอเชียพบความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ

วิธีดำเนินการวิจัย : เป็นการศึกษาย้อนหลังเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีโรคออโตอิมมูนและตรวจไม่พบไทรอยด์แอนติบอดี ตรวจหาอัลลีลของยีนHLA-B*46 ด้วยวิธี PCR-SSP โดยตั้งสมมติฐานว่าพบความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 ต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟในผู้ป่วยชาวไทย

ผลการวิจัย : พบ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease จำนวน 11 คน จาก 54 คน คิดเป็นร้อยละ 20 และในกลุ่มควบคุม พบมี HLA-B*46 จำนวน 5 คน จาก 61 คน คิดเป็นร้อยละ 8 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P = 0.060)

สรุปผลการวิจัย : ไม่พบความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 ต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2556

5574154030 : MAJOR MEDICINE
KEYWORDS: HLA / GRAVES' DISEASE

LILLY PATHOMYOK: ASSOCIATION BETWEEN HLA-B*46 POLYMORPHISM AND THE SUSCEPTIBLITY AND CLINICAL MANIFESTATION OF GRAVES' DISEASE IN THAI PATIENTS. ADVISOR: ASST. PROF. THITI SNABBOON, M.D., 68 pp.

Background : Graves' disease is an autoimmune disease that associated with genetic factors. The most susceptibility gene is Human leukocyte antigen (HLA) gene, both HLA class II and HLA class I, which has ethnicity difference. In Asian population had reported susceptibility of HLA-B*46

Methods : A retrospective case-control study compares patients with Graves' disease and control group, which no autoimmune disease and negative for thyroid autoantibodies. We analyzed human leukocyte antigen (HLA) by PCR-SSP. The Hypothesis is HLA-B*46 associated with Graves' disease

Results : 54 Thai patients with Graves' disease and 61 controls, HLA-B*46 was found in 11 subjects in Graves' disease (20%) and 5 subjects in controls (8%). No association between HLA-B*46 and Graves' disease in Thai patients. (P = 0.060)

Conclusion : No association between HLA-B*46 and Graves' disease in Thai patients.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Department: Medicine
Field of Study: Medicine
Academic Year: 2013

Student's Signature .....

Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมายสาขาวิชาต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. ผศ.นพ.ธิติ สนับบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
2. นางสาวณัฐณิชา ห่วงงาม นักวิทยาศาสตร์การแพทย์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. นางสาวอรทัย กังวานชิรธาดา นักเทคนิคการแพทย์
2. นางสาวศุภพร ไพบูลย์กษาปน์ นักเทคนิคการแพทย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญรูปภาพ ..... ญ
สารบัญแผนภูมิ ..... ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 13
1.3 คำถามของการวิจัย 13
1.4 สมมติฐาน 14
1.5 ขอบเขตของการวิจัย 14
1.6 ข้อจำกัดในการวิจัย 14
1.7 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย 14
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 15
1.9 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ 15
1.10 ปัญหาทางจริยธรรม 17
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18
2.1 แนวคิดและทฤษฎี 18
2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 26
3.1 ประชากร 26
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 26
3.3 รูปแบบการวิจัย (Research Design) 27
3.4 หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง 27

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล 28
3.6 การสังเกตและการวัด (Observation and measurement) 28
3.7 การรวบรวมข้อมูล (Data collection) 29
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล 29
3.9 เกณฑ์เทียบความคิดเห็น 30
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 31
4.1 ผลการวิเคราะห์ 31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 36
5.1 สรุปผลการวิจัย 36
5.2 อภิปรายผลการวิจัย 36
5.3 ข้อเสนอแนะ 40
รายการอ้างอิง 41
ภาคผนวก 48
ภาคผนวก ก 49
ภาคผนวก ข 51
ภาคผนวก ค 57
ภาคผนวก ง 63
ภาคผนวก จ 66
ภาคผนวก ฉ 67
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 68

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ภาวะโรคไทรอยด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มโรคออโตอิมมูนไทรอยด์[2] 1
ตารางที่ 2 ยีนที่มีรายงานความสัมพันธ์กับการเกิดโรค Graves' disease[20] 5
ตารางที่ 3 แสดงการกระจายของ HLA-B*46 ในการศึกษาของ Hawkins BR และคณะ[42] 19
ตารางที่ 4 แสดงการกระจายของ HLA-B*46 ในช่วงอายุที่เริ่มเป็นโรคแตกต่างกัน ในการศึกษาของ Hawkins BR และคณะ[42] 19
ตารางที่ 5 แสดงความถี่ของ HLA-B*46 ในผู้ป่วย Graves' disease ตามเพศ และอายุที่เกิดโรค จากการศึกษาของ Yeo PP และคณะ[44] 20
ตารางที่ 6 แสดงความถี่ของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Euthyroid Graves' ophthalmopathy, Graves' disease และ Hashimoto's thyroiditis เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากการศึกษาของ Inoue D และคณะ[45] 21
ตารางที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 ในผู้ป่วยโรค Graves' disease ตามการศึกษาของ Cavan DA และคณะ[46] 22
ตารางที่ 8 แสดงการตั้งค่าโปรแกรมเครื่องตรวจ PCR สำหรับ Micro SSPTM HLA DNA 27
ตารางที่ 9 ลักษณะพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และกลุ่มควบคุม 32
ตารางที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม 32
ตารางที่ 11 ความชุกของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 34
ตารางที่ 12 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย Graves' disease ที่พบและไม่พบอัลลีล HLA-B*46 34
ตารางที่ 13 ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย Graves' disease ที่พบและไม่พบอัลลีล HLA-B*46 35
ตารางที่ 14 แสดงข้อมูลพื้นฐานด้านเพศเรียงตามสัดส่วนเพศหญิงในการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease ในการศึกษาก่อนหน้านี้และในงานวิจัยนี้ 37
ตาราง 15 แสดงความถี่ของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วยเกรฟ และออโตอิมมูนไทรอยด์ในการศึกษาก่อนหน้านี้ในชาวเอเชีย และในงานวิจัยนี้ 38

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปภาพที่ 1 กลไกการเกิดภาวะไทรอยด์เป็นพิษใน Graves' disease: CD4 ซึ่งเป็น T cell lymphocyte จะกระตุ้นให้ B cell สร้างแอนติบอดีคือ thyroid-stimulating immunoglobulin (TSI) ไปจับกับ thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR) ทำให้เกิดภาวะไทรอยด์เป็นพิษ[7] 3
รูปภาพที่ 2 แสดงยีนและการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด Graves' disease[19] 5
รูปภาพที่ 3 แสดงตำแหน่งของกลุ่มยีน HLA บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ประกอบด้วย 3 บริเวณ คือ class I, class II และ class III โดยในแต่ละบริเวณจะประกอบด้วยยีนหลาย locus[22] 6
รูปภาพที่ 4 การถ่ายทอด HLA haplotype จากบิดาและมารดา[23] 7
รูปภาพที่ 5 แสดง MHC หรือ HLA class I และ II ในการสร้าง Antigen บนผิวของเซลล์[24] 8
รูปภาพที่ 6 แสดงส่วนประกอบของโมเลกุล MHC (HLA) class I[28] 10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวความคิดในการวิจัย 14

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AITD	Autoimmune Thyroid Disease
GD	Graves' disease
HT	Hashimoto's Thyroiditis
CD	Cluster of Differentiation
HLA	Human Leukocyte Antigen
MHC	Major Histocompatibility Complex
Ab	Antibody
FT3	Free T3
FT4	Free T4
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
Tg	Thyroglobulin
TPO	Thyroid Peroxidase

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคออโตอิมมูนไทรอยด์ (Autoimmune thyroid disease, AITD) ประกอบด้วยกลุ่มโรคไทรอยด์ที่มีสาเหตุของโรคเกิดจากภาวะออโตอิมมูน โรคไทรอยด์อักเสบชนิดฮาชิโมโตะ (Hashimoto's thyroiditis) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มโรคออโตอิมมูนไทรอยด์เป็นครั้งแรกเมื่อประมาณ 50 ปีก่อน หลังจาก Roitt และคณะพบแอนตีบอดีต่อ thyroglobulin (Tg) ในเลือดของผู้ป่วย[(1)] หลังจากนั้นมีการค้นพบว่า Graves' disease ก็เกิดจากภาวะออโตอิมมูน โดยพบ IgG จำเพาะที่สามารถกระตุ้นต่อมไทรอยด์ได้ให้ทำงานเพิ่มขึ้นโดยจับกับ thyroid stimulating hormone receptor (TSHR)

ปัจจุบันพบว่าพบความผิดปกติของไทรอยด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มโรคออโตอิมมูนไทรอยด์มีหลายโรค โดยมีโรคหลักดังต่อไปนี้ ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ภาวะโรคไทรอยด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มโรคออโตอิมมูนไทรอยด์[(2)]

ภาวะ	ลักษณะคอพอก	การทำงานของต่อมไทรอยด์
Focal Thyroiditis	ไม่มี	ปกติ หรือ subclinical hypothyroidism
Hashimoto's thyroiditis	มักมีขนาดใหญ่	ปกติ หรือ ทำงานต่ำ
Atrophic thyroiditis	ไม่มี	ทำงานต่ำ
Silent thyroiditis; postpartum thyroiditis	ขนาดเล็ก	Transient thyrotoxicosis และ/หรือ hypothyroidism
Graves' disease	ขนาดแตกต่างกันได้มาก	ไทรอยด์เป็นพิษ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

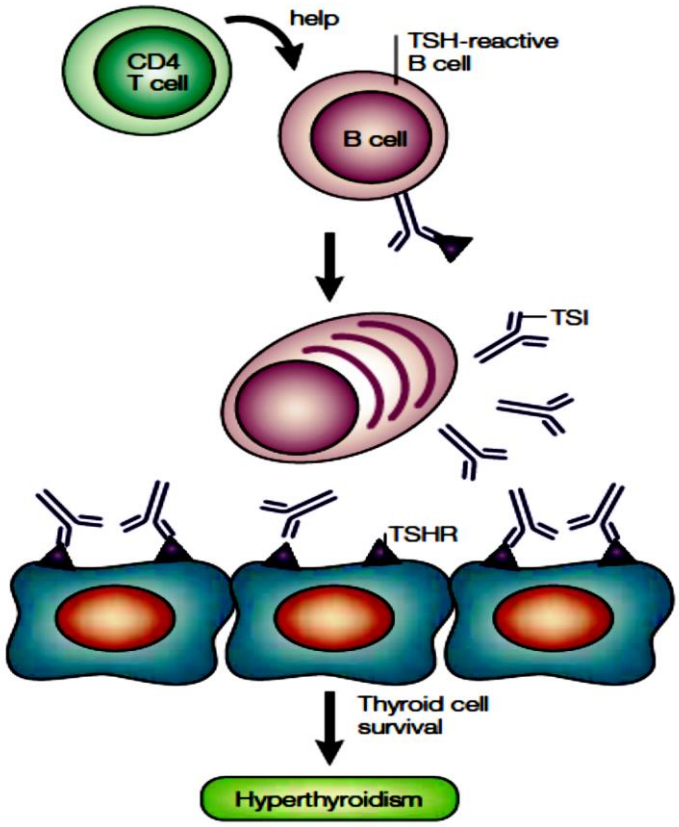
อาจแบ่งโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ตามความผิดปกติของการทำงานของต่อมไทรอยด์ ได้แก่ กลุ่มที่มีการทำงานของต่อมไทรอยด์ผิดปกติ (overt AITD) และกลุ่มที่มีการทำงานของต่อมไทรอยด์ปกติแต่ตรวจพบthyroid autoantibody (subclinical AITD)

ความชุกของ subclinical AITD พบมาก แต่ระบุได้ยาก เนื่องจากขึ้นกับความไว (sensitivity) ของการตรวจ thyroid autoantibodies พบว่าในผู้หญิง 20%[2] จะตรวจพบ antibody ต่อ Thyroglobulin และ Thyroid peroxidase มีรายงานความชุกของ focal thyroiditis จากการตรวจทางพยาธิวิทยาหลังการตาย พบว่ามีความชุกถึง 40% ในเพศหญิงและ 20% ในเพศชาย[3] ถ้าประเมินเฉพาะความชุกของ Overt AITD พบว่า พบได้บ่อยถึง 5 เปอร์เซ็นต์ในประชากรทั่วไป[4, 5]

โรคเกรฟ (Graves' disease; GD)

Graves' disease เป็นโรคไทรอยด์เป็นพิษที่พบได้บ่อยที่สุด 50-80%(6) ของภาวะไทรอยด์เป็นพิษ พบในเพศหญิงมากกว่าเพศชายถึง 7-10 เท่า อาการของโรคพบมีต่อมไทรอยด์โตทั่วๆต่อม และมีอาการของภาวะไทรอยด์เป็นพิษ อาจพบมีอาการทางตา (Graves' Ophthalmopathy) และอาการทางผิวหนัง (Thyroid dermopathy) ร่วมด้วย กลไกการเกิดโรคคือ ภาวะออโตอิมมูนทำให้ T-lymphocyte ของผู้ป่วยมีการตอบสนองต่อแอนติเจนในต่อมไทรอยด์ กระตุ้นให้ B-lymphocyte สร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนนั้น ได้แก่ แอนติบอดีต่อ thyroid peroxidase, thyroglobulin และ TSHR receptor (TSHR หรือเรียกว่า thyrotropin receptor antibodies, TRAbs หรือ thyroid stimulating Immunoglobulin, TSI) ซึ่งแอนติบอดีที่มีความจำเพาะคือ TSHR หรือ TRAbs จะทำหน้าที่เป็น Thyroid-stimulating antibodies ดังรูปภาพที่ 1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปภาพที่ 1 กลไกการเกิดภาวะไทรอยด์เป็นพิษใน Graves' disease: CD4 ซึ่งเป็น T cell lymphocyte จะกระตุ้นให้ B cell สร้างแอนติบอดีคือ thyroid-stimulating immunoglobulin (TSI) ไปจับกับ thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR) ทำให้เกิดภาวะไทรอยด์เป็นพิษ[7]

ความเสี่ยงต่อการเกิด Graves' disease พบว่าเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางพันธุกรรม เพศ อารมณ์เครียด ฮอร์โมนเพศ ภาวะการติดเชื้อบางชนิด ภาวะไอโอดีนในร่างกาย

ปัจจัยทางพันธุกรรม มีข้อมูลสนับสนุนสำคัญจากการศึกษาในกลุ่มฝาแฝด[8, 9] เนื่องจากฝาแฝดไข่ใบเดียวกัน (monozygotic twin) มีลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนกัน 100% ส่วนในฝาแฝดพี่น้อง (dizygotic twin) จะมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกันประมาณ 50% ข้อมูลจากการศึกษาพบว่าอัตราการเป็นหรือไม่เป็นโรค Graves' disease มีความสอดคล้องกัน (concordance rate) ในกลุ่มฝาแฝดไข่ใบเดียวกันมากกว่าในฝาแฝดพี่น้องอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าในฝาแฝดไข่ใบเดียวกันมีความสอดคล้องกัน 17-35% แต่ในฝาแฝดพี่น้องพบมีความสอดคล้องกันเพียง 3%

นอกจากนี้ มีการศึกษาการเกิดโรคในครอบครัวที่สนับสนุนปัจจัยทางพันธุกรรมมีความสัมพันธ์กับการเกิด Graves' disease การศึกษาพบว่าครอบครัวที่มีสมาชิกเป็นโรค Graves' disease จะมีโอกาสเกิด Graves' disease ได้สูงกว่าครอบครัวที่ไม่มีสมาชิกในครอบครัวเป็นโรคนี้

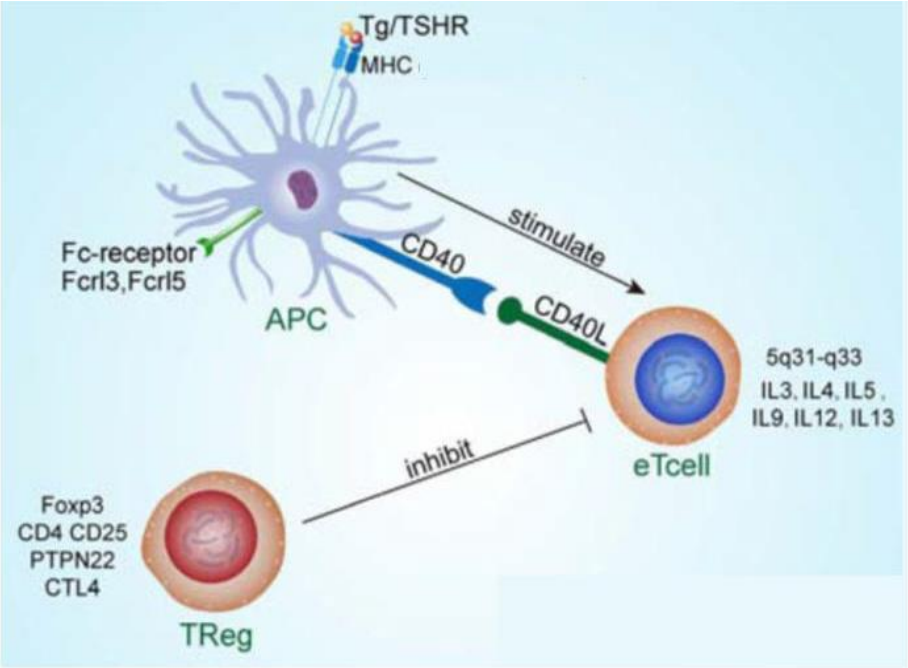
โดย 1 ใน 3 ของญาติผู้ป่วยที่เป็น Graves' disease จะมีโรค AITD และมากกว่าครึ่งหนึ่งตรวจเลือดพบ thyroid antibody[10, 11]

ยีนซึ่งมีอิทธิพลต่อการเกิด Graves' disease มีหลายยีน อาจแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มยีนที่ควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Immune regulatory genes) ได้แก่ HLA, CTLA-4, PTPN22, CD40, IL2RA, FCRL3 และกลุ่มยีนที่จำเพาะต่อไทรอยด์ (Thyroid specific genes) ได้แก่ Tg, TSHR

กลุ่มยีน Human Leucocyte Antigen (HLA) เช่น HLA–DR3 และ HLA-DQA1*0501 มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค Graves'disease ในขณะที่ HLA-DRB1*0701 เป็นยีนที่พบมีความสัมพันธ์ในการป้องกันการเกิดโรค(protective allele)[12]

ยีนอื่นๆที่ไม่สัมพันธ์กับ HLA เช่น มีการศึกษาพบว่าการเกิด Graves' disease มีความสัมพันธ์กับ polymorphism ของยีน cytotoxic lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) ซึ่งมีบทบาทในการควบคุมการกระตุ้นกระบวนการออโตอิมมูน(13), protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22 (PTPN22) ยับยั้งการกระตุ้นของ T cell โดยจับกับ signal transduction molecules(14) , Cluster of Differentiation 40 (CD40) กระตุ้น T cell และการหลั่งแอนติบอดี[15], interleukin 2 receptor alpha (IL2RA), Fc receptor-like protein 3 (FCRL3), thyroglobulin (TG) และ thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR) พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนในกลุ่มยีน HLA เป็นปัจจัยหลักต่อการเกิดโรค Graves' disease โดยมี odds ratio 2.0-4.0[16-18] ดังแสดงในรูปภาพที่ 2 และตารางที่ 2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปภาพที่ 2 แสดงยีนและการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด Graves' disease[19]

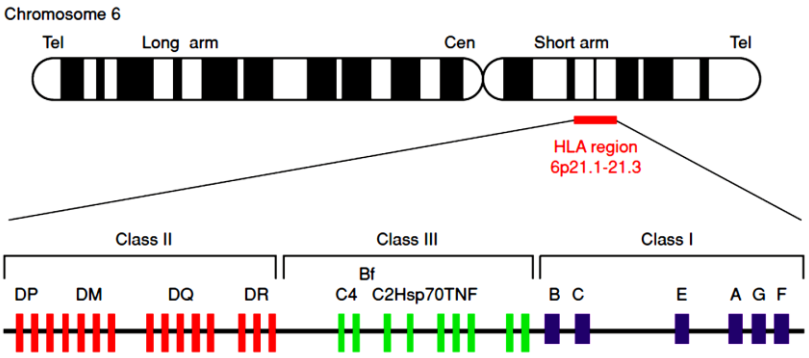
ตารางที่ 2 ยีนที่มีรายงานความสัมพันธ์กับการเกิดโรค Graves' disease[20]

ยีน	โครโมโซม	Odds Ratio
HLA	6p21	2.0-4.0
CTLA4	2q33	1.5-2.2
PTPN22	1p13	1.4-1.9
CD40	20q11	1.3-1.8
IL2RA	10p15	1.1-1.4
FCRL3	1q23	1.1-1.3
Tg	8q24	1.3-1.6
TSHR	14q31	1.4-2.6

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

กลุ่มยีน HLA (Human Leukocyte Antigen)

เป็นกลุ่มยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6[21] เรียกว่า Major Histocompatibility Complex (MHC) ซึ่ง MHC ในมนุษย์เรียกว่า HLA กลุ่มยีนนี้ประกอบด้วย 3 บริเวณสำคัญ คือ class I มีขนาด 2,000 kb class II 1,000 kb และ class III 1,000 kb (รูปภาพที่ 3)



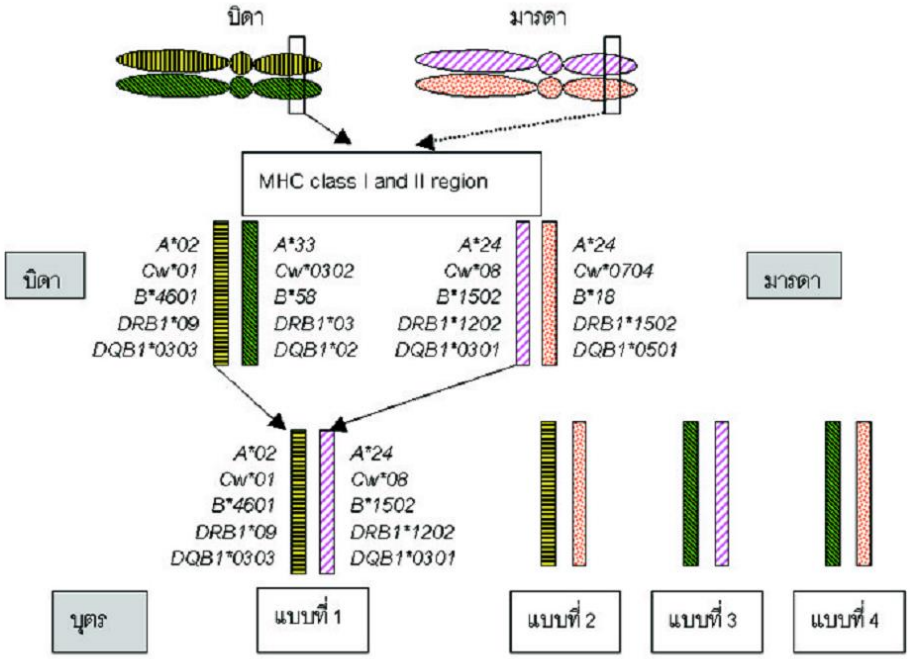
รูปภาพที่ 3 แสดงตำแหน่งของกลุ่มยีน HLA บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ประกอบด้วย 3 บริเวณ คือ class I, class II และ class III โดยในแต่ละบริเวณจะประกอบด้วยยีนหลาย locus [22]

กลุ่ม Class I ประกอบด้วย ยีนสำคัญ 3 กลุ่ม ได้แก่ classical HLA class I ได้แก่ ยีน HLA-A, HLA-B, และ HLA -C ซึ่งจะควบคุม และกำหนดการสร้าง HLA class I molecule ที่พบอยู่บนพื้นผิวเซลล์ที่มีนิวเคลียส เกือบทุกชนิดในร่างกาย , non-classical HLA class I ได้แก่ ยีน HLA-E, HLA-F, และ HLA-G และ class I chain related ได้แก่ ยีน MICA และ MICB

กลุ่ม Class II ประกอบด้วย ยีน classical HLA class II ได้แก่ ยีน HLA-DR, HLA-DP, และ HLA-DQ ซึ่งควบคุม และกำหนดการสร้าง HLA class II molecule บนผิวเซลล์ของ Antigen presenting cell ต่างๆ ได้แก่ B lymphocyte, macrophage, และ dendritic cell รวมทั้ง บน activated T lymphocyte ด้วย และยีน non-classical HLA class II ได้แก่ ยีน HLA-DM และ HLA-DO

กลุ่ม Class III ประกอบด้วยยีนที่สร้างองค์ประกอบของระบบ complement ได้แก่ Bf, C2, C4A, C4B, tumor necrosis factor (TNF), และ Steroid 21-hydroxylase enzymes (21-OH) เป็นต้น

เนื่องจากกลุ่มยีนใน HLA complex อยู่ใกล้กันมาก การถ่ายทอดของกลุ่มยีนนี้จะถ่ายทอดเป็นกลุ่มไปพร้อมกันทั้งบริเวณเรียกว่า HLA haplotype แต่ละคนจะได้รับ haplotype จากพ่อและแม่ โดยจะมีการแสดงออกอย่างเท่าเทียมกัน (co-dominantly expression) ลักษณะทางพันธุกรรมที่ได้รับการถ่ายทอดจากพ่อแม่ เรียกว่า HLA genotype ลักษณะที่แสดงออกจะเรียกว่า HLA phenotype ดังนั้น แต่ละคนจะมี HLA-A, HLA-B, HLA-C รวมทั้ง HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ อย่างละ 2 โมเลกุล แสดงในรูปภาพที่ 4

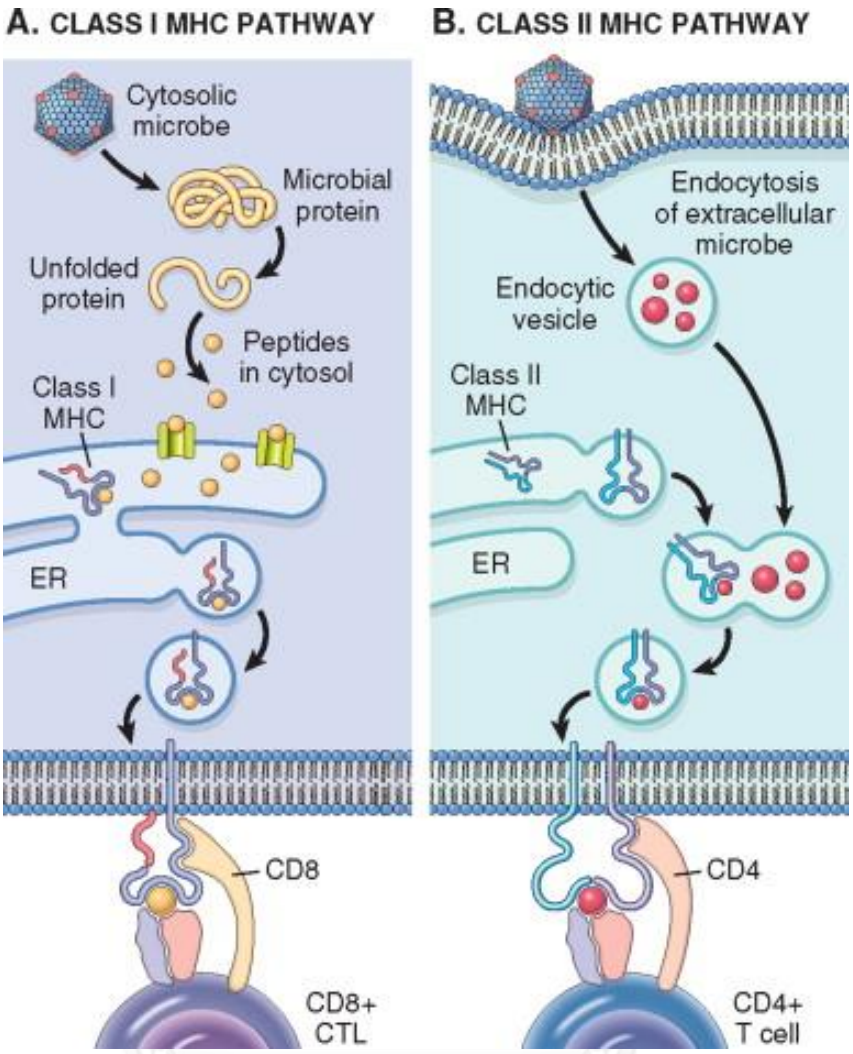


รูปภาพที่ 4 การถ่ายทอด HLA haplotype จากบิดาและมารดา[23]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

HLA กับการเกิดโรคออโตอิมมูน

HLA class II มีบทบาทเกี่ยวข้องกับแอนติเจนภายนอกเซลล์ (exogenous antigen) และทำงานร่วมกับ lymphocyte ชนิด CD4 ส่วน HLA class I มีบทบาทเกี่ยวข้องกับแอนติเจนภายในเซลล์ (endogenous antigen) และทำงานร่วมกับ lymphocyte ชนิด CD8 และ Natural Killer (NK) cell ดังแสดงในรูปภาพที่ 5



รูปภาพที่ 5 แสดง MHC หรือ HLA class I และ II ในการสร้าง Antigen บนผิวของเซลล์[24]

A. MHC class I ใช้เปปไทด์ภายในเซลล์รวมกับ MHC class I และทำงานร่วมกับ CD8

B. MHC class II ใช้เปปไทด์ที่ได้จากภายนอกเซลล์รวมกับ MHC class II และทำงานร่วมกับ CD4

ความสัมพันธ์กับการเกิด Graves' disease พบใน HLA class II มาตั้งแต่ปี 1970[25] ปัจจุบันพบว่าทั้ง HLA class II และ HLA class I มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคออโตอิมมูนต่างๆ รวมทั้ง Graves' disease

สมมติฐานที่เชื่อว่าอธิบายกลไกของยีน HLA class I ในการกระตุ้นการเกิดโรคออโตอิมมูน คือการแสดงแอนติเจนภายในเซลล์(26) ซึ่งแอนติเจนนั้นอาจเป็นส่วนของไวรัสหรือแบคทีเรีย ซึ่งก็มีรายงานพบความสัมพันธ์กับการเกิดโรคออโตอิมมูน การที่ไวรัสหรือแบคทีเรียสามารถกระตุ้นการเกิด

โรคออโตอิมมูนได้เป็นผลผ่านทางการที่มีโมเลกุลคล้าย (molecular mimicry) ซึ่งคือแอนติเจนของไวรัสหรือแบคทีเรียนั้นมีความคล้ายกับแอนติเจนของผู้ป่วยมากเพียงพอที่จะกระตุ้นให้ T-cell มีปฏิกิริยาข้ามต่อแอนติเจนของผู้ป่วยเองได้ และผ่านทางกลไก superantigens คือทำให้เกิดการตอบสนองได้มากและไม่จำเพาะ ทำให้เกิดปฏิกิริยาข้ามมามีผลต่อเนื้อเยื่อของร่างกายผู้ป่วยเองได้ โดยไวรัสสามารถกระตุ้นการแสดงออกของทั้ง HLA class I และ HLA class II และมีผลต่อแอนติเจนที่แสดงออกต่อ CD8 เป็นหลัก

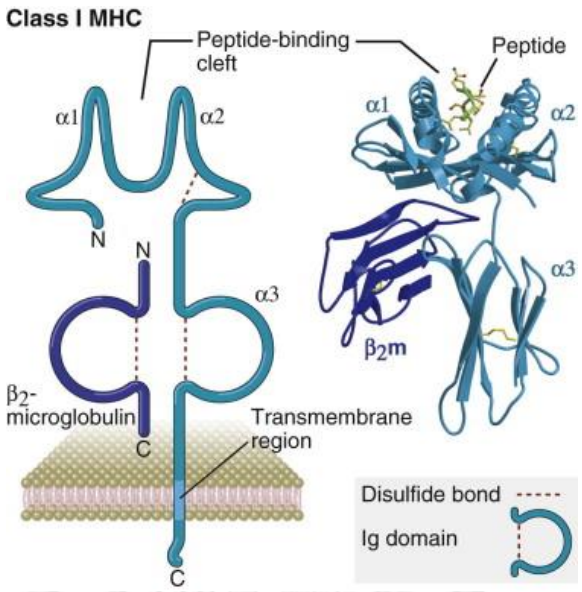
นอกจากนั้น HLA class I molecule มีความสัมพันธ์กับโรคออโตอิมมูนผ่านทางกลไกยับยั้งการทำงานของ NK cell โดยถ้าการแสดงออกของ HLA class I ของเซลล์นั้นปกติจะทำให้เกิดการยับยั้งการทำลายเซลล์ที่ผ่านทางกลไกของ NK cell พบว่ายีนในกลุ่ม HLA-C มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคออโตอิมมูนผ่านทางกลไกนี้ด้วย(27)

เชื่อว่า HLA class I มีกลไกอื่นที่ไม่ผ่านเชื้อไวรัสที่เกี่ยวข้องกับเกิดโรคออโตอิมมูน ได้แก่ การเกิดการสร้างโปรตีนที่รูปร่างผิดปกติจาก Rough endoplasmic reticulum ในเซลล์สามารถกระตุ้นให้เกิดเป็นออโตแอนติเจน หรือการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลของ HLA class I ทำให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโดย HLA class II หรือทำให้เกิดการคัดเลือก CD8 ที่ผิดปกติไป[26]

โมเลกุล HLA class I

โมเลกุล HLA class I ทำหน้าที่สร้างไกลโคโปรตีนที่เรียกว่า polymorphic glycoprotein ประกอบด้วย heavy chain และ light chain (β2-microglobulin) แสดงในรูปภาพที่ 6

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปภาพที่ 6 แสดงส่วนประกอบของโมเลกุล MHC (HLA) class I[28]

โดย heavy chain มีขนาด 45 kDa มี 8 exons แต่ละส่วนของ exon จะทำหน้าที่แตกต่างกัน คือ

Exon 1 หรือ leader peptide ทำหน้าที่เป็น signal peptide

Exon 2 และ 3 ทำหน้าที่สร้าง **α**1 และ **α**2 domains โดยทั้ง 2 domains จะจับกันเป็น peptide

Exon 4 ทำหน้าที่สร้าง **α**3 domains

Exon 5 เป็นส่วนของ transmembrane

Exon 6 และ 7 เป็นส่วนของ cytoplasmic tail

Exon 8 เป็นส่วนของ 3'Untranslated region

การเกิด Polymorphisms จะพบที่ exon 2 และ exon 3 ซึ่งส่งผลต่อการจับกันอย่างจำเพาะของ peptide (peptide-binding) กับ antigen peptides ได้แก่ T cells ส่งผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อ antigen ดังนั้น ยีน HLA จึงเป็นตัวกำหนดและควบคุมลักษณะของแอนติเจนบนผิวเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบรับหรือการปฏิเสธเนื้อเยื่อ รวมทั้งการตอบสนองทาง

ภูมิคุ้มกัน ผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า HLA มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค Graves' disease 2.0-4.0 เท่า[29]

การเรียกชื่อ HLA[30, 31]

เนื่องจากมีการศึกษายีน HLA อย่างกว้างขวางและการตรวจมีวิธีที่แตกต่างกันหลายวิธี ทำให้มีการเรียกชื่อหลายวิธี องค์การอนามัยโลกได้จัดตั้งกรรมการกำหนดชื่อเรียกให้เป็นระบบเดียวกัน โดยส่วนแรกจะเป็นชื่อของยีนหรือ locus เช่น HLA-B ส่วนที่สองจะตามหลังส่วนแรกโดยมีเครื่องหมายดอกจัน (*) และตัวเลขสองหลัก ซึ่งแสดงกลุ่ม allele เช่น HLA-B*46 หลังจากนั้นอาจตามด้วยเครื่องหมายทวิภาค (:) และตัวเลขอีกสองหรือสามหลัก แสดงชนิดกลุ่มย่อยของ allele ซึ่งมีรหัสพันธุกรรมที่ให้ HLA protein ต่างชนิดกัน เช่น HLA-B*46:01, HLA-B*46:02 นอกจากนี้อาจตามด้วยเครื่องหมายทวิภาคและมีตัวเลขอีก 2 หลัก แสดงชนิดกลุ่มย่อยของ allele ซึ่งมีรหัสพันธุกรรมที่ต่างกันแต่ให้โปรตีนชนิดเดียวกัน

เดิมแอนติเจนที่ยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมจะมี อักษร "w" นำหน้าตัวเลขก่อน แต่หลังจากองค์การอนามัยโลกกำหนดระบบชื่อเรียก จึงให้ยกเลิกอักษร "w" เหลือเพียง 3 locus ได้แก่ Bw4, Bw6 และ Cw เนื่องจากเพื่อป้องกันการสับสนชื่อของ complement

การตรวจแอนติเจน HLA(21)

สามารถตรวจได้ 2 ระดับ คือ

1. Phenotypic level เป็นการตรวจชนิดของโปรตีนบนผิวเซลล์ วิธีการตรวจอาจใช้วิธีทาง serology หรือ cellular

2. Genotypic level เป็นการตรวจ DNA sequence ของยีนโดยใช้วิธีทาง Polymerase chain reaction (PCR)

การตรวจด้วยวิธี serology

ได้แก่ Lymphocyte microcytotoxicity testing คือการนำ lymphocytes ซึ่งมีแอนติเจนของ HLA มาทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีของ HLA ชนิดต่างๆโดยมีคอมพลีเมนต์ร่วมด้วย เมื่อมีปฏิกิริยาจำเพาะเกิดขึ้น เซลล์ที่เกิดปฏิกิริยาก็จะตาย อ่านผลโดยประมาณค่าร้อยละของเซลล์ที่ตายโดยการย้อมด้วย Eosin การตรวจวิธีนี้จำเป็นต้องทำการทดสอบภายใน 24 ชั่วโมง เนื่องจากต้องเปรียบเทียบร้อยละของเซลล์ที่ยังมีชีวิตในการทดสอบของ negative control ซึ่งต้องมากกว่า 80%

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ขึ้นไป ถ้าตรวจ HLA class I อาจใช้ whole lymphocytes หรือ T lymphocytes ก็ได้ แต่ถ้าตรวจ HLA-class II ต้องใช้ B lymphocyte

การตรวจวิธี cellular

เรียกว่า mixed leukocyte culture หรือ mixed lymphocyte reaction เป็นการตรวจแอนติเจนบน lymphocyte โดยนำ lymphocytes ที่มี HLA แตกต่างกันมาใส่รวมกันในน้ำเพาะเลี้ยงเซลล์ในหลอดทดลอง ซึ่งจะเกิดการกระตุ้นให้เกิดการสร้างเซลล์อ่อน เมื่อมีการแบ่งตัวของเซลล์ทำให้มีการสร้าง DNA เพิ่มขึ้นและสามารถวัดพิกัดของการกระตุ้นได้ ทำให้ทราบผลว่าเซลล์สองกลุ่มนั้นแตกต่างกันหรือไม่ แต่ไม่สามารถบอกชนิดได้ การตรวจต้องใช้เวลานาน 3-6 วัน เดิมการตรวจวิธีนี้ใช้เพื่อศึกษาความแตกต่างของ HLA ระหว่างผู้บริจาคและผู้รับอวัยวะก่อนการปลูกถ่ายอวัยวะหรือไขกระดูก แต่ปัจจุบันส่วนใหญ่ใช้วิธีทาง molecular แทนเนื่องจากการตรวจทาง cellular ใช้เวลานานและมีขั้นตอนยุ่งยาก

การตรวจโดยวิธีทาง molecular หรือ DNA-based typing

ปัจจุบันนิยมใช้ร่วมกับ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA หลังจากนั้นใช้วิธีต่างๆในการตรวจหาชนิด HLA เช่น PCR-SSOP (PCR-sequence specific oligonucleotide probes), PCR-SSP (PCR-sequence specific primer), PCR-RFLP (PCR-restriction fragment length polymorphism), PCR-SSCP (PCR-single strand conformation polymorphism)

ความสัมพันธ์ของ HLA กับ Graves' disease

มีการศึกษาพบความสัมพันธ์ของ HLA กับ Graves' disease ตั้งแต่ปี 1976 โดย Farid และคณะ(32) ศึกษาในชาวผิวขาว พบความสัมพันธ์ของ HLA-B*08 กับการเกิดโรค Graves' disease โดยมี relative risk 3.9 เท่า หลังจากนั้นมีการศึกษาอีกมากมายที่สนับสนุนความสัมพันธ์ของ HLA กับการเกิดโรค Graves' disease และพบว่า HLA-B*08, HLA-DR3 (HLA-DRB1*03) และ HLA-DQA1*05:01 เป็นยีนหลักที่พบความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค Graves' disease และพบ HLA-DRB1*07:01 มีความสัมพันธ์ต่อการป้องกัน (protective allele) ต่อการเกิดโรค Graves' disease ในชาวผิวขาว[33, 34]

ในกลุ่มยีน HLA class I พบความสัมพันธ์ของ HLA-C*07 ต่อการเกิดโรค และพบ HLA-C*03 และ C*16 ต่อการป้องกันโรค ส่วนยีน HLA-B พบความสัมพันธ์ของ HLA-B*08 ต่อการเกิดโรค และ HLA-B*44 ต่อการป้องกันโรค[27]

การศึกษาของเชื้อชาติอื่น พบมีความแตกต่างกันของยีน HLA ในแต่ละเชื้อชาติ เช่น ในการศึกษาในชาวจีนฮั่น พบ HLA-DPB1*05:01 มีความสัมพันธ์กับการเกิด Graves' disease โดยมี odd ratio 2.3 เท่า อัลลีลอื่นๆที่พบมีความสัมพันธ์ได้แก่ HLA-B*46:01, DRB1*15:02 และ DRB1*16:02 และพบ HLA-DRB1*12:02 และ DQB1*03:02 มีความสัมพันธ์ต่อการป้องกันการเกิด Graves' disease[35] ส่วนในคนผิวดำ พบ HLA-DRB1*03 มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค Graves' disease[36]

นอกจากนี้ ยังพบว่าการกระจายของ HLA-B*46 และ HLA-B*08 ในประชากรปกติมีความแตกต่างกันในชาวเอเชียเมื่อเปรียบเทียบกับชาวยุโรป กล่าวคือ ความถี่ของอัลลีล HLA-B*08 พบในชาวยุโรป 12% แต่พบในชาวเอเชีย 0.3-0.5% เท่านั้น ขณะที่ความถี่ของอัลลีล HLA-B*46 พบในชาวเอเชีย 3.9-8.6% แต่เกือบจะไม่พบเลยในชาวยุโรป[37]

HLA พบมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกของโรค Graves' disease โดยผู้ป่วยที่มี HLA-DR3 พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคที่อายุน้อย อาการตาโปน และมีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยน้ำแร่รังสีน้อยกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มี HLA-DR3[38]

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.เพื่อศึกษาข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษในผู้ป่วยชาวไทยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

2.เพื่อศึกษาข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของของยีน HLA-B*46 กับลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษ ได้แก่ อายุเมื่อเกิดโรค ขนาดของต่อมไทรอยด์ อาการทางตา

1.3 คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก (primary research question)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษของผู้ป่วยชาวไทยหรือไม่

คำถามรอง (secondary research question)

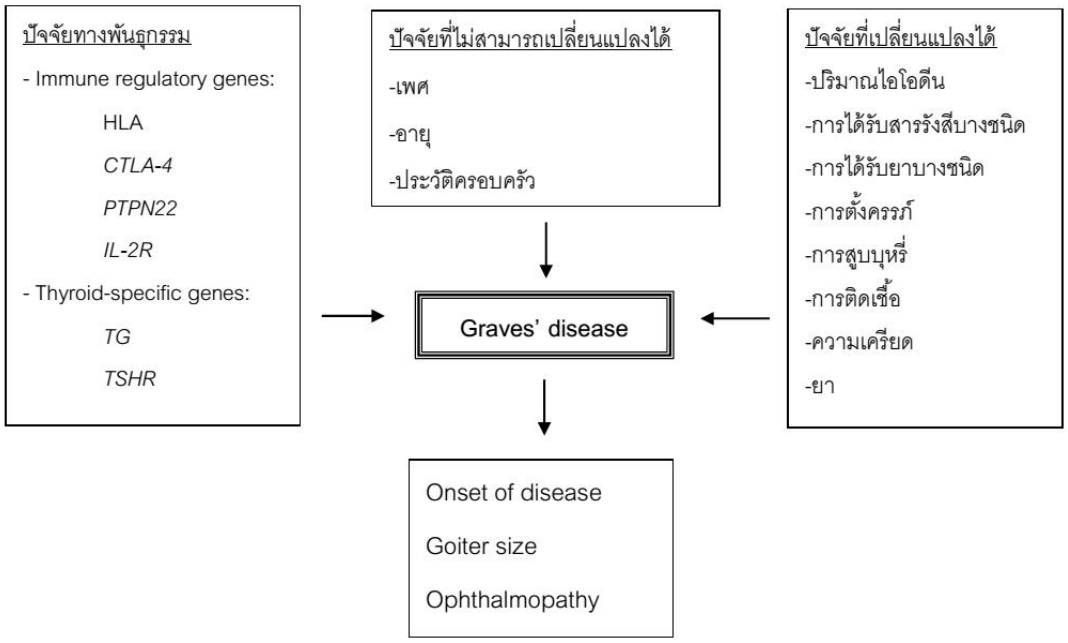
ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 มีผลต่อลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษในผู้ป่วยชาวไทยอย่างไร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.4 สมมติฐาน

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษในผู้ป่วยชาวไทย

1.5 ขอบเขตของการวิจัย



แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวความคิดในการวิจัย

1.6 ข้อจำกัดในการวิจัย

กลุ่มควบคุมที่เข้าร่วมการศึกษาอาจไม่ใช่ประชากรในกลุ่มควบคุมจริง เนื่องจากโรคออโตอิมมูนไทรอยด์อาจเกิดขึ้นหลังจากเข้าร่วมในการศึกษา

1.7 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

การวินิจฉัยโรคไทรอยด์เป็นพิษ Graves' disease มีเกณฑ์ดังต่อไปนี้

ระดับ FT4 และ/หรือ FT3 สูงกว่าเกณฑ์ปกติ และระดับ TSH ต่ำกว่าเกณฑ์ปกติ ร่วมกับ มีลักษณะใดลักษณะหนึ่ง ดังต่อไปนี้มากกว่า 3 เดือน ได้แก่

- ต่อมไทรอยด์โตทั่วจากการตรวจร่างกาย พบ bruit ที่ต่อมไทรอยด์ ชีพจรมากกว่า 100 ครั้งต่อนาที มือสั่น ผิวหนังร้อนชื้น หรือ onycholysis หรือ กล้ามเนื้อต้นแขนขาอ่อนแรง เป็นต้น

- อาการทางตา ได้แก่ ตาโปน (exophthalmos) ขอบเปลือกตาไม่ปิดมาถึงขอบตาดำ (lid lag) เปลือกตาบนหดรั้ง (lid retraction) หรือ การเปลี่ยนแปลงทางตาตามการจัดแบ่งประเภทของ “NOSPECS” ที่มีคะแนน ≥ 2 เป็นต้น

- อาการทางผิวหนัง ได้แก่ ผิวหนังที่ขาหนาตัว (pretibial myxedema) หรือ นิ้วมือปุ้ม (thyroid acropachy) เป็นต้น

ค่าปกติของระดับไทรอยด์ฮอร์โมน และ thyroid autoantibody

Thyroid function test: FT4 อยู่ระหว่าง 0.8-1.8 ng/dl

FT3 อยู่ระหว่าง 1.6-4.0 pg/ml

TSH อยู่ระหว่าง 0.3-4.1 mU/ml

Thyroid autoantibody: TPO Ab <5.61 IU/ml ค่าที่มากกว่านี้ ถือว่าเป็นผลบวก

Tg-Ab <4.11 IU/ml ค่าที่มากกว่านี้ ถือว่าเป็นผลบวก

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เป็นข้อมูลในทางด้านงานวิจัยพื้นฐานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษในประชากรไทย เนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบความสัมพันธ์ของยีน HLA กับโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ และพบมีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ การศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในชาวตะวันตกซึ่งมีความถี่ของ HLA-B*46 น้อยมาก และการศึกษาในชาวเอเชียเชื้อชาติจีน ญี่ปุ่น และเกาหลี พบว่ามีความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 กับการเกิดโรค Graves’ disease งานวิจัยนี้ช่วยให้ข้อมูลในประเทศแถบเอเชียเพิ่มมากขึ้น

1.9 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ

รูปแบบการวิจัย

เป็นการวิจัยแบบ case control study

ประชากรที่นำมาศึกษา

1. ผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษ

2. กลุ่มควบคุม ได้แก่ อาสาสมัครสุขภาพดี ไม่เป็นโรค Graves’ disease จากอาการ การตรวจร่างกาย ไม่มีประวัติเป็นโรคออโตอิมมูนไทรอยด์อื่น คือ Hashimoto’s thyroiditis ไม่มีประวัติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เป็นโรคที่สัมพันธ์กับ HLA เช่น โรคเบาหวานชนิดที่ 1 โรคเอสแอลอี โรคหนังแข็ง โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ เป็นต้น ไม่มีประวัติครอบครัวโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ และมีผลการตรวจไทรอยด์ฮอร์โมนอยู่ในระดับปกติ ตรวจไม่พบ thyroid autoantibody

โดยประชากรทั้ง 2 กลุ่ม เป็นผู้มีสัญชาติไทย อายุ 18 ปีขึ้นไป ไม่ได้อยู่ในระหว่างการตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร และมารับการตรวจรักษากับผู้วิจัยที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และยินดีเข้าร่วมการวิจัย หลังจากได้รับการอธิบายรายละเอียดของการวิจัยแล้ว โดยใช้ consecutive sampling

ผู้เข้าร่วมการวิจัยดังกล่าว จะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย ซักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ และข้อมูลเกี่ยวข้อง ตรวจร่างกาย ตรวจสอบยาที่ได้รับ รวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล และเจาะเลือดครั้งแรกจำนวน 5 มิลลิลิตร เพื่อตรวจไทรอยด์ฮอร์โมน และ thyroid antibody ได้แก่ anti-TG antibody และ anti-TPO antibody และนัดหมายให้มาเจาะเลือดครั้งที่สอง จำนวน 5 มิลลิลิตรหลังจากผลได้ตามเกณฑ์คัดเข้าร่วมในการวิจัย เพื่อตรวจ HLA-B*46 ต่อไป

ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย

1. ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาทุกรายจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์มและจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูล

2. วิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ เพศ ประวัติสูบบุหรี่ ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune disease อาการทางตา (GO) ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune disease ในครอบครัว การรักษา นำเสนอเป็นร้อยละของจำนวนทั้งหมดและเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยโรค Graves' disease และกลุ่มควบคุมและเปรียบเทียบระหว่าง allele ในแต่ละโรคโดยใช้ Chi-Square test หรือ Fisher's exact test

3. วิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ อายุ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ ฮอร์โมนไทโรโทรปินขนาดต่อมไทรอยด์ การกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรค Graves' disease และกลุ่มควบคุมโดย unpaired t-test ส่วนข้อมูลที่ไม่มีการกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่ามัธยฐานและค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรค Graves' disease และกลุ่มควบคุมโดย Mann-Whitney U test

4. หาความสัมพันธ์ระหว่าง HLA-B*46 polymorphism กับโรค Graves' disease วิเคราะห์โดย Chi-Square test ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 16

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.10 ปัญหาทางจริยธรรม

วิเคราะห์ตามหลักจริยธรรมการวิจัยในคน 3 ข้อ ได้แก่

1. หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person) โดยการให้ข้อมูลอย่างครบถ้วนจนผู้ที่ได้รับเชิญให้เข้าร่วมในการวิจัยเข้าใจเป็นอย่างดีและตัดสินใจอย่างอิสระในการให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย ผู้วิจัยจะเคารพในความเป็นส่วนตัวและการเก็บรักษาความลับของอาสาสมัคร

2. หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence) อาสาสมัครจะได้รับประโยชน์จากการเข้าร่วมโครงการวิจัย คือ จะทราบความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษในประชากรไทย อาจเกิดความเสี่ยงต่อตัวอาสาสมัคร คือ ความลับของอาสาสมัครอาจถูกเปิดเผยแต่ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของอาสาสมัครโดยในแบบบันทึกข้อมูลจะไม่มี identifier ที่จะระบุถึงตัวอาสาสมัคร

3. หลักความยุติธรรม (Justice) คือ มีเกณฑ์การคัดเข้าและออกชัดเจน มีการกระจายประโยชน์และความเสี่ยงอย่างเท่าเทียมกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิดและทฤษฎี

พบว่า HLA พบมีความสัมพันธ์กับโรคออโตอิมมูนไทรอยด์[39] โดยมีรายงาน allele ที่แตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ เช่น ในคนผิวขาว พบ Graves' disease มีความสัมพันธ์กับ HLA-B*08, HLA-DR3, HLA-DRB1*03:01 ส่วนในคนเอเชีย นอกจาก HLA-B*46 แล้ว ยังมีการศึกษาพบความสัมพันธ์ของ HLA-DRB1*08:03 กับ Graves' disease ในคนญี่ปุ่น และมีรายงานความสัมพันธ์ของ HLA-DRB1*0803 และ HLA-DRB1*16:02 ในชาวเกาหลี[40]

2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษา HLA-B*46 กับ Graves' disease ในชาวเอเชีย

มีรายงานพบ HLA-B*46 ในผู้ป่วย Graves' disease ในชาวเอเชีย ครั้งแรกในชาวจีน โดยการศึกษาของ Chan และคณะ[41] ในปี ค.ศ. 1978 ที่ประเทศสิงค์โปร์ ทำการตรวจ HLA locus A และ B โดยใช้วิธี lymphocytic microcytotoxicity method ในผู้ป่วย Graves' disease จำนวน 86 คน เป็นเพศชาย 42 คน หญิง 44 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นชาวจีนสุขภาพดี 238 คน ผลการศึกษาพบ HLA-B*46 เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease คือ พบ HLA-B*46 45 คน (52.3%) และพบ 54 คน (22.7%) ในกลุ่มควบคุม (RR = 3.74, p <0.003) การศึกษานี้ไม่ได้มีการเปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย

Hawkins BR และคณะ[42] ศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA antigens ในผู้ป่วย Graves' disease ในปี 1985 เป็นผู้ป่วยชาวจีนในฮ่องกงจำนวน 132 คน (ชาย 54 คน หญิง 78 คน) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่มีประวัติโรคไทรอยด์จำนวน 110 คน ตรวจ HLA โดยใช้ lymphocytic microcytotoxicity method ผลการศึกษาพบ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย 54.6% ในกลุ่มควบคุม 26.4% (p < 0.0001) กลุ่มผู้ป่วยในการศึกษานี้มีลักษณะทางคลินิกเป็น thyrotoxic periodic paralysis จำนวน 24 คน (ชาย 23 คน หญิง 1 คน) พบ HLA-B*46 17 คน (70.8%) และพบความชุกของ HLA-B*46 เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่เกิดโรคก่อนอายุ 35 ปี (พบ HLA-B*46 61.4%, 36.1% และ 26.4% ในกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อยกว่า 35 ปี, มากกว่า 35 ปี และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ, P > 0.05) แสดงในตารางที่ 3 และ 4

ตารางที่ 3 แสดงการกระจายของ HLA-B*46 ในการศึกษาของ Hawkins BR และคณะ[42]

	กลุ่มควบคุม	Graves'	Graves' ชาย	Graves' หญิง	Periodic Paralysis
n	110	132	54	78	24
HLA-B*46	29 (26.4%)	72* (54.6%)	31** (57.4%)	41*** (52.6%)	17** (70.8%)

ตารางที่ 4 แสดงการกระจายของ HLA-B*46 ในช่วงอายุที่เริ่มเป็นโรคแตกต่างกัน ในการศึกษาของ Hawkins BR และคณะ[42]

	กลุ่มควบคุม	Graves'	Graves' ชาย	Graves' หญิง	Periodic Paralysis
n	110	132	54	78	24
HLA-B*46	29 (26.4%)	72* (54.6%)	31** (57.4%)	41*** (52.6%)	17** (70.8%)

Onuma H และคณะ[43] ศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA ในผู้ป่วยชาวญี่ปุ่นที่เป็น Graves' disease จำนวน 106 คน เป็นผู้ป่วยชาย 18 คน ผู้ป่วยหญิง 88 คน มีอายุระหว่าง 14-59 ปี (อายุเฉลี่ย 28.3 ปี) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นชาวญี่ปุ่นที่มีสุขภาพดีจำนวน 100 คน ตรวจ HLA ด้วยวิธี lymphocytic microcytotoxicity method พบความสัมพันธ์ของ HLA-DPB1 เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease ที่เป็นโรคก่อนอายุ 20 ปีเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P <0.0004) ในการศึกษานี้ พบความถี่ของ HLA-B46 เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยคือ 29.3% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งพบ 8.0% (P <0.015, RR 4.8) แต่เมื่อแยกกลุ่มผู้ป่วยตามอายุที่เริ่มเป็นโรค พบว่าพบความสัมพันธ์ของ HLA-B46 ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุที่เริ่มเป็นโรคมากกว่า 20 ปี เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P < 0.0004) แต่ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุที่เริ่มเป็นโรคน้อยกว่า 20 ปี ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Yeo PP และคณะ[44] ทำการศึกษาในชาวจีนเมื่อปี 1989 ศึกษา HLA-A, HLA-B, HLA-DR antigens ในผู้ป่วย Graves' disease 159 คน เป็นเพศชาย 58 คน เพศหญิง 101 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 330 คน ตรวจ HLA ด้วยวิธี lymphocytic microcytotoxicity method ผลการศึกษาพบ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย 72 คน (45.3%) มากกว่าในกลุ่มควบคุมซึ่งพบ 79 คน (23.9%) มีค่า RR = 2.6 (p =0.000070) และได้ทำการวิเคราะห์เพศเปรียบเทียบในกลุ่มผู้ป่วยและ

กลุ่มควบคุมพบว่า ในเพศหญิง พบ HLA-B*46 ไม่แตกต่างกัน (p = 0.30) แต่ในเพศชายพบ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วยมากกว่าในกลุ่มควบคุม (RR = 4.2, p = 0.0000052) และผลการวิเคราะห์ในกลุ่มควบคุมพบว่า ในเพศชายและเพศหญิง พบ HLA-B*46 ไม่แตกต่างกัน แสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงความถี่ของ HLA-B*46 ในผู้ป่วย Graves' disease ตามเพศ และอายุที่เกิดโรค จากการศึกษาของ Yeo PP และคณะ[44]

	Total	1-19 ปี	20-29 ปี	30-39 ปี	>40 ปี	กลุ่มควบคุม
B*46 ช+ญ	72/159 45.3% P=0.000070 RR = 2.6	27/48 56.3% P=0.0007 RR = 4.1	28/62 45.2% P = 0.11	13/37 35.1% P = 20.48	4/12 33.3% P = 34.01	79/330 23.9%
ชาย	33/58 56.8% P=0.0000052 RR = 4.2	11/13 84.6% P=0.0011 RR = 17.5	10/21 47.6% P = 6.40	9/16 56.3% P = 1.91	3/8 37.5% P = 62.60	
หญิง	39/101 38.6% P = 0.30	16/35 45.7% P = 1.25	18/41 43.9% P = 2.22	4/21 19.0% P = 86.94	1/4 25.0% P =136.44	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Inoue D และคณะ[45] ทำการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของ HLA ในผู้ป่วยชาวญี่ปุ่นที่เป็น euthyroid Graves' ophthalmopathy จำนวน 23 คน เป็นเพศชาย 3 คน หญิง 20 คน อายุเฉลี่ย 33.1 ปี, Graves' disease จำนวน 88 คน เป็นเพศชาย 17 คน หญิง 71 คน อายุเฉลี่ย 34.8 ปี, Hashimoto's thyroiditis จำนวน 46 คน เป็นเพศชาย 6 คน หญิง 40 คน อายุเฉลี่ย 55.7 ปีเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีสุขภาพดีจำนวน 186 คน ตรวจ HLA ด้วยวิธี lymphocyte cytotoxicity test ผลการศึกษานี้พบว่า Euthyroid Graves' ophthalmopathy มีความสัมพันธ์กับ HLA-B40(w61), HLA-DR9, HLA-DQw3, HLA-Dw15, HLA-B2, HLA-Cw1 ในส่วนการพบ HLA-Bw46 พบว่า ไม่พบ HLA-Bw46 เลยในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น euthyroid Graves' ophthalmopathy แต่พบ HLA-Bw46 เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และผู้ป่วย Hashimoto's thyroiditis แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงความถี่ของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Euthyroid Graves' ophthalmopathy, Graves' disease และ Hashimoto's thyroiditis เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากการศึกษาของ Inoue D และคณะ[45]

	Euthyroid Graves'ophthalomopathy	Graves' disease	Hashimoto's Thyroiditis	กลุ่มควบคุม
n	23	88	46	186
HLA-B*46	0.00000	0.21591*	0.26087*	0.11828

n = จำนวนคน

*P < 0.05 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Cavan DA และคณะ[46] ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA ในผู้ป่วยชาวจีนที่เป็น Graves' disease จำนวน 97 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชื้อชาติเดียวกัน 105 คน โดยในกลุ่มผู้ป่วย 97 คนแบ่งเป็น 3 กลุ่มได้แก่ ผู้ป่วย Graves' disease เพศชายที่มี thyrotoxic periodic paralysis (TPP) จำนวน 31 คน ผู้ป่วยเพศชายที่ไม่มี periodic paralysis จำนวย 35 คน และผู้ป่วยเพศหญิงซึ่งไม่มี periodic paralysis ทั้งหมดจำนวน 31 คน ตรวจ HLA ด้วยวิธี lymphocyte cytotoxicity test ผลการศึกษาพบ HLA-B46, HLA-DR9 และ HLA-DQB1*0303 มากขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease เพศชาย (RR = 6.04, 95%CI 2.61-13.73) โดยในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease ทั้งหมด 97 คน มีเพียง HLA-DQB1*0303 ที่พบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (RR = 3.19, 95%CI 1.73-5.87) ตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 ในผู้ป่วยโรค Graves' disease ตามการศึกษาของ Cavan DA และคณะ[46]

	ชาย		หญิง	รวม	กลุ่มควบคุม
	มี TPP	ไม่มี TPP			
n	31	35	31	97	105
HLA-B*46 RR เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (95% CI)	14 (45%)	26 (74%)* RR 6.04 (2.61-13.73)	9 (29%)**	49 (51%) RR 2.3 (1.29-4.05)	33 (31%)

n = จำนวนคน

*P < 0.0006 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

**P < 0.015 เปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยชาย

Huang และคณะ[47] ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 ในผู้ป่วย Graves' disease ชาวไต้หวัน โดยใช้วิธี PCR-SSOP (sequence specific oligonucleotide probe) มีผู้ป่วย Graves' disease เข้าร่วมในการศึกษาทั้งหมด 236 คน โดยเป็นชาย 26 คน หญิง 210 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีเชื้อชาติเดียวกันจำนวน 533 คน ผลการศึกษาพบความชุกของ HLA-A*0207, HLA-B*2704, HLA-B4601, HLA-DRB1*0901 เพิ่มขึ้น แต่เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์พบว่ามีเพียง HLA-A*0207 ที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ (P = 0.022, OR 2.2)โดยพบความถี่ของ HLA-B*4601 ในกลุ่มผู้ป่วย 18.3% ในกลุ่มควบคุม 11.2% (P > 0.05)

Chen และคณะ[35] ทำการศึกษาในชาวจีนฮั่นในไต้หวันในปี ค.ศ.2011 ศึกษาหาความสัมพันธ์ของ HLA alleleในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease จำนวน 499 คน กลุ่มควบคุม จำนวน 504 คน โดยศึกษา genotype ของ classic HLA loci 6 loci (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DPB1, HLA-DQB1 และ HLA-DRB1) ด้วยวิธี PCR-SSP (sequence specific primer) ผลการศึกษาพบความสัมพันธ์ของ HLA-B*46:01 (OR = 1.33, p = 1.17 x 10-2), HLA—DPB1*05:01 (OR = 2.34, p = 2.58 x 10-10), HLA-DQB1*03:02 (OR = 0.62, p = 1.97 x 10-2), HLA-DRB1*15:01 (OR = 1.68, p = 1.22 x10-2) และพบความสัมพันธ์ของ HLA-DRB1*16:02 มากที่สุด (OR = 2.63, p = 1.46 x10-5) ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease ชาวจีนฮั่น

Cho และคณะ[48] ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ในเด็กชาวเกาหลี อายุ 10.3-17.3 ปี อายุเฉลี่ย 13.8 ปี (SD 3.5 ปี) จำนวน 73 คน เป็นเด็กชาย 15 คน เด็กหญิง 58 คน (เป็น Graves' disease 41 คน และ Hashimoto's thyroiditis 32 คน) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งเป็นผู้ใหญ่ชาวเกาหลีสุขภาพดีและไม่มีประวัติโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ ตรวจ HLA ด้วยวิธี PCR-SSP ผลการศึกษาพบ HLA-A*02, HLA-B*46, HLA-Cw*01, HLA-DRB1*08 มากขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย และพบ HLA-A*30, HLA-B*07, HLA-Cw*07 ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดย HLA-B*46 พบมากขึ้นในทั้งกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น Graves' disease และ Hashimoto's thyroiditis โดยมี RR รวมของกลุ่มผู้ป่วย autoimmune thyroid เท่ากับ 5.455 (95% CI 2.974-10.004, p <2.4 x 10-8) โดยเมื่อคิดแยกกลุ่ม Graves' disease จะมี RR = 6.897 (95% CI 3.520-13.514, p < 2.7 x 10-8), กลุ่มHashimoto's thyroiditis มี, RR = 3.846 (95% CI 1.750-8.454, p <0.001) นอกจากนี้ในการศึกษานี้ พบ HLA allele ไม่แตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยโรค Graves' disease และ Hashimoto's thyroiditis และพบความสัมพันธ์ร่วมกันของ HLA-B*46 กับ HLA-Cw*01 ในผู้ป่วยโรค autoimmune thyroid และไม่ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิก

ล่าสุดมีการศึกษาของ Ueda S และคณะ[49] ทำการศึกษา HLA อัลลีลที่มีผลต่อการเกิดและการป้องกันการเกิดโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ในชาวญี่ปุ่น มีจำนวนผู้ป่วยโรคออโตอิมมูนไทรอยด์เข้าร่วมในการศึกษานี้ 991 คน เป็น Graves' disease 547 คน เป็น Hashimoto thyroiditis 444 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 481 คน ผลการศึกษาพบ HLA-B*35:01, HLA-B*46:01, HLA-DRB1*14:03 และ HLA-DPB1*05:01 มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค Graves' disease ส่วน HLA-A*02:07 และ HLA-DRB4 มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค Hashimoto thyroiditis ความชุกของ HLA-B*46 ในการศึกษานี้ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease คือ 17% พบใน Hashimoto thyroiditis 20% และในกลุ่มควบคุม 9% เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease พบมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P = 0.0085) มีค่า odd ratio = 2.14 และในกลุ่มผู้ป่วย Hashimoto thyroiditis พบมีความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P = 2.1x10-4) มีค่า odd ratio = 2.55

การศึกษา HLA gene ในชาวไทย

ความถี่ของอัลลีลของ HLA ในคนไทย มีการศึกษาของ Fongsatikul L. และคณะ(50) โดยศึกษาในคนไทยที่มีถิ่นที่อยู่ในภาคเหนือและอาศัยในจังหวัดเชียงใหม่มาหลายช่วงอายุที่มาบริจาคเลือดที่ธนาคารเลือด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีผู้เข้าร่วมการศึกษา 289 คน ตรวจ HLA ด้วยวิธี

lymphocytotoxicity test อัลลีลที่พบความถี่มากของ HLA-A ได้แก่ A2, A11, A24 อัลลีลที่พบความถี่มากของ HLA-B ได้แก่ B46, B40 และ B13 โดยพบความถี่ของ HLA-B*46 21.1%

อีกการศึกษาความถี่ของ HLA ในคนไทย เป็นการศึกษาในคนไทยที่มีถิ่นกำเนิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศซึ่งไม่ได้เป็นญาติกันซึ่งมาบริจาคเลือดที่ธนาคารเลือดมหาวิทยาลัยขอนแก่น ศึกษาหาความถี่ของอัลลีลของ HLA class I และ HLA class II ด้วยวิธี lymphocytotoxicity test จำนวนผู้เข้ารับการศึกษามีทั้งหมด 400 คน พบความถี่ของ HLA-B*46 13.9%(51)

และการศึกษาในอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติสภากาชาดไทย[52] โดยมีคนไทยภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวนรวม 1652 คน ตรวจ HLA ด้วยวิธี lymphocytotoxicity test พบแอนติเจนที่พบได้บ่อยคือ HLA-A2, HLA-A11, HLA-A24, HLA-A33, HLA-B46, HLA-B60 และ HLA-B13 โดยพบความถี่ของยีน HLA-B46 12.22%

ในชาวไทย ยังไม่มีการศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA class I กับโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ แต่มีการศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA class II ในผู้ป่วย Graves' disease [53] โดยศึกษา allele ของ HLA-DRB1, HLA-DQA1 และ HLA-DQB1 ผลการศึกษาพบความสัมพันธ์ของ haplotype DRB1*1602-DQA1*0102-DQB1*0502 กับการเกิดโรค Graves' disease โดยมีค่า odd ratio 2.55 (p = 0.0209)

ในส่วนของความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 กับโรคอื่นๆในชาวไทย มีการศึกษาความสัมพันธ์กับโรคสะเก็ดเงิน โรคมาลาเรีย และมะเร็งหลังโพรงจมูก (CA nasopharynx) พบความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 กับการเกิดโรคสะเก็ดเงิน พบความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 กับระดับความรุนแรงของการติดเชื้อมาลาเรียชนิด Plasmodium falciparum และพบความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งหลังโพรงจมูก ในการศึกษาเหล่านี้ พบความชุกของยีน HLA-B*46 ที่ 5.9-47.8%[54-57]

จะเห็นได้ว่าความชุกของ HLA-B*46 ของชาวไทยมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาในชาวเอเชียอื่นๆ ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น และเกาหลี และมีข้อมูลการศึกษา HLA-B*46 ในชาวเอเชียหลายการศึกษา การศึกษาส่วนใหญ่พบ HLA-B*46 เพิ่มมากขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 กับลักษณะทางคลินิกพบว่า มีรายงานพบความสัมพันธ์กับการเกิดโรคที่อายุน้อย พบในผู้ป่วยเพศชาย มีอาการ periodic paralysis

ในชาวไทย ยังไม่มีการศึกษาความสัมพันธ์ของ HLA class I กับโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ การศึกษานี้จึงต้องการหาความสัมพันธ์ของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรค Graves' disease และความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกในผู้ป่วยชาวไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ประชากร

ประชากรและตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

1. กลุ่มผู้ป่วย (Case) คือ ผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษ Graves' disease

2. กลุ่มควบคุม (Control) คือ อาสาสมัครสุขภาพดีที่ไม่เป็นโรค Graves' disease, ไม่เป็นโรคในกลุ่มออโตอิมมูนไทรอยด์ โดยมีผลไทรอยด์แอนติบอดีเป็นลบ และไม่เป็นโรคกลุ่มออโตอิมมูนอื่นที่มีรายงานสัมพันธ์กับยีน HLA

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจสอบคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้าและเกณฑ์คัดออก ลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (informed consent) หลังจากได้รับการอธิบายรายละเอียดของการวิจัยและยินดีเข้าร่วมการวิจัยแล้ว

2. การเจาะเลือด จะเจาะเลือด 2 หลอด ประมาณ 10 มิลลิลิตร
Clot blood tube: เพื่อตรวจไทรอยด์ฮอร์โมน และ thyroid antibody ได้แก่ anti-TG antibody และ anti-TPO antibody

FT3 โดยวิธี competitive electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)
FT4 โดยวิธี competitive electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)
TSH โดยวิธี 4th generation sandwich ECLIA
Anti Tg Ab โดยวิธี chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA)
Anti TPO Ab โดยวิธี chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA)
EDTA tube: ตรวจ HLA-B*46 polymorphism โดย

1) นำมาปั่นแยกเม็ดเลือดขาว ด้วยสารละลาย lysis buffer

2) สกัด DNA โดยวิธีวิธีมาตรฐานฟีนอล-คลอโรฟอร์ม

3) วัดปริมาณ DNA ที่ได้ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร

4) ตรวจตำแหน่ง HLA-B*46 โดยใช้ ชุด Micro SSPTM HLA DNA TYPING TRAYS (ONE LAMBDA, INC; USA) แล้วเข้าเครื่อง PCR โดยใช้โปรแกรมดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงการตั้งค่าโปรแกรมเครื่องตรวจ PCR สำหรับ Micro SSPTM HLA DNA TYPING TRAYS

# of Cycles	Step	Temp (°C)	Time (sec.)
1	1	95	130
	2	63	60
9	1	96	10
	2	63	60
20	1	96	10
	2	59	50
	3	72	30
End	1	4	-

3.3 รูปแบบการวิจัย (Research Design)

เป็นการวิจัยแบบ case control study

3.4 หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง

<u>กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion Criteria)</u>

1. มีสัญชาติไทย อายุ 18 ปีขึ้นไป และยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

2. ประชากรในการศึกษามี 2 กลุ่ม คือ

2.1 กลุ่มผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ป่วยโรค Graves' disease

2.2 กลุ่มควบคุม ได้แก่ อาสาสมัครสุขภาพดี ไม่เป็นโรค Graves' disease จากอาการ การตรวจร่างกาย ไม่มีประวัติเป็นโรคออโตอิมมูนไทรอยด์อื่น คือ Hashimoto's thyroiditis ไม่มีประวัติเป็นโรคที่สัมพันธ์กับ HLA เช่น โรคเบาหวานชนิดที่ 1 โรคเอสแอลอี โรคหนังแข็ง โรคข้อ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อักเสบรูมาตอยด์ เป็นต้น ไม่มีประวัติครอบครัวโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ และมีผลการตรวจไทรอยด์ฮอร์โมนอยู่ในระดับปกติ ตรวจไม่พบ thyroid autoantibody

<u>กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)</u>

หญิงให้นมบุตร หญิงตั้งครรภ์

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล

<u>เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sample techniques)</u>

สุ่มตัวอย่างโดย consecutive technique ซึ่งคัดเลือกผู้ป่วยโรค Graves' disease ทุกรายที่เข้าเกณฑ์คัดเข้าการศึกษาวิจัยนี้ ส่วนกลุ่มควบคุม สุ่มตัวอย่างแบบโดย consecutive technique เช่นกัน

<u>ขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)</u>

จากการศึกษาของ Cho(48) พบ HLA-B*46 เพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย autoimmune thyroid disease โดยมี odd ratio = 5.455

กำหนด α = 0.05

β = 0.10

$Z\alpha/2$ = 1.96 (two tail)

$Z\beta$ = 1.28

n/ group = $(Z\alpha/2\ \sqrt{2PQ} + Z\beta\ \sqrt{(P1Q1-P0Q0)})2 / (P1-P0)2$

P0 = โอกาสที่กลุ่มควบคุมจะมี HLA-B*46 = 5.7

R = odds ratio = 5.455

P1 = P0R/ (1+P0(R-1)) = 1.17

P = (P1+P0)/ 2 = 3.43

Q = 1-P = 2.43

หลังจากแทนค่าในสูตร จะได้ n = 72 คนในแต่ละกลุ่ม

3.6 การสังเกตและการวัด (Observation and measurement)

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (Record form) ซึ่งประกอบด้วย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1. ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ ชื่อ อายุ เลขที่ผู้ป่วยนอก ที่อยู่ ประวัติการสูบบุหรี่ ประวัติเบาหวานชนิดที่หนึ่ง โรคหนังแข็ง โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรค SLE รวมทั้งประวัติครอบครัว โรคประจำตัว และยาที่ใช้ประจำ

2. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโรค Graves' disease ได้แก่ การตรวจร่างกายพบขนาดของต่อมไทรอยด์ อาการแสดงที่ระบบอื่น เช่น ตา ผิวหนัง ชีพจร

3. ข้อมูลเฉพาะเกี่ยวข้องกับผลทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ ฮอร์โมนไทโรโทรปิน ตรวจทางรังสี การตรวจ anti-TG antibody และ anti-TPO antibody และการรักษา

4. ข้อมูลการตรวจทางพันธุกรรม การตรวจพบอัลลีล HLA-B*46

3.7 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาทุกรายจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์มและจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ เพศ ประวัติสูบบุหรี่ ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune disease อาการทางตา (GO) ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune disease ในครอบครัว ขนาดต่อมไทรอยด์แบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่ ระดับ1 ต่อมไทรอยด์โตไม่เกิน 40 กรัม ระดับ 2 ต่อมไทรอยด์โต 40-80 กรัม และระดับ 3 ต่อมไทรอยด์โตมากกว่า 80 กรัม การรักษา นำเสนอเป็นร้อยละของจำนวนทั้งหมดและเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยโรค Graves' disease และกลุ่มควบคุมและเปรียบเทียบระหว่าง allele ในแต่ละโรคโดยใช้ Chi-Square test หรือ Fisher's exact test

2. การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ อายุ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ ฮอร์โมนไทโรโทรปิน การกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรค Graves' disease และกลุ่มควบคุมโดย unpaired t-test ส่วนข้อมูลที่ไม่มีการกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่ามัธยฐาน และค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรค Graves' disease และกลุ่มควบคุมโดย Mann-Whitney U test

3. การหาความสัมพันธ์ระหว่าง HLA-B*46 polymorphism กับโรค Graves' disease วิเคราะห์โดย Chi-Square test

3.9 เกณฑ์เทียบความคิดเห็น

ใช้ระดับนัยสำคัญทางสถิติ (P-value) < 0.05 ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 16

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ผลการวิเคราะห์

ผู้เข้าร่วมในการศึกษาทั้งหมด 150 คน หลังจากทบทวนข้อมูลแล้วพบว่ามีผู้ที่ไม่เข้าเกณฑ์การศึกษาจำนวน 35 คน เหลือผู้เข้าร่วมในการศึกษาตามเกณฑ์ผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษและกลุ่มควบคุมจำนวน 115 คน ในจำนวน 115 คนนี้ เป็นผู้หญิง 93 คน ผู้ชาย 23 คน เป็นผู้ป่วย Graves' disease 54 คน กลุ่มควบคุม 61 คน อายุเฉลี่ย 44.2 ปี ผู้เข้าร่วมการศึกษามีสัญชาติไทยทั้งหมด เกือบทั้งหมดมีเชื้อชาติ ไทย หรือไทยจีน เป็นผู้มีเชื้อชาติลาว 1 คน ภูมิลำเนาส่วนใหญ่อยู่ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล(64.3%) รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ดังแสดงในตารางที่ 9

ผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease 54 คน เป็นผู้หญิง 44 คน ผู้ชาย 10 คน อายุเฉลี่ย 39 ปี ทั้ง 54 คน ไม่มีประวัติโรคประจำตัวออโตอิมมูนอื่น แต่มีประวัติครอบครัวโรคออโตอิมมูน 8 คน (4.8%) ทั้ง 8 คนเป็นโรคไทรอยด์เป็นพิษทั้งหมด

กลุ่มควบคุม 61 คน เป็นผู้หญิง 49 คน ผู้ชาย 13 คน อายุเฉลี่ย 48.9 ปี ไม่มีประวัติโรคออโตอิมมูนไทรอยด์และไม่มีประวัติโรคออโตอิมมูนอื่นๆ ได้แก่ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 โรคเอสแอลอี โรคหนังแข็ง โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ ไม่มีประวัติครอบครัวโรคออโตอิมมูนไทรอยด์และโรคออโตอิมมูนอื่นๆ มีผลการตรวจไทรอยด์ฮอร์โมนอยู่ในระดับปกติ รวมทั้งตรวจไม่พบ thyroid autoantibody ไม่สูบบุหรี่ ส่วนใหญ่มีภูมิลำเนาในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และกลุ่มควบคุม พบว่าในสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศหญิงและเพศชาย (p=0.70) จำนวนผู้ไม่เคยสูบบุหรี่ (p=0.12) เชื้อชาติ และภูมิลำเนา แต่มีความแตกต่างในเรื่องอายุ (p=0.00) ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 9 ลักษณะพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และกลุ่มควบคุม

Graves' disease

	Graves' disease (N = 54 คน)	กลุ่มควบคุม (N = 61 คน)	รวม (N = 115 คน)
เพศ			
หญิง	44	49	93
ชาย	10	12	22
อายุเฉลี่ย (ปี±SD)	39±14.5	48.9±9.9	44.2±10.25
ประวัติการสูบบุหรี่			
ไม่สูบบุหรี่	50	61	111
ยังสูบบุหรี่	2	0	2
เคยสูบ	2	0	2
เชื้อชาติ			
ไทย และไทยจีน	53	61	114
ลาว	1	0	1
ภูมิลำเนา			
กทม.และปริมณฑล	37	37	74
ภาคกลาง	1	3	4
ภาคเหนือ	0	3	3
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	5	9	14
ภาคตะวันออก	8	6	14
ภาคตะวันตก	1	1	2
ภาคใต้	2	2	4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

	Graves' disease (N = 54 คน)	กลุ่มควบคุม (N = 61 คน)	P-value
เพศหญิง (%)	44 (81.4%)	49 (80.3%)	0.70
อายุ (ปี±SD)	39±14.5	48.9±9.9	< 0.01
ไม่สูบบุหรี่	50 (92%)	61 (100%)	0.12
เชื้อชาติ			
ไทยและไทยจีน	53	61	
ลาว	1	0	

	Graves' disease (N = 54 คน)	**กลุ่มควบคุม (N = 61 คน)**	**P-value**
ภูมิลำเนา			
กทม.และปริมณฑล	37 (68.5%)	37 (60.6%)	
ภาคอื่นๆ	17 (31.5%)	24 (39.4%)	

ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย Graves' disease ที่เข้าร่วมการศึกษา พบว่า อายุที่เริ่มเกิดโรคเฉลี่ย 36.5±14.8 ปี มีอาการทางตา 9 คน (16.7%) กล้ามเนื้ออ่อนแรง (periodic paralysis) 2 คน (3.7%)

ถ้าแบ่งขนาดต่อมไทรอยด์ เป็น 3 ระดับ ได้แก่ ระดับ1 ต่อมไทรอยด์โตไม่เกิน 40 กรัมระดับ 2 ต่อมไทรอยด์โต 40-80 กรัม ระดับ 3 ต่อมไทรอยด์โตมากกว่า 80 กรัม พบว่ากลุ่มผู้ป่วยมีขนาดต่อมไทรอยด์ในระดับ 1 มีจำนวน 23 คน (42.6%) ระดับ 2 จำนวน 26 คน (48.1%) และระดับ 3 จำนวน 5 คน (9.3%)

ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ (FT3, FT4) และฮอร์โมนไทโรโทรปิน (TSH) ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease เป็นดังนี้

FT3 ค่าสูงสุด >32.55 pg/ml ค่าต่ำสุด 2.08 pg/ml ค่ามัธยฐาน 10.32 pg/ml

FT4 ค่าสุดสุด > 7.77 ng/ml ค่าต่ำสุด 1.95 ng/ml ค่ามัธยฐาน 3.44 ng/ml

TSH ค่าสุดสุด 0.2 mU/ml ค่าต่ำสุด <0.005 mU/ml ค่ามัธยฐาน 0.0115 mU/ml

การรักษา ผู้ป่วย Graves' disease ส่วนใหญ่ได้รับการรักษาด้วยยาร่วมกับน้ำแร่รังสี (44 คน คิดเป็น 81.5%) มีผู้ป่วยรักษาด้วยยาอย่างเดียว 9 คน (16.7%) ได้รับแร่รังสีอย่างเดียว 1 คน (1.8%)

ผลการตรวจ HLA-B พบ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease จำนวน 11 คน จาก 54 คน คิดเป็นร้อยละ 20 กลุ่มควบคุม พบมี HLA-B*46 จำนวน 5 คน จาก 61 คน คิดเป็นร้อยละ 8 ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ความชุกของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

	Graves' disease (N = 54)	กลุ่มควบคุม (N = 61)	p-value
พบ HLA-B*46	11 (20.3%)	5 (8.1%)	0.060

ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P = 0.060)

ผู้ป่วย Graves' disease ที่พบ HLA-B*46 จำนวน 11 คน เป็นผู้หญิง 9 คน มีประวัติครอบครัวโรคไทรอยด์เป็นพิษ 2 คน อายุที่เริ่มเป็นโรคตั้งแต่ 8 ถึง 75 ปี อายุที่เริ่มเป็นโรคเฉลี่ย 37.8±16.3 ปี มีอาการทางตา 3 คน ขนาดต่อมไทรอยด์เฉลี่ย 36.9±27.5 กรัม ขนาดต่อมไทรอยด์อยู่ในระดับ 1 จำนวน 4 คน ระดับ 2 จำนวน 5 คน และระดับ 3 จำนวน 2 คน

ตารางที่ 12 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย Graves' disease ที่พบและไม่พบอัลลีล HLA-B*46

	GD พบ HLA-B*46 (N = 11)	GD ไม่พบ HLA-B*46 (N = 43)	รวมผู้ป่วย GD (N = 54)
เพศ (คน)			
หญิง	9	35	44
ชาย	2	8	10
อายุที่เริ่มเป็นโรค (ปี, mean±SD)	37.8±16.3	37.5±10.4	36.5±14.8
ไม่สูบบุหรี่ (คน)	11	39	50
ภูมิลำเนา (คน)			
กทมและปริมณฑล.	6	28	37
ภาคอื่นๆ	5	15	17
มีประวัติครอบครัวเป็น Graves' disease (คน)	2	6	8

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 13 ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย Graves' disease ที่พบและไม่พบอัลลีล HLA-B*46

	GD พบ HLA-B*46 (N = 11)	GD ไม่พบ HLA-B*46 (N = 43)	รวม ผู้ป่วย GD (N = 54)
อายุที่เริ่มเป็นโรค (ปี, mean±SD)	37.8±16.3	37.5±10.4	36.5±14.8
ขนาดต่อมไทรอยด์ (คน)			
ระดับ 1	4	19	23
ระดับ 2	5	21	26
ระดับ 3	2	3	5
อาการทางตา (คน)	3	6	9
Periodic paralysis (คน)	0	2	2
ระดับฮอร์โมน			
FT3 (Max, Min, Median)	>32.55, 3.45, 6.84	>32.55, 2.08, 10.46	>32.55, 2.08, 10.32
FT4 (Max, Min, Median)	>7.77, 2.36, 2.85	>7.77, 1.95, 3.66	>7.77, 1.95, 3.44
TSH (Max, Min, Median)	0.2, <0.005, 0.05	0.05, <0.005, 0.01	0.2, <0.005, 0.0115
การรักษา			
ยาร่วมกับน้ำแร่รังสี	9	35	44
ยาต้านไทรอยด์อย่างเดียว	2	7	9
น้ำแร่รังสีอย่างเดียว	0	1	1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ความถี่ของ HLA-B*46 พบเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟชาวไทย เปรียบเทียบกับกลุ่มควมคุมที่ไม่ได้เป็นโรคออโตอิมมูนไทรอยด์ แต่ยังไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ (Graves' disease) ในผู้ป่วยชาวไทยที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ผู้เข้าร่วมในการศึกษาส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง คือ 93 คน จาก 115 คน คิดเป็น 80.8% อายุเฉลี่ย 44.2±10.25 ปี ส่วนใหญ่ไม่สูบบุหรี่ (96.6%) มีเชื้อชาติไทยเกือบทั้งหมด และมีภูมิลำเนาส่วนใหญ่อยู่ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease ทั้งหมด 54 คน เป็นเพศหญิง 44 คน เพศชาย 10 คน คิดเป็นสัดส่วนเพศหญิง 81.4% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในชาวเอเชียก่อนหน้านี้ พบว่ามีสัดส่วนของผู้ป่วยเพศหญิงใกล้เคียงกับการศึกษาของ Onuma, Inoue D, Huang และ Cho ซึ่งมีสัดส่วนผู้ป่วย Graves' disease เพศหญิงในการศึกษาคิดเป็น 83.0, 81.9, 88.9 และ 78.4% ตามลำดับ และต่างจากในการศึกษาของ Chan SH, Hawkins BR, Yeo PP และ Cavan DA ซึ่งมีสัดส่วนผู้ป่วยเพศหญิงในการศึกษาคิดเป็น 51.1, 58.2, 63.5 และ 31.9% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 14

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 14 แสดงข้อมูลพื้นฐานด้านเพศเรียงตามสัดส่วนเพศหญิงในการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease ในการศึกษาก่อนหน้านี้และในงานวิจัยนี้

	เชื้อชาติ	ผู้ป่วย GD ในการศึกษา (คน)			สัดส่วนผู้ป่วยเพศหญิง (%)
		เพศหญิง	เพศชาย	รวม	
Huang*(47)*	จีน	210	26	236	88.9
Onuma H*(43)*	ญี่ปุ่น	88	18	106	83.0
Inoue D*(45)*	ญี่ปุ่น	91	20	111	81.9
งานวิจัยนี้	ไทย	44	10	54	81.4
Cho*(48)*	เกาหลี	58	15	73	78.4
Yeo PP*(44)*	จีน	101	58	159	63.5
Hawkins BR*(42)*	จีน	78	54	132	58.2
Chan SH*(41)*	จีน	44	42	86	51.1
Cavan DA*(46)*	จีน	31	66	97	31.9

ผลการศึกษาพบความถี่ของอัลลีล HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease 20% ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Inoue D, Huang, Chen และ Ueda S คือพบความถี่ของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease อยู่ที่ 17-21.5% แต่น้อยกว่าในการศึกษาของ Chan SH, Hawkins BR, Yeo PP, Cavan DA และ Cho ซึ่งพบความถี่ HLA-B*46 ที่ในกลุ่มผู้ป่วย 29.3- 54.6% [29-38] ดังแสดงในตารางที่ 15

ส่วนในกลุ่มควบคุม ความถี่ของอัลลีล HLA-B*46 จากการศึกษานี้เท่ากับ 8.1% ซึ่งพบน้อยกว่าการศึกษาในคนไทยกลุ่มบริจาคเลือดและเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด ซึ่งพบความถี่ของอัลลีล HLA-B*46 เท่ากับ 12.22-21.1%(50-52) ซึ่งในกลุ่มบริจาคเลือดและเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดอาจแตกต่างจากกลุ่มควบคุมในการศึกษานี้ เช่นอาจมีบางคนมีแอนติบอดีต่อไทรอยด์แต่ยังไม่มีอาการทางคลินิกซึ่งสามารถบริจาคเลือดและเซลล์ต้นกำเนิดได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับความถี่ที่พบในกลุ่มควบคุมของการศึกษาในชาวญี่ปุ่นและเกาหลีในการศึกษาของ Onuma H, Inoue D และ Cho ซึ่งพบความถี่ของ HLA-B*46 ที่ 5.7-9% แต่พบความถี่น้อยกว่าความถี่ที่พบในชาวจีนซึ่งมีรายงานพบ 11.2-26.1% ดังแสดงในตารางที่ 15

ตาราง 15 แสดงความถี่ของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วยเกรฟ และออโตอิมมูนไทรอยด์ในการศึกษาก่อนหน้านี้ในชาวเอเชีย และในงานวิจัยนี้

	เชื้อชาติ	กลุ่มผู้ป่วย	กลุ่มควบคุม	P-value*	RR
Chan SH*(41)*	จีน	GD 52.3%	22.7%	P < 0.003	3.74
Hawkins BR*(42)*	จีน	GD 54.6%	26.1%	P <0.0001	
Onuma H*(43)*	ญี่ปุ่น	GD 29.3%	8.0%	P <0.015	4.8
Yeo PP*(44)*	จีน	GD 45.3%	23.9%	P = 0.00007	2.6
Inoue D*(45)*	ญี่ปุ่น	GD 21.5% HT 26.0%	11.8%	P<0.05 ทั้งกลุ่ม GDและHT	
Cavan DA*(46)*	จีน	GD 51%	31%	P >0.05	
Huang(47)	จีน	GD 18.3%	11.2%	P >0.05	
Chen*(35)*	จีน	GD17.4%	13.6%	$P=1.17x10^{-2}$	1.33
Cho*(48)*	เกาหลี	GD 29.3% HT18.8% AITD 24.7%	5.7%	$P<2.7x10^{-8}$ P<0.001 $P<2.4x10^{-8}$	6.897 3.846 5.455
Ueda S*(49)*	ญี่ปุ่น	GD 17% HT 20% AITD 19%	9%	P = 0.0085 $P = 2.1x10^{-4}$	2.14 2.55
งานวิจัยนี้	ไทย	GD 20.3%	8.1%	0.060	

*P-value เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (P = 0.060) ซึ่งผลแตกต่างจากผลการศึกษาเดิมในชาวเอเชียซึ่งส่วนใหญ่ ซึ่งพบความสัมพันธ์ของ HLA-B*46 ในผู้ป่วย Graves' disease เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นการศึกษาของ Caven DA[46] และ Huang[47] ซึ่งพบความชุกของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease มากกว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Caven DA และ Huang จะเห็นว่างานวิจัยนี้มีความแตกต่างกับการศึกษาของ Caven DA กล่าวคือ การศึกษาของ Caven DA ผู้ป่วย Graves' diseae ทั้งหมด 97 คน เป็นเพศชายถึง 66 คน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ เพศชายที่มีอาการ periodic paralysis เพศชายที่ไม่มีอาการ periodic paralysis และเพศหญิง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรคพบว่าความถี่ของ HLA-B*46 ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยชายที่ไม่มีอาการ periodic paralysis พบว่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P < 0.0006) และเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยเพศชายกับผู้ป่วยเพศหญิง พบว่ามีความถี่ของ HLA-B*46 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (P < 0.015)

ส่วนในการศึกษาของ Huang พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกันงานวิจัยนี้ คือ ศึกษาความถี่ของ HLA เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วย Graves' disease กับกลุ่มควบคุม โดยมีกลุ่มผู้ป่วยเป็นเพศหญิงเป็นส่วนใหญ่ (88.9%) ผลการศึกษาพบความถี่ของ HLA-B*46 ในกลุ่มผู้ป่วย 18.3% ในกลุ่มควบคุม 11.2% ซึ่งพบความถี่มากกว่า แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

การศึกษาของ Yeo PP[44] พบว่านอกจาก HLA-B*46 สัมพันธ์กับการเกิดโรค Graves' disease เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้ว เมื่อทำการวิเคราะห์แยกตามเพศและอายุพบว่ามีความสัมพันธ์กับผู้ป่วย Graves' disease ที่เป็นเพศชาย และในการศึกษาของ Caven[46] ซึ่งพบ HLA-B*46 มากขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อวิเคราะห์แยกตามเพศ พบว่าผู้ป่วยเพศชายมีความชุกของ HLA-B*46 มากกว่าเพศหญิง และมีความสัมพันธ์กับโรค Graves' diseae เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในผลการศึกษาของ Caven พบว่าความชุกของ HLA-B*46 ในผู้ป่วยเพศหญิงน้อยกว่าในกลุ่มควบคุมด้วย

ข้อมูลที่ได้ในการวิจัยนี้ ผู้ป่วย Graves' disease ที่พบ HLA-B*46 จำนวน 11 คน เป็นผู้หญิง 9 คน คิดเป็น 81.8% แตกต่างจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาของ Yeo และ Cavan

เมื่อพิจารณาอายุที่เริ่มเป็นโรค ข้อมูลจากการศึกษาเดิมพบว่า HLA-B*46 มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค Graves' disease ในอายุน้อย จากการศึกษาของ Hawkins BR[42] พบความชุกของ HLA-B*46 มากกว่าในผู้ป่วยที่เริ่มเป็นโรคก่อนอายุ 35 ปี และ Yeo PP(44) พบความชุกของ HLA-B*46 มากขึ้นในผู้ป่วยGraves' disease ที่มีอายุน้อยกว่า 20 ปี แต่การศึกษาของ Onuma H[43] พบข้อมูลที่แตกต่างกันคือพบความสัมพันธ์ของ Graves' disease ในผู้ป่วยที่มีอายุที่เริ่มเป็นโรคมากกว่า 20 ปี

Chulalongkorn University

ข้อมูลที่ได้ในการวิจัยนี้ ผู้ป่วย Graves' disease 11 คน ที่พบ HLA-B*46 มีอายุที่เริ่มเป็นโรคตั้งแต่ 8 ปีจนถึง 75 ปี อายุเฉลี่ย 37.8±16.3 ปี ถ้าพิจารณาตามช่วงอายุ พบว่ามีจำนวนผู้ป่วยที่เริ่มเป็นโรคเมื่ออายุน้อยกว่า 35 ปี จำนวน 5 คน และอายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไป จำนวน 6 คน

จุดเด่นของการวิจัยนี้ คือการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งเลือกใช้กลุ่มควบคุมที่ได้รับหาตรวจหาโรคออโตอิมมูนโดยการซักประวัติ ตรวจร่างกาย รวมทั้งตรวจไทรอยด์ฮอร์โมน และ thyroid autoantibody อยู่ในระดับปกติ และไม่มีประวัติครอบครัวมีโรคประจำตัวของโรคออโตอิมมูนไทรอยด์รวมถึงโรคออโตอิมมูนอื่นๆ

ข้อจำกัดของการวิจัยนี้คือ มีจำนวนผู้เข้าร่วมการวิจัยน้อยกว่าจำนวนที่คาดไว้จากระเบียบวิธีวิจัย เนื่องจากพบว่าหลังจากคัดเลือกเข้ามาในการศึกษาแล้วพบมีกลุ่มประชากรที่ไม่เข้าเกณฑ์กลุ่มผู้ป่วย Graves' disease และกลุ่มควบคุมเป็นจำนวนมากถึง 23.3% ทำให้ได้ผู้เข้าร่วมการวิจัยเพียง 115 คน จากที่คาดไว้อย่างน้อย 144 คน

5.3 ข้อเสนอแนะ

เพิ่มจำนวนตัวอย่างในการศึกษาในครั้งต่อไป และเพิ่มจำนวนผู้ป่วยเพศชายทั้งในผู้ที่มีอาการและไม่มีอาการของ periodic paralysis

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. Campbell PN, Doniach D, Hudson RV, Roitt IM. Auto-antibodies in Hashimoto's disease (lymphadenoid goitre). Lancet. 1956 Oct 20;271(6947):820-1. PubMed PMID: 13368530.

2. Weetman AP. Autoimmune Thyroid Disease. In: J Larry Jameson LJDG, editor. Endocrinology: Adult and Pediatric. 1: Saunders; 2010.

3. Okayasu I, Hara Y, Nakamura K, Rose NR. Racial and age-related differences in incidence and severity of focal autoimmune thyroiditis. American journal of clinical pathology. 1994 Jun;101(6):698-702. PubMed PMID: 8209854.

4. Wang C, Crapo LM. The epidemiology of thyroid disease and implications for screening. Endocrinol Metab Clin North Am. 1997 Mar;26(1):189-218. PubMed PMID: 9074859.

5. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. Clinical immunology and immunopathology. 1997 Sep;84(3):223-43. PubMed PMID: 9281381.

6. Susan J mandal PRL, Terry F Davies. Thyrotoxicosis. In: Shlomo Melmed KSP, P Reed Larsen, Henry M Kronenberg, editor. Williams Textbook of Endocrinology. 1. 12 ed: Saunders; 2011. p. 362-405.

7. Stassi G, De Maria R. Autoimmune thyroid disease: new models of cell death in autoimmunity. Nat Rev Immunol. 2002 Mar;2(3):195-204. PubMed PMID: 11913070. Epub 2002/03/27. eng.

8. Brix TH, Kyvik KO, Christensen K, Hegedus L. Evidence for a major role of heredity in Graves' disease: a population-based study of two Danish twin cohorts. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2001 Feb;86(2):930-4. PubMed PMID: 11158069.

9. Ringold DA, Nicoloff JT, Kesler M, Davis H, Hamilton A, Mack T. Further evidence for a strong genetic influence on the development of autoimmune thyroid

disease: the California twin study. Thyroid : official journal of the American Thyroid Association. 2002 Aug;12(8):647-53. PubMed PMID: 12225632.

10. Wilroy RS, Jr., Etteldorf JN. Familial hyperthyroidism including two siblings with neonatal Graves' disease. J Pediatr. 1971 Apr;78(4):625-32. PubMed PMID: 5107851. Epub 1971/04/01. eng.

11. Hall R, Stanbury JB. Familial studies of autoimmune thyroiditis. Clinical and experimental immunology. 1967 Dec;2:Suppl:719-25. PubMed PMID: 5590107. Pubmed Central PMCID: 1579527.

12. Chen QY, Huang W, She JX, Baxter F, Volpe R, Maclaren NK. HLA-DRB1*08, DRB1*03/DRB3*0101, and DRB3*0202 are susceptibility genes for Graves' disease in North American Caucasians, whereas DRB1*07 is protective. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 1999 Sep;84(9):3182-6. PubMed PMID: 10487684. Epub 1999/09/16. eng.

13. Yanagawa T, Hidaka Y, Guimaraes V, Soliman M, DeGroot LJ. CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves' disease in a Caucasian population. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 1995 Jan;80(1):41-5. PubMed PMID: 7829637. Epub 1995/01/01. eng.

14. Vang T, Miletic AV, Bottini N, Mustelin T. Protein tyrosine phosphatase PTPN22 in human autoimmunity. Autoimmunity. 2007 Sep;40(6):453-61. PubMed PMID: 17729039. Epub 2007/08/31. eng.

15. Ploski R, Szymanski K, Bednarczuk T. The genetic basis of graves' disease. Current genomics. 2011 Dec;12(8):542-63. PubMed PMID: 22654555. Pubmed Central PMCID: 3271308. Epub 2012/06/02. eng.

16. Mather BA, Roberts DF, Scanlon MF, Mukhtar ED, Davies TF, Smith BR, et al. HLA antigens and thyroid autoantibodies in patients with Graves' disease and their first degree relatives. Clinical endocrinology. 1980 Feb;12(2):155-63. PubMed PMID: 6893172. Epub 1980/02/01. eng.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

17. Uno H, Sasazuki T, Tamai H, Matsumoto H. Two major genes, linked to HLA and Gm, control susceptibility to Graves' disease. Nature. 1981 Aug 20;292(5825):768-70. PubMed PMID: 6894965. Epub 1981/08/20. eng.

18. Tomer Y. Genetic susceptibility to autoimmune thyroid disease: past, present, and future. Thyroid : official journal of the American Thyroid Association. 2010 Jul;20(7):715-25. PubMed PMID: 20604685. Pubmed Central PMCID: 2949235. Epub 2010/07/08. eng.

19. Li H, Chen Q. Genetic susceptibility to Grave's disease. Frontiers in bioscience. 2013;18:1080-7. PubMed PMID: 23747868.

20. Davies TF, Latif R, Yin X. New genetic insights from autoimmune thyroid disease. Journal of thyroid research. 2012;2012:623852. PubMed PMID: 22530160. Pubmed Central PMCID: 3317077.

21. Fagoaga OR. Human Leukocyte Antigen: The Major histocompatibility Complex of Man. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22 ed2011. p. 933-53.

22. Narinder K. Mehra GK. Gene map of the human leukocyte antigen (HLA) region. Molecular Medicine. 2003 24 February 2003;Vol. 5.

23. ร่มพฤกษ์ อ. ความสำคัญของแอนติเจน HLA. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2547;3:151-6.

24. Perkins JA. Diseases of the Immune System. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease: Saunders; 2010. p. 183-257.

25. Simmonds MJ. GWAS in autoimmune thyroid disease: redefining our understanding of pathogenesis. Nature reviews Endocrinology. 2013 May;9(5):277-87. PubMed PMID: 23529038.

26. Gough SC, Simmonds MJ. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. Current genomics. 2007 Nov;8(7):453-65. PubMed PMID: 19412418. Pubmed Central PMCID: 2647156.

27. Simmonds MJ, Howson JM, Heward JM, Carr-Smith J, Franklyn JA, Todd JA, et al. A novel and major association of HLA-C in Graves' disease that eclipses the classical HLA-DRB1 effect. Human molecular genetics. 2007 Sep 15;16(18):2149-53. PubMed PMID: 17597093.

28. Major Histocompatibility Complex Molecules and Antigen Presentation to T Lymphocytes. In: Abbas AK, editor. Cellular and Molecular Immunology. 7 ed: Saunders; 2012. p. 109-38.

29. Shlomo Melmed KSP, P Reed Larsen, Henry M Kronenberg. Thyrotoxicosis. Willams Textbook of Endocrinology. 12 ed2011. p. 362-405.

30. Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. Tissue antigens. 2010 Apr;75(4):291-455. PubMed PMID: 20356336. Pubmed Central PMCID: 2848993.

31. ถลาง อณ. Histocompatibility Testing. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2547;14(3):201-10.

32. Farid NR, Barnard JM, Marshall WH. The association of HLA with autoimmune thyroid disease in Newfoundland. The influence of HLA homozygosity in Graves' disease. Tissue antigens. 1976 Sep;8(3):181-9. PubMed PMID: 989647.

33. Yanagawa T, Mangklabruks A, Chang YB, Okamoto Y, Fisfalen ME, Curran PG, et al. Human histocompatibility leukocyte antigen-DQA1*0501 allele associated with genetic susceptibility to Graves' disease in a Caucasian population. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 1993 Jun;76(6):1569-74. PubMed PMID: 8501164.

34. Zamani M, Spaepen M, Bex M, Bouillon R, Cassiman JJ. Primary role of the HLA class II DRB1*0301 allele in Graves disease. American journal of medical genetics. 2000 Dec 18;95(5):432-7. PubMed PMID: 11146462.

35. Chen PL, Fann CS, Chu CC, Chang CC, Chang SW, Hsieh HY, et al. Comprehensive genotyping in two homogeneous Graves' disease samples reveals

major and novel HLA association alleles. PloS one. 2011;6(1):e16635. PubMed PMID: 21307958. Pubmed Central PMCID: 3030609.

36. Omar MA, Hammond MG, Desai RK, Motala AA, Aboo N, Seedat MA. HLA class I and II antigens in South African blacks with Graves' disease. Clinical immunology and immunopathology. 1990 Jan;54(1):98-102. PubMed PMID: 2293909.

37. Li Y, Yao Y, Yang M, Shi L, Li X, Yang Y, et al. Association between HLA-B*46 allele and Graves disease in Asian populations: a meta-analysis. International journal of medical sciences. 2013;10(2):164-70. PubMed PMID: 23329888. Pubmed Central PMCID: 3547214.

38. Farid NR, Stone E, Johnson G. Graves' disease and HLA: clinical and epidemiologic associations. Clinical endocrinology. 1980 Dec;13(6):535-44. PubMed PMID: 6894412.

39. Zeitlin AA, Simmonds MJ, Gough SC. Genetic developments in autoimmune thyroid disease: an evolutionary process. Clinical endocrinology. 2008 May;68(5):671-82. PubMed PMID: 18081880.

40. Wu YL, Chang TY, Chu CC, Huang CY, Lo FS, Ting WH, et al. The HLA-DRB1 gene and Graves disease in Taiwanese children: a case-control and family-based study. Tissue antigens. 2012 Sep;80(3):224-30. PubMed PMID: 22731780.

41. Chan SH, Yeo PP, Lui KF, Wee GB, Woo KT, Lim P, et al. HLA and thyrotoxicosis (Graves' disease) in Chinese. Tissue antigens. 1978 Aug;12(2):109-14. PubMed PMID: 705767.

42. Hawkins BR, Ma JT, Lam KS, Wang CC, Yeung RT. Association of HLA antigens with thyrotoxic Graves' disease and periodic paralysis in Hong Kong Chinese. Clinical endocrinology. 1985 Sep;23(3):245-52. PubMed PMID: 3865750.

43. Onuma H, Ota M, Sugenoya A, Inoko H. Association of HLA-DPB1*0501 with early-onset Graves' disease in Japanese. Hum Immunol. 1994 Mar;39(3):195-201. PubMed PMID: 8026987.

CHULALONGKORN UNIVERSITY

44. Yeo PP, Chan SH, Thai AC, Ng WY, Lui KF, Wee GB, et al. HLA Bw46 and DR9 associations in Graves' disease of Chinese patients are age- and sex-related. Tissue antigens. 1989 Sep;34(3):179-84. PubMed PMID: 2595722.

45. Inoue D, Sato K, Maeda M, Inoko H, Tsuji K, Mori T, et al. Genetic differences shown by HLA typing among Japanese patients with euthyroid Graves' ophthalmopathy, Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis: genetic characteristics of euthyroid Graves' ophthalmopathy. Clinical endocrinology. 1991 Jan;34(1):57-62. PubMed PMID: 2004473.

46. Cavan DA, Penny MA, Jacobs KH, Kelly MA, Jenkins D, Mijovic C, et al. The HLA association with Graves' disease is sex-specific in Hong Kong Chinese subjects. Clinical endocrinology. 1994 Jan;40(1):63-6. PubMed PMID: 8306482.

47. Huang SM, Wu TJ, Lee TD, Yang EK, Shaw CK, Yeh CC. The association of HLA -A, -B, and -DRB1 genotypes with Graves' disease in Taiwanese people. Tissue antigens. 2003 Feb;61(2):154-8. PubMed PMID: 12694583.

48. Cho WK, Jung MH, Choi EJ, Choi HB, Kim TG, Suh BK. Association of HLA alleles with autoimmune thyroid disease in Korean children. Horm Res Paediatr. 2011;76(5):328-34. PubMed PMID: 21952423.

49. Ueda S, Oryoji D, Yamamoto K, Noh JY, Okamura K, Noda M, et al. Identification of Independent Susceptible and Protective HLA Alleles in Japanese Autoimmune Thyroid Disease and Their Epistasis. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2014 Feb;99(2):E379-83. PubMed PMID: 24285682.

50. Fongsatikul L, Nantachit N, Kamtorn N, Leetrakool N. HLA gene frequencies of northern Thais. Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet. 1997 Sep;80 Suppl 1:S38-42. PubMed PMID: 9347644.

51. Romphruk AV, Romphruk A, Kongmaroeng C, Klumkrathok K, Paupairoj C, Leelayuwat C. HLA class I and II alleles and haplotypes in ethnic Northeast Thais. Tissue antigens. 2010 Jun;75(6):701-11. PubMed PMID: 20230525.

52. ศิริลักษณ์ เพียรเจริญ ภค, อ้อยทิพย์ ณ ถลาง, พรทิพย์ รัตจักร์, อารยา ตัตวธร, รัชนี โอเจริญ. การศึกษา Gene Frequencies ของ HLA-A และ -B Antigens ในอาสาสมัครบริจาคเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2547;14(3):171-9.

53. Wongsurawat T, Nakkuntod J, Charoenwongse P, Snabboon T, Sridama V, Hirankarn N. The association between HLA class II haplotype with Graves' disease in Thai population. Tissue antigens. 2006 Jan;67(1):79-83. PubMed PMID: 16451208

54. Vejbaesya S, Eiermann TH, Suthipinititharm P, Bancha C, Stephens HA, Luangtrakool K, et al. Serological and molecular analysis of HLA class I and II alleles in Thai patients with psoriasis vulgaris. Tissue antigens. 1998 Oct;52(4):389-92. PubMed PMID: 9820604.

55. Hananantachai H, Patarapotikul J, Ohashi J, Naka I, Looareesuwan S, Tokunaga K. Polymorphisms of the HLA-B and HLA-DRB1 genes in Thai malaria patients. Jpn J Infect Dis. 2005 Feb;58(1):25-8. PubMed PMID: 15728986.

56. Stuart PE, Nair RP, Hiremagalore R, Kullavanijaya P, Kullavanijaya P, Tejasvi T, et al. Comparison of MHC class I risk haplotypes in Thai and Caucasian psoriatics shows locus heterogeneity at PSORS1. Tissue antigens. 2010 Nov;76(5):387-97. PubMed PMID: 20604894. Pubmed Central PMCID: 2970686.

57. Pimtanothai N, Charoenwongse P, Mutirangura A, Hurley CK. Distribution of HLA-B alleles in nasopharyngeal carcinoma patients and normal controls in Thailand. Tissue antigens. 2002 Mar;59(3):223-5. PubMed PMID: 12074714.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกข้อมูลการวิจัยเรื่อง

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคและลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย

Association between HLA-B*46 Polymorphism and the Susceptiblity and Clinical Manifestation of Graves' Disease in Thai Patients	
☐ Case ☐ Control	เลขที่ ☐☐☐☐
Date of visit ☐☐ ☐☐ ☐☐☐☐	

1. ข้อมูลทั่วไป		สำหรับเจ้าหน้าที่	
1. อายุ	☐☐ ปี	AGE	☐☐
2. เพศ	☐ 1.ชาย ☐ 2.หญิง	GENDER	☐
3. เชื้อชาติ	☐ 1.ไทย ☐ 2.ไทย-จีน ☐ 3. ไทย-อื่นๆ.....	RACE	☐
4. ประวัติการสูบบุหรี่	☐ 1.ไม่สูบ ☐ 2.ยังคงสูบ.....มวน/วัน นาน..... ปี ☐ 3. เคยสูบ ..... มวน/ วัน นาน .....ปี เลิก..... ปี	SMOKE	☐
5. ประวัติโรคทางออโตอิมมูนอื่น	☐ 1. None ☐ 2. DM type1 ☐ 3. Rheumatoid arthritis ☐ 4. SLE ☐ 5. dSCC ☐ 6. Addison's disease ☐ 7. Other.....	PH	☐
6. ประวัติครอบครัวโรคออโตอิมมูน	☐ 1. None ☐ 2. DM type1 ☐ 3. Rheumatoid arthritis ☐ 4. SLE ☐ 5. dSCC ☐ 6. Addison's disease ☐ 7. Graves' disease ☐ 8. Hashimoto's thyroiditis	FH	☐
7.ยาที่ใช้ประจำ ขณะนี้	☐ 1. ไม่มี ☐ 2. มี (ระบุ)	DRUG	☐

2. ข้อมูลเกี่ยวข้องกับโรค GD และ HT				
1. Goiter size	☐ g		SIZE	☐
2. Graves' ophthalmopathy	☐ 1.Present	☐ 2.Absent	GO	☐
3. Pretibial myxedema	☐ 1.Present	☐ 2.Absent	PM	☐
4. Age of onset	☐ years old		ONSET	☐

5. Disease activity ☐ 1.Relapse ☐ 2.Remission | ACTIVE ☐

3. ผลทางห้องปฏิบัติการ

1. FT3	☐	FT3	☐
2. FT4	☐	FT4	☐
3. TSH	☐	TSH	☐
4. Anti-Tg	☐	Anti-Tg	☐
5. Anti-TPO	☐	Anti-TPO	☐
6.Thyroid uptake	☐	Uptake	☐
7.Treatment	☐ 1. Medication ☐ 2. Radioactive iodine ☐ 3. Surgery	Rx	☐

4.ผลการตรวจทางพันธุกรรม

HLA-B*46 polymorphism

☐ 1. พบ HLA-B*46___

☐ 2. อื่นๆ_____

Genotype ☐

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

(สำหรับกลุ่มผู้ป่วย)

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคและลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย

ผู้สนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัยหน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

<u>แพทย์ผู้ทำวิจัย</u>

ชื่อ แพทย์หญิงลิลลี่ ปฐมหยก

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101 หรือ 086-5524750

(ที่ทำงานและมือถือ)

<u>แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย</u>

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ธิติ สนับบุญ

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101

(ที่ทำงานและมือถือ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุผลความเป็นมา

ปัจจัยทางพันธุกรรมมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษ โดยการศึกษาก่อนหน้านี้ในคนผิวขาวและคนเอเชีย พบว่ามีปัจจัยทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ และปัจจัยทางพันธุกรรมบางชนิดมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษด้วย ซึ่งยังมีการศึกษาในชาวไทยน้อย

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อตรวจหาปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีผลต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษในชาวไทย และหาความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิค เช่น อายุเมื่อเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษ ขนาดต่อมไทรอยด์ อาการตาโปน จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ .....150..... คน

<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะนัดให้ท่านมาพบภายใน 1-2 สัปดาห์ เพื่อขอตรวจเลือดประมาณ 10 มิลลิลิตร (2 ช้อนชา) เพื่อวัดระดับฮอร์โมนไทรอยด์ และสัมภาษณ์ประวัติและประวัติครอบครัวที่เกี่ยวข้องกับโรคไทรอยด์และโรคอื่นๆที่อาจมีกลไกการเกิดโรคเกี่ยวข้องกัน เพื่อคัดกรองว่าท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัย

หากท่านมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้า ท่านจะได้แจ้งและเชิญให้มาพบแพทย์อีกครั้งภายใน 1 เดือน เพื่อตรวจร่างกายประเมินขนาดต่อมไทรอยด์ ประเมินอาการทางตา และตรวจเลือดประมาณ

5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) เพื่อนำไปตรวจความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน รวมท่านจะได้พบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยทั้งสิ้น...2.....ครั้งรวมระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยนี้ 4 เดือน

<u>ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

กรุณาแจ้งผู้ทำวิจัยในกรณีที่พบอาการอื่นๆ ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

<u>การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง</u>

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

<u>ประโยชน์ที่อาจได้รับ</u>

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆจากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลความเสี่ยงทางพันธุกรรมของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชาวไทย ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง

- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย

ผู้วิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยเป็นผู้รับผิดชอบออกค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลหากมีอันตรายจากการวิจัยเกิดขึ้นกับอาสาสมัคร

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ .....พญ. ลิลลี่ ปฐมหยก.....โทร 086-5524750..... ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

<u>ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย</u>

ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย (ถ้ามี)

ท่านจะได้รับเงินชดเชยค่าพาหนะจากการเข้าร่วมในการวิจัยนี้ คนละ 500 บาท รวม 2 ครั้ง

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

<u>การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร</u>

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ พญ. ลิลลี่ ปฐมหยก หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย..

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

<u>การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ</u>

เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยขอเก็บตัวอย่างสำหรับตรวจซ้ำ เพื่อยืนยันความถูกต้องของผลการทดลองเป็นระยะเวลา 1 ปี และจะลำลายตัวอย่างทางชีวภาพของอาสาสมัครหลังสิ้นสุดการวิจัย (1 ปี)

<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้

2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย

5. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย

6. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

7. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น

8. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่

9. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4493 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

(สำหรับอาสาสมัครปกติ)

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคและลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย

ผู้สนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัยหน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

<u>แพทย์ผู้ทำวิจัย</u>

ชื่อ แพทย์หญิงลิลลี่ ปฐมหยก

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101 หรือ 086-5524750

(ที่ทำงานและมือถือ)

<u>แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย</u>

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ธิติ สนับบุญ

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101

(ที่ทำงานและมือถือ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นอาสาสมัครปกติ ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

<u>เหตุผลความเป็นมา</u>

ปัจจัยทางพันธุกรรมมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษ โดยการศึกษาก่อนหน้านี้ในคนผิวขาวและคนเอเชีย พบว่ามีปัจจัยทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ และปัจจัยทางพันธุกรรมบางชนิดมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษด้วย ซึ่งยังมีการศึกษาในชาวไทยน้อย

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อตรวจหาปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีผลต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษในชาวไทย และหาความสัมพันธ์กับลักษณะทางคลินิค เช่น อายุเมื่อเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษ ขนาดต่อมไทรอยด์ อาการตาโปน จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ .....150..... คน

<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะนัดให้ท่านมาพบภายใน 1-2 สัปดาห์ เพื่อขอตรวจเลือดประมาณ 10 มิลลิลิตร (2 ช้อนชา) เพื่อวัดระดับฮอร์โมนไทรอยด์ และสัมภาษณ์ประวัติและประวัติครอบครัวที่เกี่ยวข้องกับโรคไทรอยด์และโรคอื่นๆที่อาจมีกลไกการเกิดโรคเกี่ยวข้องกัน เพื่อคัดกรองว่าท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัย

หากท่านมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้าของกลุ่มควบคุม ท่านจะได้แจ้งและเชิญให้มาพบแพทย์อีกครั้งภายใน 1 เดือน เพื่อตรวจร่างกายประเมินขนาดต่อมไทรอยด์ ประเมินอาการทางตา และ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตรวจเลือดประมาณ 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) เพื่อนำไปตรวจความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน รวมท่านจะได้พบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยทั้งสิ้น...2.....ครั้งรวมระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยนี้ 4 เดือน

<u>ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

กรุณาแจ้งผู้ทำวิจัยในกรณีที่พบอาการอื่นๆ ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

<u>การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง</u>

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

<u>ประโยชน์ที่อาจได้รับ</u>

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆจากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลความเสี่ยงทางพันธุกรรมของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชาวไทย

<u>ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย</u>

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย ผู้วิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยเป็นผู้รับผิดชอบออกค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลหากมีอันตรายจากการวิจัยเกิดขึ้นกับอาสาสมัคร

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ .....พญ. ลิลลี่ ปฐมหยก.....โทร 086-5524750..... ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

<u>ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย (ถ้ามี)</u>

ท่านจะได้รับเงินชดเชยค่าพาหนะจากการเข้าร่วมในการวิจัยนี้ คนละ 500 บาท รวม 2 ครั้ง

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ พญ. ลิลลี่ ปฐมหยก หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย..

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

<u>การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ</u>

เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยขอเก็บตัวอย่างสำหรับตรวจซ้ำ เพื่อยืนยันความถูกต้องของผลการทดลองเป็นระยะเวลา 1 ปี และจะลำลายตัวอย่างทางชีวภาพของอาสาสมัครหลังสิ้นสุดการวิจัย (1 ปี)

<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้

2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย

4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย

5. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย

6. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

7. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น

8. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่

9. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4493 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ง

เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HLA-B*46 กับการเกิดโรคและลักษณะทางคลินิกของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟของผู้ป่วยชาวไทย (Association between HLA-B*46 Polymorphism and the Susceptiblity and Clinical Manifestation of Graves' Disease in Thai Patients)

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....ที่อยู่.....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนามและ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย (และระบุด้วยว่าจะได้รับการชดเชยจากผู้สนับสนุนการวิจัยหรือไม่.....)

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผลและการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า

ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

<u>การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพ</u>

☐ มีและขอเก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

ข้าพเจ้า ☐ ยินยอม

☐ ไม่ยินยอม

ให้เก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก จ

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจ HLA-B*46

สารเคมี

1.Agarose, Calbiochem, USA

2.Taq DNA polymerase, Fermentas, USA

3.GeneRuler 1 kb DNA Ladder, Fermentas, USA

4.Micro SSPTM HLA DNA TYPING TRAYS (ONE LAMBDA, INC; USA)

เครื่องมือ

1. Applied Biosystems® GeneAmp® PCR System 9700

2. Gel doc, xRS system,Gel Doc, PC, BIO-RAD, USA

3. Microcentrifuge, Eppendorf, USA

4. Vortex Mixer, Stuart scientific, UK.

5. Spectophotometer, Bio-Rad, USA.

6. Automatic Pipettes, Gilson, France

7. Biological Safety Carbinet class II A2, Heal Force, China

8. MiniSpin centrifuge, Eppendorf, USA

9. Microwave oven for heating agarose solutions

10. Biofreezer (-20 oC), Sanyo, Japan

11. Autoclave, Hirayama, Japan

12. Drying ovens, BINDER, Germany

13. Electrophoresis apparatus/ power supply, BIO-RAD, USA

14. Nanodrop, Thermo scientific, USA

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ฉ

Reagents and Buffers

Reagents and Buffers

1. 6X DNA loading dye (5 mL)

30 g glycerol

6 mL 0.5 M EDTA, pH 8

5 mg bromophenol blue

Adjust volume to 5 ml

2. 10x TBE Electrophoresis buffer (1,000 ml)

108 g of Tris base (tris(hydroxymethyl)aminomethane)

55 g of boric acid

7.5 g of EDTA, disodium salt

Adjust volume to 1,000 ml with distilled water

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ แพทย์หญิง ลิลลี่ ปฐมหยก

วันเดือนปีเกิด 26 มิถุนายน พ.ศ. 2523 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นักศึกษาแพทย์คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล	2539-2545
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลหนองบัวลำภู	2544-2545
แพทย์ใช้ทุนปีที่ 2 โรงพยาบาลศรีบุญเรือง จังหวัดหนองบัวลำภู	2546-2547
แพทย์เวชปฏิบัติทั่วไป โรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร	2547-2548
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์	2548-2551
อายุรแพทย์ โรคพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร	2551-2554
อายุรแพทย์ ศูนย์การแพทย์กาญจนาภิเษก มหาวิทยาลัยมหิดล	2554-ปัจจุบัน .

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1)	2545
วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2551

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

สมาชิกแพทยสภา

สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย

สมาชิกสมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University