

การศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ระหว่างยีนซีทีแอลเอโฟร์กับการกลับเป็นซ้ำ
ของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ ในประชากรไทย

นางสาว ญัฐกานต์ มยุระสาคร

ศูนย์วิทยุทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE ASSOCIATION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTE-ASSOCIATED ANTIGEN 4
POLYMORPHISM AND RELAPSE OF GRAVES'DISEASE
IN THAI POPULATION

Miss Nutdhakarn Mayurasakorn

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีนซีทีแอลเอโฟร์ กับการ
กลับเป็นซ้ำของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ ในประชากร
ไทย

โดย

นางสาว ณัฐกานต์ มยุระสาคร

สาขาวิชา

อายุรศาสตร์


อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

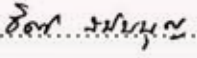
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ จิติ สันบุญญ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

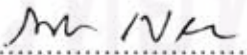
.....  คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติศร ภัทราดุลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....  ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ กัมมันต์ พันธุมจินดา)

.....  อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ จิติ สันบุญญ)

.....  กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พลภัทร โรจน์นครินทร์)

.....  กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ นายแพทย์ ณัฐเชษฐ เป็ล่งวิทยา)

ศูนย์วิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ณัฐกานต์ มยุระสาคร: การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีนซีทีแอลเอโฟร์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ ในประชากรไทย. (THE ASSOCIATION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTE-ASSOCIATED ANTIGEN 4 POLYMORPHISM AND RELAPSE OF GRAVES'DISEASE IN THAI POPULATION) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. นพ. อิติ สมนับบุญ, 57 หน้า.

ที่มา การรักษาโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟด้วยยาต้านไทรอยด์มีโอกาสกลับเป็นซ้ำร้อยละ 50 ซึ่งมักเกิดภายใน 3 ปีแรกหลังหยุดยา ปัจจัยทางพันธุกรรมสามารถตรวจก่อนเริ่มรักษาพบว่าสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำ โดยยีนที่สนใจคือยีนซีทีแอลเอโฟร์

วิธีดำเนินการวิจัย การศึกษาย้อนหลังเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ ที่ได้รับยาต้านไทรอยด์อย่างน้อย 18 เดือนจนหายแล้วโรคกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยา กับกลุ่มที่โรคสงบที่ 3 ปีหลังหยุดยา ตรวจยีนซีทีแอลเอโฟร์ที่ตำแหน่ง A49G ด้วยวิธีตรวจลำดับเบสได้ผลเป็น genotype AA AGหรือ GG โดยสันนิษฐานว่า G allele ที่ตำแหน่งนี้สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำ

ผลการวิจัย กลุ่มที่กลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปี 50 คน และกลุ่มที่โรคสงบ 62 คน .ในกลุ่มที่โรคกลับเป็นซ้ำพบ G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีนซีทีแอลเอโฟร์ ร้อยละ 61 ในกลุ่มที่โรคสงบพบร้อยละ 62($p=0.867$) แต่พบว่าระยะเวลากลับเป็นซ้ำของ genotype AA เฉลี่ย 22.7 เดือนนานกว่า genotype AG และ GG ซึ่งกลับเป็นซ้ำเฉลี่ย 15.9 เดือน($p=0.026$)

สรุปผล ไม่พบความสัมพันธ์ของยีนซีทีแอลเอโฟร์ที่ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของไทรอยด์เป็นพิษชนิดเกรฟ หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ในช่วง 6 เดือนถึง 3 ปี แต่พบว่าใน genotype AA โรคกลับเป็นซ้ำช้ากว่า genotype AG และ GG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สาขาวิชา อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต. ณัฐกานต์ มยุระสาคร
สาขาวิชา อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก. อิตี
ปีการศึกษา 2551.....

5074767330 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : *CTLA-4* POLYMORPHISM/GRAVES' DISEASE/RELAPSE/ANTITHYROID DRUGS

NUTDHAKARN MAYURASAKORN: THE ASSOCIATION OF CYTOTOXIC T
LYMPHOCYTE-ASSOCIATED ANTIGEN 4 POLYMORPHISM AND RELAPSE OF
GRAVES' DISEASE IN THAI POPULATION. ADVISOR: ASST. PROF. THITI
SNABBOON, M.D., 57 pp.

Background Treatment of Graves' disease with antithyroid drugs for has 50 percents relapse rate. Genetic susceptibility to relapse would help in treatment planning. There are many foreign studies showed that G allele at A49G of gene *CTLA-4* associate with relapse.

Methods A retrospective case-control study compares patients with Graves' disease who was received antithyroid drug for at least 18 months and then relapse within 6 months to 3 years after drug withdrawal or still in remission. Direct sequencing at codon 49 of exon 1 of gene *CTLA-4* results would be one of genotype AA, AG or GG. Hypothesis is G allele at this site associate with relapse of disease.

Outcome There are 50 relapse cases with frequency of G allele 61%, and 62 remission cases with frequency of G allele 62%, $p=0.867$. Mean time to recurrence in genotype AA is 22.7 ± 9.2 months, which longer than genotype AG and GG (mean 15.9 ± 6.6 months) ($p=0.026$).

Conclusion There is no association between *CTLA-4* polymorphism and relapse of Graves' disease within 6 months to 3 years after drugs withdrawal.

Department : Medicine

Student's Signature : *Natdhakarn Mayurasakorn*

Field of Study : Medicine

Advisor's Signature : *Thiti Snaboon*

Academic Year : 2008

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย
ขอบคุณนางสาวณัฐธิดา ห่วงงาม สำหรับงานในห้องปฏิบัติการทั้งหมด
นางศุภิตศจี ปสาทรรัตน์ สำหรับการช่วยเจาะเลือดและเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย
เจ้าหน้าที่ห้องเวชระเบียน ในการค้นเวชระเบียนผู้ป่วยนอก
เจ้าหน้าที่คลินิกต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสมที่ ภาปร. ชั้น 3 สำหรับการช่วยติดต่อผู้ป่วย



ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
คำถามการวิจัย.....	4
สมมติฐาน.....	5
กรอบแนวคิดในการวิจัย.....	5
ข้อตกลงเบื้องต้น.....	6
ข้อจำกัดการวิจัย.....	6
คำสำคัญ.....	6
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	7
วิธีดำเนินการวิจัย.....	7
ปัญหาทางจริยธรรม.....	7
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	13
รูปแบบการวิจัย.....	13
ประชากร.....	13
ประชากรศึกษาและตัวอย่าง.....	13

	หน้า
หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง.....	13
การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	14
เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง.....	14
การสังเกตและการวัด.....	14
วิธีการศึกษา.....	16
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	16
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	17
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	19
ผลการวิเคราะห์.....	19
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	35
สรุปผลการวิจัย.....	35
อภิปรายผลการวิจัย.....	35
ข้อเสนอแนะ.....	39
รายการอ้างอิง.....	41
ภาคผนวก.....	48
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	57



 ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	อาการทางคลินิกของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	19
ตารางที่ 2	เปรียบเทียบ G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน <i>CTLA-4</i> สัมพันธ์กับการ กลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	20
ตารางที่ 3	<i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการ กลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	20
ตารางที่ 4	การวิเคราะห์แบบต่างๆของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการ กลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	21
ตารางที่ 5	แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	22
ตารางที่ 6	อาการแสดงทางคลินิก และระดับฮอร์โมนของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	23
ตารางที่ 7	เปรียบเทียบการรักษาของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	24
ตารางที่ 8	เปรียบเทียบขนาดต่อมไทรอยด์และผลฮอร์โมนไทรอยด์ของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์...	26
ตารางที่ 9	ปัจจัยทางคลินิกพยากรณ์โรคกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	27
ตารางที่ 10	เปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกของ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ.....	28
ตารางที่ 11	เปรียบเทียบการรักษาที่ได้รับใน <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ.....	30

	หน้า
ตารางที่ 12	ลักษณะเมื่อหยุดยาด้านไทรอยด์ใน <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ..... 31
ตารางที่ 13	เปรียบเทียบข้อมูลในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปี ใน <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ..... 32
ตารางที่ 14	แสดงระยะเวลากลับเป็นซ้ำของ Genotype AA ที่ตำแหน่ง 49 ของ exon ที่ของยีน <i>CTLA-4</i> เปรียบเทียบ genotype AG และ genotype GG..... 33
ตารางที่ 15	เปรียบเทียบ <i>CTLA-4</i> polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการ กลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 12 เดือน หลังหยุดยาด้านไทรอยด์..... 34
ตารางที่ 16	แสดงงานวิจัยเกี่ยวกับยีน <i>CTLA-4</i> กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาด้านไทรอยด์..... 35

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงการกระตุ้น T lymphocyte ด้วยเซลล์ Antigen presenting cell โดยแสดงโปรตีนบนผิวเซลล์.....	2
ภาพที่ 2 แสดงยีน CTLA-4.....	3
ภาพที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง single nucleotide polymorphisms แต่ละตำแหน่งต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Grave's disease.....	4
ภาพที่ 4 แสดงอัตราการหายของผู้ป่วย Graves' disease 135 คนหลังรักษาด้วยยา methimazole นาน 18 เดือน แล้วติดตามไป 6 ปี.....	8
ภาพที่ 5 Kaplan-Mayer's curve แสดงสัดส่วนของผู้ป่วย โรค Graves' disease ที่ยังคงหายจากโรคหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น.....	12
ภาพที่ 6 แสดงผล direct sequencing ที่ตำแหน่ง A49G ได้เป็น 3 แบบ.....	17
ภาพที่ 7 แสดงสัดส่วนของ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบกับกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์.....	21
ภาพที่ 8 แสดงระยะเวลากลับเป็นซ้ำใน CTLA-4 polymorphism ตำแหน่ง A49G: genotype AA เทียบกับ Genotype AG และ GG.....	34

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CTLA-4	Cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4
TRAb	Anti-Thyrotropin stimulating hormone receptor antibody
A49G	Codon 49 of exon 1 of CTLA-4
PCR	Polymerase chain reaction



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

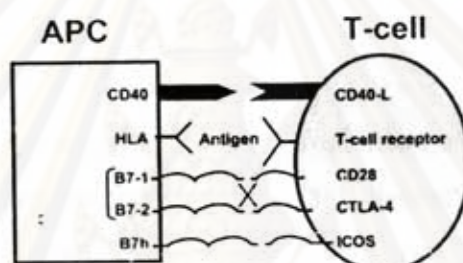
โรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease เกิดเนื่องจากภาวะที่ร่างกายมีระบบภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเนื้อเยื่อของตนเอง (autoimmunity) สาเหตุเชื่อกันว่ามีทั้งจากปัจจัยทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากพบความเสี่ยงของการเกิดโรคในผู้หญิงที่มีญาติเป็นโรคประมาณ 10-15 เท่าของคนปกติ(1) และพบความเสี่ยงสูงขึ้นในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1(2) ซึ่งบ่งว่าปัจจัยทางพันธุกรรมมีผลต่อการเกิดโรค แต่พบความเสี่ยงในฝาแฝดไข่ใบเดียวกัน (concordance rate) ประมาณร้อยละ 22(3) แสดงว่าจำเป็นต้องมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการมากระตุ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยง(4)

การรักษาโรค Graves' disease มี 3 วิธี ได้แก่ การกินยาด้านไทรอยด์ การผ่าตัด และการกลืนแร่รังสี โดยทั้ง 3 วิธีพบว่าไม่มีความแตกต่างต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย(5-8) โดยทั่วไปนิยมเริ่มด้วยยาด้านไทรอยด์แบบ titration regimen เป็นทางเลือกแรก ซึ่งพบว่าหลังหยุดยาด้านไทรอยด์ผู้ป่วยจะมีโอกาสกลับเป็นซ้ำร้อยละ 50 (ร้อยละ 30-70)(5, 9, 10) ปัจจัยทางคลินิกซึ่งพยากรณ์การตอบสนองต่อยาไม่ดีหรือโอกาสกลับเป็นซ้ำ ได้แก่ เพศชาย อายุน้อย(10) ขนาดต่อมไทรอยด์ใหญ่(11, 12) ช่วงหลังคลอด 6 เดือนแรก(13) สูบบุหรี่(12, 14-16) อาการทางตา(10, 17) ประวัติการกลับเป็นซ้ำมาก่อน ประวัติโรคภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเองของผู้ป่วยและครอบครัว(9) การตรวจทางห้องปฏิบัติการพบค่าระดับฮอร์โมนไทรอยด์สูงมาก สัดส่วนของ triiodothyronine ต่อ thyroxine สูง (T3/T4 ratio) ปริมาณเลือดเลี้ยงต่อมไทรอยด์มาก (hypervascularisation) และปัจจัยเมื่อหยุดยาด้านไทรอยด์ซึ่งพยากรณ์โอกาสกลับเป็นซ้ำ ได้แก่ ระดับฮอร์โมนไทโรโธปีน 4 สัปดาห์หลังหยุดยา(18) ระดับแอนติบอดีต่อตัวรับฮอร์โมนไทโรโธปีน (TSH-receptor antibody-TRAb) เมื่อหยุดยา(8, 19-21)

เมื่อพิจารณาจากปัจจัยทางคลินิก กลุ่มที่มีโอกาสกลับเป็นซ้ำสูง ควรได้รับการรักษาด้วยการทำลายต่อมไทรอยด์ (ablative treatment) คือ การผ่าตัดต่อมไทรอยด์ หรือ กลืนน้ำแร่รังสี(22) แต่กลุ่มที่ไม่มีข้อบ่งชี้ข้างต้นได้รับการรักษาด้วยยาด้านไทรอยด์ก็ยังมีโอกาสกลับเป็นซ้ำสูง งานวิจัยหาปัจจัยอื่นๆ เช่น ปัจจัยทางพันธุกรรมที่สามารถพยากรณ์โรคได้น่าจะมีประโยชน์ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ปัจจัยพันธุกรรมที่มีงานวิจัยเกี่ยวกับการกลับเป็นซ้ำ ได้แก่ ยีนซีทีแอลเอฟ (CTLA-4) บนโครโมโซมคู่ที่ 2q33(23) โดย polymorphism ของยีน CTLA-4 สัมพันธ์กับการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ (T4) ก่อนรักษา และยังพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำ

หลังหยุดยาด้านไทรอยด์ได้อีกด้วย(24-27)

CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4) เป็นโปรตีนบนผิว T lymphocyte ทำหน้าที่เป็นสัญญาณเสริม (co-stimulatory signal) ในการจับของ T lymphocyte กับเซลล์นำเสนอแอนติเจน (antigen presenting cell, APC) โดยตัวรับบนผิว T lymphocyte (T cell receptor) จับกับ โปรตีน HLA class II บนผิวเซลล์ APC แล้วมีสัญญาณเสริม เช่น ถ้าโปรตีน B7(CD80/86) บนผิวเซลล์ APC จับกับโปรตีน CD 28 บนผิว T lymphocyte จะกระตุ้น T lymphocyte นั้นให้หลั่ง cytokines หรือแบ่งตัวต่อไป(stimulating signal) แต่ถ้าโปรตีน B7 จับกับโปรตีน CTLA-4 บนผิว T lymphocyte จะยับยั้งสัญญาณกระตุ้น T lymphocyte นั้น(inhibitory signal) ดังภาพที่ 1 โดยโปรตีน CTLA-4 จับกับ โปรตีน B7 ได้ดีกว่าโปรตีน CD 28 ถึง 10 เท่า(28)



ภาพที่ 1 แสดงการกระตุ้น T lymphocyte ด้วยเซลล์ Antigen presenting cell โดยแสดงโปรตีนบนผิวเซลล์(29)

โปรตีน CTLA-4 ยับยั้งการกระตุ้น T lymphocyte ได้ด้วยหลายกลไก กลไกที่หนึ่งแย่ง CD28 ในการจับกับ B7(CD80/86) ในภาวะที่ไม่ถูกกระตุ้นโปรตีน CTLA-4 จะถูกเก็บในรูป vesicle ในไซโตพลาสซึม และเมื่อถูกกระตุ้นจะมาที่ผิวเซลล์ (30) กลไกที่สองผ่านการส่งสัญญาณภายในเซลล์(T cell receptor associated protein kinase) ทำให้เซลล์ตาย(apoptosis) หรือลดการผลิต cytokine ซึ่งถ้า T lymphocyte นั้นเป็นเซลล์ที่ตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเอง (self antigen) ควรถูกยับยั้งและทำลายไป แต่ถ้าโปรตีน CTLA-4 ทำงานลดลงทำให้ T lymphocyte ต่อเนื้อเยื่อตนเองนั้นแบ่งตัวต่อไปได้ ทำให้เกิดโรคแพ้ภูมิตัวเองขึ้น

โปรตีน CTLA-4 สร้างจากยีน *CTLA-4* บนโครโมโซมคู่ที่ 2q33(31)ประกอบด้วย 4 exon ดังภาพที่ 2 โปรตีน CTLA-4 มีสองแบบคือ แบบที่หนึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 149 ตัว ขนาด 45 kDa หรือเรียกว่า full-length CTLA-4(fCTLA-4) และแบบที่สองซึ่งตัด exon ที่สามซึ่งเป็นส่วน transmembrane region ออก เหลือกรดอะมิโน 122 ตัว 23 kDa และละลายในพลาสมา ไม่อยู่บนผิวเซลล์เรียกว่า soluble CTLA-4 (sCTLA-4) ซึ่งยังสามารถจับโปรตีน B7 บนผิวเซลล์ APC ได้

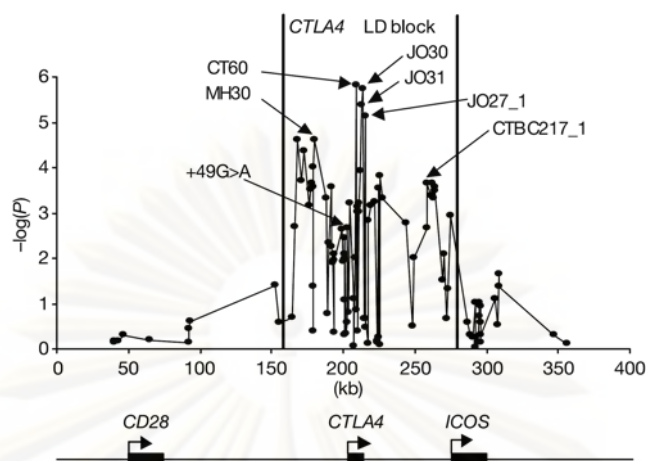
พบว่าในคนที่ เป็นโรค autoimmune disease มีระดับ circulating sCTLA-4 เพิ่มขึ้น จึงมีสมมุติฐานว่า sCTLA-4 แย่งจับ B7 กับ fCTLA-4 บนผิวเซลล์ แต่จับแล้วไม่ส่งสัญญาณ inhibitory ต่อไป ทำให้ T lymphocyte ต่อเนื้อเยื่อตนเองไม่ถูกยับยั้ง(32, 33)



ภาพที่ 2 แสดงยีน CTLA-4 โดยเส้นแสดงส่วน intron และแรเงาที่บแสดง exon ซึ่งมี 4 exons โดย single nucleotide polymorphism ที่ตำแหน่ง rs231775 หรือ ตำแหน่ง 49 ของ exon ที่ 1 และตำแหน่ง rs3087243 หรือ ตำแหน่ง CT60 ที่ 3' untranslated region ของ exon ที่ 4(27)

การศึกษาพบว่า CTLA-4 polymorphism สัมพันธ์กับโรค autoimmune หลายชนิด เช่น โรค Addison's disease, โรคเบาหวานชนิดที่ 1(34, 35), Behcet's disease(36) โรค Vogt-Koyanagi-Harada syndrome(37) โรค B cell chronic lymphocytic leukemia(38) หรือ โรคมะเร็ง เช่น มะเร็งเต้านม(39)

ส่วนความสัมพันธ์กับโรคไทรอยด์นั้นพบทั้งในโรค Grave's disease และโรค Hashimoto thyroiditis มีการศึกษาโครโมโซม 2q33 ในตำแหน่ง CD28-CTLA4-ICOS(inducible co-stimulator) พบ single nucleotide polymorphisms(SNPs) ทั้งหมด 108 ตำแหน่ง และในส่วนปลาย 3' มีนิวคลีโอไทด์ 2 ตัว คือ A(adenine)-T(thymine) เรียงตัวกันซ้ำๆ ในขนาดแตกต่างกัน (40) เมื่อนำมาศึกษาความสัมพันธ์ในผู้ป่วย Graves' disease เทียบกับคนปกติ พบความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมามากที่สุดที่ตำแหน่ง CT 60 polymorphism ดังภาพที่ 3 โดยมีค่าความสัมพันธ์ (Odd ratio) 1.51 เท่า(ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95: 1.31-1.75) โดยมี 2 allele คือ A(adenine) และ G(guanine) ได้เป็น 3 genotype คือ AA, AG และ GG เมื่อเทียบกับ genotype AA แล้ว genotype AG และ GG มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค 1.59 เท่า (1.19-2.13) และ 2.32 เท่า (1.71-3.15) ตามลำดับ ส่วน SNPs ตำแหน่งอื่นที่สัมพันธ์กับ โรค Graves' disease ได้แก่ A49G, JO30, JO31 และ JO27_1 สัมพันธ์กับโรคเนื่องจากสัมพันธ์กับตำแหน่ง CT 60 polymorphism (มี linkage disequilibrium กัน)(40)



ภาพที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง single nucleotide polymorphisms แต่ละตำแหน่งต่อการเกิดโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Grave's disease (LD block ย่อมาจาก linkage disequilibrium block หมายถึงสัมพันธ์กับการเป็นโรค)(40)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์
2. เพื่อศึกษาหาปัจจัยทางคลินิกที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ เช่น อายุ เพศ ขนาดต่อมไทรอยด์ ประวัติโรคภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเองของผู้ป่วยและครอบครัว ระดับฮอร์โมนในเลือด ชนิด ขนาด ระยะเวลาของยาต้านไทรอยด์

คำถามการวิจัย

คำถามหลัก

ยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G มีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease ในประชากรไทยหรือไม่

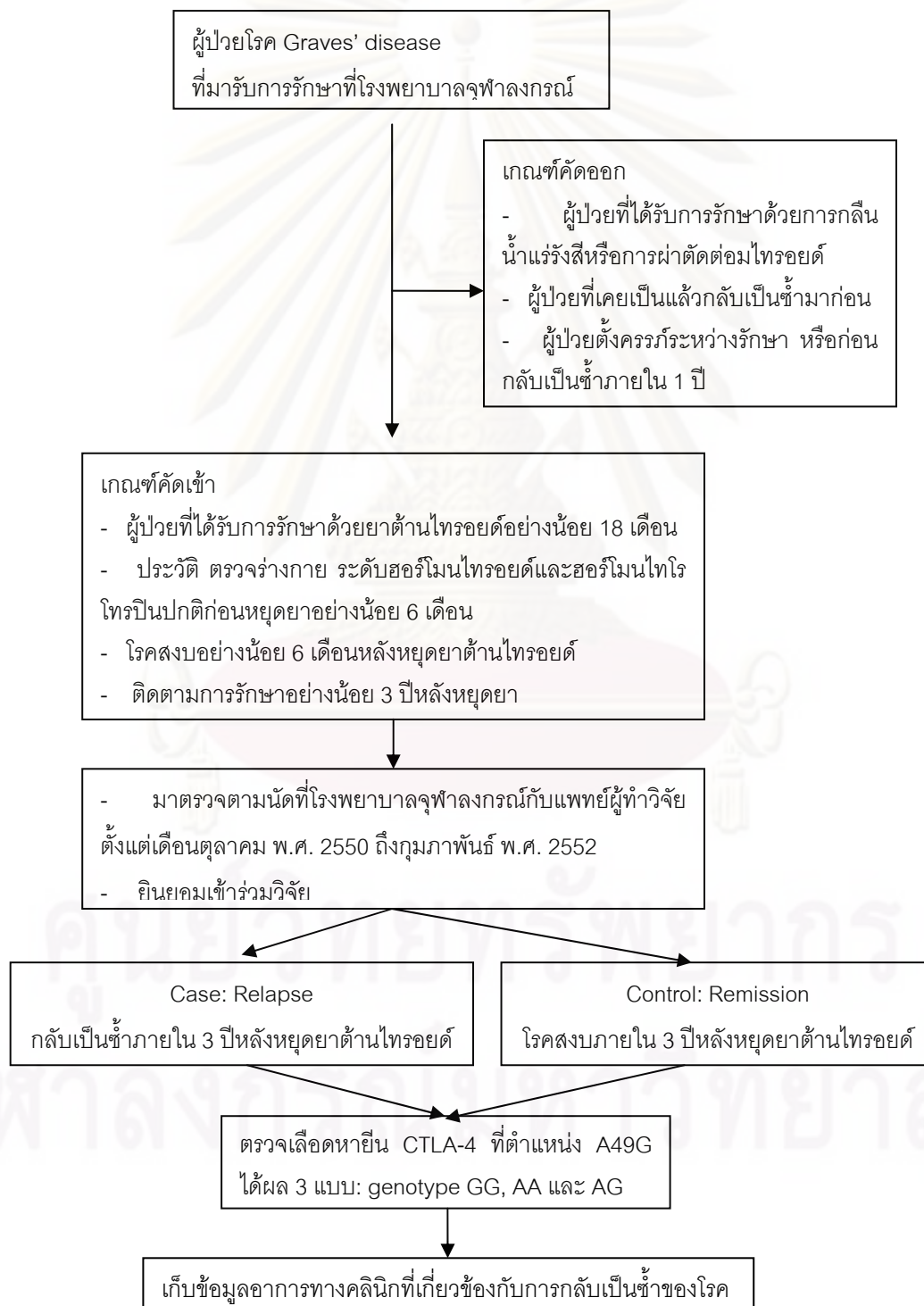
คำถามรอง

1. ปัจจัยทางคลินิก เช่น อายุ เพศ ขนาดต่อมไทรอยด์ ประวัติโรคภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเองของผู้ป่วยและครอบครัว ระดับฮอร์โมนในเลือด ชนิด ขนาด ระยะเวลาของยาต้านไทรอยด์ สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำหลังหยุดยาต้านไทรอยด์หรือไม่
2. ยีน *CTLA-4* สัมพันธ์ต่ออาการและอาการแสดงของผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease ในประชากรไทยหรือไม่

สมมติฐาน

G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ 3 ปี

กรอบแนวความคิดในการวิจัย



ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

ข้อจำกัดของการวิจัย

1. ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์วิจัยเป็นส่วนน้อยของผู้ป่วยในคลินิกเบาหวานและต่อมไร้ท่อ ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เนื่องจากเป็นโรงพยาบาลมหาวิทยาลัย ซึ่งรับผู้ป่วยส่งตัวเพื่อมากลืนน้ำแร่ รังสี ผู้ป่วยส่วนใหญ่จึงมีลักษณะอาการทางคลินิกที่ควรได้รับการรักษาด้วยการกลืนแร่ เช่น รักษาด้วยยาต้านไทรอยด์แล้วกลับเป็นซ้ำ ต่อมาไทรอยด์ขนาดใหญ่ มีอาการทางตารุนแรง ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเป็นทางเลือกแรกจึงมีจำนวนไม่มาก
2. งานวิจัยทำในสถาบันที่นิยมให้กลืนแร่รังสีรักษา ทำให้กลุ่มผู้ป่วยที่ได้อาจมีความเสี่ยงกลับเป็นซ้ำต่ำกว่าผู้ป่วยทั่วไป
3. ข้อมูลไม่ครบถ้วน ยังมีปัจจัยที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำที่ไม่ได้ตรวจเนื่องจากเป็นงานวิจัยย้อนหลัง เช่น ระดับฮอร์โมนไทโรโทรปินหลังหยุดยา 1 เดือน และที่ตรวจไม่ได้ เช่น TRAb

คำสำคัญ

CTLA-4 polymorphism

Graves' disease

Relapse

Antithyroid drug

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1) ผู้ป่วยโรค Graves' disease วินิจฉัยโดย คือ มีภาวะไทรอยด์เป็นพิษอย่างน้อย 3 เดือน จากอาการ การตรวจร่างกาย และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการพบฮอร์โมนไทรอยด์สูง ร่วมกับฮอร์โมนไทโรโทรปินต่ำ และปัจจัยบ่งถึงโรค (ถ้ามี) เช่น พบต่อมไทรอยด์โตแบบทั่วๆ เสียงฟู่ที่ต่อมไทรอยด์ (bruit) อาการแสดงทางตา (Graves' ophthalmopathy) ลักษณะผิวหนังนูนผิดปกติ ได้แก่ pretibial myxedema หรือ thyroid uptake สูง (24, 26)

1.1) Graves' ophthalmopathy ได้แก่ อาการ class 3 ของเกณฑ์ NOSPECS หรือมากกว่า ได้แก่ ตาโปน กล้ามเนื้ออกคอกตาผิดปกติ กระຈกตามีแผล หรือเส้นประมาตาผิดปกติ (41, 42)

2) การหายจากโรค Graves' disease คือ หลังได้รับยาต้านไทรอยด์อย่างน้อย 18 เดือน

แล้วประวัติ ตรวจร่างกาย ระดับฮอร์โมนไทรอยด์และฮอร์โมนโทรโทรปินปกติก่อนหยุดยาอย่างน้อย 6 เดือน(16) และโรคสงบหลังหยุดยาแล้วอย่างน้อย 6 เดือน

3) การกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease คือ ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์จนหายแล้ว มีภาวะไทรอยด์เป็นพิษจากอาการ ตรวจร่างกาย และระดับฮอร์โมนไทรอยด์สูง ร่วมกับฮอร์โมนโทรโทรปินต่ำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำในผู้ป่วยโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ โดยสามารถพยากรณ์ได้ ตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา

วิธีดำเนินการวิจัย

อาสาสมัครที่เข้าเกณฑ์การวิจัย ที่มาตรวจตามนัดที่คลินิกเบาหวานและต่อมไร้ท่อของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ได้รับฟังข้อมูลการวิจัย ให้ความยินยอมเข้าร่วมวิจัย สอบถามประวัติเพิ่มเติม และเจาะเลือดเพื่อสกัด DNA จากเม็ดเลือดขาวเพื่อหาความแปรผันของยีน CTLA-4

ปัญหาทางจริยธรรม

ไม่มี เนื่องจากงานวิจัยนี้ใช้ข้อมูลจากเวชระเบียนผู้ป่วยนอก และการซักประวัติเพิ่มเติม โดยข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการเปิดเผยชื่อ หรือเลขประจำตัวโรงพยาบาล และใช้ข้อมูลเพื่องานวิจัยนี้เท่านั้นไม่เปิดเผยเพื่อประโยชน์อื่น ส่วนความเสี่ยงจากการเจาะเลือดนั้นต่ำ โดยงานวิจัยจะทำเฉพาะอาสาสมัครที่เข้าใจและยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น และการวิจัยนี้ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

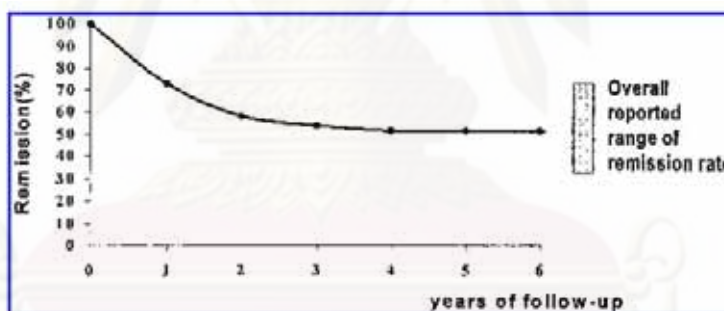
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การรักษาโรค Graves' disease ในประเทศไทยนิยมเริ่มด้วยยาต้านไทรอยด์แบบ titration regimen ระยะเวลาที่ให้อามีผลต่อการกลับเป็นซ้ำ คือ พบว่าการให้ยานาน 18 เดือน มีโอกาสกลับเป็นซ้ำน้อยกว่าการให้ยานาน 6 เดือน (RR 0.63, ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95: 0.41-0.99)(43) และการให้ยานานกว่า 18 เดือนไม่ได้ลดการกลับเป็นซ้ำ (RR 0.88, ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95: 0.67-1.16)(44, 45, 46)] จึงแนะนำให้ยานาน 12-18 เดือน

หลังหยุดยาต้านไทรอยด์พบการกลับเป็นซ้ำของโรคร้อยละ 50 (ร้อยละ 30-70)(5, 9, 10) โดยกลุ่มที่กลับเป็นภายใน 4 สัปดาห์แรก จัดเป็น Persistent disease พบได้ร้อยละ 12-20(16, 18) กลุ่มที่กลับเป็นซ้ำหลังจาก 4 สัปดาห์ เรียกว่า Relapse disease ซึ่งมักกลับเป็นซ้ำภายใน 4-6 เดือนแรก และ 1 ปีแรกประมาณ 1 ใน 3 และที่เหลือมักภายใน 3 ปีแรก(16, 47) เช่นในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงอัตราการหายของผู้ป่วย Graves' disease 135 คนหลังรักษาด้วยยา methimazole นาน 18 เดือน แล้วติดตามไป 6 ปี(9)

ปัจจัยก่อนรักษาที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำที่มีหลักฐานชัดเจน ได้แก่ ขนาดต่อมไทรอยด์ใหญ่ มีงานวิจัยตั้งแต่ พ.ศ. 2530(11) พ.ศ. 2533(43) พ.ศ. 2540(10) และ พ.ศ. 2545(12) โดยพบว่าขนาดต่อมไทรอยด์ปกติหรือไม่โตมากมีโอกาสโรคสงบที่ 5 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ร้อยละ 72-83 ส่วนกลุ่มคอพอกขนาดกลางหรือขนาดใหญ่มีโอกาสโรคสงบลดลงเหลือร้อยละ 37 และกลุ่มที่ต่อมไทรอยด์โตเป็นก้อนเนื้อหลายก้อน (multinodular goiter) มักกลับเป็นซ้ำในปีแรกหลังหยุดยา และมีโอกาสโรคสงบที่ 5 ปีเพียงร้อยละ 16(43) และอีกงานวิจัยหนึ่ง แบ่งขนาดต่อมไทรอยด์เป็นสี่สี่ พบว่าต่อมไทรอยด์ขนาดน้อยกว่า 40 ซีซี ขนาด 40-70 ซีซี และขนาดมากกว่า 70 ซีซี กลับเป็นซ้ำที่

ปัจจัยที่สอง คือ อายุน้อย โดยพบว่าผู้ป่วยอายุน้อยกว่า 20 ปีกลับเป็นซ้ำร้อยละ 76 ที่ 28 เดือนหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ มากกว่ากลุ่มอายุ 21-39 ปี ซึ่งกลับเป็นซ้ำร้อยละ 67 และกลุ่มอายุมากกว่า 40 ปี ซึ่งกลับเป็นซ้ำร้อยละ 47(10)

ปัจจัยที่สาม คือ ช่วงหลังคลอดบุตร โดยพบว่าร้อยละ 75 ของผู้หญิงที่โรคสงบหลังได้รับยาต้านไทรอยด์ หลังคลอดบุตร ในช่วง 6 เดือนถึง 1 ปี มีโอกาสที่โรคกลับเป็นซ้ำหรือเป็นไทรอยด์อักเสบได้(13)

แต่มีหลายปัจจัยทางคลินิกที่งานวิจัยมีผลคัดค้านกันในการพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำ เช่น เพศชาย(10) สูบบุหรี่(12, 14-16) อาการทางตา มีงานวิจัยว่ากลุ่มที่มีอาการทางตากลับเป็นซ้ำที่ 1 ปี ร้อยละ 72 มากกว่ากลุ่มที่ไม่มีอาการทางตาซึ่งกลับเป็นซ้ำร้อยละ 58(10, 17) แต่ไม่มีผลในบางงานวิจัย(49) ปัจจัยอื่น เช่น ประวัติโรคกลับเป็นซ้ำมาก่อน ประวัติโรคภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเองของผู้ป่วยและครอบครัว มีทั้งงานวิจัยที่สนับสนุน(9) และคัดค้าน(48) หรือผลตรวจทางห้องปฏิบัติการพบค่าระดับฮอร์โมนไทรอยด์สูงมาก สัดส่วนของ triiodothyronine ต่อ thyroxine สูง (T3/T4 ratio) ปริมาณเลือดเลี้ยงต่อมไทรอยด์มาก (hypervascularisation)(9)

ส่วนปัจจัยเมื่อหยุดยาต้านไทรอยด์ที่สามารถพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำได้ คือ ระดับฮอร์โมนไทโรโธปีนต่ำกว่าปกติที่ 4 สัปดาห์หลังหยุดยา โอกาสกลับเป็นซ้ำที่ 2 ปีหลังหยุดยาร้อยละ 67 ซึ่งมากกว่ากลุ่มที่ฮอร์โมนไทโรโธปีนปกติ กลับเป็นซ้ำร้อยละ 38(18)

ส่วนระดับแอนติบอดีต่อตัวรับฮอร์โมนไทโรโธปีน (TSH-receptor antibody-TRAb) ขึ้นกับความไวของวิธีที่ตรวจ ระยะเวลาของโรคที่ตรวจ การวัดผลเชิงคุณภาพ หรือเชิงปริมาณและค่า cut-off ที่ใช้ โดยพบว่าระดับของแอนติบอดีก่อนรักษาสัมพันธ์กับขนาดต่อมไทรอยด์แต่ไม่สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำ(9)

หลังจากได้รับยาต้านไทรอยด์ไประดับแอนติบอดีจะลดลงเรื่อยๆจนวัดไม่ได้ในร้อยละ 70-80 ของผู้ป่วยที่ได้ยาครบ 18 เดือน(50) โดยพบว่าค่าที่สูงมากกว่า 10 IU/L(second generation TRAb assay) หลังเริ่มยาต้านไทรอยด์ 6 เดือน พยากรณ์โอกาสกลับเป็นซ้ำหลังหยุดยา 2 ปีร้อยละ 97(51) ส่วนงานวิจัยที่ดูค่าแอนติบอดีเมื่อหยุดยาต้านไทรอยด์แล้ว 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อใช้ค่า cut-off 1.5 U/L บางงานวิจัยสามารถพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำที่ 18 เดือน(19, 20) และที่ 4 ปีหลังหยุดยาได้ (8, 21) แต่มีผลคัดค้านในบางงานวิจัยว่าไม่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำที่ 18 เดือน(47) ซึ่งงานวิจัยต่อมาพบว่าระดับแอนติบอดีมีผลต่อการพยากรณ์โรคโดยระดับที่ 4 สัปดาห์หลังหยุดยาถ้า

ส่วนปัจจัยทางคลินิกอื่นๆ ที่เคยศึกษาแล้วพบว่าไม่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำ ได้แก่ ขนาดยาต้านไทรอยด์ ศึกษาในผู้ป่วย 313 คน เปรียบเทียบยา carbimazole 10 มก. ต่อวัน กับ 30 มก. ต่อวัน พบโรคสงบที่ 4 ปีเท่าๆกัน(48) รวมถึงปัจจัยอื่นๆ เช่น ความรุนแรงของอาการแสดง Crook 'S index และระดับ iodine uptake ของต่อมไทรอยด์(49)

เนื่องจากพบอัตราการการกลับเป็นซ้ำสูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีประวัติโรคภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อเนื้อเยื่อตนเองหรือประวัติในครอบครัว(9) ซึ่งบ่งว่าปัจจัยทางพันธุกรรมน่าจะมีส่วนในการกลับเป็นซ้ำของโรค โดยยีนที่สนใจศึกษาคือ ยีน *CTLA-4*

งานวิจัย Meta-analysis(23) ในผู้ป่วยโรค Graves' disease 3,047 คน เทียบกับกลุ่มควบคุม 7,314 คน จาก 27 งานวิจัย พบความชุกของ G allele ที่ตำแหน่ง A49G (A49G) ของยีน *CTLA-4* ในกลุ่มควบคุมชาวเอเชียร้อยละ 62 และชาวผิวขาวร้อยละ 36.9 พบความเสี่ยงต่อการเกิดโรค (odd ratio) 1.4 เท่า ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 6 \times 10^{-14}$) โดยไม่ขึ้นกับเชื้อชาติ ส่วนการศึกษาที่ตำแหน่ง CT 60 polymorphism พบความชุกของ G allele ในกลุ่มควบคุมชาวเอเชียร้อยละ 76 และชาวผิวขาวร้อยละ 52.7 พบความเสี่ยงต่อการเกิดโรค (odd ratio) 1.45 เท่าซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 2 \times 10^{-9}$) และ haplotype แบบ GG ของสองตำแหน่ง A49G รวมกับ CT 60 ก็สัมพันธ์กับการเกิดโรคเช่นกันเนื่องจาก linkage disequilibrium กัน(31)

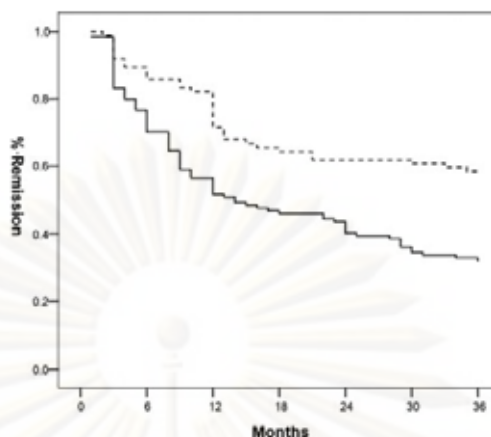
งานวิจัยต่อมาพบความสัมพันธ์ของ *CTLA-4* polymorphism กับอาการแสดงของโรค Graves' disease โดยพบว่าระดับฮอร์โมนไทรอยด์ (free thyroxine) สูง 62.5 pmol/L (ค่าปกติ 9-24 pmol/L) ในกลุ่มที่ genotype GG ที่ตำแหน่งที่ A49G เทียบกับ 54.0 pmol/L ในกลุ่ม genotype AG และ 50.9 pmol/L ของ genotype AA ตามลำดับ ($P=0.04$)(52)

ส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง *CTLA-4* polymorphism กับการกลับเป็นซ้ำมีหลายงานวิจัย

Kinjo และคณะ(24) ศึกษาในผู้ป่วยโรค Graves' disease 144 คน ในประเทศญี่ปุ่น ที่วินิจฉัยด้วย TRAb หลังรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์ชนิด methimazole หรือ propylthiouracil อย่างน้อย 2 ปี โดยระยะเวลาที่ให้อาหารแตกต่างกัน เนื่องจากนิยมให้อาหารจนตรวจไม่พบ TRAb อย่างน้อย 4-6 เดือน พบว่าผู้ป่วยที่มี G allele ของตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* มีระยะเวลาของการหายของแอนติบอดีซ้ำสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.0001$) และผู้ป่วยที่มี genotype GG ต้องให้ยาต้านไทรอยด์เฉลี่ย 5.8 ± 3.6 ปี นานกว่าผู้ป่วยที่มี genotype AA (3.3 ± 1.1 ปี) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.0414$) และผู้ป่วย genotype AG ต้องให้ยาต้านไทรอยด์เฉลี่ย 5 ± 2.1 ปี

Wang และคณะ(25) ศึกษาในประเทศไต้หวัน ผู้ป่วย Graves' disease เชื้อชาติจีน 148 คน ที่วินิจฉัยด้วย TSHR Ab และตรวจทางรังสีพบต่อมไทรอยด์รับไอโอดีนเพิ่มขึ้น ซึ่งได้รับการรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์ชนิด methimazole หรือ propylthiouracil อย่างน้อย 1 ปี การกลับเป็นซ้ำวินิจฉัยด้วยอาการ อาการแสดง ผลฮอร์โมนไทรอยด์สูง และฮอร์โมนโทรโทรปินต่ำ แล้วแบ่งผู้ป่วยเป็น 3 กลุ่มตามระยะเวลาที่กลับเป็นซ้ำ ได้แก่ ภายใน 9 เดือน, 9 เดือนถึง 3 ปี และมากกว่า 3 ปี หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ พบว่ากลุ่มที่กลับเป็นซ้ำเร็วภายใน 9 เดือน มี genotype แบบ GG ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* มากกว่ากลุ่มที่กลับเป็นซ้ำใน 9 เดือนถึง 3 ปี และมากกว่า 3 ปี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.04$) โดยมีแนวโน้มกลับเป็นซ้ำเร็วตามปริมาณ G allele ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบความเสี่ยงที่จะกลับเป็นซ้ำภายใน 3 ปี พบว่าผู้ป่วยที่มี genotype GG มีโอกาสกลับเป็นซ้ำเป็น 3.1 เท่าของผู้ป่วยที่มี genotype AA หรือ AG (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95: 1.2-7.9) และกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำหลัง 3 ปีมี genotype ของยีน *CTLA-4* ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม 177 คนที่ไม่ได้เป็นโรคไทรอยด์ ปัจจัยอื่นที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำ ได้แก่ ขนาดต่อมไทรอยด์เมื่อหยุดยาที่โตถึงขอบข้างของกล้ามเนื้อ sternocleidomastoid (มากกว่า 2.9 เท่าเทียบกับของกลุ่มที่ต่อมไทรอยด์โตถึงขอบหน้าของกล้ามเนื้อ และการพบ TRAb เมื่อหยุดยา (มากกว่า 3 เท่าของกลุ่มที่ตรวจไม่พบ TRAb) ซึ่งพบว่า genotype GG สัมพันธ์กับการที่แอนติบอดียังสูงอยู่เมื่อหยุดยาด้วย และพบว่า genotype ของยีน *CTLA-4* ไม่สัมพันธ์กับอาการแสดง เช่น อายุ เพศ ขนาดต่อมไทรอยด์ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ และระดับ TRAb เมื่อเริ่มรักษา หรือระยะเวลาที่ให้ยาต้านไทรอยด์

ต่อมากลุ่มศึกษาเดิมได้รายงานเพิ่ม(27) โดยตรวจในผู้ป่วยเดิมและเพิ่มผู้ป่วยโรค Graves' disease ใหม่ 60 คน รวม 208 คน พบว่านอกจาก G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำดังภาพที่ 5 แล้ว G allele ของตำแหน่ง CT 60 ก็สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.039$) โดยตำแหน่ง A49G และตำแหน่ง CT60 มี linkage disequilibrium กัน เมื่อศึกษา haplotype แต่ละแบบกับการกลับเป็นซ้ำเทียบกับการศึกษา SNPs แล้วให้ผลการศึกษาไม่ต่างกัน จึงแนะนำให้ศึกษาเฉพาะตำแหน่ง A49G ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติมากที่สุดได้



ภาพที่ 5 Kaplan-Mayer's curve แสดง สัดส่วนของผู้ป่วย โรค Graves' disease ที่ยังคงหายจากโรคหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (เส้นทึบคือผู้ป่วยที่มี genotype GG ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* เส้นประคือผู้ป่วย genotype AA หรือ AG) ($p < 0.0003$) (27)

งานวิจัยของ Sahin และคณะ(26)ทำในประเทศตุรกี ในผู้ป่วยโรค Graves' disease 77 คน ด้วยเกณฑ์วินิจฉัยโรคด้วย TRAb รักษาด้วยยาต้านไทรอยด์ชนิด propylthiouracil เฉลี่ย 25 สัปดาห์ พบว่า genotype GG ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำของโรคภายใน 1 ปี 14.75 เท่าเทียบกับ genotype AA (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95: 2.01-108.41 ($P < 0.05$)) และ genotype AG มีโอกาส 1.19 เท่า เทียบกับ genotype AA แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95: 0.33-4.30) ปัจจัยอื่นที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำ ได้แก่ ระดับฮอร์โมนไทโรโทรปินต่ำเมื่อหยุดยาต้านไทรอยด์ และพบว่ายีน *CTLA-4* ไม่สัมพันธ์กับอายุ เพศ ขนาดต่อมไทรอยด์ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ และ ระดับ TSHr Ab ก่อนการรักษา และระยะเวลาที่รักษา

Tanrikulu(48) และคณะศึกษาในตุรกีผู้ป่วยโรค Graves' disease ที่วินิจฉัยด้วยอาการทางตาหรือแอนติบอดีต่อเอนไซม์ peroxidase และ thyroglobulin 97 คน ซึ่งรวมผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัด 37 คน เนื่องจากมีอาการทางตารุนแรง 18 คน ต่อมไทรอยด์โตมาก 8 คน และกลับเป็นซ้ำ 5 คน และ 15 คนที่รักษาด้วยการกลืนแร่รังสี พบว่าร้อยละ 36 กลับเป็นซ้ำหลังหยุดรักษา 1 ปี โดยร้อยละ 34 ของกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำเกิดหลังผ่าตัดหรือกลืนน้ำรังสี โดยพบว่า genotype GG ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* มีโอกาสกลับเป็นซ้ำมากกว่า genotype AA ถึง 7 เท่า ($p=0.0076$) และ genotype AG มีโอกาสมากกว่า genotype AA 8 เท่า ($p=0.0001$) และยีน *CTLA-4* ไม่สัมพันธ์กับอายุ ขนาดต่อมไทรอยด์ อาการ Graves' ophthalmopathy ชนิดของยาต้านไทรอยด์ ระยะเวลาที่ได้รับการรักษา ระยะเวลาของอาการก่อนรักษา ระดับฮอร์โมนไทรอยด์และ

อย่างไรก็ดีมีงานวิจัยคัดค้านของ Kim(53) ในคนเชื้อชาติเกาหลี 158 คนเป็นโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease วินิจฉัยด้วย TSH-binding inhibitory immunoglobulin(TBII) ให้ยาต้านไทรอยด์จนขนาดควบคุมและ TBII ปกติ (น้อยกว่าร้อยละ 15) จึงหยุดยาแต่ไม่ได้ระยะเวลาชัดเจน ตั้งเกณฑ์การรักษาล้มเหลวว่ากลับเป็นซ้ำภายใน 1 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ หรือยังพบ TBII หลังได้ยานาน 24 เดือน ผลการศึกษาพบว่าการรักษาล้มเหลวร้อยละ 62 โดยยีน CTLA-4 ทั้งที่ตำแหน่ง A49G (ตรวจใน 69 คน) ตำแหน่ง promoter และตำแหน่ง CT60 ไม่สามารถพยากรณ์การกลับเป็นซ้ำได้เหมือนอาการทางคลินิกหลายอย่าง เช่น เพศชาย ขนาดต่อมไทรอยด์ใหญ่ ระดับ TBII สูงมากกว่าร้อยละ 40 เมื่อก่อนรักษา แต่งานวิจัยนี้จำนวนน้อยที่สุดและมีสัดส่วนผู้ป่วย genotype GG, AG และ AA เพียง 40 ,25 และ 4 คนตามลำดับ จึงทำให้ผลคลาดเคลื่อนจากความจริงได้

ดังนั้นจะเห็นว่าข้อมูลเกี่ยวกับยีน CTLA-4 polymorphism น่าจะมีบทบาทสำคัญในการดูแลและรักษาผู้ป่วย Graves' disease และยังไม่เคยมีงานวิจัยดังกล่าวในคนไทย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

Case-control association study

ประชากร

ผู้ป่วยโรค Graves' disease ที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ คลินิกเบาหวาน ไทรอยด์ และต่อมไร้ท่อที่ตึก ภปร ชั้น 3 และได้รับการรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์ อย่างน้อย 18 เดือน และโรคสงบก่อนหยุดยา 6 เดือน จึงหยุดยาต้านไทรอยด์

ประชากรศึกษาและตัวอย่าง

แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

- 1.) กลุ่มผู้ป่วย (Case) คือผู้ป่วยโรค Graves' disease ที่กลับเป็นซ้ำหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปี[(27),23]
- 2.) กลุ่มควบคุม (Control) คือผู้ป่วยโรค Graves' disease ที่ไม่กลับเป็นซ้ำหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ อย่างน้อย 3 ปี

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง

เกณฑ์คัดเข้า Inclusion criteria

- 1.) กลุ่มผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ป่วยโรค Graves' disease ที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์อย่างน้อย 18 เดือนแล้วประวัติ ตรวจร่างกาย ระดับฮอร์โมนไทรอยด์และฮอร์โมนไทโรทรอปินปกติก่อนหยุดยา อย่างน้อย 6 เดือน(16) และหลังจากผู้ป่วยหายจากโรคแล้วอย่างน้อย 6 เดือน มีไทรอยด์เป็นพิษ จากอาการ ตรวจร่างกาย ระดับฮอร์โมนไทรอยด์สูง ร่วมกับฮอร์โมนไทโรทรอปินต่ำภายใน 3 ปีหลังหยุดยา ซึ่งผู้ป่วยได้เซ็นชื่อยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย
2. กลุ่มควบคุม ได้แก่ ผู้ป่วยโรค Graves' disease ที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์จนหายแล้ว ไม่กลับเป็นซ้ำหลังหยุดยาต้านไทรอยด์อย่างน้อย 3 ปี

เกณฑ์คัดออก Exclusion criteria ได้แก่

1. ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย radioactive iodine หรือการผ่าตัด
2. ผู้ป่วยที่เคยเป็นแล้วกลับเป็นซ้ำมาก่อน

3. ผู้ป่วยตั้งครรรระหว่างรักษา หรือก่อนกลับเป็นซ้ำภายใน 1 ปี

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

ค่าความเสี่ยง (odd ratio) จากงานวิจัยแรกโดย Wang(25) ในชาวเอเชียใช้เกณฑ์การกลับเป็นซ้ำที่ 3 ปี odd ratio เท่ากับ 3.1 จึงนำมาคำนวณหาขนาดตัวอย่างต่อไป ตามสูตรดังนี้

$$\text{กำหนด } \alpha = 0.05$$

$$\beta = 0.20$$

$$Z_{\alpha/2} = Z_{0.05} = 1.960 \text{ (two tail)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{0.20} = 0.84$$

$$n/\text{group} = (Z_{\alpha} \sqrt{2PQ} + Z_{\beta} \sqrt{(P_1Q_1 + P_0Q_0)})^2 / (P_1 - P_0)^2$$

P_0 = โอกาสที่กลุ่มควบคุมจะมีปัจจัยเสี่ยง (ผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษ Grave's disease ที่ไม่กลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยามี genotype GG ที่ ตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4) = 0.39

$$R = \text{odd ratio} = 3.1$$

$$P_1 = P_0R / (1 + P_0(R-1)) = 0.66$$

$$P = (P_1 + P_0) / 2 = 0.53$$

$$Q = 1 - P = 0.47$$

หลังจากแทนค่าในสูตร จะได้ $n = 51$ คนในแต่ละกลุ่ม

เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างโดย consecutive case ซึ่งคัดเลือกผู้ป่วยโรค Graves' disease ทุกรายที่เข้าเกณฑ์คัดเข้าการศึกษาวิจัยนี้จนครบตามจำนวนที่คำนวณไว้

การสังเกตและการวัด

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (Record form) ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ ชื่อ อายุ เลขที่ผู้ป่วยนอก เชื้อชาติ ประวัติการสูบบุหรี่ ประวัติโรคประจำตัว ประวัติครอบครัวกลุ่มโรค autoimmune disease ได้แก่ โรค Graves' disease โรคไทรอยด์อักเสบ Hashimoto โรคเบาหวานชนิดที่ 1 โรคหนังแข็ง โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคเอสแอลอี โรคกล้ามเนื้ออ่อนแอชนิด myasthenia gravis โรคหอบหืด และโรคภูมิแพ้อากาศ โดยประวัติครอบครัวและเชื้อชาติให้จากการซักประวัติผู้ป่วย

2. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโรค Graves' disease ได้แก่ ขนาดของต่อมไทรอยด์วัดโดยการคลำแล้วแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่ม 1 คือต่อมไทรอยด์โตไม่ถึงขอบหน้าของกล้ามเนื้อ

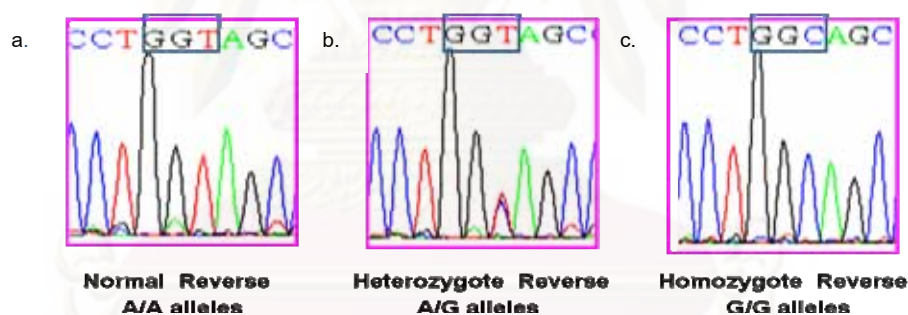
1. ข้อมูลเฉพาะเกี่ยวข้องกับผลทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ ฮอร์โมนไทรโอโทรปิน และผล thyroid uptake
2. ข้อมูลการตรวจทางพันธุกรรม ชนิดของ *CTLA-4* gene polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4*

วิธีการศึกษา

1. อธิบายให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าใจเกี่ยวกับการร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย
2. ชักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ และ ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์การคัดออก ตรวจร่างกาย และรวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล
3. ให้ผู้เข้าร่วมวิจัย ลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent) การเจาะเลือด ใช้หลอด EDTA 3 ซีซี 1 หลอด นำมาปั่นแยกเม็ดเลือดขาว เก็บที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอตรวจ *CTLA-4* gene polymorphism ตำแหน่ง A49G
4. ทำการตรวจ *CTLA-4* gene polymorphism ตำแหน่ง A49G โดย
 - 4.1 สกัด DNA โดยวิธีมาตรฐาน Phenol-chloroform และวัดปริมาณ DNA ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร
 - 4.2 เพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ primers 1 คู่ คือ *CTLA-4* E1F 5' TCC-TGA-AGA-CCT-GAA-CAC-CGC-TCC-C 3' และ *CTLA-4* E1R 5' GCT-GCC-GCC-CAA-CTG-CTC-CCT 3' โดยปริมาณ DNA ที่ใช้ 50-100 นาโนกรัม จะถูกเตรียมในสารละลาย 20 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 10X Taq Buffer with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgCl_2 1.5 mM, dNTPs 200 μM , Taq DNA polymerase 2 units, Primer *CTLA4* E1F 0.2 μM , Primer *CTLA4* E1R 0.2 μM โดยกำหนดให้ปฏิกิริยาของ PCR คือ ในขั้นแรกเป็น denaturing เป็นการแยกสาย DNA ที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ ให้เป็นเส้นเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิสูง 95°C นาน 5 นาที annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงเพื่อให้ Primer ทั้ง 2 สาย ซึ่งเป็น DNA สายสั้น

4.3 ตรวจสอบผลผลิตจากการทำ PCR ด้วยวิธี Gel Electrophoresis โดยใช้ 1% agarose gel ซึ่งขนาดของผลผลิต PCR ประมาณได้โดยการเปรียบเทียบกับ DNA ที่ทราบขนาดอยู่แล้ว (DNA Marker)

4.4 ทำการ purified PCR product ด้วย ExoSAP-IT (USB Corporation, USA) เพื่อส่งไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยวิธี direct sequencing ด้วยเครื่อง automated sequence analysis ที่บริษัท Macrogen Inc., (MACROGEN INC ; Gason-dong, Seoul, South Korea) เพื่อหา CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G ซึ่งมี genotype ได้ 3 แบบ คือ AA, AG และ GG ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แสดงผล direct sequencing ที่ตำแหน่ง A49G ของ exon ที่ 1 ของยีน CTLA-4 สาย reverse ได้เป็น 3 แบบ รูป a คือ genotype AA, รูป b คือ genotype AG และรูป c คือ genotype GG

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้างานวิจัยทุกรายจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์ม ในภาคผนวก และจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

- 1) การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ เพศ ประวัติสูบบุหรี่ ประวัติโรคประจำตัว ประวัติ

2) การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ อายุ ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ ฮอร์โมนไทโรทรอปิน วัดทางรังสีการรับไอโอดีนของต่อมไทรอยด์ เมื่อก่อนรักษา เมื่อหยุดยาด้านไทรอยด์ และเมื่อกลับเป็นซ้ำ รวมปริมาณและระยะเวลาของยาด้านไทรอยด์ที่ได้รับ ระยะเวลากลับเป็นซ้ำ โดยข้อมูลที่มีการกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่โรคสงบที่ 3 ปีหรือกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาโดย unpaired t-test ส่วนข้อมูลที่ไม่มีการกระจายแบบ normal distribution นำเสนอเป็นค่ามัธยฐาน และค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่โรคสงบที่ 3 ปีหรือกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาโดย Mann-Whitney U test

3) การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณแบบลำดับขั้น (ordinal data) ได้แก่ ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune disease ในครอบครัว โดยแบ่งเป็นรายโรค รวมทุกโรค หรือมีสมาชิกในครอบครัวเป็นมากกว่า 2 คน หรือเฉพาะกลุ่มญาติสายตรง (first-degree relative) ขนาดต่อมไทรอยด์ ปริมาณยาที่ได้รับทั้งหมดแบ่ง 3 quintiles เป็น methimazole น้อยกว่า < 2,940 มก. 2,940 - 3,710 มก. หรือมากกว่า 3,710 มก. ระยะเวลารักษาแบ่งเป็นกลุ่ม 18-24 เดือน 24-30 เดือน มากกว่า 36 เดือน c และขนาดยาที่ได้รับเมื่อเริ่มรักษา เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่โรคสงบที่ 3 ปีหรือกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาด้วย Wilcoxon Rank Sum Test

แล้วปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ระหว่าง 2 กลุ่มจะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วย multiple logistic regression

3) การหาความสัมพันธ์ระหว่าง *CTLA-4* polymorphism ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease วิเคราะห์โดย Chi-Square test เทียบ G allele และ A allele และเปรียบเทียบ genotype AA, AG และ AG

4) เปรียบเทียบ genotype AA AG และ AG ของยีน *CTLA-4* ที่ตำแหน่ง A49G กับข้อมูลเชิงคุณภาพด้วย Chi-Square test ข้อมูลลำดับขั้นด้วย Wilcoxon Rank Sum Test ข้อมูลเชิงคุณภาพที่กระจายแบบ normal distribution วิเคราะห์ด้วย One-way Anova ข้อมูลเชิงคุณภาพที่ไม่กระจายแบบ normal distribution วิเคราะห์ด้วย Kruskal-wallis test

ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 16

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์

ผู้ป่วยโรคไทรอยด์เป็นพิษชนิด Graves' disease ทั้งสิ้น 112 คน เป็นกลุ่มกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ 50 คน คิดเป็นร้อยละ 98 ของประชากรที่ตั้งไว้ และโรคสงบที่ 3 ปี 62 คน โดยร้อยละ 11 ของกลุ่มที่โรคสงบภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกกลับเป็นซ้ำที่ค่ามัธยฐาน 53(38-86) เดือนหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

ตารางที่ 1 อาการทางคลินิกของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	รวม	p
จำนวน(คน)	62	50	112	
อายุ(ปี)(mean(SD)*	33(11)	29(9)	31(10)	
median(min-max)	30(15-63)	29(17-58)	30(15-63)	0.047
อายุ > 40 ปี (%)	27	12	21	0.046
เพศหญิง/เพศชาย (%)	95/5	92/8	94/6	0.698
สูบบุหรี่(%)	10	2	7	0.169
- เลิกแล้ว(%)	7	0	4	
- สูบอยู่(%)	3	2	3	
โรคประจำตัว(%)**				0.123
- Rheumatoid arthritis	2	0	1	
- Myasthenia gravis	0	5	2	
- Asthma	4	12	7	
- Allergic rhinitis	17	6	13	

หมายเหตุ * ข้อมูลเชิงปริมาณแสดงทั้งค่าเฉลี่ยและค่ามัธยฐาน ข้อมูลที่กระจายแบบ normal distribution ใส่ค่า p-value ไว้หลังค่าเฉลี่ย ข้อมูลที่ไม่กระจายแบบ normal distribution ใส่ค่าหลังค่ามัธยฐาน

**N= 96(86%)

ผลการเปรียบเทียบ ยีน *CTLA-4* ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบ G allele ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* สัมพันธ์กับการ กลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

<i>CTLA-4</i>	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	<i>p</i>
A allele	47(38%)	39(39%)	
G allele	77(62%)	61(61%)	
รวม	124	100	P=0.867

พบว่า G allele ไม่สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำ

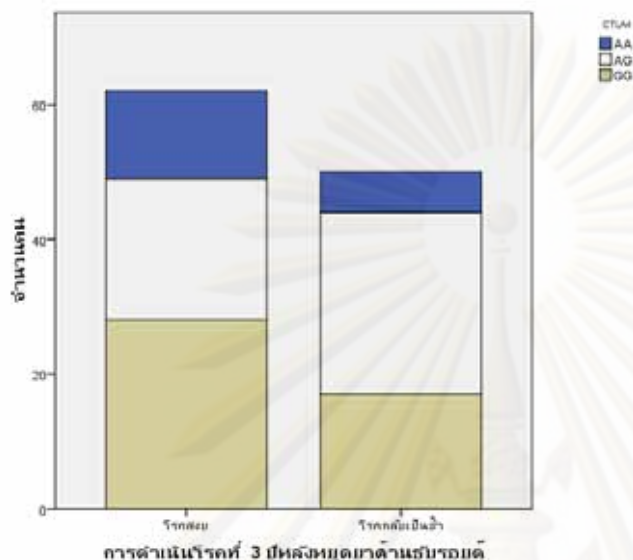
ตารางที่ 3 *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

<i>CTLA-4</i>	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	รวม	<i>p</i>
AA	13(21%)	6(12%)	19(17%)	
AG	21(34%)	27(54%)	48(43%)	0.074*
GG	28(45%)	17(34%)	45(40%)	0.637**
รวม	62	50	112	0.091

* Genotype AG เทียบกับ Genotype AA

** Genotype GG เทียบกับ Genotype AA

ภาพที่ 7 แสดงสัดส่วนของ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบกับกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์



ตารางที่ 4 การวิเคราะห์แบบต่างๆของ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

<i>CTLA-4</i>	<i>p</i>	Odd ratio	95% CI (lower-upper)
เปรียบเทียบ allele			
G allele vs. A allele	0.867	0.955	0.556-1.641
เปรียบเทียบ genotype			
GG vs. AA	0.637	1.315	0.421-4.112
GG vs. AG	0.075	0.472	0.206-1.083
AG vs. AA	0.074	2.786	0.906-8.563
Dominant model			
AG and AG vs. AA	0.209	1.946	0.681-5.557
Recessive model			
GG vs. AG and AA	0.231	0.626	0.290-1.351

พบว่ายีน *CTLA-4* ไม่สัมพันธ์กับการเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ในช่วง 6 เดือนถึง 3 ปี

ส่วนอาการทางคลินิกในกลุ่มที่โรคสงบหรือกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยา
ต้านไทรอยด์แสดงในตารางที่ 5-8

ตารางที่ 5 แสดงประวัติครอบครัวของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง
3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ (n= 95) (85%)

	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	รวม	p
ประวัติครอบครัว (%)*				
- Graves' disease	32	38	35	0.541
- Hashimoto thyroiditis	0	4	2	0.193
- Goiter	15	12	14	0.653
- Rheumatoid arthritis	2	10	5	0.167
- Asthma	9	12	11	0.746
- Allergic rhinitis	17	12	15	0.488
รวมมีโรค Autoimmune disease ใน	32	48	39	0.123
โรค autoimmune ≥ 2 คนในครอบครัว	13	17	15	0.637
AITD* in first degree relative (%)				0.601
- Graves' disease(%)	23	29	25	
- Hashimoto thyroiditis (%)	0	2	1	
AITD ≥ 2 คน in first degree relative (%)	6	12	8	0.459

หมายเหตุ *N= 96(86%)

**AITD =autoimmune thyroid disease

ตารางที่ 6 ขนาดต่อมไทรอยด์ และระดับฮอร์โมนของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	รวม	p
ขนาดต่อมไทรอยด์				
กลุ่ม 1	82	70	76	0.209
กลุ่ม 2	16	30	23	
กลุ่ม 3	2	0	1	
Graves' ophthalmopathy(%)	19	20	20	0.932
ผลระดับฮอร์โมน*	N=49(79%)	N=36(72%)	N=85(76%)	
FT3(mean(SD))	17.46(9.45)	20.76(9.17)	18.8(9.330)	0.334
median(min-max) pmol/L	17.39(4.17- >32.55)	16.55(9.2- >32.55)	17.24(4.17- >32.55)	
FT4(mean(SD))	5.33(1.95)	4.9(2.01)	5.16(1.95)	0.533
median(min-max) pmol/L	5.2(1.46->7.77)	4.47(2.39- >7.77)	5.19(1.46- >7.77)	
TSH(mean(SD))uU/ml	0.0259(0.038)	0.014(0.018)	0.021(0.031)	
median(min-max)	0.01(0-0.2)	0.005(0-0.080)	0.008(0-0.2)	0.143
T3(mean(SD))ng/dl	474.59(170)	386(150.7)	439.1(166.7)	0.081
median(min-max)	457.9(172-800)	353(226-720)	384.3(172-800)	
T4(mean(SD))ug/dl	18.2(6.4)	15.1(5.1)	16.8(5.9)	0.172
median(min-max)	18.5(5-30)	14(7-24.9)	17.2(5-30)	

หมายเหตุ * เฉพาะคนที่มีค่าผลฮอร์โมนก่อนรักษา

พบว่าในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยา มีอายุน้อยกว่า โดยปัจจัยอื่น เช่น เพศ ประวัติโรคประจำตัวและประวัติครอบครัวโรค autoimmune disease อาการแสดงทางตา ขนาดต่อมไทรอยด์ และผลฮอร์โมนไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบการรักษาของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	รวม	p
รักษาที่อื่นมาก่อน(%)	24	36	30	0.173
เริ่มยา PTU (%)	32	35	33	0.738
เริ่มยา MMI (%)	68	65	67	
ขนาดยา PTU เริ่มต้น				0.774
- 100 มก.	5	11	8	
- 150 มก.	63	41	53	
- 200 มก.	5	11	8	
- 300 มก.	21	35	28	
- 450 มก.	5	0	3	
เริ่ม PTU \geq 300 มก (%)	26	35	36	0.559
ขนาดยา MMI เริ่มต้น				0.289
- 5 มก.	2	0	1	
- 7.5 มก.	41	38	39	
- 10 มก.	26	6	18	
- 15 มก.	26	33	38	
- 20 มก.	5	3	4	
MMI \geq 15 มก. (%)	31	56	42	0.029

ตารางที่ 7 (ต่อ) เปรียบเทียบการรักษาของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	รวม	p
รวมปริมาณยาที่ได้รับ(มก.)*	N=51(82%)	N=37(74%)	N=88(79%)	
MMI (mean(SD))	3339(979)	3479(970)	3456(970)	
(median(mix-max))	3290 (1330-6790)	3220 (1855-6020)	3273 (1330-6790)	0.501
รวมขนาดยา MMI**				
< 2,940 มก.	37	35	36	0.780
2,940 - 3,710 มก.	43	41	42	
>3,710 มก.	20	24	22	
ระยะเวลารักษา(สัปดาห์) (mean(SD))	110(32)	120(58)	114(45)	0.262
(median(mix-max))	104(76-334)	104(76-404)	104(76-404)	
แบ่งกลุ่ม(%)18-24 เดือน	51	54	53	0.861
24-36 เดือน	47	36	42	
>36 เดือน	2	10	5	
เกิด Hypothyroid ในช่วง รักษา (%)	31	18	25	0.124

หมายเหตุ

* เฉพาะคนที่ทราบปริมาณชัดเจนและใช้ยาตัวเดียวหรือส่วนใหญ่เป็นยา MMI (n=88) (79%)

** แบ่งปริมาณยา MMI ที่ได้รับเป็น 3 quintiles

*** ยา PTU ไม่สามารถคำนวณปริมาณรวมได้ เนื่องจากมีเพียง 2 คน ที่ได้ยา PTU ตัวเดียว นอกนั้นได้รับการเปลี่ยนยาเป็น MMI

พบว่ายาที่นิยมใช้คือ methimazole เริ่มใช้ใน 2/3 ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาได้รับยาเริ่มต้นขนาดสูง โดยได้ยา methimazole มากกว่าหรือเท่ากับ 15 มก. ต่อวัน มากกว่ากลุ่มที่โรคสงบที่ 3 ปี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณยาที่ได้รับทั้งหมด และระยะเวลาที่รักษา และการเกิดฮอว์โมนไทรอยด์ต่ำไม่ต่างกัน

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบขนาดต่อมไทรอยด์และผลฮอร์โมนไทรอยด์ของผู้ป่วยที่โรคสงบ กับผู้ป่วยที่โรคกลับเป็นซ้ำ ภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีแรกหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	รวม	p
ขนาดต่อมไทรอยด์				
กลุ่ม 1	92	94	93	0.696
กลุ่ม 2	8	6	7	
กลุ่ม 3	0	0	0	
ผลระดับฮอร์โมน				
FT3 (pmol/L) (mean(SD))	2.68(0.62)	2.74(0.59)	2.7(0.6)	0.673
median(min-max)	2.6(1.2-4.6)	2.73(0.78-4.56)	2.6(0.8-4.6)	
FT4 (pmol/L) (mean(SD))	1.24(0.24)	1.18(0.16)	1.2(0.2)	0.309
median(min-max)	1.18(0.88-1.95)	1.2(0.81-1.53)	1.2(0.8-1.9)	
TSH(uU/ml)(mean(SD))	2.456(1.168)	1.860(1.189)	2.200(1.205)	
median(min-max)	2.170(0.4-5.71)	1.435(0.4-5.58)	1.96(0.4-5.71)	0.005
TSH \leq 1.96 uU/ml (%)	23	42		0.028
T3(ng/dl)	108.2(24.6)	113.3(28.1)	111(27)	
median(min-max)	92(88-142)	113(71-164)	104(71-164)	0.714
T4(uU/dl)	7.7(1.8)	7.8(0.4)	7.8(1.5)	0.845
median(min-max)	8.1(5-9.5)	8(7.4-8)	8(5-9.5)	

เมื่อหยุดยาทุกคนอยู่ในภาวะ euthyroid และ ขนาดต่อมไทรอยด์ไม่แตกต่างกัน เห็นว่าในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำมีค่ามัธยฐานของฮอร์โมนไทโรโทรปินเมื่อหยุดยาดต่ำกว่ากลุ่มที่โรคสงบที่ 3 ปี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป ปัจจัยที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำ ได้แก่ อายุน้อย รับประทาน methimazole เริ่มต้นขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มก. ต่อวัน ระดับฮอร์โมนไทโรทรอปินเมื่อหยุดยาต้านไทรอยด์น้อยกว่า 2 ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปัจจัยทางคลินิกพยากรณ์โรคกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

ปัจจัยทางคลินิก	Univariate analysis			Multivariate analysis*		
	Crude odd ratio	95% CI	<i>p</i>	Adjusted odd ratio	95% CI	<i>p</i>
อายุน้อยกว่า 40 ปี	2.77	1-7.677	0.045	2.29	0.634-8.268	0.206
ได้ยาเริ่มต้น MMI ≥ 15 มก.ต่อวัน	2.868	1.102-7.468	0.029	3.5	1.254-9.771	0.017
ระดับฮอร์โมน TSH เมื่อหยุดยา ≤ 1.96 uU/ml	3.078	1.274-7.436	0.028	3.5	1.203-10.186	0.022

หมายเหตุ * ปรับด้วยอายุ ขนาดยา MMI เริ่มต้นและระดับฮอร์โมน TSH เมื่อหยุดยา

ส่วนลักษณะทางคลินิกกลุ่ม genotype AA AG และ GG ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* ถูกแสดงในตารางที่ 10 ถึง 13

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกของ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ

	AA	AG	GG	<i>p</i>
จำนวน(คน)	19	48	45	
อายุ(ปี) (mean(SD))	28.3(8.5)	32.7(10.9)	30.8(9.9)	
median(min-max)	28(18-46)	31.5(17-63)	30(15-69)	0.290
เพศหญิง/เพศชาย(ร้อยละ)	90/10	98/2	91/9	0.279
โรคประจำตัว(%) n=(95 คน)85%				0.837
- Rheumatoid arthritis	0	2	0	
- Myasthenia gravis	6	2	0	
- Asthma	6	10	6	
- Allergic rhinitis	12	12	14	
ประวัติครอบครัว(%) n=(95 คน)85%				
- Graves' disease	29	38	33	0.197
- Hashimoto thyroiditis	0	5	0	0.276
- Goiter	29	7	14	0.079
- Rheumatoid arthritis	0	6	4	0.536
- Asthma	12	10	11	0.958
- Allergic rhinitis	12	17	14	0.876
โรคกลุ่ม autoimmune disease	29	43	39	0.631
โรค autoimmune ≥ 2 คนในครอบครัว	23	12	14	0.513

ตารางที่ 10 (ต่อ) เปรียบเทียบลักษณะทางคลินิกของ *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ

	AA	AG	GG	<i>p</i>
AITD in first degree relative (%)	12	33	26	0.178
- Graves' disease	12	31	25	
- Hashimoto thyroiditis	0	2	1	
AITD \geq 2 คน in first degree relative (%)	6	12	6	0.553
ขนาดต่อมไทรอยด์				
กลุ่ม 1	53	78	84	0.057
กลุ่ม 2	47	22	14	
กลุ่ม 3	0	0	2	
Graves' ophthalmopathy	32	23	11	0.128
ผลระดับฮอร์โมน	N=15(75%)	N=36(75%)	N=34(78%)	
FT3 (mean(SD))	19.39(8.10)	18.81(11)	19.27(8.79)	
median(min-max) (pmol/L)	19.86 (9.42-28.42)	16.97 (4.17->32.55)	20.1 (6.4->32.55)	0.939
FT4(mean(SD))	5.93(1.62)	4.69(1.85)	5.67(2.26)	
median(min-max) (pmol/L)	5.84 (3.78->7.77)	4.97 (1.46->7.77)	6.33 (2.39->7.77)	0.358
TSH(mean(SD))(uU/ml)	0.024(0.026)	0.016(0.023)	0.024(0.039)	
median(min-max)	0.01(0.005-0.09)	0.005(0-0.110)	0.009(0.003-0.2)	0.125
T3(ng/dl)	459.4(181.3)	386(137.8)	496.4(180.6)	0.138
median(min-max)	375(235.4-800)	370.5(172-730)	551(226-800)	
T4(uU/dl)	18.7(7.5)	15.2(4.50)	18.4(7.5)	0.322
median(min-max)	19(7.54-30)	15.9(5-23.5)	21.5(6-24.8)	

พบว่าลักษณะทางคลินิก ได้แก่ เพศ อายุ โรคประจำตัวกลุ่ม autoimmune และประวัติครอบครัว โรคกลุ่ม autoimmune disease ไม่แตกต่างกัน อาการแสดงทางตา ขนาดต่อมไทรอยด์ และระดับฮอร์โมนไทรอยด์ ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบการรักษาที่ได้รับใน CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ

	AA	AG	GG	p
ยาเริ่มต้น MMI	79	61	68	0.37
รวมยาที่ได้รับ(มก.)				
MMI (mean(SD))	3740(907)	3284(979)	3515(1191)	
Median(min-max)	3640(2730-6300)	2940(1330-6020)	3342(2170-6790)	0.111
ขนาดยา MMI รวม*				
< 2,940 มก.	16	48	24	0.094
2,940 - 3,710 มก.	42	26	33	
> 3,710 มก.	42	26	35	
ระยะเวลาที่ได้รับ				
	106(20)	105(17)	113(20)	
Median(min-max)	108(82-128)	105(76-140)	110(79-146)	0.714
แบ่งกลุ่ม(%)				
18-24 เดือน	53	58	47	0.556
24-36 เดือน	42	29	38	
>36 เดือน	5	13	15	

หมายเหตุ *n=88

การรักษาที่ได้รับไม่แตกต่างกัน ทั้งในด้านชนิด ขนาด ระยะเวลา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 ลักษณะเมื่อหยุดยาต้านไทรอยด์ใน CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G แต่ละแบบ

	AA	AG	GG	P
ขนาดต่อมไทรอยด์				
กลุ่ม 1	74	96	93	0.002
กลุ่ม 2	26	4	7	
กลุ่ม 3	0	0	0	
ผลระดับฮอร์โมน				
FT3(mean(SD)) pmol/L	2.74(0.7)	2.76(0.62)	2.63(0.57)	0.687
median(min-max)	2.66(1.62-4.6)	2.78(0.78-4.56)	2.49(1.2-3.52)	
FT4(mean(SD)) pmol/L	1.26(0.31)	1.17(0.18)	1.24(0.18)	0.466
median(min-max)	1.2(0.94-1.95)	1.18(0.81-1.56)	1.19(0.9-1.58)	
TSH(mean(SD)) uU/ml	2.409(1.05)	2.292(1.244)	2.01791.218)	0.586
median(min-max)	2.26(0.52-4.02)	2(0.4-5.71)	1.75(0.4-5.5)	
T3(mean(SD)) ng/dl	142(0)	100.6(21.8)	114.8(27.8)	
median(min-max)	142	104(71-127)	108(92-164)	0.310
T4(mean(SD)) ug/dl		8.3(0.9)	7.3(1.7)	0.290
median(min-max)		8(7.4-9.5)	7.5(5-9)	

เมื่อหยุดยาพบว่าขนาดต่อมไทรอยด์ในกลุ่ม genotype AA ที่ตำแหน่ง A49G โตกว่า genotype AG หรือ GG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับฮอร์โมนไม่แตกต่างกัน

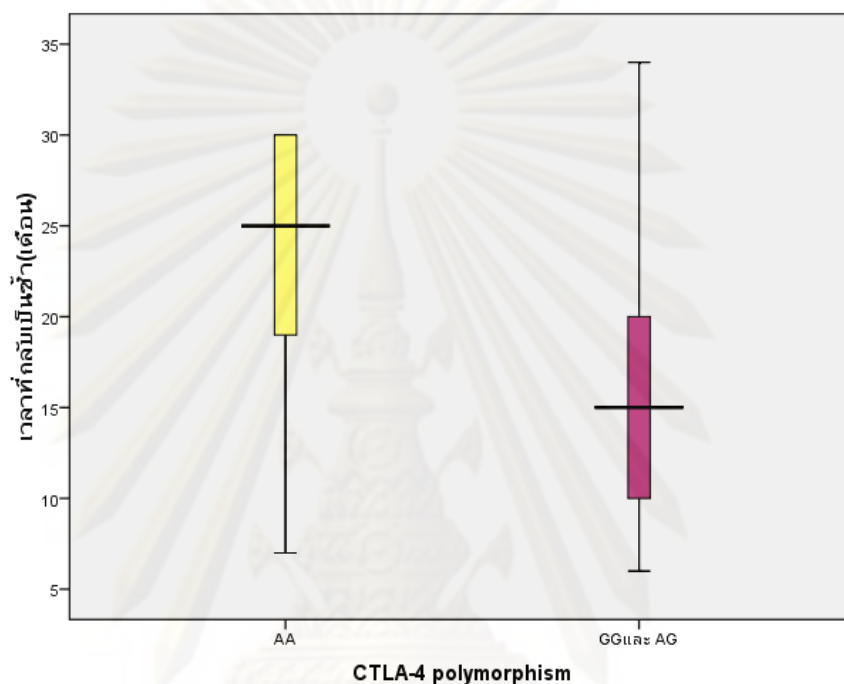
พบว่ายีน *CTLA-4* ไม่สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปี หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ แต่ขนาดต่อมไทรอยด์เมื่อกลับเป็นซ้ำโตกว่าใน genotype AA เปรียบเทียบ genotype AG หรือ GG

เนื่องจากระยะเวลาที่กลับเป็นซ้ำมีแนวโน้มช้ากว่าในกลุ่ม genotype AA เทียบกับ genotype AG หรือ genotype GG โดย $p=0.061$ และสำหรับ genotype AA เปรียบเทียบ genotype AG ($p=0.057$) และสำหรับ genotype AA เปรียบเทียบ genotype GG ($p=0.245$) และเมื่อเปรียบเทียบ genotype AA กับ genotype AG และ GG ได้ผลดังตารางที่ 14 และภาพที่ 8

ตารางที่ 14 แสดงระยะเวลากลับเป็นซ้ำของ Genotype AA ที่ตำแหน่ง A49G ของยีน *CTLA-4* เปรียบเทียบกับ genotype AG และ genotype GG

ระยะเวลาเมื่อกลับเป็นซ้ำ (เดือน)	Genotype AA	Genotype AG และ genotype GG	p
Mean(SD)	22.7(9.2)	15.9(6.6)	0.026
Median(min-max)	25(7-30)	15(6-34)	

ภาพที่ 8 แสดงระยะเวลากลับเป็นซ้ำใน CTLA-4 polymorphism ตำแหน่ง A49G : genotype AA เทียบกับ Genotype AG และ GG ($p = 0.026$)



เนื่องจากงานวิจัยเดิมใช้เกณฑ์การกลับเป็นซ้ำที่ 1 ปีหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ จึงวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 กับการกลับเป็นซ้ำที่ 6 เดือนถึง 12 เดือน ผลไม่พบความสัมพันธ์ดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease ภายใน 6-12 เดือน หลังหยุดยาต้านไทรอยด์

CTLA-4	โรคสงบ	โรคกลับเป็นซ้ำ	p
AA	18(19%)	1(6%)	
AG	37(39%)	11(62%)	
GG	39(42%)	6(33%)	
รวม	94	18	0.168

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ 6 เดือน ถึง 3 ปี และพบว่าปัจจัยทางคลินิกที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำได้ คือ ได้รับยา methimazole เริ่มต้นขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มก. ต่อวัน และระดับฮอร์โมน ไทโรโทรปิน ต่ำเมื่อหยุดยาต้านไทรอยด์ และยีน *CTLA-4* polymorphism สัมพันธ์ต่อระยะเวลาการกลับเป็นซ้ำ คือ genotype AA กลับเป็นซ้ำซ้ำกว่า genotype GG และ AG โดยไม่มีความสัมพันธ์กับอาการแสดงทางคลินิกอื่นๆ

อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์ 6 เดือน ถึง 3 ปี ซึ่งต่างจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ สรุปดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงงานวิจัยเกี่ยวกับยีน *CTLA-4* กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์

งานวิจัย	Sahin(26)	Wang(25, 27)	Tanrikulu(48)	Kim(53)	งานวิจัยนี้
ชนิดงานวิจัย	Prospective study	Prospective study	Retrospective case-control study	Prospective study	Retrospective case-control study
เชื้อชาติ	ตุรกี	จีน	ตุรกี	เกาหลี	ไทย
จำนวน(คน)	77	148	97	158 (69 คน มีผลที่ A49G)	112
เพศหญิง(%)	73	82	74	75*	94
อายุ(ปี)	42(13)	38(13)	39	35*	31(10)

หมายเหตุ * ร้อยละเทียบกับทั้งงานวิจัย

ตารางที่ 16 (ต่อ) แสดงงานวิจัยเกี่ยวกับยีน CTLA-4 กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์

งานวิจัย	Sahin (26)	Wang (25, 27)	Tanrikulu (48)	Kim (53)	งานวิจัยนี้
ขนาดต่อมไทรอยด์ การวัดและเกณฑ์การ แบ่ง	การคลำแบ่ง grade 1-3 ไม่ได้ระบุ ชัดเจน	การคลำโดย Grade 1 ไม่ถึง ขอบหน้าของ กล้ามเนื้อ sternocleidom astoid Grade 2 ไม่ถึง ขอบหลังของ กล้ามเนื้อนี้ Grade 3 ถึง ขอบหลัง กล้ามเนื้อ	การคลำแบ่ง grade 1-3 ไม่ได้ระบุ ชัดเจน	การคลำ โดย แบ่งเป็น absent to small และ median to large	การคลำ เป็นกรัม แบ่งเป็น กลุ่ม 1-3 ตาม Wang และคณะ (25, 27)
ขนาดต่อมไทรอยด์ใน เกณฑ์เล็ก (%)	77	53	53	78	76
ระยะเวลาได้ยาด้าน ไทรอยด์	25 สัปดาห์	20-22 เดือน	17 เดือน	ไม่ระบุ	28.5 เดือน
เกณฑ์วินิจฉัยการกลับ เป็นซ้ำ	ตั้งแต่หยุด ยาถึง 1 ปี	ตั้งแต่หยุดยาถึง 3 ปี	ตั้งแต่หยุด ยาถึง 1 ปี	ตั้งแต่หยุด ยาถึง 1 ปี หรือยังพบ TRAb หลังได้ยา 2 ปี	ตั้งแต่หยุด ยา 6 เดือน ถึง 3 ปี
โรคกลับเป็นซ้ำ(%)	49	58	*	73	*
Genotype จำนวนผู้ป่วย(คน) (%)					
AA	28(37%)	15(7%)	48(49%)	4(6%)	19(17%)
AG	32(43%)	69(33%)	38(39%)	25(36%)	48(43%)
GG	15(20%)	124(60%)	11(11%)	40(58%)	45(40%)

หมายเหตุ * ไม่แสดงค่าเนื่องจากเป็น retrospective study

ตารางที่ 16 (ต่อ) แสดงงานวิจัยเกี่ยวกับยีน *CTLA-4* กับการกลับเป็นซ้ำของโรค Graves' disease หลังหยุดยาต้านไทรอยด์

งานวิจัย	Sahin(26)	Wang (25, 27)	Tanrikulu (48)	Kim(53)	งานวิจัยนี้
การกลับเป็นซ้ำในแต่ละ genotype (%)					
AA	42	3	15	100	32
AG	46	46	58	76	56
GG	80	68	46	65	38
<i>p</i> *	0.03	0.001	0.0001	NA**	0.091

หมายเหตุ * *p*-value เปรียบเทียบการกลับเป็นซ้ำกับ genotype AA, AG และ GG

** ไม่มีตัวเลข แต่สรุปว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน

สาเหตุที่เป็นไปได้ที่ผลงานวิจัยนี้ไม่สนับสนุนงานวิจัยเดิม คือ ข้อหนึ่งประชากรที่เข้าเกณฑ์การศึกษาแตกต่างกัน ข้อสองเป็นเพราะความแตกต่างระหว่างเชื้อชาติ ข้อสามเนื่องจากตรวจ polymorphism ที่ตำแหน่งเดียว อาจมีความสัมพันธ์ที่ตำแหน่งอื่น ข้อสี่ polymorphism นี้ไม่สัมพันธ์กับการการกลับเป็นซ้ำจริง แต่สัมพันธ์กับปัจจัยอื่น เช่น ระยะเวลาการกลับเป็นซ้ำ

สาเหตุที่เลือกตำแหน่ง A49G ตรวจในงานวิจัยนี้ แม้ในงานวิจัยความสัมพันธ์กับโรค Graves' disease(40) มีค่า Odd ratio 1.34 เท่า(ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 :1.11-1.62) ซึ่งน้อยกว่าตำแหน่ง CT60 ที่มีค่า Odd ratio 1.56 เท่า(ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 :1.30-1.88) และจาก Meta-analysis ศึกษาความสัมพันธ์กับโรค Graves' disease(23) G allele ตำแหน่ง A49G มีค่า Odd ratio 1.49 เท่า ส่วน G allele ตำแหน่ง CT 60 ซึ่งมีค่า Odd ratio 1.45 เท่า แต่งานวิจัยความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำในเชื้อชาติจีน(27) พบความสัมพันธ์การกลับเป็นซ้ำของ polymorphism 2 ตำแหน่ง คือ A49G และ CT60 ส่วนตำแหน่งอื่นอีก 4 ตำแหน่งที่ตรวจไม่พบความสัมพันธ์ และเมื่อทำ multivariate regression model พบว่าเฉพาะตำแหน่ง A49G ที่มีความสัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำ นอกจากนี้ polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G มีงานวิจัยว่าสัมพันธ์กับการทำงานของเม็ดเลือดขาว(54) โดยศึกษาการแบ่งตัวของ T cell lymphocyte หลังยับยั้งการทำงานด้วย anti-CTLA-4 antibody พบว่า genotype AA และ AG เม็ดเลือดขาวแบ่งตัวเพิ่มขึ้นมากกว่า genotype GG แสดงว่าโปรตีน CTLA-4 ของ genotype GG ยับยั้งการแบ่งตัวของเม็ดเลือดขาวน้อยกว่า genotype อื่น และม้งานวิจัยพบการเพิ่มขึ้นของ stimulating T

ประชากรที่เข้างานวิจัยนี้ไม่เหมือนงานวิจัยอื่น โดยอายุ เพศ ใกล้เคียงกัน ส่วนใหญ่ขนาดต่อมไทรอยด์ไม่ใหญ่มาก แต่แตกต่างกันโดยการกระจาย genotype ของยีน CTLA-4 ตำแหน่ง A49G โดยในกลุ่มงานวิจัยในชาวเอเชียใกล้เคียงกัน คือ พบ genotype GG, AG บ่อยกว่า AA ซึ่งแตกต่างจากเชื้อชาติตุรกี ระยะเวลาได้รับยาและเกณฑ์การวินิจฉัยการกลับเป็นซ้ำแตกต่างกัน โดยงานวิจัยของ Sahin(26) ให้ยาต้านไทรอยด์สั้นเพียง 25 สัปดาห์และใช้เกณฑ์กลับเป็นซ้ำสั้นที่ 1 ปีหลังหยุดยา และกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำระดับฮอร์โมนไทโรโธปินเมื่อหยุดยาคต่ำกว่า จึงอาจรวมกลุ่มที่โรคยังไม่สงบเลย (persistent disease) มาด้วย แม้ว่าโอกาสกลับเป็นซ้ำของ genotype GG มากกว่า genotype AA เมื่อปรับด้วยระดับฮอร์โมนไทโรโธปินเมื่อหยุดยาแล้วก็ตาม

ส่วนงานวิจัยของ Wang(25, 27) ระยะเวลาที่ได้รับยาใกล้เคียงงานวิจัยนี้ ต่างกันที่กลุ่มที่กลับเป็นซ้ำรวมภายใน 6 เดือนแรกหลังหยุดยาด้วยซึ่งตัดออกในงานวิจัยนี้ งานวิจัยของ Vitti (10) พบว่า 6 เดือนแรกหลังหยุดยา พบการกลับเป็นซ้ำถึงร้อยละ 56 ของกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำทั้งหมด ซึ่งเมื่อตัดกลุ่มนี้ออกไปทำให้ผลงานวิจัยนี้ไม่เห็นความสัมพันธ์กับ CTLA-4 polymorphism ได้ บ่งว่าช่วงเวลาที่กลับเป็นซ้ำมีความสัมพันธ์กับผลการศึกษา หลักฐานจากงานวิจัยนี้ พบว่า genotype AA กลับเป็นซ้ำช้ากว่า genotype AG และ GG สอดคล้องกับความคิดนี้

ส่วนงานวิจัยของ Kim(53) ดูความสัมพันธ์ของการกลับเป็นซ้ำหรือยังพบ TRAb หลังได้ยา 2 ปี กับ ยีน CTLA-4 ซึ่งพบว่าไม่สัมพันธ์กันเหมือนผลวิจัยนี้ แต่จำนวนผู้ป่วยโดยเฉพาะ genotype AA น้อยมาก(4 ราย) จึงอาจไม่สามารถสรุปได้

ส่วนปัจจัยทางคลินิกของกลุ่มที่เข้างานวิจัย ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง อายุเฉลี่ย 31 ปี ขนาดต่อมไทรอยด์ประมาณไม่เกิน 2 เท่า สูบบุหรี่ร้อยละ 3 ประวัติโรคกลุ่ม autoimmune ของครอบครัว ร้อยละ 40 อาการแสดง Graves' ophthalmopathy ร้อยละ 20 ผลระดับฮอร์โมนไทรอยด์ไม่สูงมากจึงได้เลือกการรักษาโดยการกินยาต้านไทรอยด์เป็นทางเลือกแรกซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยอื่นๆ ในปัจจุบัน(14, 16, 18) บ่งถึงผู้ป่วยที่น่าจะมีประโยชน์จากการใช้ปัจจัยทางพันธุกรรมเข้ามามีบทบาทในการพยากรณ์โรค และตัดสินใจการรักษา

ปัจจัยทางคลินิกอื่นๆ ที่พยากรณ์การกลับเป็นซ้ำของโรคไม่แตกต่างกันในประชากรที่ศึกษา ยกเว้นขนาดยา methimazole ตอนเริ่มรักษามากกว่าหรือเท่ากับ 15 มก. มากกว่าในกลุ่มที่กลับเป็นซ้ำ และระดับฮอร์โมนไทโรโธปินเมื่อหยุดยาคต่ำกว่า ขนาดยาตั้งต้นสูงแสดงถึงการตัดสินใจของแพทย์ผู้ให้การรักษาที่ให้ยาในขนาดสูง บ่งถึงอาการทางคลินิกที่รุนแรงกว่า แต่เป็นการเก็บข้อมูลเก็บย้อนหลังจึงไม่สามารถสรุปได้ ปัจจัยนี้ไม่มีการศึกษามาก่อนเนื่องจาก

ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่ง A49G ของยีน CTLA-4 กับอาการทางคลินิก มีความสัมพันธ์เฉพาะระยะเวลากลับเป็นซ้ำที่กล่าวแล้วข้างต้น ส่วนขนาดต่อมไทรอยด์เมื่อหยุดยา และเมื่อกลับเป็นซ้ำ เนื่องจากเป็นการประมาณด้วยการคลำโดยแพทย์หลายคนจึงอาจไม่ใช่ข้อมูลที่แท้จริงได้ เนื่องจากประชากรที่เข้าศึกษาจัดเป็นกลุ่มที่มีความรุนแรงของโรคไม่มากเมื่อเทียบกับผู้ป่วยโรค Graves' disease ทั้งหมด จึงไม่สามารถสรุปความแตกต่างของ CTLA-4 polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G กับอาการทางคลินิกอื่นๆได้

การวิจัยนี้มีข้อจำกัดคือ ข้อหนึ่งไม่สามารถนำไปใช้กับผู้ป่วยโรค Graves' disease ทุก รายได้ เฉพาะกลุ่มที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการกลับเป็นซ้ำสูงและเลือกรักษาด้วยการกินยาด้าน ไทรอยด์เป็นอันดับแรก ข้อสองระยะเวลากลับเป็นซ้ำ เป็นเวลาที่นัดตรวจทุก 2-3 เดือน มากกว่าวันที่เริ่มมีอาการจริง ข้อสามเนื่องจากการเก็บข้อมูลย้อนหลัง ข้อมูลบางส่วนไม่ครบ เช่น ผลเลือดระดับฮอร์โมน ขนาดต่อมไทรอยด์เป็นการประมาณจากการคลำ ประวัติครอบครัว ใช้วิธี สอบถามจากผู้ป่วยซึ่งอาจไม่ตรงความจริง

สรุปพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยโรค Graves' disease ซึ่งอาการไม่รุนแรง เลือกการกินยาด้าน ไทรอยด์เป็นการรักษาแรกนั้น ยีน CTLA-4 ไม่สัมพันธ์กับการกลับเป็นซ้ำภายใน 6 เดือนถึง 3 ปี หลังหยุดยา แต่สัมพันธ์กับเวลาที่กลับเป็นซ้ำโดยพบว่า genotype AA กลับเป็นซ้ำช้ากว่า genotype AG และ genotype GG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เพราะฉะนั้นการพิจารณาเลือกการ รักษาควรใช้ปัจจัยทางคลินิกตามเดิมมากกว่าใช้ปัจจัยพันธุกรรมนี้

ข้อเสนอแนะ

CTLA-4 polymorphosm ที่ตำแหน่ง A49G อาจสัมพันธ์กับเวลาที่กลับเป็นซ้ำมากกว่า จำนวนที่กลับเป็นซ้ำทั้งหมด ซึ่งเมื่อติดตามไปนานขึ้นอาจพบการกลับเป็นซ้ำเท่าๆกันทุก genotype โดย Wang และคณะ(25, 27) พบว่าเมื่อแบ่งช่วงเวลาที่กลับเป็นซ้ำเป็นน้อยกว่า 9 เดือน 10-36 เดือนและมากกว่า 36 เดือน พบความสัมพันธ์ตามช่วงเวลา ซึ่งกลไกการเกิดอาจ เพราะ genotype GG หลังได้ยาด้านไทรอยด์จะมีการลดลงของ TRAb ชั่วที่สุด สนับสนุนโดย งานวิจัยของ Kinjo(24)] พบว่าร้อยละ 36 ของ genotype GG ยังพบ TRAb หลังได้ยาด้าน ไทรอยด์นานถึง 5 ปี แต่ไม่พบเลยในกลุ่ม genotype AA และเมื่อรักษาจนกว่าจะตรวจไม่พบ TRAb genotype GG ต้องกินยานานถึง 5.8 ปี และ genotype AG นาน 5 ปี นานกว่า genotype AA (3.3 ปี) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อหยุดยาเมื่อไม่พบ TRAb แล้วทำให้โอกาสหายหลัง

ส่วนงานวิจัยของ Wang(25) พบความสัมพันธ์กับระดับ TRAb ตอนหยุดยาด้านไทรอยด์ โดยพบว่า genotype GG ยังพบ TRAb อยู่ร้อยละ 46 เทียบกับร้อยละ 21 และ ร้อยละ 9 ของ genotype AG และ genotype AA ตามลำดับ แม้ระดับ TRAb ก่อนเริ่มรักษา และระยะเวลาที่รักษาเท่ากัน เมื่อหยุดยาจึงมีโอกาสกลับเป็นซ้ำต่างกันสัมพันธ์กับการพบ TRAb เมื่อหยุดยา ซึ่งม้งานวิจัยยืนยันว่าระดับ TRAb เมื่อหยุดยาสัมพันธ์กับความเส้ียง ($r=0.56, p<0.001$) และระยะเวลาการกลับเป็นซ้ำ($r=-0.38, p<0.03$)(57)

จึงเกิดสมมุติฐานว่า genotype GG ที่ตำแหน่ง A49G ของ exon ที่ 1 ของยีน *CTLA-4* หลังได้รับยาด้านไทรอยด์ จะพบการลดลงของ TRAb ซ้ำกว่า genotype อื่นๆ และระดับ TRAb ที่สูงเมื่อหยุดยา จึงทำให้กลับเป็นซ้ำเร็วกว่า genotype อื่น

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* กับการกลับเป็นซ้ำของโรค graves' disease ควรทำเป็นการศึกษา prospective trial โดยเลือกประชากรในกลุ่มที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงทางคลินิกต่อการกลับเป็นซ้ำสูง ซึ่งปัจจัยพันธุกรรมน่าจะมีประโยชน์ในการพิจารณาการรักษา ตรวจยีน *CTLA-4* หา polymorphism ที่ตำแหน่ง A49G และ CT60 รักษาด้วยยาด้านไทรอยด์โดยมีแนวทางปรับยา และติดตามการรักษา แบบเดียวกัน จนครบอย่างน้อย 18 เดือน เจาะระดับ TRAb เมื่อหยุดยา แล้วติดตามการกลับเป็นซ้ำด้วยอาการทางคลินิก ผลระดับฮอร์โมนและ TRAb โดยในช่วงแรกควรรัดถี่ทุก 1-3 เดือน แล้วติดตามไปมากกว่า 3 ปีหลังหยุดยา เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CTLA-4* กับการกลับเป็นซ้ำของโรค graves' disease ในแต่ละช่วงเวลาหลังหยุดยาได้

รายการอ้างอิง

- [1.] Stenszky V, Kozma L, Balazs C, Rochlitz S, Bear JC, Farid NR. The genetics of Graves' disease: HLA and disease susceptibility. **J Clin Endocrinol Metab** 1985;61:735-40.
- [2.] Payami H, Joe S, Thomson G. Autoimmune thyroid disease in type I diabetic families. **Genet Epidemiol** 1989;6:137-41.
- [3.] 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. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:930-4.
- [4.] Matos-Santos A, Nobre EL, Costa JG, Nogueira PJ, Macedo A, Galvao-Teles A, et al. Relationship between the number and impact of stressful life events and the onset of Graves' disease and toxic nodular goitre. **Clin Endocrinol (Oxf)** 2001;55:15-9.
- [5.] Abraham-Nordling M, Topping O, Hamberger B, Lundell G, Tallstedt L, Calissendorff J, et al. Graves' disease: a long-term quality-of-life follow up of patients randomized to treatment with antithyroid drugs, radioiodine, or surgery. **Thyroid** 2005;15:1279-86.
- [6.] Abraham-Nordling M, Wallin G, Lundell G, Topping O. Thyroid hormone state and quality of life at long-term follow-up after randomized treatment of Graves' disease. **Eur J Endocrinol** 2007;156:173-9.
- [7.] Ljunggren JG, Topping O, Wallin G, Taube A, Tallstedt L, Hamberger B, et al. Quality of life aspects and costs in treatment of Graves' hyperthyroidism with antithyroid drugs, surgery, or radioiodine: results from a prospective, randomized study. **Thyroid** 1998;8:653-9.
- [8.] Topping O, Tallstedt L, Wallin G, Lundell G, Ljunggren JG, Taube A, et al. Graves' hyperthyroidism: treatment with antithyroid drugs, surgery, or radioiodine--a prospective, randomized study. Thyroid Study Group. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:2986-93.
- [9.] Orgiazzi J, Madec AM. Reduction of the risk of relapse after withdrawal of medical therapy for Graves' disease. **Thyroid** 2002;12:849-53.

- [10.] Vitti P, Rago T, Chiovato L, Pallini S, Santini F, Fiore E, et al. Clinical features of patients with Graves' disease undergoing remission after antithyroid drug treatment. **Thyroid** 1997;7:369-75.
- [11.] Laurberg P, Hansen PE, Iversen E, Jensen SE, Weeke J. Goiter size and prognosis of thyrotoxicosis treated medically. **Ugeskr Laeger** 1987;149:1325-7.
- [12.] Nedrebo BG, Holm PI, Uhlving S, Sorheim JI, Skeie S, Eide GE, et al. Predictors of outcome and comparison of different drug regimens for the prevention of relapse in patients with Graves' disease. **Eur J Endocrinol** 2002;147:583-9.
- [13.] Rotondi M, Cappelli C, Pirali B, Pirola I, Magri F, Fonte R, et al. The effect of pregnancy on subsequent relapse from Graves' disease after a successful course of antithyroid drug therapy. **J Clin Endocrinol Metab** 2008;93:3985-8.
- [14.] Glinoe D, de Nayer P, Bex M. Effects of l-thyroxine administration, TSH-receptor antibodies and smoking on the risk of recurrence in Graves' hyperthyroidism treated with antithyroid drugs: a double-blind prospective randomized study. **Eur J Endocrinol** 2001;144:475-83.
- [15.] Quadbeck B, Roggenbuck U, Janssen OE, Hahn S, Mann K, Hoermann R, et al. Impact of smoking on the course of Graves' disease after withdrawal of antithyroid drugs. **Exp Clin Endocrinol Diabetes** 2006;114:406-11.
- [16.] Hoermann R, Quadbeck B, Roggenbuck U, Szabolcs I, Pfeilschifter J, Meng W, et al. Relapse of Graves' disease after successful outcome of antithyroid drug therapy: results of a prospective randomized study on the use of levothyroxine. **Thyroid** 2002;12:1119-28.
- [17.] Eckstein AK, Lax H, Losch C, Glowacka D, Plicht M, Mann K, et al. Patients with severe Graves' ophthalmopathy have a higher risk of relapsing hyperthyroidism and are unlikely to remain in remission. **Clin Endocrinol (Oxf)** 2007;67:607-12.
- [18.] Quadbeck B, Hoermann R, Roggenbuck U, Hahn S, Mann K, Janssen OE. Sensitive thyrotropin and thyrotropin-receptor antibody determinations one month after discontinuation of antithyroid drug treatment as predictors of relapse in Graves' disease. **Thyroid** 2005;15:1047-54.

- [19.] Cho BY, Shong MH, Yi KH, Lee HK, Koh CS, Min HK. Evaluation of serum basal thyrotrophin levels and thyrotrophin receptor antibody activities as prognostic markers for discontinuation of antithyroid drug treatment in patients with Graves' disease. **Clin Endocrinol (Oxf)**1992;36:585-90.
- [20.] Michelangeli V, Poon C, Taft J, Newnham H, Topliss D, Colman P. The prognostic value of thyrotropin receptor antibody measurement in the early stages of treatment of Graves' disease with antithyroid drugs. **Thyroid** 1998;8:119-24.
- [21.] Feldt-Rasmussen U, Schleusener H, Carayon P. Meta-analysis evaluation of the impact of thyrotropin receptor antibodies on long term remission after medical therapy of Graves' disease. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:98-102.
- [22.] Cooper DS. Hyperthyroidism. **Lancet** 2003;9:459-68.
- [23.] Kavvoura FK, Akamizu T, Awata T, Ban Y, Chistiakov DA, Frydecka I, et al. Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 gene polymorphisms and autoimmune thyroid disease: a meta-analysis. **J Clin Endocrinol Metab** 2007;92:3162-70.
- [24.] Kinjo Y, Takasu N, Komiya I, Tomoyose T, Takara M, Kouki T, et al. Remission of Graves' hyperthyroidism and A/G polymorphism at position 49 in exon 1 of cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 gene. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:2593-6.
- [25.] Wang PW, Liu RT, Juo SH, Wang ST, Hu YH, Hsieh CJ, et al. Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 polymorphism and relapse of Graves' hyperthyroidism after antithyroid withdrawal. **J Clin Endocrinol Metab** 2004;89:169-73.
- [26.] Sahin M, Erdogan MF, Erdogan G. Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 polymorphisms in Turkish Graves' disease patients and association with probability of remission after antithyroid therapy. **Eur J Intern Med** 2005;16:352-5.
- [27.] Wang PW, Chen IY, Liu RT, Hsieh CJ, Hsi E, Juo SH. Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 gene polymorphism and hyperthyroid Graves'

- disease relapse after antithyroid drug withdrawal: a follow-up study. **J Clin Endocrinol Metab** 2007;92:2513-8.
- [28.] Shields DC, Ratanachaiyavong S, McGregor AM, Collins A, Morton NE. Combined segregation and linkage analysis of Graves disease with a thyroid autoantibody diathesis. **Am J Hum Genet** 1994;55:540-54.
- [29.] Tomer Y, Davies TF. Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function. **Endocr Rev** 2003;24:694-717.
- [30.] Vaidya B, Pearce S. The emerging role of the CTLA-4 gene in autoimmune endocrinopathies. **Eur J Endocrinol** 2004;150:619-26.
- [31.] Chistiakov DA, Turakulov RI. CTLA-4 and its role in autoimmune thyroid disease. **J Mol Endocrinol** 2003;31:21-36.
- [32.] Saverino D, Brizzolara R, Simone R, Chiappori A, Milintenda-Floriani F, Pesce G, et al. Soluble CTLA-4 in autoimmune thyroid diseases: relationship with clinical status and possible role in the immune response dysregulation. **Clin Immunol** 2007;123:190-8.
- [33.] Oaks MK, Hallett KM. Cutting edge: a soluble form of CTLA-4 in patients with autoimmune thyroid disease. **J Immunol** 2000;164:5015-8.
- [34.] Ikegami H, Awata T, Kawasaki E, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, et al. The association of CTLA4 polymorphism with type 1 diabetes is concentrated in patients complicated with autoimmune thyroid disease: a multicenter collaborative study in Japan. **J Clin Endocrinol Metab** 2006;91: 1087-92.
- [35.] Howson JM, Dunger DB, Nutland S, Stevens H, Wicker LS, Todd JA. A type 1 diabetes subgroup with a female bias is characterised by failure in tolerance to thyroid peroxidase at an early age and a strong association with the cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 gene. **Diabetologia** 2007;50: 741-6.
- [36.] Ben Dhifallah I, Chelbi H, Braham A, Hamzaoui K, Houman MH. CTLA-4 +49A/G polymorphism is associated with Behcet's disease in a Tunisian population. **Tissue Antigens** 2009;73:213-7.
- [37.] Du L, Yang P, Hou S, Lin X, Zhou H, Huang X, et al. Association of the CTLA-4 gene with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. **Clin Immunol** 2008;127:43-8.

- [38.] Suwalska K, Pawlak E, Karabon L, Tomkiewicz A, Dobosz T, Urbaniak-Kujda D, et al. Association studies of CTLA-4, CD28, and ICOS gene polymorphisms with B-cell chronic lymphocytic leukemia in the Polish population. **Hum Immunol** 2008;69:193-201.
- [39.] Erfani N, Razmkhah M, Talei AR, Pezeshki AM, Doroudchi M, Monabati A, et al. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 promoter variants in breast cancer. **Cancer Genet Cytogenet** 2006;165:114-20.
- [40.] Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. **Nature** 2003;29:506-11.
- [41.] Bednarczuk T, Gopinath B, Ploski R, Wall JR. Susceptibility genes in Graves' ophthalmopathy: searching for a needle in a haystack? **Clin Endocrinol (Oxf)** 2007;67:3-19.
- [42.] Vaidya B, Oakes EJ, Imrie H, Dickinson AJ, Perros P, Kendall-Taylor P, et al. CTLA4 gene and Graves' disease: association of Graves' disease with the CTLA4 exon 1 and intron 1 polymorphisms, but not with the promoter polymorphism. **Clin Endocrinol (Oxf)** 2003;58:732-5.
- [43.] Allanic H, Fauchet R, Orgiazzi J, Madec AM, Genetet B, Lorcy Y, et al. Antithyroid drugs and Graves' disease: a prospective randomized evaluation of the efficacy of treatment duration. **J Clin Endocrinol Metab** 1990;70:675-9.
- [44.] Abraham P, Avenell A, Park CM, Watson WA, Bevan JS. A systematic review of drug therapy for Graves' hyperthyroidism. **Eur J Endocrinol** 2005;153:489-98.
- [45.] Garcia-Mayor RV, Paramo C, Luna Cano R, Perez Mendez LF, Galofre JC, Andrade A. Antithyroid drug and Graves' hyperthyroidism. Significance of treatment duration and TRAb determination on lasting remission. **J Endocrinol Invest** 1992;15:815-20.
- [46.] Maugendre D, Gatel A, Champion L, Massart C, Guilhem I, Lorcy Y, et al. Antithyroid drugs and Graves' disease--prospective randomized assessment of long-term treatment. **Clin Endocrinol (Oxf)** 1999;50:127-32.

- [47.] Zimmermann-Belsing T, Nygaard B, Rasmussen AK, Feldt-Rasmussen U. Use of the 2nd generation TRAK human assay did not improve prediction of relapse after antithyroid medical therapy of Graves' disease. **Eur J Endocrinol** 2002;146:173-7.
- [48.] Tanrikulu S, Erbil Y, Ademoglu E, Issever H, Barbaros U, Kutluturk F, et al. The predictive value of CTLA-4 and Tg polymorphisms in the recurrence of Graves' disease after antithyroid withdrawal. **Endocrine** 2006;30:377-81.
- [49.] Benker G, Reinwein D, Kahaly G, Tegler L, Alexander WD, Fassbinder J, et al. Is there a methimazole dose effect on remission rate in Graves' disease? Results from a long-term prospective study. The European Multicentre Trial Group of the Treatment of Hyperthyroidism with Antithyroid Drugs. **Clin Endocrinol (Oxf)**1998;49:451-7.
- [50.] Laurberg P, Wallin G, Tallstedt L, Abraham-Nordling M, Lundell G, Topping O. TSH-receptor autoimmunity in Graves' disease after therapy with anti-thyroid drugs, surgery, or radioiodine: a 5-year prospective randomized study. **Eur J Endocrinol** 2008;158:69-75.
- [51.] Schott M, Morgenthaler NG, Fritzen R, Feldkamp J, Willenberg HS, Scherbaum WA, et al. Levels of autoantibodies against human TSH receptor predict relapse of hyperthyroidism in Graves' disease. **Horm Metab Res** 2004;36:92-6.
- [52.] Heward JM, Allahabadia A, Armitage M, Hattersley A, Dodson PM, Macleod K, et al. The development of Graves' disease and the CTLA-4 gene on chromosome 2q33. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:2398-401.
- [53.] Kim KW, Park YJ, Kim TY, Park do J, Park KS, Cho BY. Susceptible alleles of the CD40 and CTLA-4 genes are not associated with the relapse after antithyroid withdrawal in Graves' disease. **Thyroid** 2007;17:1229-34.
- [54.] Ban Y, Davies TF, Greenberg DA, Kissin A, Marder B, Murphy B, et al. Analysis of the CTLA-4, CD28, and inducible costimulator (ICOS) genes in autoimmune thyroid disease. **Genes Immun** 2003;4:586-93.
- [55.] Kouki T, Sawai Y, Gardine CA, Fisfalen ME, Alegre ML, DeGroot LJ. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of

CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. *J Immunol* 2000;165:6606-11.

[56.] Crooks J, Murray IP, Wayne EJ. Statistical methods applied to the clinical diagnosis of thyrotoxicosis. *Q J Med* 1959;28:211-34.

[57.] Carella C, Mazziotti G, Sorvillo F, Piscopo M, Cioffi M, Pilla P, et al. Serum thyrotropin receptor antibodies concentrations in patients with Graves' disease before, at the end of methimazole treatment, and after drug withdrawal: evidence that the activity of thyrotropin receptor antibody and/or thyroid response modify during the observation period. *Thyroid* 2006;16:295-302.



ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบลงบันทึกข้อมูล

The association of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 polymorphism and relapse of Graves' hyperthyroidism after antithyroid withdrawal		
<input type="checkbox"/> CASE..... <input type="checkbox"/> CONTROL.....		
Demographic data		
Age		
Sex	(F,M)	
history		
Cigarette smoking	1. no 2. quit smoking (Pack-year) :before__ years 3.current smoking(Pack-year)	
Autoimmune disease	1. DM type 1 2. RA 3. SLE 4. dSCC 5. MG 6. asthma	
Family history of autoimmune	As above	
Physical examination		
Goiter size	gram	
Graves'ophthalmopathy	Y,N	
	1. lid lag , 2. lid retraction 3. exophthalmos 4. limit ROM 5. periorbital swelling 6.need prednisolone	
severity	1. mild 2. moderate 3. severe	
Pretibial myxedema	Y,N	
LAB		
Initial FT3	pg/ml	
Initial FT4	ng/dl	
Initial TSH	μ u/ml	
Thyroid uptake (ถ้ามี)		

treatment		
Pretreatment	Y,N	
Drug initial	1. PTU 2. MMI	
Dose initial	1.1 150 mg 1.2 300 mg 2.1 5 mg 2.2 7.5 mg 2.3 10 mg 2.4 15 mg	
Drug initial at chula ,		
dose		
Switch drug indication	Y,N	
Duration treatment	month	
Total dose	before chula	
	chula	
complication		
hypothyroid	Y,N	
when	Month after initial drug	
At remission		
Goiter size	gram	
FT3		
FT4		
TSH	$\mu\text{u/ml}$	
Time of remission at end study		

Outcome		
Relapse	Y,N	
When	Month after drug withdrawal	
FT3		
FT4		
TSH		
Thyroid uptake		
Treatment received	1. antithyroid drug	
	, which , dose , duration	
	2. I-131 mn after relapse dose	
Duration of second remission to end study		

CTLA-4 polymorphism		
A49G	1. AA 2. AG 3. GG	

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูลสำหรับผู้ป่วยหรือผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างของยีนซีทีแอลเอโฟร์ กับการกลับเป็นซ้ำของโรคไทรอยด์เป็นพิษหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ แพทย์หญิง ณัฐกานต์ มยุระสาคร

(แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย)

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ธิติ สนับบุญ

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-2564296

โทรศัพท์เคลื่อนที่ 081-5475516

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่แสดงข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจของท่านในการเข้าร่วมการศึกษาวิจัย อย่างไรก็ตามก่อนที่ท่านตกลงเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างละเอียดเพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถให้ความกระจ่างแก่ท่านได้ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

การรักษาโรคไทรอยด์เป็นพิษ Graves' disease ไม่มีวิธีที่ดีที่สุด การรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์มีโอกาสกลับเป็นซ้ำครั้งหนึ่ง ในผู้ป่วยที่มีข้อบ่งชี้ของการรักษาให้หายขาด (การกลืนน้ำแร่และการผ่าตัดต่อมไทรอยด์) เช่น ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง มีข้อห้ามใช้ยาต้านไทรอยด์และมีโอกาสกลับเป็นซ้ำสูงจากปัจจัยทางคลินิก แต่ผู้ป่วยที่ไม่อยู่ในกลุ่มข้างต้นไม่มีวิธีที่ดีที่สุด ส่วนหนึ่งได้รับยาต้านไทรอยด์จนหาย แล้วกลับเป็นซ้ำ ทำให้เสียเวลาและสิ้นเปลืองทรัพยากร ผลการศึกษานี้จะช่วยพยากรณ์การกลับมาเป็นซ้ำหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ได้

การศึกษานี้เพื่อหาปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ของยีนซีทีแอลเอโฟร์ กับการกลับเป็นซ้ำของโรคไทรอยด์เป็นพิษหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

จำนวนผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย คือ 86 คน

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หากท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมและยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านจะได้รับเชิญให้มาพบแพทย์เพื่อชี้แจงการวิจัย ได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ได้รับการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำ 3 ซีซีหนึ่งครั้ง การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ โดยผู้เจาะเลือดจะทำความสะอาดบริเวณเส้นเลือดดำที่ข้อพับแขน ก่อนเจาะเลือดด้วยเข็มฉีดยาปลอดเชื้อ การเจาะเลือดจะกระทำโดยแพทย์ พยาบาล หรือ เจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ เมื่อสิ้นสุดโครงการตัวอย่างเลือดของท่านจะถูกนำไปกำจัดโดยวิธีปลอดภัย โดยไม่เก็บไว้เพื่อตรวจเพิ่มเติมอีก

ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรม หรือการตรวจระดับฮอร์โมนไทรอยด์

ประโยชน์ที่ได้รับจากการทำวิจัย

ทำให้ทราบปัจจัยเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำหลังหยุดยาต้านไทรอยด์

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ซ้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืดและโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด แพทย์ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่ให้ความร่วมมือ และไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์ผู้ทำวิจัย
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย

การปกป้องรักษาข้อมูลของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์

(หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึกจากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้ร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
6. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
7. ท่านจะได้รับทราบว่ากรยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลเสียใด ๆ ทั้งสิ้น
8. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
9. ท่านจะได้โอกาสในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....
หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับปัญหาทางด้านจริยธรรมการวิจัยขอให้ติดต่อสำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ตึกอานันท์มหิตล ชั้น 3 หมายเลขโทรศัพท์ 02-2564455 ต่อ 14,15

**ใบยินยอมเข้ารับการเจาะเลือดเพื่อการวิจัย
การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างของยีนซีทีแอลเอพี
กับการกลับเป็นซ้ำของโรคไทรอยด์เป็นพิษหลังหยุดยาต้านไทรอยด์**

1. คำชี้แจงเกี่ยวกับงานวิจัยและวัตถุประสงค์ของการวิจัย

การรักษาโรคไทรอยด์เป็นพิษ Graves' disease ไม่มีวิธีที่ดีที่สุด การรักษาด้วยยาต้านไทรอยด์มีโอกาสกลับเป็นซ้ำครั้งหนึ่ง ในผู้ป่วยที่มีข้อบ่งชี้ของการรักษาให้หายขาด (การกลืนน้ำแร่และการผ่าตัดต่อมไทรอยด์) เช่น ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง มีข้อห้ามใช้ยาต้านไทรอยด์และมีโอกาสกลับเป็นซ้ำสูงจากปัจจัยทางคลินิก แต่ผู้ป่วยที่ไม่อยู่ในกลุ่มข้างต้นไม่มีวิธีที่ดีที่สุด ส่วนหนึ่งได้รับยาต้านไทรอยด์จนหาย แล้วกลับเป็นซ้ำ ทำให้เสียเวลาและสิ้นเปลืองทรัพยากร ผลการศึกษานี้จะช่วยพยากรณ์การกลับมาเป็นซ้ำหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ได้

2. คำชี้แจงเกี่ยวกับขั้นตอน วิธีการ ผลข้างเคียง และการปฏิบัติตัวในขณะที่เข้าร่วมการวิจัย

- อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยโดยท่านจะได้รับเอกสารชุดนี้ และได้ลงนามในใบยินยอมก่อน
- อาสาสมัครจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ได้รับการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำเพียงหนึ่งครั้ง การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ โดยผู้เจาะเลือดจะทำความสะอาดบริเวณเส้นเลือดดำที่ข้อพับแขน ก่อนเจาะเลือดด้วยเข็มฉีดยาปลอดเชื้อ การเจาะเลือดจะกระทำโดยแพทย์ พยาบาล หรือ เจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ อาสาสมัครอาจรู้สึกเจ็บเล็กน้อยและอาจพบรอยเขียวช้ำบริเวณที่ถูกเจาะเลือด ซึ่งมักจะหายไปได้เองใน 2-3 วัน หลังเจาะเลือด อาสาสมัครสามารถประกอบกิจวัตรประจำวันได้ตามปกติ
- อาสาสมัครที่เข้าร่วมในโครงการนี้จะไม่เสียค่าใช้จ่าย สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรม หรือการตรวจอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

3. ประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับ

อาสาสมัครที่โรคสงบหลังหยุดยาต้านไทรอยด์ถ้าต้องการสามารถขอผลตรวจ เพื่อทราบความเสี่ยงในการกลับเป็นซ้ำได้ อาจขยายผลถึงการเฝ้าระวังโรคในครอบครัวของอาสาสมัครได้

4. คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิของอาสาสมัคร

การเจาะเลือดเพื่อนำไปใช้ในการวิจัยครั้งนี้ จะนำเลือดที่ได้ไปทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการวิจัยของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้การดูแลอย่างใกล้ชิดของผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ธิติ สนับสนุนุญ และ แพทย์หญิง ญัฐกานต์ มยุระสาคร อาสาสมัครจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในส่วนของการเจาะเลือดและการทดลองในห้องปฏิบัติการแต่อย่างใด นอกจากนี้

การเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยสมัครใจ อาสาสมัครอาจจะปฏิเสธที่จะเข้าร่วมหรือถอนตัวออกจากการศึกษาวิจัยนี้ได้ทุกเมื่อ อนึ่ง ผลของการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะใช้สำหรับวัตถุประสงค์ทางวิชาการเท่านั้น โดยที่ข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการเปิดเผยชื่อ และไม่มีการเผยแพร่สู่สาธารณชน

หากท่านมีปัญหาหรือข้อสงสัยประการใด กรุณาติดต่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ ธิติ สันบุญญ และ แพทย์หญิง ญัฐกานต์ มยุระสาคร ที่หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 02-256-4296

5. คำยินยอมของอาสาสมัครในการเข้าร่วมโครงการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจทั้งหมดที่เกี่ยวกับโครงการวิจัยในใบยินยอมครบถ้วนดีแล้ว ข้าพเจ้าเข้าใจถึงลักษณะ วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย พร้อมทั้งได้รับการอธิบายเกี่ยวกับขั้นตอนและประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย ข้าพเจ้าเข้าใจว่าการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เป็นไปด้วยความสมัครใจ ซึ่งข้าพเจ้าได้มีเวลาที่จะพิจารณาตัดสินใจในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ข้าพเจ้ายินดีที่จะเข้าร่วมตามโครงการวิจัยนี้ จึงลงลายมือชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ (อาสาสมัคร)

(.....)

..... (แพทย์ผู้ทำการวิจัย)

(.....)

..... (พยาน)

(.....)

วันที่ / /

ศูนย์วิทยุทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ	นางสาวณัฐกานต์ มยุระสาคร
วันเกิด	21 กันยายน 2523
สถานภาพสมรส	โสด
ที่อยู่	358/6 ซอยประชาราษฎร์บำเพ็ญ 7 ถ.ประชาราษฎร์บำเพ็ญ แขวงห้วยขวาง เขตห้วยขวาง 10310 โทรศัพท์ 02-2578043
การศึกษา	
ปี 2540-2546	ศึกษาคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
ปี 2547-2550	ศึกษาแพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ที่ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ปี 2551-ปัจจุบัน	ศึกษาแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ประวัติกิจกรรมและรางวัลที่เคยได้รับ

ปี 2544	เกียรติคุณอันดับหนึ่งเหรียญทอง แพทยศาสตร์บัณฑิต
ปี 2550	Vannaprasaht S, Tawalee A, Mayurasakorn N, et al. Ceftazidime overdose-related nonconvulsive status epilepticus after intraperitoneal instillation. Clin Toxicol (Phila). 2006;44(4):383-6
ปี 2551	Tiamkao S, Mayurasakorn N, Suko P, Jitpimolmard S, Arunpongpaisal S, Phuttharak W, Auevitchayapat N, Vannaprasaht S, Tiamkao S, Phunikhom K, Chaiyakum A, Saengsuwan J. J Med Assoc Thai. 2007 Dec;90(12):2597-600.

ตำแหน่ง และสถานที่ทำงาน

ปี 2551-ปัจจุบัน	แพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิซึม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
------------------	--