

แอนติคาติโงโลปีนแอนติบอดีในผู้ป่วยโรคต่าง ๆ ทางระบบประสาท

นาง วิไล เฉลิมจันทร์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2532

ISBN 974-576-562-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

015358

117495921

Anticardiolipin Antibodies in Patients with
Various Neurological Diseases

Mrs. Vilai Chalermchant

A thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Inter-Department of Medical Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1989

ISBN 974-576-562-7

หัวข้อวิทยานิพนธ์

แอนติคาติโวลีนแอนติบอดีในโรคต่าง ๆ

ทางระบบประสาท

โคช

นาง วิไล เฉลิมจันทร์

สหสาขาวิชา

จุลชีววิทยาทางการแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา

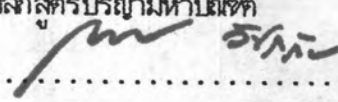
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธีรวัฒน์ เหมะจุฑา

รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ฤทัย สุกุลเรมรุ้ง

อาจารย์ ผกาทิพย์ เรจินลค์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

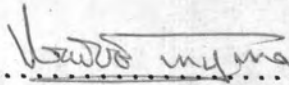
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต



คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

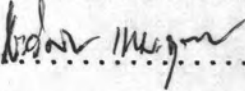
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วิชัยรักษ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



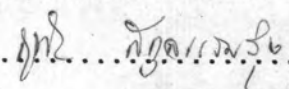
ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประพันธ์ ภาณุภาค)



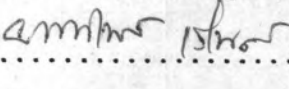
กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธีรวัฒน์ เหมะจุฑา)



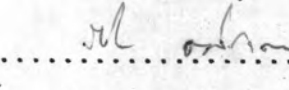
กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ฤทัย สุกุลเรมรุ้ง)



กรรมการ

(อาจารย์ ผกาทิพย์ เรจินลค์)



กรรมการ

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิชัย อติชาติการ)



พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมที่เพียงแผ่นเดียว

วิไล เฉลิมจันทร์ : แอนติคาดีโอไลปินแอนติบอดีในผู้ป่วยโรคต่าง ๆ ทางระบบประสาท (ANTICARDIOLIPIN ANTIBODIES IN PATIENTS WITH VARIOUS NEUROLOGICAL DISEASES) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุธา, รศ.พญ. ฤทัย สกกุลแรมรุ่ง, อ.ผกาทิพย์ เรโนลด์, 85 หน้า

แอนติคาดีโอไลปินแอนติบอดี (ACAs) สามารถทำปฏิกิริยากับ phospholipid ชนิดต่าง ๆ ซึ่งปรากฏอยู่บนเนื้อเยื่อของร่างกายหลายแห่งได้ มีผู้ตั้งสมมุติฐานว่า แอนติคาดีโอไลปินอาจจะเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพหรือการดำเนินของโรค autoimmune บางโรคได้ เช่น systemic lupus erythematosus (SLE) และโรคของระบบประสาทบางชนิด ผู้วิจัยจึงได้ค้นคว้าวิธีการตรวจแอนติคาดีโอไลปิน ด้วยวิธีเอนไซม์มิวมิวเนอเอสเส็นซ์เพื่อศึกษาอุบัติการณ์ของ ACAs ในคนไข้ SLE กลุ่มอาการแทรกซ้อนจากการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Semple vaccine) และโรคทางระบบประสาทต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นความรู้พื้นฐานในการหาความสัมพันธ์ของ ACAs กับโรคดังกล่าวต่อไป

จากการศึกษาคนไข้ SLE 100 คน พบว่าให้ผลบวก ACA 17 ราย เมื่อแบ่งตามความรุนแรงของโรคพบ 11 ราย อยู่ในกลุ่มคนไข้ที่มีอาการรุนแรงมาก จำนวน 81 คน (13.58%) และอีก 6 ราย จากกลุ่มคนไข้ที่มีอาการรุนแรงและเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจำนวน 19 คน (31.54%) นำเหลืองที่ให้ผลบวก 17 รายนี้ ส่วนใหญ่มี isotype เป็น IgG สามารถทำปฏิกิริยากับ VDRL-Ag ในระดับ binding activity ต่ำ ๆ เมื่อวัดด้วยวิธีเอนไซม์มิวมิวเนอเอสเส็นซ์ ต่างจากกลุ่มคนไข้โรคซีฟิลิส 20 ราย ซึ่งทำปฏิกิริยากับ VDRL-Ag ได้ดีกว่าคาดีโอไลปินมาก แสดงว่าแอนติบอดีคือ phospholipid ที่ตรวจพบในกลุ่มคนไข้ SLE กับคนไข้ซีฟิลิสคงจะเป็นแอนติบอดีคนละชนิดกัน

สำหรับกลุ่มคนไข้ที่มีอาการแทรกซ้อนจาก Semple vaccine 46 ราย นั้นพบให้ผลบวก 18 ราย 16 ราย อยู่ในกลุ่มคนไข้ที่มีอาการรุนแรงรวม 25 คน (64%) และอีก 2 ราย จากกลุ่มคนไข้ที่มีอาการน้อย 21 คน (9.5%) ผู้ที่ฉีดวัคซีนแต่ไม่มีอาการแทรกซ้อน 36 รายไม่พบ ACAs เลย เมื่อติดตามตรวจ ACAs เป็นระยะ ๆ ในคนไข้ที่ Semple vaccine ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลหลาย ๆ วัน พบว่าระดับของ ACAs อาจมีการเปลี่ยนแปลงขึ้น ๆ ลง ๆ ได้ คนไข้บางรายมี ACAs ตรวจพบได้นานถึง 27 วัน ผลการศึกษา isotype ของแอนติคาดีโอไลปินในคนไข้ที่ฉีดวัคซีนพบว่าตรวจพบ isotype ได้หลายแบบ ส่วนใหญ่พบเป็น IgG อย่างเดียว หรือพบร่วมกับ isotype อื่น ๆ

แอนติคาดีโอไลปินแอนติบอดียังพบได้ในคนไข้โรคของระบบประสาทอื่น ๆ กล่าวคือ คนไข้โรคของระบบประสาทที่มี immunopathogenic basis 43 ราย ให้ผลบวก 10 ราย (23.5%) ซึ่งใกล้เคียงกับกลุ่มโรค degenerative disease 5 ใน 22 ราย (22.7%) และแตกต่างจากกลุ่ม CNS infection และซึ่งพบ ACAs เพียง 4 ใน 31 ราย (12.9%) และ 2 ใน 31 ราย (6.45%) ตามลำดับ

ผลการศึกษาชี้แจงว่า ACAs น่าจะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค autoimmune โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มโรคของระบบประสาทที่เกิดจากการแพ้วัคซีน

ภาควิชา สหสาขาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สาขาวิชา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2531

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
.....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

VILAI CHALERMCHANT : ANTICARDIOLIPIN ANTIBODIES IN PATIENS WITH VARIOUS NEUROLOGICAL DISEASES. THESIS ADVISOR : ASST.PROF. THIRAVAT HEMACHUDHA, ASSO. RUTHAI SAKULRAMRONG, INST. PHAKATHIP RAYNOLD, 85 PP.

It has been postulated that anticardiolipin antibodies (ACAs), capable of reacting with several forms of phospholipid present on various body tissue, may play a role in the pathogenesis or progression of some autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE) and certain neurological disorders. An enzyme immunoassay for the detection of ACAs has been developed in this study in order to examine the incidence of ACAs in patients afflicted with SLE, complication following Semple vaccination and other neurological diseases. This will provide the basic knowledge in the search for any relationship between ACAs and certain diseases.

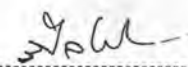
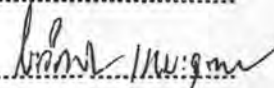
Of the 100 cases of SLE, seventeen expressed ACA activity. Analysis of these cases revealed eleven positive sera out of 81 from persons with mild SLE (13.58%) and 6 positive cases among 19 severely ill inpatients (31.54%). Most of the ACAs positive sera exhibited IgG isotype. These sera reacted to VDRL-Ag with a relatively low binding activity as measured by enzyme immunoassay. On the contrary, sera from 20 syphilitic patients reacted fairly well with cardiolipin but demonstrated a much stronger reactivity against VDRL-Ag. Our result indicates that the antiphospholipid antibodies manifested in the two groups of patients are distinct.

Investigation of ACAs in forty six patients with neurological complication after Semple vaccination revealed 16 positive sera out of 25 patients with major symptoms (64%) and 2 positive cases among 21 patients (9.5%) with minor illness. No ACAs have been demonstrated among 36 normal vaccinees without complaints. Sequential studies of ACAs in hospitalized cases indicated fluctuation of antibody levels and the detection of ACAs as late as 27 days of illness. ACAs isotype studies showed several patterns of which the majority includes IgG, expressed as single or multiple isotypes.

Anticardiolipin antibodies were also demonstrated in other neurological disorders. For instance, there were 10 positive cases among 43 neurological disease of immunopathogenic basis (23.5%) which was similar to the incidence of ACAs in the degenerative disease group (5 out of 22, 22.7%). On the other hand, ACAs were much less frequently observed in a group of CNS infection (4 out of 31, 12.9%) and in the miscellaneous category (2 out of 31, 6.45%).

The present investigation suggest a close association between ACAs and severity of certain diseases of immunopathogenic basis, particularly in the group of postvaccinal complication.

ภาควิชา สหสาขาจุลชีววิทยาทางการแพทย์
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางการแพทย์
ปีการศึกษา 2531

ลายมือชื่อนิติ 
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ อีระวัจน์ เหมะจุฑา อาจารย์ที่ปรึกษา และควบคุมงานวิจัย ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงกัญญา สุกุลเรมรุ่ง และ อาจารย์ ผกาทิพย์ เรืองรงค์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่กรุณาให้คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านด้วยความอบอุ่นตลอดการศึกษานี้

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อุทิศ ศิสมะรัชต์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและให้ ข้อมูลประวัติ เจ็บป่วยของคนไข้ ตลอดจนช่วยเหลือในการดำเนินการ เก็บตัวอย่าง เลือดคนไข้

ขอขอบคุณ อาจารย์สมรัตน์ ชาญฤทธิ์ แผนกเวชศาสตร์ป้องกัน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาเรื่องการใช้สถิติในการวิจัย

ขอขอบคุณ นายกุล ภิราตินทร์ ผู้อำนวยการกองมาตรฐานชั้นสูงสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่อนุญาตให้ลาศึกษาต่อในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณแสงบุรณ์ นครศรี หัวหน้าฝ่ายผลิตและฝึกอบรม กองมาตรฐานชั้นสูง สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และเพื่อนร่วมงานในฝ่าย ๆ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ด้านการงานต่าง ๆ เพื่อให้โอกาสแก่ผู้วิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณเกษิณ วิริยะกิจนิศล และคุณกัญญา ทักทิว ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือใน การเตรียมต้นฉบับและจัดพิมพ์วิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ เพื่อนนิสิตสหสาขาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทางการแพทย์ทุกท่านที่เคยให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน ทั้งกำลังกายและกำลังใจด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ภาควิชาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับด้านปฏิบัติการในระหว่างการวิจัย

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้อุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ผู้เป็นกำลังใจให้แก่ผู้วิจัย และท้ายที่สุดขอขอบคุณ พ.ศ.ศ. ประเวศ เฉลิมจันทร์ สามี ซึ่งเป็นผู้ที่มีความเข้าใจและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยในระหว่าง การวิจัยครั้งนี้

สารบัญ

| | หน้า |
|--------------------------------------|-------|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ข |
| กิตติกรรมประกาศ | ค |
| รายการตารางประกอบ | ง |
| รายการรูปประกอบ | จ |
| . . . | |
| คำขอ | ฉ |
| | |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ | 1-28 |
| 2. วัสดุและวิธีการ | 29-39 |
| 3. ผลการทดลอง | 40-62 |
| 4. การวิจารณ์ผลการทดลอง | 63-69 |
| 5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ | 70-71 |
| บรรณานุกรม | 72-84 |
| ประวัติผู้เขียน | 85 |

รายการตารางประกอบ

| ตารางที่ | หน้า |
|--|------|
| 1. แสดงชนิดของ antiphospholipid antibodies | 7 |
| 2. แสดงอุบัติการณ์ของ ACAs ในโรคต่าง ๆ | 17 |
| 3. แสดงโรคต่าง ๆ ทางระบบประสาทซึ่งตรวจพบ ACA หรือ LA | 25 |
| 4. แสดงลักษณะอาการทางคลินิกในกลุ่ม Anticardidipin Syndrome | 26 |
| 5. แสดงขั้นตอนการทำ ELISA เพื่อตรวจหา ACAs | 47 |
| 6. แสดงค่า OD การตรวจ ACAs ในคนปกติ | 48 |
| 7. แสดงผลการตรวจ ACAs ในคนไข้ที่มีความผิดปกติทางระบบประสาทชนิดต่าง ๆ | 55 |
| 8. ผลการศึกษาความแม่นยำของการทดสอบ | 59 |
| 9. ผลการศึกษาความเชื่อถือได้ของการทดสอบ | 59 |

รายการประกอบ

| รูปที่ | หน้า |
|--|------|
| 1. แผนภูมิแสดงขั้นตอนการเรียงตัวของเลือด ชั้นคอนที่ถูกยับยั้งด้วย ACAs | 10 |
| 2. Cross reacting antiphospholipid autoanttibody ที่พบใน คนไข้ SLE | 12 |
| 3. โครงสร้างของ Cardiolipin เปรียบเทียบกับ dDNA และ cardiolipin analogue | 14 |
| 4. IgG ACA (RIA) ในผู้ป่วย autoimmune diseases และโรคอื่นๆ | 18 |
| 5. กลไกที่ ACAs มีผลต่อเกร็ดเลือดและทำให้เกิดการอุดตันในเส้นเลือด | 21 |
| 6. การทำ Checkerboard titration สำหรับ ACAs ELISA | 38 |
| 7. การทำ Checkerboard titration สำหรับ ACAs ELISA | 39 |
| 8. ผลการทำ Checkerboard titration สำหรับ VDRL ELISA | 46 |
| 9. ผล ACAs ในคนปกติ | 47 |
| 10. ผล ACAs ในผู้ป่วย SLE | 48 |
| 11. ผล ACAs ในผู้ป่วยแพ้ Semple vaccine (123 specimen) | 49 |
| 12. ผล ACAs ในผู้ป่วยแพ้ Semple vaccine (82 case) | 50 |
| 13. ความเปลี่ยนแปลงของระดับ ACAs ในผู้ป่วยแพ้ Semple vaccine ที่อาการมาก 4 ราย | 53 |
| 14. ผล ACAs ในผู้ป่วยแพ้ Semple vaccine ที่มีแทรกซ้อนมาก แสดงระดับของ ACAs ในแต่ละครั้งที่เจาะเลือด | 54 |
| 15. ผล ACAs ในผู้ป่วยโรคคางว ทางระบบประสาท | 56 |
| 16. ผล ACAs ในผู้ป่วย GBS, MS และ CNS infection | 57 |
| 17. ผลการทำ Inhibition test | 58 |
| 18. ผลการทำ Checkerboard titration สำหรับ VDRL-E | 60 |

รายการประกอบ (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า |
|---|------|
| 19. เปรียบเทียบผลการตรวจ ACAs และ VDRL-E ในผู้ป่วย SLE และ Syphilis | 61 |
| 20. เปรียบเทียบผลการตรวจ VDRL-E และ ACA IgM ในผู้ป่วย Syphilis กับ VDRL-E และ ACA IgG ในผู้ป่วย SLE | 62 |

คำย่อ

| | | |
|------------------|---|---|
| APA | = | Antiphospholipid antibodies |
| ACAs | = | Anticardiolipin antibodies |
| LA | = | Lupus anticoagulant |
| BFP-STs | = | Biological false positive serological test for syphilis |
| SLE | = | Systemic lupus erythematosus |
| GBS | = | Guillain Barre Syndrome |
| MS | = | Multiple Sclerosis |
| VDRL | = | Veneral disease reserch laboratory |
| RIA | = | Radioimmunoassay |
| ELISA | = | Enzyme-linked immunosorbent assay |
| CL | = | Cardiolipin |
| PS | = | Phosphatidylserine |
| PA | = | Phosphatidic acid |
| PI | = | Phosphatidylinositol |
| PE | = | Phosphatidylethanolamine |
| IP ₃ | = | Inositol triphosphate |
| TxA ₂ | = | Tromboxane A ₂ |
| PAF | = | Platelet activating factor |
| AA | = | Arachidonic acid |
| DAG | = | Diacylglycerol |
| Ig. | = | Immunoglobulin |
| Ag. | = | Antigen |
| ss-DNA | = | Single stranded DNA |
| ds-DNA | = | Double stranded DNA |
| Anti-DNA | = | Antibody to deoxyribonucleic acid |

| | | |
|----------|---|---|
| McAb | = | Monoclonal Antibody |
| TPHA | = | Treponema pallidum hemagglutination |
| FTA-ABS | = | Fruorescent treponemal antibodies absorption test |
| °C | = | องศาเซลเซียส |
| ul | = | ไมครอลิตร |
| ml | = | มิลลิลิตร |
| ABS-PBS | = | Adult bovine serum in phosphate buffer saline |
| IgG | = | Immunoglobulin G |
| IgM | = | Monoclonal immunoglobulin M |
| IgA | = | Immunoglobulin A |
| CNS | = | Central Nervous System |
| AIDS | = | Acquired Immune Deficiency Syndrome |
| STS | = | Serological Test for Syphilis |
| EIA | = | Enzyme immunoassay |
| AITP | = | Autoimmune idiopathic thrombocytopenic purpura |
| VDRL-E | = | การตรวจ VDRL ไขษวี่ ELISA |
| Ag | = | Antigen |
| OD | = | Optical density |
| PBS | = | Phosphate buffer saline |
| OPD | = | Outpatient department |
| RT | = | Room temperature |
| MM | = | Multiple myeloma |
| c neuro | = | With neurological involement |
| s neuro | = | Without neurological involement |
| ND | = | Not done |
| MBP | = | Myelin basic protein |
| Anti-MBP | = | Antibody to myelin basic protein |
| NP | = | Normal pool |