การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *แค้กเอ* จีโนไทป์ และ *เอชอาร์จีเอ* ยีนใน การติดเชื้อ *เฮลิโคแบ็คเตอร์ ไพโลไร* กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหาร และลำไส้เล็กส่วนต้นในประเทศไทย

นางสาว ฉัตรพร กิตติตระกูล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

RELATIONSHIP BETWEEN *CAGA* GENOTYPES AND *HRGA* GENE OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION AND PEPTIC ULCER DISEASE IN THAILAND

Miss Chatporn Kittitrakul

ศูนย์วิทยทรัพยากร

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Medicine

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *แค้กเอ* จีโนไทป์ และ *เอชอาร์จีเอ* ยีนในการติดเชื้อ *เฮลิโคแบ็คเตอร์ ไพโลไร* กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในประเทศไทย
โดย	นางสาว ฉัตรพร กิตติตระกูล
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง วโรชา มหาชัย
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. รัฐกร วิไลชนม์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อดิศร ภัทราดูลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มนต์ชัย ชาลาประวรรตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง วโรชา มหาชัย)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. รัฐกร วิไลชนม์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิโรจน์ ศรีอุฬารพงศ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ แพทย์หญิง ปิยะธิดา หาญสมบูรณ์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฉัตรพร กิตติตระกูล : การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *แค้กเอ* จีโนไทป์ และ *เอชอาร์จีเอ* ยีนในการติดเชื้อ *เฮลิโคแบ็คเตอร์ ไพโลไร* กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในประเทศไทย (RELATIONSHIP BETWEEN *CAGA* GENOTYPES AND *HRGA* GENE OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION AND PEPTIC ULCER DISEASE IN THAILAND) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. พญ. วโรชา มหาชัย, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. นพ. รัฐกร วิไลชนม์, 97 หน้า.

ที่มา *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นปัจจัยที่เคยมีการศึกษาที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ โดยเฉพาะโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ *cagA* ยีนและ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับการเกิดโรค

วิธีการศึกษา ตรวจหา *cagA* ยีนและ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยวิธี PCR จากผู้ป่วยโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นและผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล ที่มาส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นแล้วตรวจพบเชื้อ

ผลการศึกษา ผู้ป่วยทั้งหมด 100 ราย แบ่งเป็น 2 กลุ่มเท่ากันตามโรคที่เกิดขึ้น พบว่า เชื้อทุกตัวพบ *cagA* ยีน ความชุกของ *cagA* 2a จีโนไทป์ ในผู้ป่วยโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นมีแนวโน้มมากกว่าในผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล (76% เทียบกับ 72%, P = 0.648) และ ความชุกของ *hrgA* ยีนเท่ากันในทั้งสองกลุ่ม (52%)

สรุปผลการศึกษา *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น และโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต ฉัตรพร กิตติตระกูล

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ปีการศึกษา 2551 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5074762130 : MAJOR MEDICINE (GASTROENTEROLOGY)

KEYWORDS : HELICOBACTER PYLORI / *CAGA* GENOTYPES / *HRGA* GENE / PEPTIC ULCER DISEASE

CHATPORN KITTITRAKUL : RELATIONSHIP BETWEEN *CAGA* GENOTYPES AND *HRGA* GENE OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION AND PEPTIC ULCER DISEASE IN THAILAND. ADVISOR: ASSOC. PROF. VAROCHA MAHACHAI, MD., CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. RATHA-KORN VILAICHONE, M.D., 97 pp.

Background: Association between *cagA* gene and *hrgA* gene of *H. pylori* infection and clinical outcomes were reported especially in gastric cancer.

Aim: To study the relationship between *cagA* genotypes and *hrgA* gene of *H. pylori* infection and peptic ulcer disease.

Methods: Patients with nonulcer dyspepsia (NUD) and peptic ulcer disease (PUD) were investigated with esophagogastroduodenoscopy and *H. pylori* infection was confirmed by culture. *CagA* genotypes and *hrgA* gene were examined by PCR.

Results: 100 *H. pylori* isolates were examined. All had *cagA* gene. *CagA 2a* was found in 72% in NUD and 76% in PUD (P = 0.648). *HrgA* was found in 52% in both groups.

Conclusion: No relationship between *cagA* genotypes and *hrgA* gene of *H. pylori* infection and clinical outcomes.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department :	Medicine	Student's Signature	
Field of Study :	Medicine	Advisor's Signature	
Academic Year :	2006	Co-Advisor's Signature	

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย

หน่วยโรคทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. รศ. พญ. วโรชา มหาชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
2. นพ. ณัฐวุฒิ สิริมนตาภรณ์ ให้ความเอื้อเฟื้อจัดหาผู้ป่วยเข้าโครงการวิจัย
3. นพ. บุญเลิศ อิมราพร ให้ความเอื้อเฟื้อจัดหาผู้ป่วยเข้าโครงการวิจัย
4. นพ. สุขประเสริฐ จุฑาก่อเกียรติ ให้ความเอื้อเฟื้อจัดหาผู้ป่วยเข้าโครงการวิจัย

หน่วยโรคทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

1. ผศ. นพ. รัฐกร วิไลชนม์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
2. พญ. บุบผา พรธิสาร ให้ความเอื้อเฟื้อจัดหาผู้ป่วยเข้าโครงการวิจัย
3. นพ. สุนทร ชลประเสริฐสุข ให้ความเอื้อเฟื้อจัดหาผู้ป่วยเข้าโครงการวิจัย

หน่วยแบคทีเรียวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. รศ. ดร. สมหญิง ธัมวาสร ให้คำปรึกษาด้านการตรวจหายีน
2. น.ส. อัจฉราพร สวัสดิ์พานิช ให้ความช่วยเหลือในการตรวจหายีน
3. น.ส. กมลธาดา นาวีวิตรผดุง ให้ความช่วยเหลือในการตรวจหายีน

สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

1. น.ส. พรเพ็ญ ก่ำนารายณ์ ให้ความช่วยเหลือในการเพาะเชื้อ

สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ฌ
สารบัญภาพ..... ญ
สารบัญแผนภูมิ..... ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
คำถามของการวิจัย..... 2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3
สมมติฐานของการวิจัย..... 3
กรอบแนวความคิดในการวิจัย..... 3
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย..... 4
ข้อจำกัดของการวิจัย..... 5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 5
ปัญหาทางจริยธรรม..... 5
รูปแบบการวิจัย..... 6
วิธีการศึกษา..... 6
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... 7
สิ่งจำเป็นในการเจริญเติบโตของเชื้อ..... 7
ความชุกของเชื้อและการกระจายตามภูมิศาสตร์..... 7
วิธีการติดเชื้อและแหล่งของการติดเชื้อ..... 8
โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*..... 8
พยาธิสภาพของการติดเชื้อ..... 16

หน้า

การวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*.....20
พยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*.....26
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....37
ระเบียบวิธีวิจัย.....37
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....38
วิธีการศึกษา.....38
วิธีการทำ PCR เพื่อหา *cagA* จีโนไทป์.....40
วิธีการทำ PCR เพื่อหา *hrgA* ยีน.....43
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....45
การวิเคราะห์ข้อมูล.....45
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....46
ผลการวิเคราะห์.....46
ผลการศึกษายีนของเชื้อ *Helicobacter pylori*.....52
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....58
สรุปผลการวิจัย.....58
อภิปรายผลการวิจัย.....59
ข้อเสนอแนะ.....61
รายการอ้างอิง.....62
ภาคผนวก.....75
ภาคผนวก ก.....76
ภาคผนวก ข.....78
ภาคผนวก ค.....82
ภาคผนวก ง.....84
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....85

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของการตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระ.....25

ตารางที่ 2 วิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*.....26

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่าง *cagA* จีโนไทป์ และ *vacA* s1a จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อ..... 32

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่าง *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*..... 34

ตารางที่ 5 ความชุกของ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับ โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*.....34

ตารางที่ 6 PCR primers สำหรับการเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอของ *cagA* ยีน..... 40

ตารางที่ 7 ลักษณะพื้นฐานโดยรวมของผู้ป่วยในการศึกษาทั้งหมด 100 คน.....46

ตารางที่ 8 ลักษณะพื้นฐานแยกตามกลุ่มของผู้ป่วย..... 48

ตารางที่ 9 Binary logistic regression ของลักษณะพื้นฐานที่มีความแตกต่างกันในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม.....51

ตารางที่ 10 ความชุกของ *cagA* ยีน *cagA* จีโนไทป์ *hrgA* ยีน และ จีโนไทป์โดยรวมที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน..... 54

ตารางที่ 11 ความสัมพันธ์ของยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้น..... 56

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ปัจจัยที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของกระเพาะอาหารและการเกิดโรคต่างๆตามมาหลังจากมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*.....1

รูปที่ 2 ต่อมของกระเพาะอาหารที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*..... 10

รูปที่ 3 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารและรูปแบบของการเกิดกระเพาะอาหารอักเสบที่สัมพันธ์กันซึ่งเป็นผลจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*..... 10

รูปที่ 4 ลำดับขั้นของการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารโดยแสดงบทบาทของเชื้อ *Helicobacter pylori* และปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดมะเร็ง..... 17

รูปที่ 5 กระเพาะอาหารอักเสบแบบ nonatrophic (nonatrophic gastritis).....18

รูปที่ 6 กระเพาะอาหารอักเสบแบบ multifocal atrophic (multifocal atrophic gastritis).....19

รูปที่ 7 กระเพาะอาหารอักเสบแบบ multifocal atrophic (multifocal atrophic gastritis) และมีบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผิวไปเป็นแบบเยื่อบุผิวของลำไส้ (intestinal metaplasia).....20

รูปที่ 8 บทบาทของ Cag type IV secretion system.....31

รูปที่ 9 โครงสร้างปฐมภูมิของ 3′ region ที่แตกต่างกันของ *cagA* 1a ยีน และ *cagA* 2a ยีน..... 41

รูปที่ 10 ตัวอย่างการวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* ยีน.....42

รูปที่ 11 Primer ที่ใช้ในการทำ PCR ของ *hrgA* ยีน.....44

รูปที่ 12 ตัวอย่างการวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *hrgA* ยีน.....44

รูปที่ 13 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* ยีน.....52

รูปที่ 14 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* 1a ยีน.....52

รูปที่ 15 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* 2a ยีน.....53

รูปที่ 16 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *hrgA* ยีน.....53

สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 1 ความชุกของ *cagA* ยีน *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีน ที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน..... 55

แผนภูมิที่ 2 ความชุกของ *cagA* จีโนไทป์และ *hrgA* ยีนโดยการรวมทั้งสองยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน..... 55

แผนภูมิที่ 3 ความสัมพันธ์ของ *cagA* จีโนไทป์และ *hrgA* ยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้น..... 57

แผนภูมิที่ 4 ความสัมพันธ์ของ *cagA* จีโนไทป์และ *hrgA* ยีนโดยการรวมทั้งสองยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้น..... 57

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

%	เปอร์เซ็นต์
NSAIDs	ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์
PPI	ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม Proton pump inhibitor
PCR	Polymerase chain reaction
IL-1β	อินเตอร์ลิวคิน-1เบต้า
IL-1	อินเตอร์ลิวคิน 1
DNA	ดีเอ็นเอ
IgG	Immunoglobulin G
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
^{13}C	คาร์บอน 13
^{14}C	คาร์บอน 14
VacA	Vacuolating cytotoxin
CagA	Cytotoxin-associated antigen
OipA	Outer membrane inflammatory protein
Hsp	Heat shock proteins
Nap	Neutrophil-activating protein
cagA gene	Cytotoxin-associated antigen gene
hrgA gene	*Helicobacter pylori* restriction endonuclease-replacing gene
bp	จำนวนคู่เบส (base pairs)
ธ.ค.	ธันวาคม
ก.ย.	กันยายน
NUD	ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล
Ulcer	ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น
กก.	กิโลกรัม
มม.	มิลลิเมตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

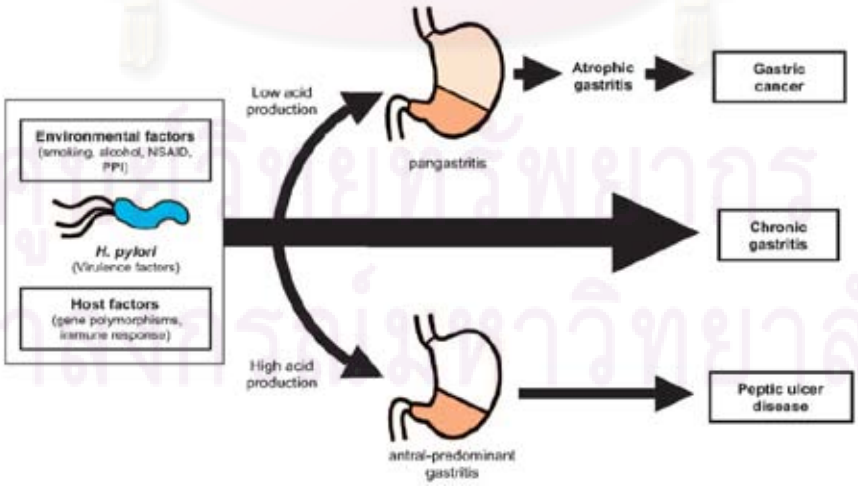
การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ก่อให้เกิดโรคในทางเดินอาหารส่วนบนได้ในหลายรูปแบบ ได้แก่ โรคกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง (chronic gastritis) โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น (peptic ulcer disease) และ มะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric cancer) โดยพบว่า ผู้ที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีโอกาสเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในช่วงชีวิต (lifetime risk) ประมาณ 10-20% และมีโอกาสเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารประมาณ 1-2% [1-3]

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคนั้นสามารถแบ่งได้เป็น 3 ปัจจัยหลัก [4] ได้แก่

1. ปัจจัยด้านผู้ที่ติดเชื้อ (Host factor) เช่น ความหลากหลายของยีน (gene polymorphism) การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immune response)

2. ปัจจัยด้านเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้แก่ ปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ (virulence factors)

3. ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental factor) เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา การใช้ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) การใช้ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม Proton pump inhibitor (PPI)



รูปที่ 1 ปัจจัยที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของกระเพาะอาหารและการเกิดโรคต่างๆตามมา หลังจากมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* [4]

การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคทั้ง 3 ด้านในแต่ละปัจจัย ซึ่งปัจจัยด้านเชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นปัจจัยที่มีการศึกษาจำนวนมาก และมีความน่าสนใจที่จะทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยจะเห็นได้จากการที่มีผู้ป่วยจำนวนมากที่พบเชื้อแต่ไม่เกิดโรค การที่จะกำจัดเชื้อในผู้ป่วยทุกรายจึงอาจทำให้สิ้นเปลืองทรัพยากร ถ้าสามารถจำแนกได้ว่า ปัจจัยด้านเชื้อ *Helicobacter pylori* ใดที่สามารถแยกเชื้อที่มีความรุนแรงหรือมีโอกาสก่อให้เกิดโรคได้สูงแล้ว อาจนำมาใช้ในการจำแนกผู้ที่ติดเชื้อที่รุนแรงเพื่อที่ให้การรักษาได้อย่างเหมาะสม

การศึกษาวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยด้านเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งได้มีการค้นพบปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ (virulence factors) ที่น่าสนใจ ได้แก่ *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีน ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับ *cagA* ยีนในประเทศไทยยังมีน้อยอยู่

ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับ *hrgA* ยีนนั้นยังไม่มีในประเทศไทย จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้เพื่อที่จะศึกษาความสัมพันธ์ของการพบยีนดังกล่าวกับการเกิดโรคของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

คำถามของการวิจัย

<u>คำถามหลัก</u> (Primary research questions)

1. การที่ผู้ป่วยไทยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่มีจีโนไทป์เป็น *cagA 1a* จะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นหรือไม่
2. การที่ผู้ป่วยไทยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่มี *hrgA* ยีน จะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นหรือไม่

<u>คำถามรอง</u> (Secondary research question)

ความชุกของชนิดของ *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยไทยที่มีอาการปวดแน่นท้องบริเวณลิ้นปี่เป็นอย่างไร

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาชนิดของ *cagA* จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย ในผู้ป่วยที่เกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น เทียบกับ ผู้ป่วยที่เกิดโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล
2. เพื่อศึกษา *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย ในผู้ป่วยที่เกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น เทียบกับ ผู้ป่วยที่เกิดโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล
3. เพื่อศึกษาความชุกของ *cagA* จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย
4. เพื่อศึกษาความชุกของ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย

สมมติฐานของการวิจัย

1. *cagA* จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในประเทศไทย
2. *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในประเทศไทย

กรอบแนวความคิดในการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้ มุ่งเน้นการศึกษาไปที่ปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ (virulence factors) *Helicobacter pylori* ได้แก่ *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีน ซึ่งอาจมีส่วนร่วมในการทำให้เกิดโรคจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้หลายรูปแบบแตกต่างกันไป ทั้งในลักษณะการเกิดกระเพาะอักเสบเรื้อรัง การเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น และ การเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1. Dyspepsia หมายถึง อาการปวดหรือรู้สึกไม่สบายบริเวณส่วนกลางของช่องท้องด้านบน

2. โรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล (Nonulcer dyspepsia) หมายถึง โรคที่มีอาการ dyspepsia แต่ไม่พบมีแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ไม่พบมะเร็งในกระเพาะอาหาร และไม่พบหลอดอาหารอักเสบ

3. โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น (Peptic ulcer disease) หมายถึง โรคแผลในกระเพาะอาหาร หรือ แผลในลำไส้เล็กส่วนต้น

4. ข้อบ่งชี้ในการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นตามแนวทางการจัดการผู้ป่วย dyspepsia ของสมาคมแพทย์ระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย ปี 1999 ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีลักษณะอย่างใดอย่างหนึ่งต่อไปนี้ ได้แก่

    4.1. อายุขณะเริ่มมีอาการ dyspepsia มากกว่า 40 ปี

    4.2. มีอาการ dyspepsia ในตอนกลางคืนจนต้องตื่นขึ้นมา (awakening pain)

    4.3. มีน้ำหนักลดมากกว่า 5% ของน้ำหนักตัวเดิมภายใน 1 เดือน หรือ มากกว่า 10% ของน้ำหนักตัวเดิมภายใน 3 เดือน

    4.4. มีประวัติเลือดออกในทางเดินอาหาร

    4.5. มีอาการกลืนลำบาก

    4.6. มีประวัติครอบครัวเป็นมะเร็งในทางเดินอาหาร

    4.7. มีภาวะโลหิตจาง (anemia)

    4.8. พบก้อนในช่องท้อง

    4.9. มีท้องโตขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อจำกัดของการวิจัย

1. อัตราการเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori* แล้วขึ้นเชื้อ ประมาณ 50% ทำให้ต้องมีจำนวนผู้ป่วยที่จะได้รับการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น และตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารไปตรวจเป็นจำนวนมากกว่าที่คำนวณจากการคำนวณขนาดตัวอย่าง และต้องใช้ค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น

2. เนื่องจากอัตราการพบโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในผู้ป่วย dyspepsia เพียง 15% และเวลาที่ใช้ทำการศึกษามีจำกัด อาจทำให้ได้ขนาดตัวอย่างไม่ครบตามที่คำนวณไว้ก่อน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างยีน *cagA* และ *hrgA* ของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ซึ่งเป็นการศึกษาในแง่ของพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เพื่อเป็นประโยชน์ในการทำนายอาการและการดูแลรักษาผู้ป่วยต่อไป

2. สามารถทราบถึงความชุกของยีน *cagA* และ *hrgA* ของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ในการศึกษาทางระบาดวิทยา

ปัญหาทางจริยธรรม

1. เนื่องจากข้อมูลที่ได้จากผู้ป่วยเป็นข้อมูลที่ได้จากการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นและการตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารไปตรวจเพิ่มเติม จึงมีความเสี่ยงค่อนข้างต่ำเพราะเป็นวิธีตรวจตามมาตรฐานเมื่อมีอาการปวดท้องเรื้อรัง

2. ผู้ที่เข้าร่วมในการวิจัยทุกคนจะได้รับข้อมูลโดยละเอียดถึงวิธีการตรวจ และได้ส่งรายละเอียดให้คณะกรรมการพิจารณาเพื่อขอความเห็นและต้องได้รับการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร (inform consent) จากผู้ป่วยก่อน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารจำนวน 4 ชิ้น ไม่มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย เลือดที่ซึมเล็กน้อยจะหยุดเองได้

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงวิเคราะห์ชนิดย้อนหลัง (Case-control study)

วิธีการศึกษา

1. ผู้ป่วยที่มีอาการ dyspepsia ที่มีข้อบ่งชี้ในการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น และไม่มีลักษณะที่เข้ากับเกณฑ์การคัดออกของการศึกษานี้ จะได้รับข้อมูลเกี่ยวกับโครงการวิจัยนี้ ถ้าผู้ป่วยสมัครใจที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัย ก็จะได้รับการบันทึกข้อมูลทางคลินิกที่เกี่ยวข้องและเซ็นใบยินยอม หลังจากนั้นจะได้รับการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น
2. ขณะทำการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น จะบันทึกผลการส่องกล้อง
   - สามารถแบ่งกลุ่มผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ผู้ป่วยที่มีแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล ผู้ป่วยที่ไม่เข้าเกณฑ์การศึกษา
   - ผู้ป่วยที่มีแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วน และ ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล จะทำการตัดชิ้นเนื้อผ่านกล้องเพื่อจะนำไปเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori*
   - ถ้าพบมะเร็งในกระเพาะอาหาร หรือ หลอดอาหารอักเสบ คัดออกจากการศึกษา แต่ผู้ป่วยก็จะได้รับการตรวจรักษาต่อไปตามแนวทางปฏิบัติทั่วไปของโรคนั้น
3. ถ้าเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori* ขึ้น จึงจะนำเชื้อไปศึกษา *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีน โดยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) ต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ขนาดยาว 2-4 ไมครอน และ กว้าง 0.5-1 ไมครอน สามารถเปลี่ยนรูปร่างได้ [4] โดยปกติจะมีรูปร่างเป็นแท่งและมีเกลียว แต่สามารถเปลี่ยนเป็นรูปร่างกลมได้เมื่ออยู่ในขณะเพาะเชื้อนอกร่างกาย หรือ ขณะที่ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ เชื้อ *Helicobacter pylori* ยังมีแฟลกเจลลา (flagella) 2-6 เส้นอยู่ที่ปลายด้านหนึ่งของเชื้อ ซึ่งเชื้อใช้แฟลกเจลลาในการเคลื่อนไหวและทำให้เคลื่อนไหวได้อย่างรวดเร็วในสารละลายที่มีความเข้มข้น ดังเช่นชั้นเมือก (mucous layer) ของเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร

สิ่งจำเป็นในการเจริญเติบโตของเชื้อ

เชื้อ *Helicobacter pylori* ต้องการสภาพแวดล้อมแบบ microaerophilic โดยต้องการระดับออกซิเจนที่ 2-5% และต้องการระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ 5-10% และความชื้นสูง เชื้อไม่ต้องการก๊าซไฮโดรเจนแต่ว่าการที่มีก๊าซไฮโดรเจนไม่ทำอันตรายต่อเชื้อ ในห้องปฏิบัติการปกติใช้สภาวะ microaerophilic มาตรฐาน คือ ประกอบด้วย ก๊าซไนโตรเจน 85% ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 10% และ ก๊าซออกซิเจน 5%

การเจริญเติบโตของเชื้อ *Helicobacter pylori* เกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิ 34-40 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 37 องศาเซลเซียส ส่วนระดับความเป็นกรดด่างที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้อยู่ที่ pH 5.5-8 โดยระดับความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมคือ pH ที่เป็นกลาง

ความชุกของเชื้อและการกระจายตามภูมิศาสตร์

ความชุกของเชื้อ *Helicobacter pylori* มีความหลากหลายตามลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน ในประเทศที่กำลังพัฒนา พบการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มากถึง >80% แม้แต่ในประชากรที่อายุน้อย ส่วนในประเทศอุตสาหกรรม พบการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* น้อยกว่า 40% และพบการติดเชื้อในผู้ใหญ่และคนชรามากกว่าในเด็กและวัยรุ่น

นอกจากนั้น ในพื้นที่ทางภูมิศาสตร์เดียวกัน พบว่าความชุกของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ยังมีความสัมพันธ์ผกผันกับสถานะทางสังคมและเศรษฐกิจ [5] โดยเฉพาะสภาวะความเป็นอยู่ในวัยเด็ก คือ พบการติดเชื้อมากในกลุ่มประชากรที่มีฐานะยากจน

ในประเทศที่กำลังพัฒนา ความชุกของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ค่อนข้างคงที่ แต่ความชุกของการติดเชื้อในประเทศอุตสาหกรรมลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องมาจากมีสุขอนามัยในช่วงวัยเด็กดีขึ้น และมีการกำจัดพาหะของเชื้อโดยการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ

ในประเทศที่กำลังพัฒนา อัตราการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* สูงในช่วงอายุ 5 ปีแรก หลังจากนั้นอัตราการติดเชื้อคงที่ บ่งบอกว่า การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เกิดขึ้นตั้งแต่ในวัยเด็ก [6] อย่างไรก็ตาม ในประเทศอุตสาหกรรม อัตราการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* น้อยในช่วงวัยเด็ก แต่จะค่อยๆเพิ่มขึ้นช้าๆเมื่ออายุเพิ่มขึ้น แต่อัตราการติดเชื้อใหม่น้อยกว่า 0.5%ต่อปี [7]

วิธีการติดเชื้อและแหล่งของการติดเชื้อ

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เกิดขึ้นจากการแพร่เชื้อโดยตรงจากคนสู่คน โดยการกินเชื้อที่ปนเปื้อนเข้าไป เชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถตรวจพบได้ในน้ำลาย อาหารที่อาเจียนออกมา สิ่งที่ไหลย้อนขึ้นมาจากกระเพาะ (gastric refluxate) และในอุจจาระ แต่ไม่มีหลักฐานว่าการแพร่เชื้อผ่านทางใดเป็นหลัก

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เกิดในช่วงวัยเด็กเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งน่าจะติดเชื้อจากคนในครอบครัวที่อยู่ใกล้ชิดกันเป็นหลัก [8] จากการศึกษาที่ผ่านมา ไม่พบว่ามีความเสี่ยงของการเป็นพาหะเพิ่มขึ้นในกลุ่มประชากรที่ใกล้ชิดกับผู้ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทั้งในกลุ่มทันตแพทย์ แพทย์ระบบทางเดินอาหาร พยาบาล สามีหรือภรรยาของผู้ติดเชื้อ หรือ ผู้ป่วยที่ไปตรวจในคลินิกโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ [9]

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดกระเพาะอาหารอักเสบในผู้ที่ติดเชื้อทุกรายถ้าทำการตรวจชิ้นเนื้อของกระเพาะอาหารทางพยาธิวิทยา แต่มีเพียงผู้ติดเชื้อบางรายเท่านั้นที่เกิดอาการ

หรือเกิดโรคขึ้นจากการติดเชื้อ โดยพบว่า ผู้ที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีโอกาสเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในช่วงชีวิต (lifetime risk) ประมาณ 10-20% และมีโอกาสเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารประมาณ 1-2% [1-3]

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคนั้นสามารถแบ่งได้เป็น 3 ปัจจัยหลัก [4] ได้แก่

1. ปัจจัยด้านผู้ที่ติดเชื้อ (Host factor) เช่น ความหลากหลายของยีน (gene polymorphism) การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immune response)

2. ปัจจัยด้านเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้แก่ ปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ (virulence factors)

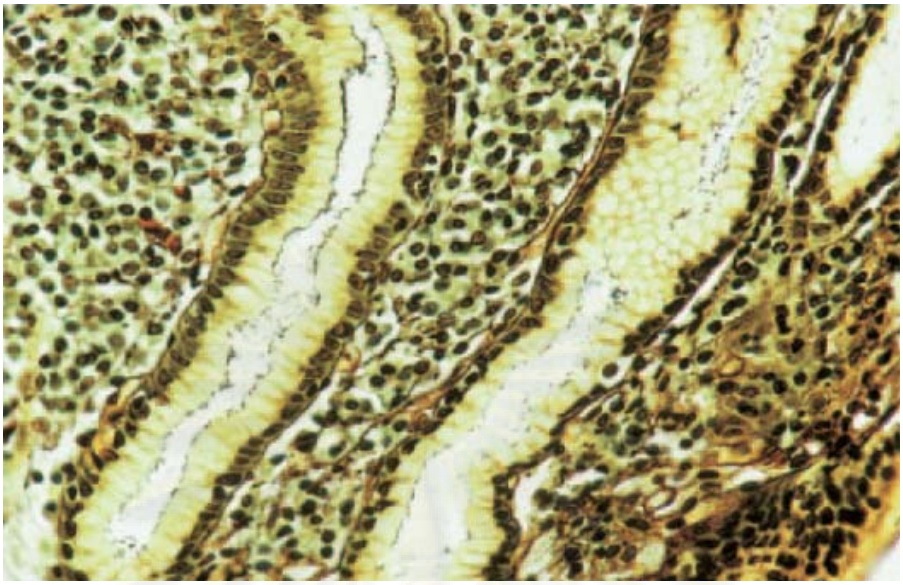
3. ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental factor) เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา การใช้ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) การใช้ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม Proton pump inhibitor (PPI)

<u>โรคกระเพาะอาหารอักเสบ</u>

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดกระเพาะอาหารอักเสบ โดยทำให้มีเซลล์อักเสบกระจายเข้ามาในเยื่อบุผิวกระเพาะอาหารในบริเวณ antrum และ body ของกระเพาะอาหาร โดยเซลล์อักเสบที่พบมีทั้งชนิดนิวโตรฟิล (neutrophil) และชนิดโมโนนิวเคลียร์ (mononuclear cells) ดังรูปที่ 2 การเกิดกระเพาะอาหารอักเสบนี้เป็นพื้นฐานของการเกิดโรคอื่นๆต่อไป

1. โรคกระเพาะอาหารอักเสบเฉียบพลัน

ข้อมูลที่เกี่ยวกับการติดเชื้อในช่วงเฉียบพลันมีน้อย และส่วนใหญ่ได้มาจากการรายงานในอาสาสมัครที่กินเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไป [10] พบว่า หลังจากเกิดการติดเชื้อแล้ว ในช่วงแรกมีอาการ dyspepsia ที่ไม่จำเพาะ ซึ่งจะเกิดขึ้นชั่วคราว และเกิดการอักเสบทั่วไปในกระเพาะอาหาร (pangastritis) ระยะนี้มักจะสัมพันธ์กับภาวะที่มีกรดในกระเพาะอาหารต่ำ (hypochlorhydria) ซึ่งสามารถคงอยู่ได้หลายเดือน ในผู้ติดเชื้อบางรายสามารถกำจัดเชื้อไปได้ และหายจากการเกิดกระเพาะอาหารอักเสบ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าเกิดเหตุการณ์แบบนี้ได้บ่อยเพียงไร



รูปที่ 2 ต่อมของกระเพาะอาหารที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเห็นเป็นเชื้อรูปแท่งสีเข้มเรียงตัวอยู่บนผิวของเยื่อบุกระเพาะอาหาร [4]

2. โรคกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง

เมื่อเกิดการติดเชื้อถาวร พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร และตำแหน่งของการเกิดกระเพาะอักเสบ ดังรูปที่ 3 [4]

Pattern of gastritis	*Gastric histology*	*Duodenal histology*	*Acid secretion*	*Clinical condition*
Pan-gastritis	• Chronic inflammation • Atrophy • Intestinal metaplasia	• Normal	• Reduced	• Gastric ulcer • Gastric cancer
Antral-predominant	• Chronic inflammation • Polymorph activity	• Gastric metaplasia • Active chronic inflammation	• Increased	• Duodenal ulcer

รูปที่ 3 การหลั่งกรดของกระเพาะอาหารและรูปแบบของการเกิดกระเพาะอาหารอักเสบที่สัมพันธ์กันซึ่งเป็นผลจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* [4]

ความสัมพันธ์นี้เกิดจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างกรดกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และ การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกับการอักเสบของเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร ซึ่งปัจจัยต่างๆเหล่านี้เป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิดโรคจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในรูปแบบต่างๆ

ในผู้ติดเชื้อที่มีการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารปกติ เชื้อ *Helicobacter pylori* อาศัยอยู่เฉพาะในบริเวณ antrum ของกระเพาะอาหาร ส่วนในผู้ติดเชื้อที่มีการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารลดลง ไม่ว่าจะด้วยปัจจัยใดก็ตาม เชื้อ *Helicobacter pylori* อาศัยอยู่ทั้งในบริเวณ antrum และ body ของกระเพาะอาหาร โดยจะมีการอักเสบของกระเพาะอาหารที่บริเวณ body เด่นกว่า (corpus-predominant pangastritis) การลดลงของการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารสามารถเกิดจากการที่เกิดภาวะกระเพาะอาหารอักเสบชนิด atrophy (atrophic gastritis) ทำให้มีการสูญเสียเซลล์พาไรทัล (parietal cell) และสามารถเกิดจากการที่เซลล์พาไรทัลถูกยับยั้งการทำงานจากการทำผ่าตัด vagotomy หรือการได้รับยาลดการหลั่งกรด โดยเฉพาะยาในกลุ่ม proton-pump inhibitor (PPI) [11] นอกจากนั้น การเกิดกระเพาะอาหารอักเสบที่บริเวณ body ยังทำให้เพิ่มภาวะที่มีกรดในกระเพาะอาหารต่ำ (hypochlorhydria) อีกด้วย โดยการที่เกิดการอักเสบ จะทำให้มีสารเคมีเฉพาะที่ (local inflammatory factor) เช่น cytokine ซึ่งรวมถึงอินเตอร์ลิวคิน-1เบต้า (IL-1β) โดยสารเคมีเหล่านี้มีผลในการกดการทำงานของเซลล์พาไรทัล จึงทำให้มีการหลั่งกรดลดลง

<u>โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น</u>

นิยามของแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ได้แก่ การที่การทำลายเยื่อบุผิวที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอย่างน้อย 0.5 ซม. และลึกลงไปจนถึงชั้น muscularis mucosa

แผลในกระเพาะอาหารมักเกิดที่บริเวณ lesser curvature ของกระเพาะ โดยเฉพาะบริเวณที่จะเปลี่ยนจากส่วน body ไปเป็น antrum แผลในลำไส้เล็กส่วนต้นมักเกิดที่กระเปาะของดูโอดีนัม (duodenal bulb) ซึ่งเป็นบริเวณที่สัมผัสกับกรดจากกระเพาะอาหารมากที่สุด การเกิดแผลในลำไส้เล็กส่วนต้นมักเกิดในผู้ป่วยอายุ 20-50 ปี ในขณะที่การเกิดแผลในกระเพาะนั้นมักเกิดในผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป

ทั้งแผลในกระเพาะอาหารและแผลในลำไส้เล็กส่วนต้นนั้นมีความสัมพันธ์เป็นอย่างมากกับการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ดังจะเห็นได้จากรายงานทั่วโลกที่พบว่า 95%ของแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น และ 85%ของแผลในกระเพาะอาหาร มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ร่วมด้วย [3] ผู้ที่

ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีโอกาสเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในช่วงชีวิต (lifetime risk) เป็น 3-10 เท่าเมื่อเทียบกับผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อ

หลังจากที่มีการค้นพบยาที่ใช้กำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* แล้ว พบว่า การกำจัดเชื้อนี้ไปทำให้มีการลดลงของการเกิดเป็นแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นซ้ำ โดยที่ก่อนหน้านั้นผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* และมีแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นร่วมด้วย จะมีอัตราการเกิดแผลซ้ำถึง 50% ใน 1 ปี แต่หลังจากที่มียาที่กำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ไปได้ ก็พบอัตราการเกิดแผลซ้ำน้อยมาก ซึ่งทำให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* กับการเกิดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นมากขึ้น

การเกิดแผลที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มักเกิดแผลในบริเวณที่มีการอักเสบรุนแรงที่สุด ในผู้ป่วยที่มีการหลั่งกรดลดลง จึงมักเกิดแผลในบริเวณที่เป็นจุดเปลี่ยนจากกระเพาะอาหารส่วน body ไปเป็น antrum ในผู้ป่วยที่มีการหลั่งกรดปกติหรือเพิ่มขึ้น จะมีการอักเสบมากสุดที่บริเวณกระเพาะอาหารส่วนปลายและดูโอดีนัมส่วนต้น จึงทำให้เกิดแผลในบริเวณนั้น

ทั้งการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* และ การใช้ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ซึ่งถ้าผู้ป่วยที่มีปัจจัยทั้งสองอย่างร่วมกัน จะยิ่งทำให้โอกาสในการเกิดแผลเพิ่มมากขึ้นกว่าการที่มีปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งเพียงอย่างเดียว [12] จึงต้องระมัดระวังการใช้ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์เป็นระยะเวลานานๆในกลุ่มผู้ป่วยที่มีโอกาสติดเชื้อ *Helicobacter pylori* สูง เช่น ในชาวเอเชีย ซึ่งอาจจำเป็นต้องตรวจคัดกรองว่าผู้ป่วยติดเชื้อ *Helicobacter pylori* หรือไม่ และให้การรักษาโดยการกำจัดเชื้อ ก่อนที่จะใช้ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์เป็นระยะเวลานานๆ

<u>โรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล</u> (Nonulcer dyspepsia)

โรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล (Nonulcer dyspepsia) หมายถึง โรคที่มีอาการ dyspepsia แต่ไม่พบมีแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ไม่พบมะเร็งในกระเพาะอาหาร และไม่พบหลอดอาหารอักเสบ พบว่า การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ประโยชน์เล็กน้อยแต่มีนัยสำคัญในผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล [13] และพบว่าประโยชน์ที่ได้นี้คุ้มค่ากับค่าใช้จ่ายที่เสียไป [14] และยังมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า ต้องกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วย 12-15 รายจึงจะสามารถรักษาผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผลได้หายขาด 1 ราย [14] จึงเป็นที่มาของการให้คำแนะนำโดยกลุ่มที่ศึกษาเชื้อ *Helicobacter pylori* ของยุโรป (The

European Helicobacter Study Group or EHSG) ในการประชุมแมสทริคครั้งที่ 3 ในปีพ.ศ. 2550 ว่า การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* นั้นเหมาะสมสำหรับผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* และเป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผลที่ได้ทำการตรวจเพิ่มเติมเพื่อการวินิจฉัยแล้วไม่พบสาเหตุอื่น [15]

โรคกระเพาะอาหารอักเสบชนิด atrophy (atrophic gastritis) ภาวะการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุกระเพาะอาหารไปเป็นเยื่อบุลำไส้ (intestinal metaplasia) และ โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric cancer)

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เรื้อรังนั้น ทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง ซึ่งสามารถทำให้เกิดการสูญเสียเยื่อบุกระเพาะอาหารที่ปกติ และมีการทำลายต่อมในกระเพาะอาหาร ซึ่งต่อมาก็จะมีพังผืดมาแทนที่และเยื่อบุกระเพาะอาหารกลายไปเป็นเยื่อบุที่มีลักษณะเหมือนกับเยื่อบุลำไส้แทน การเปลี่ยนแปลงในลักษณะนี้ก็คือลักษณะของโรคกระเพาะอาหารอักเสบชนิด atrophy (atrophic gastritis) และ ภาวะการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุกระเพาะอาหารไปเป็นเยื่อบุลำไส้ (intestinal metaplasia) ซึ่งพบได้ประมาณครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยเฉพาะในผู้ที่มีการอักเสบและในบริเวณที่มีการอักเสบรุนแรง [16] หลังจากเกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะดังกล่าวเกิดขึ้นแล้วก็จะขยายพื้นที่ของการเปลี่ยนแปลงนี้ออกไปเรื่อยๆ ผู้ป่วยมักจะไม่ค่อยมีอาการจำเพาะใดๆ แต่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ สามารถเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารได้ถึง 5-90 เท่าของคนปกติ ขึ้นอยู่กับขนาดของพื้นที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงและความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงนั้น [17] ซึ่งจากการศึกษาต่างๆก็พบมีหลักฐานสนับสนุน ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* จะเกิดโรคกระเพาะอาหารอักเสบชนิด atrophy (atrophic gastritis) และภาวะการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุกระเพาะอาหารไปเป็นเยื่อบุลำไส้ (intestinal metaplasia) ได้บ่อยกว่าคนปกติ

จากข้อมูลดังกล่าวเบื้องต้น ทำให้ประมาณได้ว่า การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* จะเพิ่มโอกาสเสี่ยงของโรคมะเร็งกระเพาะอาหารได้ถึง 10 เท่า ดังนั้น องค์การอนามัยโลก หรือ WHO (World Health Organization) จึงได้จัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ให้เป็นสารก่อมะเร็ง กลุ่มที่ 1 (class I carcinogen) [18] ความเสี่ยงในการเกิดภาวะ atrophy และ มะเร็งกระเพาะอาหารที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* นั้น มีความเกี่ยวข้องกับทั้งปัจจัยด้านผู้ติดเชื้อและปัจจัยด้านเชื้อเอง ซึ่งทั้งสองปัจจัยนี้ก็จะมีผลต่อความรุนแรงของการเกิดการอักเสบเรื้อรังที่เป็นผลจากการติดเชื้อ มีข้อมูลที่บอกถึงความสัมพันธ์ของความเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นในผู้ที่ติดเชื้อ *Helicobacter*

pylori ชนิดที่มี *cagA* และในผู้ที่ติดเชื้อที่มีแนวโน้มทางพันธุกรรม (genetic predisposition) ที่จะมีการผลิตอินเตอร์ลิวคิน 1 (IL-1) ในปริมาณที่สูง

การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถช่วยชะลอการเกิดการเกิดโรคกระเพาะอาหารอักเสบชนิด atrophy และ ภาวะการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุกระเพาะอาหารไปเป็นเยื่อบุลำไส้ และในบางการศึกษายังพบว่าสามารทำให้การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวที่มีอยู่แล้วนั้นลดลงกว่าเดิมได้หลังการกำจัดเชื้อ [19-23] แต่ผลของการกำจัดเชื้อต่อการป้องกันมะเร็งกระเพาะยังมีการศึกษาน้อยอยู่ บางการศึกษาพบว่า อัตราการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่ได้รับการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* กับกลุ่มยาหลอก (placebo) หลังจากที่ได้ติดตามผลไปเป็นระยะเวลา 4-12 ปีแรกหลังให้การรักษา [20, 22, 24] แต่อย่างไรก็ดี พบว่า การเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารหลังจากที่ได้รับการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ไปแล้วนั้น เกิดเฉพาะในผู้ป่วยที่มีโรคกระเพาะอาหารอักเสบชนิด atrophy และ ภาวะการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุกระเพาะอาหารไปเป็นเยื่อบุลำไส้ ตั้งแต่ก่อนการกำจัดเชื้อ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ผลของการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในแง่ของการป้องกันการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารนั้นจะคาดหวังได้เฉพาะในผู้ติดเชื้อที่ยังไม่เกิดโรคกระเพาะอาหารอักเสบชนิด atrophy และ ภาวะการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุกระเพาะอาหารไปเป็นเยื่อบุลำไส้ ซึ่งถือว่าเป็นความผิดปกติที่เกิดนำมะเร็ง (precancerous lesion) ส่วนในผู้ติดเชื้อที่มีความผิดปกติที่เกิดนำมะเร็งก็จะยังมีโอกาสเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารได้เช่นเดิมแม้จะกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ไปแล้วก็ตาม อย่างไรก็ดี มีหนึ่งการศึกษาที่ให้ผลการศึกษาแตกต่างจากการศึกษาข้างต้น โดยพบว่า การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีผลต่อการป้องกันการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารอย่างมีนัยสำคัญ [25] โดยการศึกษานี้ทำในประเทศญี่ปุ่นซึ่งมีอัตราการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารสูง มีผู้ป่วยทั้งหมด 1,120 ราย ติดตามหลังการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ไประยะเวลาเฉลี่ย 3.4 ปี (พิสัย 1-8 ปี) พบว่า เกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร ในผู้ป่วยที่กำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ไปแล้ว 8 รายใน 944 ราย เทียบกับ ในผู้ป่วยที่ยังคงมีการติดเชื้ออยู่ซึ่งเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร 4 ราย ใน 176 ราย ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.04 (P = 0.04) และพบว่า ผู้ป่วยที่เกิดมะเร็งกระเพาะอาหารในการศึกษานี้ทุกรายเคยมีแผลในกระเพาะอาหารมาก่อนทั้งสิ้น แต่ไม่เกิดในผู้ป่วยที่เคยมีแผลในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม

<u>โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองของกระเพาะอาหารชนิด MALT</u> (Gastric MALT lymphoma)

ในภาวะปกติ เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารจะไม่มีเนื้อเยื่อของต่อมน้ำเหลือง (lymphoid tissue) แต่ในโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองของกระเพาะอาหารชนิด MALT นั้น เกือบทุกรายจะพบการติดเชื้อ

Helicobacter pylori [26] และพบว่าการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ก็เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารอย่างมีนัยสำคัญด้วย [27] แต่เนื่องจากการวินิจฉัยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองของกระเพาะอาหารชนิด MALT นั้นยังมีหลักเกณฑ์การวินิจฉัยแตกต่างกันไปและโรคนี้ก็พบได้น้อย จึงทำให้ไม่สามารถทราบอัตราการเกิดโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองของกระเพาะอาหารชนิด MALT ที่แท้จริงในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เพียงแต่ทราบว่า โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองของกระเพาะอาหารชนิด MALT เกิดน้อยกว่า 1% ในผู้ที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* [28]

การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถรักษาโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองของกระเพาะอาหารชนิด MALT ระยะที่ 1E ได้ โดยทำให้เกิดการตอบสนองอย่างสมบูรณ์ (complete remission) ได้ในรายงานผู้ป่วยหลายรายงาน [29-32] แต่ยังไม่มีการศึกษาที่เป็นการศึกษาแบบสุ่มที่มีกลุ่มควบคุม (randomized-controlled trial) โดยรวมแล้ว การกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถรักษาโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองของกระเพาะอาหารชนิด MALT โดยทำให้เกิดการตอบสนองอย่างสมบูรณ์ได้ 60-80% และอีก 10% ยังคงมีโรคมะเร็งหลงเหลืออยู่เล็กน้อย ในกลุ่มที่มีการตอบสนองอย่างสมบูรณ์นั้น มี 10-35% ที่พบมีการกลับเป็นซ้ำของโรคในช่วงที่มาตรวจติดตาม

<u>โรคกรดไหลย้อน</u> (GERD)

เดิมมีความเชื่อว่าโรคกรดไหลย้อนและการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ไม่เกี่ยวข้องกัน แต่จากการศึกษาในระยะเวลาต่อมาพบว่า การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* อาจจะส่งผลให้เกิดการป้องกันการเกิดโรคกรดไหลย้อนได้ เนื่องจากพบว่า ความชุกของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยโรคกรดไหลย้อนนั้นต่ำ โดยเฉพาะผู้ที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่มีความรุนแรงสูง [33] แนวโน้มความชุกของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ตามช่วงเวลาและสถานที่ซึ่งตรงข้ามกับโรคกรดไหลย้อน อัตราการเกิดโรคกรดไหลย้อนเพิ่มขึ้นหลังจากกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ไปแล้ว [34] และ การที่การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดการอักเสบบริเวณ body ของกระเพาะอาหารแล้วทำให้การหลั่งกรดในกระเพาะอาหารลดลง จึงมีการตั้งสมมติฐานว่า การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดการอักเสบบริเวณ body ของกระเพาะอาหารแล้วทำให้การหลั่งกรดในกระเพาะอาหารลดลง ทำให้ป้องกันการเกิดโรคกรดไหลย้อนที่รักษายาก แต่ยังไม่มีหลักฐานว่าการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีผลต่อการเกิดโรคกรดไหลย้อนขึ้นมาใหม่ [35] หรือ ทำให้โรคกรดไหลย้อนที่มีอยู่เดิมแย่ลง [19, 23, 36]

ดังนั้น การตัดสินใจในการให้การรักษาการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* จึงไม่ควรคำนึงถึงความเสี่ยงในการเกิดโรคกรดไหลย้อนหรือการที่ทำให้โรคกรดไหลย้อนแย่ลง เนื่องจากยังไม่มีหลักฐานแน่ชัด

<u>โรคอื่นๆที่นอกเหนือจากโรคของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก</u> (Extragastroduodenal disorders)

การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีความสัมพันธ์กับโรคอื่นที่อยู่นอกระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ โรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน (coronary heart disease) โรคผิวหนัง เช่น rosacea และ โรคลมพิษที่ไม่ทราบสาเหตุ (idiopathic urticaria) โรคธัยรอยด์ที่เกิดจากภูมิคุ้มกันของตนเอง (autoimmune thyroid disease) และมีจ้ำเลือดจากการที่มีเกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenic purpura) โรคเลือดจางจากการขาดเหล็ก (iron deficiency anemia) ภาวะเรย์โนด์ (Raynaud's phenomenon) โรคหนังแข็ง (scleroderma) โรคปวดศีรษะไมเกรน (migraine) โรค Guillain-Barre syndrome และโรคจ้ำเลือดจากการที่มีเกล็ดเลือดต่ำแบบไม่ทราบสาเหตุ (idiopathic thrombocytopenic purpura)

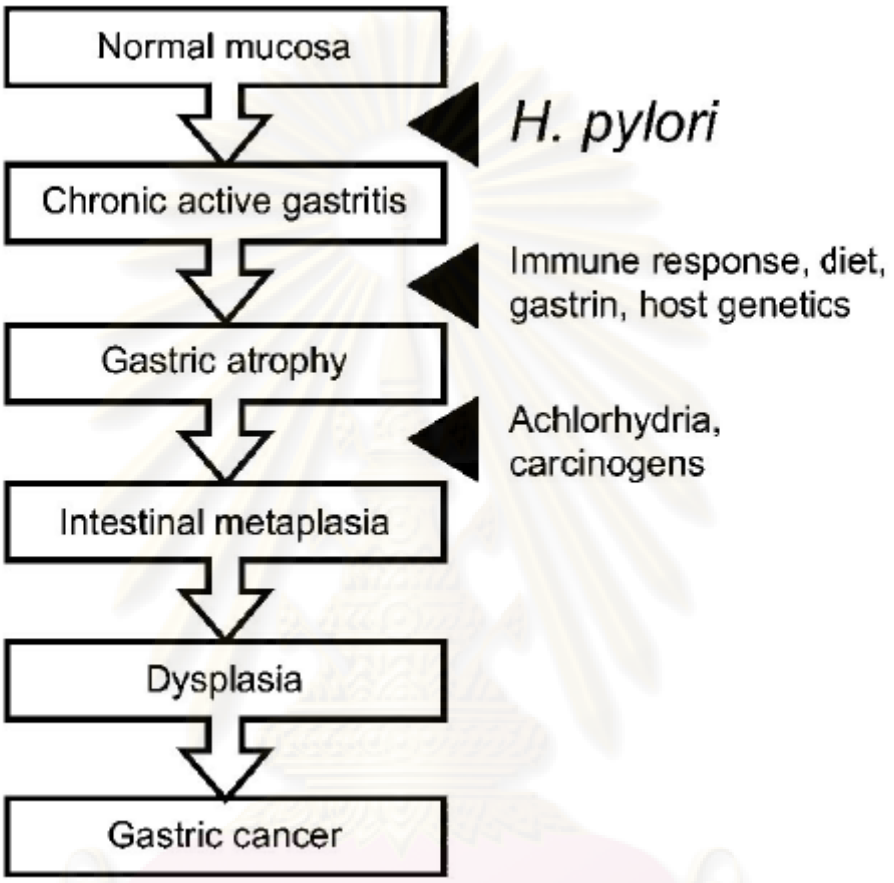
สมมติฐานของกลไกที่ทำให้การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีความเกี่ยวข้องกับโรคเหล่านี้ ได้แก่ การที่มีการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือด (coagulation cascade) อยู่ในระดับต่ำๆ อย่างเรื้อรัง การเร่งการเกิดการแข็งตัวของหลอดเลือด (atherosclerosis) และการที่มีความเหมือนกันของแอนติเจนระหว่างเชื้อ *Helicobacter pylori* กับแอนติเจนของผู้ป่วย ทำให้เกิดภาวะที่มีการสร้างภูมิคุ้มกันมาทำลายเซลล์ของตนเอง [37]

ดังนั้น การตรวจหาเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยที่เป็นโรคดังกล่าวข้างต้น แล้วให้การรักษาโดยการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* จึงเป็นสิ่งที่ควรพิจารณาทำควบคู่ไปกับการรักษาอื่นๆ ของโรคนั้น

พยาธิสภาพของการติดเชื้อ

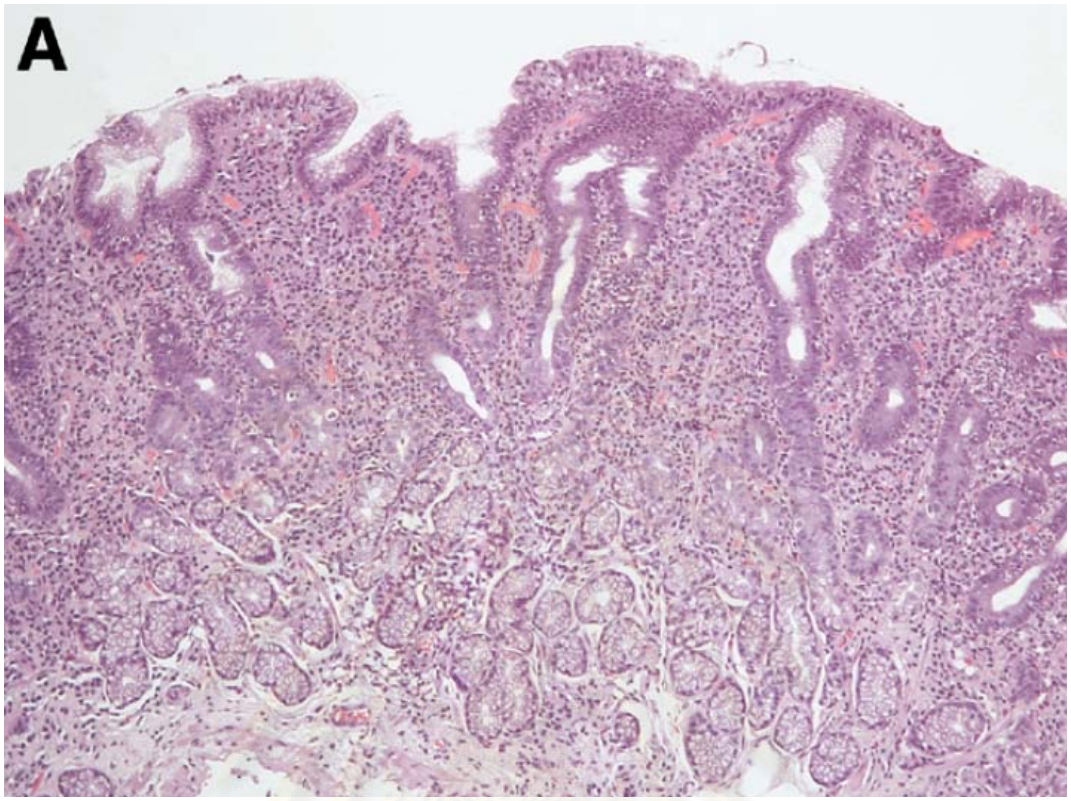
การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดความผิดปกติของกระเพาะอาหารเป็นลำดับ จากความรุนแรงน้อยไปจนถึงความรุนแรงมากขึ้น โดยลำดับขั้นของการดำเนินโรคนี้ได้มีการนำเสนอเป็น

ครั้งแรกโดย Correa และคณะ [38] ดังแสดงในรูปที่ 4 ซึ่งต่อมาได้มีผู้ทำการศึกษาอีกหลายการศึกษาซึ่งสนับสนุนลำดับขั้นดังกล่าว



รูปที่ 4 ลำดับขั้นของการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารโดยแสดงบทบาทของเชื้อ *Helicobacter pylori* และปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดมะเร็ง ดัดแปลงจากลำดับขั้นที่สร้างโดย Correa และคณะ [38]

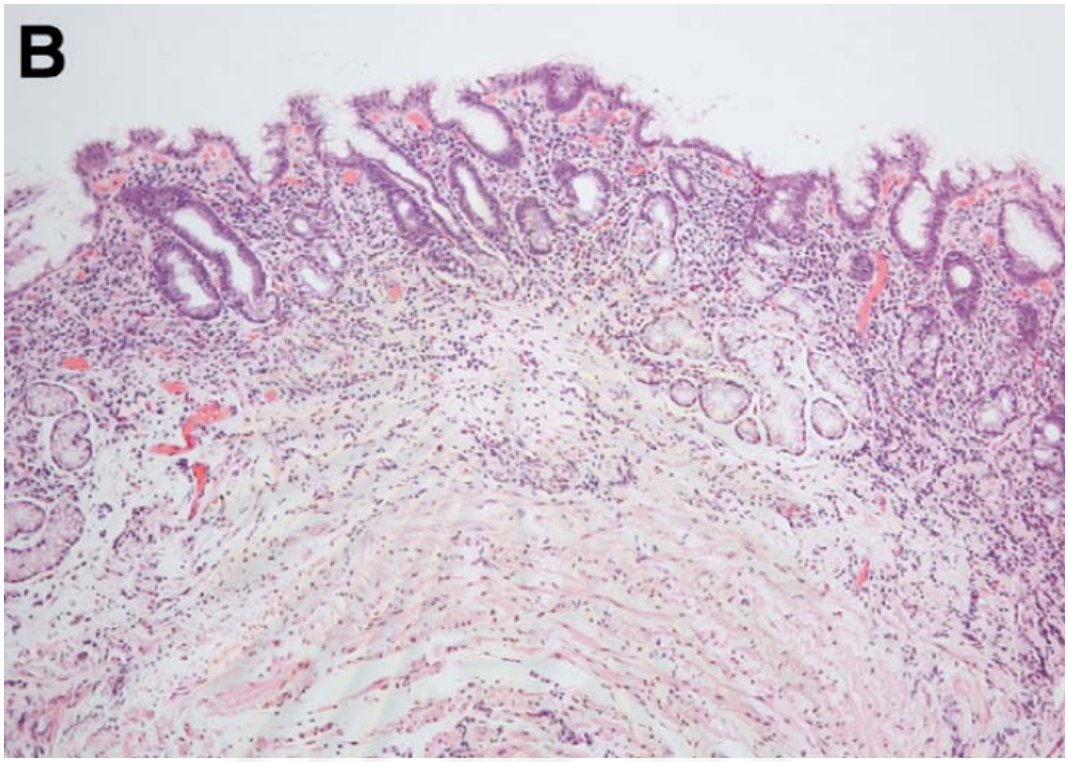
ลำดับขั้นของการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร เริ่มจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร โดยเฉพาะการกระตุ้นการอักเสบที่ผ่านทางลิมโฟไซต์ชนิด Th1 (Th1 lymphocyte) หลังจากการเกิดกระเพาะอักเสบแบบเฉียบพลันแล้วก็จะเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังโดยมีการอักเสบเฉียบพลันเป็นระยะ (chronic active gastritis) ดังแสดงในรูปที่ 5 ซึ่งจะเกิดตลอดชีวิตตราบที่ยังมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* อยู่ [16] ในระยะนี้ผู้ที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* อาจจะไม่ทราบว่ามีการอักเสบเกิดขึ้น เนื่องจากมักไม่มีอาการ



รูปที่ 5 กระเพาะอาหารอักเสบแบบ nonatrophic (nonatrophic gastritis) เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารส่วน antrum มีเม็ดเลือดขาวชนิด mononuclear กระจายอยู่ และต่อมในชั้นใต้เยื่อบุผิวยังไม่ถูกทำลาย [39]

การกระตุ้นการอักเสบที่ผ่านทางลิมโฟไซต์ชนิด Th1 เป็นหลักนั้นก็เพื่อที่จะกำจัดการติดเชื้อภายในเซลล์ (intracellular infection) แต่เนื่องจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* นั้นไม่ใช่เป็นการติดเชื้อภายในเซลล์ ดังนั้นผลที่เกิดขึ้น คือ เกิดการทำลายเซลล์เยื่อบุผิวแทน ดังแสดงในรูปที่ 6

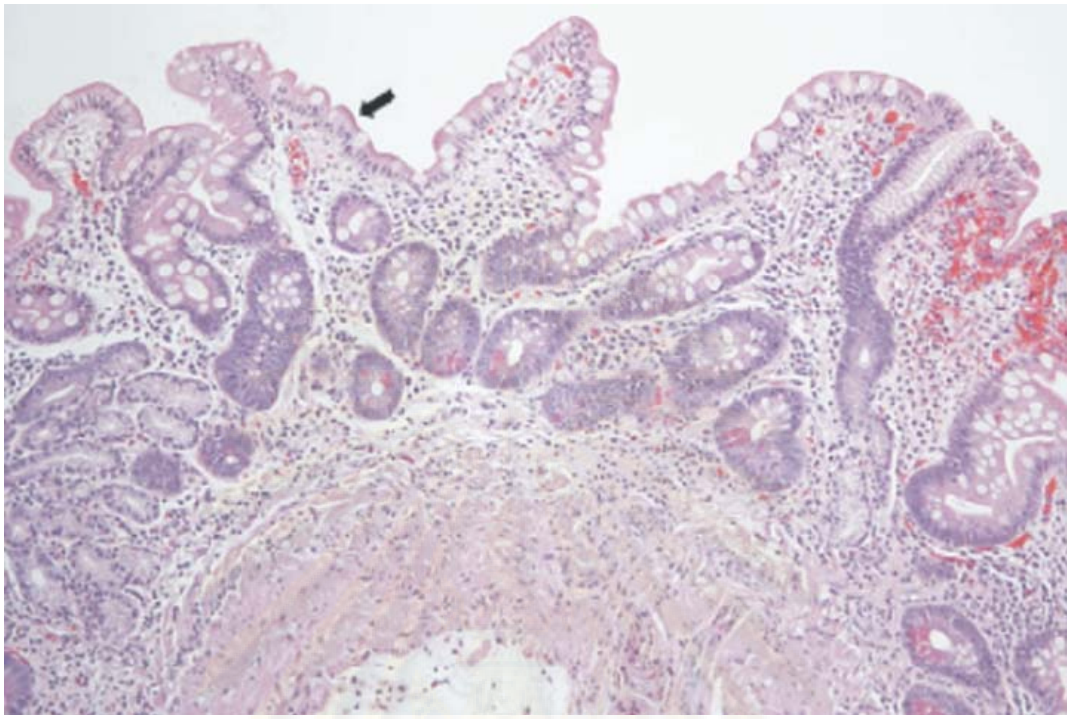
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6 กระเพาะอาหารอักเสบแบบ multifocal atrophic (multifocal atrophic gastritis) เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารส่วน antrum มีเม็ดเลือดขาวชนิด mononuclear กระจายอยู่ และกระจายลึกลงไปใต้ชั้นเยื่อบุผิว และต่อมในชั้นใต้เยื่อบุผิวถูกทำลายไปจนเกือบหมดแล้วถูกแทนที่โดยเนื้อเยื่อพังผืด (fibrous tissue) [39]

การที่ยังมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* อยู่นั้นก็จะเป็นการกระตุ้นการอักเสบไปตลอดชีวิต ทำให้เยื่อบุผิวกระเพาะค่อยๆเหี่ยวไปเรื่อยๆ แล้วจึงมีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผิวไปเป็นแบบเยื่อบุผิวของลำไส้แทน (intestinal metaplasia) ดังแสดงในรูปที่ 7 การอักเสบที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องยังทำให้มีการผลิตสาร reactive oxygen species ซึ่งทำให้เกิดการทำลาย ดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนทำให้เกิดมะเร็งในที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 กระเพาะอาหารอักเสบแบบ multifocal atrophic (multifocal atrophic gastritis) และมีบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผิวไปเป็นแบบเยื่อบุผิวของลำไส้ (intestinal metaplasia) โดยมีเซลล์เยื่อบุผิวที่มีขอบเหมือนขนแปรง (brush border) ที่สามารถดูดซึมอาหารได้เหมือนกับที่พบในเยื่อบุผิวของลำไส้ [39]

การวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

วิธีการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* นั้น สามารถแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ การวินิจฉัยที่ต้องการการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น และ การวินิจฉัยที่ไม่ต้องการการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น ซึ่งแต่ละกลุ่มก็จะประกอบด้วยวิธีการวินิจฉัยหลายวิธี ยังไม่มีวิธีการวินิจฉัยใดที่เป็นการวินิจฉัยที่ดีสมบูรณ์แบบ (gold standard) [40] การเลือกวิธีการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* นั้นต้องอาศัยอาการทางคลินิก ความน่าจะเป็นของการติดเชื้อ (pretest probability) และวิธีการวินิจฉัยที่สามารถหาได้ รวมทั้งราคาของการตรวจนั้นๆ มาช่วยในการตัดสินใจเลือกวิธีการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่เหมาะสมกับผู้ป่วยเป็นรายๆไป

การวินิจฉัยที่ต้องการการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น

1. การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา

ทำโดยการตัดชิ้นเนื้อของกระเพาะอาหารทางกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น แล้วนำไปตรวจทางพยาธิวิทยา จะสามารถตรวจพบการอักเสบของกระเพาะอาหารและสามารถพบเห็นตัวเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้โดยตรง ข้อดี คือ มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ดี (>95%) และสามารถทราบประเมินความรุนแรงของการอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้ ข้อเสีย คือ ราคาแพง ความไวและความถูกต้องขึ้นอยู่กับ จำนวนและปริมาณชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารที่ส่งตรวจ บริเวณของกระเพาะอาหารที่ตัดชิ้นเนื้อ คุณภาพของการย้อมสี และความเชี่ยวชาญของผู้อ่านผลชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา รวมทั้ง ความไวของการตรวจจะลดลงถ้าผู้ป่วยได้รับยาบางชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะ ยา bismuth และ ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม PPI (proton pump inhibitor) เป็นต้น

ดังนั้นจึงมีคำแนะนำให้ตัดชิ้นเนื้อของกระเพาะอาหารอย่างน้อย 3 ชิ้น โดยหนึ่งชิ้นจากบริเวณ angularis หนึ่งชิ้นจากบริเวณ greater curvature ของ corpus และอีกหนึ่งชิ้นจากบริเวณ greater curvature ของ antrum เพื่อที่จะให้ได้การวินิจฉัยที่ถูกต้องให้มากที่สุด [41] การเพิ่มการตัดชิ้นเนื้อจากส่วน corpus ทำให้สามารถตรวจพบการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้เพิ่มขึ้นอีกประมาณ 10% เมื่อเทียบกับการตัดชิ้นเนื้อเฉพาะบริเวณ antrum เพียงอย่างเดียว [42]

2. การตรวจชิ้นเนื้อโดยใช้ rapid urease test

สามารถตรวจพบการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่กำลังมีการติดเชื้ออยู่ได้ (active infection) โดยวิธีนี้จะอาศัยการทำงานของเอนไซม์ยูรีเอส (urease) ของเชื้อ หลังจากตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารทางกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นแล้ว นำชิ้นเนื้อวางบนเจล (agar gel) หรือแถบตรวจ (reaction strip) ที่มีสารยูเรีย (urea) และสารที่เปลี่ยนสีตามค่าความเป็นกรดด่าง (pH-sensitive indicator) อยู่ ถ้าในชิ้นเนื้อมีเอนไซม์ยูรีเอสจากเชื้อ *Helicobacter pylori* อยู่ ยูเรียก็จะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (ammonia) และไบคาร์บอเนต (bicarbonate) ซึ่งจะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างสูงขึ้น ซึ่งจะเปลี่ยนสีของสารที่เปลี่ยนสีตามค่าความเป็นกรดด่าง ทำให้สามารถเห็นสีของเจลหรือแถบตรวจเปลี่ยนไป ทำให้ทราบว่ามีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ชุดตรวจ rapid urease test ที่มีขายอยู่นั้นจะอ่านผลได้ตั้งแต่ 1-24 ชั่วโมง

ความไวของวิธีการตรวจวิธีนี้ >90% และ ความจำเพาะ >95% [43, 44] ยาที่สามารถลดปริมาณหรือความสามารถของเอนไซม์ยูรีเอสของเชื้อ *Helicobacter pylori* เช่น ยาปฏิชีวนะ ยา bismuth และ ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม PPI (proton pump inhibitor) เป็นต้น สามารถลดความไวของการตรวจด้วยวิธีนี้ได้ถึง 25% [43] และการเกิดเลือดออกจากแผลในกระเพาะอาหารอาจจะลดความไวและค่า negative predictive value ของการตรวจด้วยวิธีนี้ได้เช่นกัน [45-47]

ข้อดีของการตรวจวิธีนี้ คือ ราคาถูก ทำได้ง่าย ได้ผลค่อนข้างรวดเร็ว และไม่ขึ้นอยู่กับความชำนาญของผู้ตรวจ ทำให้วิธีนี้เป็นที่นิยมใช้ในทางคลินิก

3. การเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori*

เป็นอีกวิธีที่มีความจำเพาะสูง และยังสามารถบอกความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย [48] แต่เนื่องจากในทางปฏิบัติ การเพาะเชื้อมีความไวต่ำกว่าการตรวจชิ้นเนื้อโดยใช้ rapid urease test และการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา [49, 50] ความไวของการตรวจจะลดลงถ้าผู้ป่วยได้รับยาบางชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะ ยา bismuth และ ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม PPI (proton pump inhibitor) เป็นต้น นอกจากนั้น การเพาะเชื้อยังมีค่าใช้จ่ายสูงและยังต้องใช้เครื่องมือ และบุคลากรในการตรวจที่เฉพาะ จึงทำให้ห้องตรวจปฏิบัติการที่เพาะเชื้อได้มีจำกัด ทำให้เป็นข้อเสียของการตรวจด้วยวิธีนี้ ขณะนี้ยังไม่มีวิธีการตรวจความไวของเชื้อต่อ ยาปฏิชีวนะด้วยวิธีอื่นที่ไม่ต้องเพาะเชื้อ

4. การตรวจโดยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction)

เป็นวิธีที่เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ (DNA amplification) โดยการสร้างสายดีเอ็นเอที่ต้องการที่จำเพาะต่อเชื้อ *Helicobacter pylori* วิธีนี้มีความจำเพาะสูง และอาจจะมีความไวกว่าวิธีตรวจวินิจฉัยที่ต้องการการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นวิธีอื่น มีการศึกษาในปีพ.ศ. 2549 [51] ที่พบว่า การตรวจด้วยวิธี PCR สามารถที่จะตรวจพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ในชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารของผู้ป่วยที่เป็นกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรังได้ถึง 20% โดยที่การตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยาตรวจไม่พบเชื้อ แต่ถึงอย่างไรก็ดี ความไวของการตรวจด้วยวิธีนี้จะลดลงเช่นเดียวกับการตรวจด้วย 3 วิธีดังกล่าวข้างต้น ถ้าผู้ป่วยได้รับยาบางชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะ ยา bismuth และ ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม PPI (proton pump inhibitor) เป็นต้น

นอกจากนั้น การตรวจด้วยวิธีนี้ ยังสามารถตรวจการกลายพันธุ์ของเชื้อ ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Helicobacter pylori* อีกด้วย [52-54] แม้ว่าในปัจจุบันการตรวจด้วยวิธีนี้ยังจำกัดอยู่แต่เฉพาะในการวิจัย เนื่องจากต้องใช้เครื่องมือเฉพาะและบุคลากรที่เชี่ยวชาญ แต่ในอนาคตการตรวจด้วยวิธีนี้น่าจะสามารถนำมาใช้ในทางคลินิกได้ ซึ่งจะทำให้สามารถนำมาใช้ตรวจหาเชื้อ ความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ และการตรวจหาปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อได้ [55]

<u>การวินิจฉัยที่ไม่ต้องการการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น</u>

1. การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Helicobacter pylori* (Antibody testing)

เป็นการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG (Immunoglobulin G) ที่จำเพาะต่อเชื้อ *Helicobacter pylori* ในเลือดหรือในปัสสาวะ ซึ่งแอนติบอดีชนิด IgG นี้ จะสามารถตรวจพบได้หลังการติดเชื้อประมาณ 21 วัน และจะยังคงอยู่ได้หลังการกำจัดเชื้อไปแล้วเป็นระยะเวลานาน [56] การตรวจแอนติบอดีด้วยวิธีนี้สามารถตรวจด้วยวิธีวัดปริมาณ (quantitative test) โดยใช้ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) และวิธี latex agglutination หรือตรวจด้วยวิธีทางคุณภาพ (qualitative test) โดยใช้ชุดทดสอบ ข้อดีของการตรวจด้วยวิธีนี้ คือ ราคาถูก สามารถตรวจได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป และได้ผลเร็ว แต่ข้อจำกัดคือ ความไวและความจำเพาะของการตรวจน้อยกว่าวิธีอื่นข้างต้น คือ ความไว 85% และ ความจำเพาะ 79% [57] ความชุกของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ยังมีผลต่อค่า positive predictive value ของการตรวจด้วย โดย ถ้าความชุกน้อย จะทำให้ค่า positive predictive value ของการตรวจน้อยตามไปด้วย [58]

นอกจากนั้น การใช้การตรวจแอนติบอดีที่ผลิตจากแอนติเจนของเชื้อในประเทศแถบใดแถบหนึ่งของโลกยังอาจจะได้ผลการตรวจที่ไม่ดีถ้านำไปใช้ตรวจผู้ป่วยที่มาจากประเทศแถบอื่น [49, 59] แสดงว่า การตรวจด้วยวิธีนี้ต้องการการตรวจสอบความถูกต้องเฉพาะท้องถิ่นด้วย (local validation) ข้อเสียอีกอย่างของการตรวจแอนติบอดี คือ ไม่สามารถใช้ตรวจหลังจากที่ได้ให้การรักษาโดยการกำจัดเชื้อไปแล้ว เนื่องจากยังสามารถตรวจพบแอนติบอดีได้อยู่แม้จะกำจัดเชื้อไปแล้วก็ตาม

2. การตรวจหายูเรียในลมหายใจ (Urea breath test or UBT)

วิธีนี้จะอาศัยการทำงานของเอนไซม์ยูรีเอส (urease) ของเชื้อ เช่นเดียวกับการตรวจด้วยวิธี rapid urease test วิธีตรวจจะเริ่มด้วยการให้ผู้ป่วยกินยูเรีย ซึ่งติดคาร์บอน 13 (^{13}C) ที่ไม่ได้เป็นสาร

กัมมันตรังสี หรือติดคาร์บอน 14 (^{14}C) ที่เป็นสารกัมมันตรังสี ถ้าผู้ป่วยมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เชื้อก็จะใช้เอนไซม์ยูรีเอสย่อยยูเรีย ทำให้ได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาในลมหายใจ ซึ่งสารคาร์บอนในก๊าซนี้ก็จะเป็นคาร์บอนที่สามารถตรวจวัดได้ในลมหายใจออกของผู้ป่วยนั่นเอง [60, 61] ถึงแม้ว่าปริมาณรังสีในการตรวจหายูเรียในลมหายใจโดยใช้คาร์บอน 14 จะมีปริมาณน้อยกว่าการได้รับรังสีในชีวิตประจำวันก็ตาม [60] ควรจะหลีกเลี่ยงการใช้คาร์บอน 14 ในการตรวจผู้ป่วยที่เป็นเด็กและผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์ โดยเลือกใช้คาร์บอน 13 แทน [61]

โดยรวมแล้ว การใช้สารคาร์บอนทั้งสองชนิดให้ความไวและความจำเพาะของการตรวจด้วยวิธีนี้เท่ากัน โดยทั้งความไวและความจำเพาะของการตรวจมากกว่า 95% [60, 61] การตรวจด้วยวิธีนี้ยังใช้ตรวจสอบผลการรักษาด้วยวิธีการกำจัดเชื้อได้อีกด้วย [62, 63] ยาที่สามารถลดปริมาณหรือความสามารถของเอนไซม์ยูรีเอสของเชื้อ *Helicobacter pylori* เช่น ยาปฏิชีวนะ ยา bismuth และยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม PPI (proton pump inhibitor) เป็นต้น สามารถลดความไวของการตรวจด้วยวิธีนี้ได้ จึงแนะนำให้หยุดยาปฏิชีวนะหรือยา bismuth ก่อนการตรวจอย่างน้อย 28 วัน และหยุดยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม PPI ก่อนการตรวจ 7-14 วัน [64, 65] ส่วนยากลุ่ม H2-receptor antagonist นั้นยังไม่ได้ข้อสรุปว่ามีผลต่อความไวของการตรวจด้วยวิธีนี้หรือไม่ แต่ส่วนใหญ่ก็จะแนะนำให้หยุดยานี้ก่อนทำการตรวจ 24-48 ชั่วโมง [66, 67]

ข้อจำกัดของการตรวจวิธีนี้ คือ ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะ บุคลากรที่มีความชำนาญ ราคาแพง และยังอาจได้รับรังสีด้วย จึงทำให้มีการตรวจอยู่เฉพาะในห้องปฏิบัติการบางแห่งเท่านั้น

3. การตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระ (Fecal antigen test)

ใช้การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในอุจจาระโดยวิธี enzyme immunoassay โดยใช้แอนติบอดีต่อเชื้อที่เป็นชนิด polyclonal (polyclonal anti-*Helicobacter pylori* antibody) และชนิด monoclonal ดังนั้น การตรวจด้วยวิธีนี้ สามารถตรวจหาการติดเชื้อที่ยังคงมีอยู่ในขณะนั้น และสามารถใช้ตรวจติดตามหลังจากการให้ยากำจัดเชื้อไปแล้วได้ด้วย มีการทบทวนการศึกษาที่เกี่ยวกับคุณสมบัติของการตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระ ซึ่งผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 1 [68] การตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระโดยใช้แอนติบอดีชนิด polyclonal มีความไว ความจำเพาะ positive predictive value และ negative predictive value ดีมากในการตรวจก่อนการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่ความไว และ positive predictive value จะลดลงหลังจากการกำจัดเชื้อ ส่วนการตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระโดยใช้แอนติบอดีชนิด monoclonal มี

ความไว ความจำเพาะ positive predictive value และ negative predictive value มากกว่า 90% ทั้งก่อนและหลังการกำจัดเชื้อ

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของการตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระ [68]

	# Studies / # Patients	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Pretreatment					
Polyclonol	89/10,858	91	93	92	87
Monoclonol	8/1,399	96	97	96	97
Posttreatment					
Polyclonol	39/3,147	86	92	76	93
Monoclonol	6/418	95	97	91	98

PPV = positive predictive value; NPV = negative predictive value.

องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Admistration) และรายงานการประชุมของยุโรป (European “Maastricht 2-2000 Consensus Report) ได้จัดให้การตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระ เป็นทางเลือกหนึ่ง (alternative means) ของการตรวจผลการตอบสนองต่อการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* นอกจากการตรวจยูเรียทางลมหายใจ [69] โดยมีข้อมูลว่าควรตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระหลังจากเสร็จสิ้นการกำจัดเชื้ออย่างน้อย 4 สัปดาห์ หรืออาจนานถึง 8-12 สัปดาห์ เพื่อที่จะได้มีประสิทธิภาพในการยืนยันผลการกำจัดเชื้อ [68]

ความไวของการตรวจจะลดลงเช่นเดียวกับการตรวจยูเรียทางลมหายใจถ้าผู้ป่วยได้รับยาบางชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะ ยา bismuth และ ยาลดกรดในกระเพาะอาหารกลุ่ม PPI (proton pump inhibitor) เป็นต้น [70, 71] และยังมีการศึกษาต่อมาพบว่า ความจำเพาะของการตรวจนี้ลดลงในกรณีที่มีเลือดออกจากแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น จึงไม่ควรใช้การตรวจนี้วินิจฉัยผู้ป่วยที่มาในลักษณะนี้ [72, 73]

แม้ว่าการตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระเป็นวิธีที่ง่าย แต่ไม่ค่อยใช้กันแพร่หลายเนื่องจากความลำบากใจในการจัดเก็บอุจจาระเพื่อใช้ในการตรวจ และห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิธีนี้ได้ยังมีจำกัด

โดยสรุปแล้ว วิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* มีหลายวิธี ยังไม่มีวิธีใดเพียงวิธีเดียวที่เหมาะสมกับผู้ป่วยทุกคน การเลือกใช้วิธีตรวจวินิจฉัยวิธีใดจึงขึ้นอยู่กับเป้าหมายใน

การตรวจ ลักษณะของผู้ป่วย วิธีตรวจวินิจฉัยที่กระทำได้ในพื้นที่นั้น ราคาของวิธีการตรวจ และข้อจำกัดของวิธีตรวจแต่ละวิธี ดังแสดงในตารางที่ 2 [40] ซึ่งต้องใช้แต่ละปัจจัยดังกล่าวในการเลือกใช้วิธีการตรวจวินิจฉัยให้เหมาะสมกับผู้ป่วยเป็นรายๆไป

ตารางที่ 2 วิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* [40]

Endoscopic Testing	Advantages	Disadvantages
*1. Histology	Excellent sensitivity and specificity	Expensive and requires infrastructure and trained personnel
*2. Rapid urease testing	Inexpensive and provides rapid results. Excellent specificity and very good sensitivity in properly selected patients	Sensitivity significantly reduced in the posttreatment setting
*3. Culture	Excellent specificity. Allows determination of antibiotic sensitivities	Expensive, difficult to perform, and not widely available. Only marginal sensitivity
*4. Polymerase chain reaction	Excellent sensitivity and specificity. Allows determination of antibiotic sensitivities	Methodology not standardized across laboratories and not widely available
Nonendoscopic Testing	**Advantages**	**Disadvantages**
1. Antibody testing (quantitative and qualitative)	Inexpensive, widely available, very good NPV	PPV dependent upon background *H. pylori* prevalence. Not recommended after *H. pylori* therapy
*2. Urea breath tests (^{13}C and ^{14}C)	Identifies active *H. pylori* infection. Excellent PPV and NPV regardless of *H. pylori* prevalence. Useful before and after *H. pylori* therapy	Reimbursement and availability remain inconsistent
*3. Fecal antigen test	Identifies active *H. pylori* infection. Excellent positive and negative predictive values regardless of *H. pylori* prevalence. Useful before and after *H. pylori* therapy	Polyclonal test less well validated than the UBT in the posttreatment setting. Monoclonal test appears reliable before and after antibiotic therapy. Unpleasantness associated with collecting stool

*The sensitivity of all endoscopic and nonendoscopic tests that identify active *H. pylori* infection is reduced by the recent use of PPIs, bismuth, or antibiotics
PPI = proton pump inhibitor; PPV = positive predictive value; NPV = negative predictive value; UBT = urea breath test.

พยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

<u>บทบาทของปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ *Helicobacter pylori* </u>(virulence factors)

ปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ *Helicobacter pylori* (virulence factors) อาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ [74] คือ

1. ปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการสร้างโคโลนีของเชื้อ (colonization factors)

1.1. แฟลกเจลลา (flagella) ช่วยในการเคลื่อนที่

1.2. เอนไซม์ยูรีเอส (urease) ช่วยส่งเสริมการสร้างโคโลนีแต่ไม่จำเป็นต้องมีก็สามารถสร้างโคโลนีได้

1.3. ปัจจัยที่ช่วยในการยึดเกาะ (adherence factors)

2. ปัจจัยที่มีผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อ (tissue injury)

2.1. Lipopolysaccharide

2.2. ปัจจัยที่ทำให้เม็ดเลือดขาวมารวมกลุ่มและกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว (leukocyte recruitment and activating factors)

2.3. Vacuolating cytotoxin (VacA)

2.4. Cytotoxin-associated antigen (CagA)

2.5. Outer membrane inflammatory protein (OipA)

2.6. Heat shock proteins (HspA, HspB)

<u>ปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการสร้างโคโลนีของเชื้อ</u> (colonization factors)

ปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการสร้างโคโลนีของเชื้อนี้ ช่วยให้เชื้อสามารถอยู่ในกระเพาะอาหารได้และต่อต้านความพยายามของร่างกายที่จะกำจัดเชื้อออกไป

1. การเคลื่อนไหวโดยใช้แฟลกเจลลา

การที่เชื้อ *Helicobacter pylori* มีแฟลกเจลลาและมีรูปร่างเป็นเกลียว ทำให้เชื้อสามารถเคลื่อนที่ไปได้อย่างรวดเร็ว จากในช่องว่างของกระเพาะซึ่งมีความเป็นกรดสูง ไปยังชั้นเมือกของกระเพาะซึ่งมีความเป็นกรดต่ำจนเกือบจะเป็นกลาง ทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้อย่างเหมาะสม

2. เอนไซม์ยูรีเอส

เชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถผลิตเอนไซม์ยูรีเอสได้ในปริมาณมากเมื่อเทียบกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โดยเอนไซม์ยูรีเอสจะทำหน้าที่เปลี่ยนยูเรียให้เป็นแอมโมเนีย ทำให้ลดความเป็น

กรดลง แต่พบว่าเอนไซม์ยูรีเอสนี้อาจไม่จำเป็นในการสร้างโคโลนีของเชื้อ เนื่องจากเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ยูรีเอสได้ก็ยังสามารถสร้างโคโลนีได้ก็ตาม แสดงว่าการที่เชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะที่เป็นกรดนั้น เชื้ออาจมีกลไกอื่นที่นอกเหนือไปจากการใช้เอนไซม์ยูรีเอส [75] บทบาทอื่นของเอนไซม์ยูรีเอสได้แก่ เป็นแหล่งของไนโตรเจนที่สำคัญสำหรับให้เชื้อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน โดยผ่านทางวิธี urea hydrolysis

3. ปัจจัยที่ช่วยในการยึดเกาะ (adherence factors)

ความสามารถของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในการที่จะยึดเกาะอย่างจำเพาะกับเยื่อบุผิวที่เป็นของกระเพาะอาหารเท่านั้น เรียกว่า tissue tropism ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ป้องกันการหลุดลอกของเชื้อในช่วงที่เซลล์เยื่อบุมีการถูกทำลายแล้วมีการสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาแทนที่ ความสามารถในการยึดเกาะนี้ยังอาจจะสำคัญในการกำหนดเป้าหมายของ toxin และการสร้างปัจจัยที่นำเม็ดเลือดขาวมารวมกันของเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร โดยเชื้อจะสร้างสาร adhesion ซึ่งมีความหลากหลายของแอนติเจน เพื่อใช้ในการยึดเกาะ ความหลากหลายของแอนติเจนนี้เองทำให้ยากต่อการหาการรักษาที่เฉพาะเจาะจงกับสารนี้ และอาจเป็นตัวช่วยอธิบายความสามารถในการติดเชื้อ (susceptibility to infection) ที่แตกต่างกันในผู้ที่ได้รับเชื้อที่มีตัวจับ (receptor) ต่อแอนติเจนนี้ต่างกัน [76]

<u>ปัจจัยที่มีผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อ</u> (tissue injury)

1. Lipopolysaccharide หรือ endotoxin

เป็นไกลโคลิปิดที่เจอในสารที่หุ้มแบคทีเรียแกรมลบ รวมทั้งในเชื้อ *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide นี้ โดยเฉพาะ lipid A ที่เป็นส่วนประกอบ จะกระตุ้นการหลั่งของ cytokine และมีคุณสมบัติเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนั้นยังไปรบกวนการจับกันของเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารและ laminin ทำให้เกิดการสูญเสียการเกาะกันของเยื่อบุผิว ยับยั้งการสร้าง mucin และกระตุ้นการหลั่ง pepsinogen [77]

2. ปัจจัยที่ทำให้เม็ดเลือดขาวมารวมกลุ่มและกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว (leukocyte recruitment and activating factors)

เชื้อ *Helicobacter pylori* ปล่อยสารที่เป็นโปรตีนที่ปกคลุมผิว (surface protein) ออกมามากมาย สารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการดึงดูดให้เซลล์อักเสบทั้งชนิดโมโนซัยต์ (monocyte) และนิวโตรฟิล มารวมตัวกันในชั้น lamina propria และยังกระตุ้นเซลล์อักเสบเหล่านี้อีกด้วย [78]

Neutrophil-activating protein ก็เป็นหนึ่งในสารดังกล่าวข้างต้น ซึ่งควบคุมการสร้างโดย *nap A* ยีน [79] สารอื่นก็เช่น porin เป็นต้น [80]

3. Vacuolating Cytotoxin

ประมาณ 50% ของเชื้อ *Helicobacter pylori* ผลิตโปรตีนที่ก่อให้เกิดการสร้าง vacuole ในเซลล์ชนิด eukaryote โปรตีนชนิดนี้เรียกว่า vacuolating cytotoxin (VacA) สร้างจากยีน *vacA* [81] ซึ่งยีนนี้จะพบได้ในทุกสายพันธุ์ของ *Helicobacter pylori* แต่จะมีแค่ครึ่งหนึ่งเท่านั้น ที่แสดงออกโดยการผลิตโปรตีนที่สมบูรณ์ ยีน *vacA* ประกอบด้วย 2 กลุ่ม ของ allele ของพื้นที่ส่วนกลาง (middle region) ได้แก่ m1 และ m2 และอย่างน้อย 3 กลุ่ม ของ allele ของ signal sequence คือ s1a s1b และ s2 สายพันธุ์ที่มีจีโนไทป์เป็น s2m2 จะไม่ผลิตหรือผลิตสารพิษน้อย [81, 82] *vacA* จีโนไทป์ s1 มักสัมพันธ์กับการที่เชื้อมียีน *cagA*

โดยรวมแล้ว การศึกษาที่ผ่านมาไม่พบความสัมพันธ์ของหน้าที่ของโปรตีน VacA กับพยาธิสภาพที่ตรวจพบ หรือความเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* [82]

4. Cytotoxin-Associated Antigen (CagA)

เป็นโปรตีนที่มีความเป็นแอนติเจนสูง สร้างจากยีน *cagA* ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ *cag* pathogenicity island ซึ่งพบว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* สายพันธุ์ที่มี *cag* pathogenicity island จะทำให้เกิดการอักเสบได้มากกว่าสายพันธุ์ที่ไม่มียีนนี้ รายละเอียดของยีนนี้จะกล่าวต่อไปในภายหลัง เนื่องจากเป็นยีนที่ตรวจในการศึกษานี้

5. Outer membrane inflammatory protein (OipA)

เป็นโปรตีนที่เป็นผิวเซลล์ชั้นนอก มีความสัมพันธ์กับการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบเพิ่มขึ้นในเยื่อบุผิว [83] ถ้าเชื้อนั้นมีทั้ง *cag* pathogenicity island และ OipA จะทำให้เกิดการอักเสบมากกว่ามีโปรตีนใดเพียงชนิดเดียว ในประเทศทางเอเชียตะวันออก มักตรวจพบ OipA ร่วมกับ *cag* pathogenicity island เกือบทั้งหมด แต่ในประเทศตะวันตก ตรวจพบ OipA ได้น้อยกว่าครึ่งหนึ่งของเชื้อทั้งหมด

6. Heat shock proteins (HspA และ HspB)

เชื้อ *Helicobacter pylori* จะมี heat shock protein 2 ชนิด คือ HspA และ HspB ยังไม่ทราบหน้าที่ของโปรตีนชนิดนี้ในพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ

แม้ว่าการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* จะทำให้เกิดกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง แต่ผู้ที่ติดเชื้อส่วนใหญ่ไม่เกิดภาวะแทรกซ้อนอื่น และไม่มีอาการทางคลินิก [84] ทำให้เกิดความคิดที่ว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* บางสายพันธุ์มีความรุนแรงกว่าสายพันธุ์อื่น จึงทำให้มีการศึกษาเพื่อหาปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ ซึ่งทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆดังกล่าวข้างต้น บางปัจจัยก็ยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปอีก ซึ่งข้อมูลที่ได้มาก็จะทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงได้ และอาจทำให้สามารถใช้เป็นเป้าหมายในการรักษาโดยใช้ยาหรือการรักษาที่มีผลต่อปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อโดยตรง เพื่อทำให้ได้ประสิทธิภาพในการรักษาที่ดียิ่งขึ้น

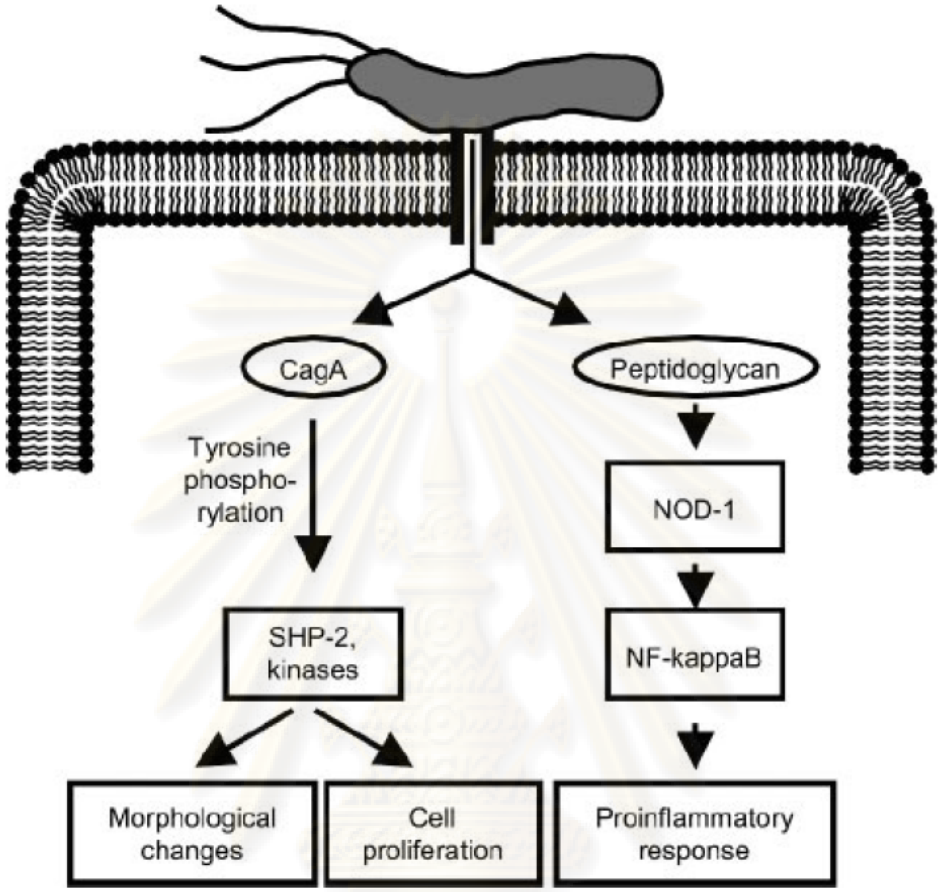
ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ โดยยีนที่ทำการศึกษานี้มี 2 ยีน ได้แก่ *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีน ซึ่ง *cagA* ยีนจัดอยู่ในปัจจัยที่มีผลต่อการทำลายเนื้อเยื่อ ส่วน *hrgA* ยีนนั้นเป็นยีนที่ค้นพบใหม่ ยังไม่ทราบหน้าที่ในการทำงาน รายละเอียดของทั้งสองยีนนี้มีดังต่อไปนี้

1. ***cagA* ยีน**

การศึกษาในระยะแรกถึงคุณสมบัติของเชื้อที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพ (pathogenic properties) นั้นแสดงให้เห็นว่า คุณสมบัติของเชื้อที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพสัมพันธ์กับความสามารถของเชื้อในการทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์ การทำให้เกิด vacuole และ การทำให้เซลล์เสื่อมสภาพไป [85] คุณสมบัตินี้ต่อมาสามารถนำมาเชื่อมกับการพบโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุล 140 กิโลดาลตัน ซึ่งชื่อว่า CagA (Cytotoxin-associated gene A) สร้างโดยยีน *cagA* [86]

cagA ยีนเป็นส่วนหนึ่งของ *cag* pathogenicity island ซึ่งทำหน้าที่ผลิต CagA โปรตีน และ type IV secretory apparatus อัตราการพบ *cagA* ยีนในเชื้อ *Helicobacter pylori* แตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ เช่น 100% ในญี่ปุ่น [87] เกาหลี [88] และ จีน [89] พบประมาณ 50-70%ในประเทศแถบยุโรปและสหรัฐอเมริกา [90-94] และในประเทศแคนาดา [95] พบเพียง 41%

CagA โปรตีน และ type IV secretory apparatus มีหน้าที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ดังแสดงในรูปที่ 8 [4] โดย type IV secretory apparatus ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกระบอก จะไปจับที่เซลล์ผิวของกระเพาะอาหาร (gastric epithelial cell) และทำให้ช่วยในการนำโปรตีน CagA, peptidoglycan และอาจจะมีสารอื่นๆอีก เข้าไปในเซลล์ของผู้ติดเชื้อได้ ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ดังในรูปที่ 8 [4]



รูปที่ 8 บทบาทของ Cag type IV secretion system ในการทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกัน (immune modulation) การเติบโตของเซลล์ (cell proliferation) และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ (morphological changes) [4]

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่มี *cagA* ยีนนั้น มักจะมีการอักเสบที่รุนแรงกว่าและอัตราเสี่ยงของการเกิดโรค เช่น โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น หรือ มะเร็งกระเพาะอาหาร ได้มากกว่าในประชากรในประเทศแถบตะวันตก [96-98] แต่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในผู้ป่วยชาวเอเชีย [99-102] เนื่องจากเชื้อที่พบในผู้ป่วยชาวเอเชียนั้นมี *cagA* ยีนเกือบ 100%

จากการศึกษาต่อมาพบว่า *cagA* จีโนไทป์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดย่อย (subtypes) คือ *cagA* 1a และ *cagA* 2a โดยแบ่งตามความแตกต่างกันของจำนวนการเรียงตัวที่ซ้ำกัน (repeated sequence) ของบริเวณ 3′ ของยีน [103, 104] ซึ่งพบว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* ที่มี *cagA* 1a ยีน พบมากในประเทศแถบเอเชีย ส่วน *cagA* 2a ยีนนั้นจะพบมากในประเทศแถบตะวันตก [104, 105]

หลังจากมีการแบ่งชนิดย่อยของ *cagA* ยีนแล้ว ก็ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบการเกิดโรคระหว่างชนิดย่อยทั้งสองชนิดนี้ ดังเช่นการศึกษาที่ทำในประเทศตุรกี [106] มีผู้ป่วยทั้งหมด 65 ราย ซึ่งประกอบด้วยผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอักเสบ 22 ราย โรคแผลในกระเพาะอาหาร 5 ราย โรคแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น 28 ราย และ โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร 10 ราย

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่าง *cagA* จีโนไทป์ และ *vacA* s1a จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อ [106]

Patient group[a]	No. (%) positive for:	
	cagA	*vacA* s1a
G (n = 22)	12 (54)	18 (82)
GU (n = 5)	5 (100)	5 (100)
DU (n = 28)	25 (89)	23 (82)
GC (n = 10)	9 (90)	8 (80)
Total (n = 65)	51 (78)	54 (83)

[a] Abbreviations: G, gastritis; GU, gastric ulcer; DU, duodenal ulcer; GC, gastric cancer; n, number examined.

พบว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ตรวจพบในผู้ป่วย มี *cagA* ยีน 78% โดย พบ *cagA* ยีนในผู้ป่วยโรคกระเพาะอักเสบ 54% โรคแผลในกระเพาะอาหาร 100% โรคแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น 89% และ โรคมะเร็งในกระเพาะอาหาร 90% ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่ง *cagA* ยีนที่พบในเชื้อทั้งหมดเป็นชนิด *cagA* 2a จึงทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการเกิดโรคระหว่างสองจีโนไทป์นี้ได้

การศึกษาต่อมาในประเทศไทย [107] มีผู้ป่วยทั้งหมด 168 ราย ซึ่งประกอบด้วยผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล 53 ราย โรคแผลในกระเพาะอาหาร 69 ราย และ โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร 46 ราย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของการสร้างสาร cytokine ของเยื่อบุผิวกระเพาะอาหารกับการผันแปรของยีนที่สร้างสารอินเตอร์ลิวคิน 1 และ *cagA* จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* ไม่ได้มุ่งเน้นในการศึกษาหาความสัมพันธ์ของการเกิดโรคกับ *cagA* จีโนไทป์ของเชื้อโดยตรง ผลการศึกษานี้พบว่า ความชุกของ *cagA* 1a จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งกระเพาะอาหารสูงกว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหาร และ โรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาในประเทศไทยอีกการศึกษาหนึ่งที่ศึกษาเกี่ยวกับชนิดย่อยของ *cagA* ยีน ได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับระบาดวิทยาทางโมเลกุล (molecular epidemiology) ของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย [108] มีผู้ป่วยทั้งหมด 98 ราย พบว่า ความชุกของ *cagA* 1a จีโนไทป์ 49% และ ความชุกของ *cagA* 2a จีโนไทป์ 51% โดยผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งในกระเพาะอาหารสัมพันธ์กับเชื้อชาติจีนและมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori cagA* 1a

จากการศึกษาดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่าง *cagA* จีโนไทป์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับการเกิดโรค แต่ยังไม่มีการศึกษาที่มีวัตถุประสงค์หลักที่จะศึกษาถึงความสัมพันธ์ดังกล่าวในประเทศไทยหรือในประเทศแถบเอเชีย ซึ่งมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* สูงและมีการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อนี้ ที่มีความรุนแรง เช่น โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร ได้บ่อยกว่าประเทศแถบตะวันตก

มีการศึกษาในเบื้องต้นในประเทศไทย พบว่า *cagA* 1a นั้นมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคทางคลินิก [109] โดยพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่มี *cagA* 1a ในผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหารมากกว่า ผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (65.5% เทียบกับ 37.9%)

2. *hrgA* ยีน

hrgA ยีน (*Helicobacter pylori* restriction endonuclease-replacing gene) เป็นยีนที่เพิ่งค้นพบว่ามีความสัมพันธ์กับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่พบในผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารในคนเอเชีย [110] โดยการศึกษานี้นำเชื้อ *Helicobacter pylori* จากประเทศต่างๆ ทั่วโลก รวมทั้งสิ้น 208 เชื้อ โดยส่วนใหญ่เป็นเชื้อจากญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา เมื่อนำมาทำการตรวจหา *hrgA* ยีน พบว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* จากผู้ป่วยจากประเทศแถบเอเชีย พบ *hrgA* ยีน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร 42% ซึ่งสูงกว่า ผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร (โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น หรือ โรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล) ที่พบ *hrgA* ยีนเพียง 17% ดังแสดงในตารางที่ 4 แต่เนื่องจากในการศึกษานี้ ไม่มีเชื้อ *Helicobacter pylori* จากผู้ป่วยชาวตะวันตกที่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร จึงไม่สามารถบอกความสัมพันธ์ของยีนนี้กับโรคมะเร็งกระเพาะอาหารในผู้ป่วยชาวตะวันตกได้ สำหรับความสัมพันธ์ของยีนนี้กับโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น เทียบกับโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผลนั้น พบว่า ความชุกของยีนนี้ในทั้งสองโรคไม่แตกต่างกัน ทั้งในเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่มาจากผู้ป่วยชาวเอเชียและชาวตะวันตก

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่าง *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับ โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* (ดัดแปลงจากตารางใน [110])

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ	อัตราการพบ *hrgA* ยีนในเชื้อที่มาจากชาวตะวันตก	อัตราการพบ *hrgA* ยีนในเชื้อที่มาจากชาวเอเชีย
โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร	0%	42%
โรคอื่นที่ไม่ใช่มะเร็งกระเพาะอาหาร	52%	17%
โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น	58%	17%
โรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล	47%	17%

หลังจากการศึกษาดังกล่าว ได้มีการทำการศึกษาเกี่ยวกับ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* อีก 1 การศึกษา [111] โดยได้เพิ่มกลุ่มของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยชาวตะวันตกที่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหารเข้ามา และจำนวนเชื้อที่นำมาทำการศึกษาก็มีจำนวนมากกว่า

ตารางที่ 5 ความชุกของ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับ โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* [111]

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ	อัตราการพบ *hrgA* ยีนในเชื้อที่มาจากชาวตะวันตก	อัตราการพบ *hrgA* ยีนในเชื้อที่มาจากชาวเอเชีย
โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร	50%	31%
โรคอื่นที่ไม่ใช่มะเร็งกระเพาะอาหาร	49%	29%
โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น	47%	29%
โรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล	50%	29%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยเชื้อทั้งหมดมีจำนวน 458 เชื้อ โดยแบ่งเป็นเชื้อที่ได้จากผู้ป่วยชาวตะวันตก 169 เชื้อ และ เชื้อที่ได้จากผู้ป่วยชาวเอเชีย 289 เชื้อ

ผลการศึกษาพบว่า ความชุกของ *hrgA* ยีนไม่สัมพันธ์กับการเกิดโรค ทั้งในเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ได้จากผู้ป่วยชาวเอเชียและจากชาวตะวันตก ดังแสดงในตารางที่ 5

และจากการศึกษานี้ ความชุกโดยรวมของ *hrgA* ยีนของเชื้อที่มาจากผู้ป่วยชาวเอเชียนั้นน้อยกว่าเชื้อที่มาจากผู้ป่วยชาวตะวันตกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (29% เทียบกับ 49%)

การศึกษาเกี่ยวกับ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* มีเพียง 2 การศึกษาทั่วโลก และผลของทั้ง 2 การศึกษานี้ไม่ตรงกันในแง่ของความสัมพันธ์ของ *hrgA* ยีนกับโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยการศึกษาแรกพบว่ามีความสัมพันธ์กัน แต่การศึกษาที่สองพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ส่วนความสัมพันธ์ของ *hrgA* ยีนกับโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นนั้น ทั้งสองการศึกษาพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน

ในประเทศไทย การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ก็ยังเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ เนื่องจากยังมีประชากรจำนวนมากที่ติดเชื้อ และก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารต่างๆตามมา ดังจะเห็นได้จากมีการศึกษาพบว่า 66% ของประชากรไทยในวัยผู้ใหญ่มีอาการปวดแน่นท้องบริเวณลิ้นปี่ (dyspepsia) และ 48.2% ของผู้ป่วยที่มีอาการปวดแน่นท้องบริเวณลิ้นปี่ตรวจพบมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* [112] นอกจากนี้ยังพบว่า 98.2% ของการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* สัมพันธ์กับโรคกระเพาะอาหารอักเสบ

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาในต่างประเทศ การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทยยังมีจำกัด โดยการศึกษาที่เกี่ยวกับปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อทั้ง 2 ยีนที่กล่าวมานั้น ในประเทศไทยได้เคยมีผู้ทำการศึกษาบ้างแล้วในเรื่องของ *cagA* ยีน [113-115] แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาที่แยกย่อยถึงชนิดย่อยของ *cagA* จีโนไทป์ ในแง่ของความสัมพันธ์กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นเลย โดยมักแบ่งเป็นแค่ว่า พบ *cagA* ยีน หรือไม่พบเท่านั้น ส่วนในเรื่องของ *hrgA* ยีนนั้น ยังไม่เคยมีการทำการศึกษาในผู้ป่วยไทย การศึกษาที่เคยมีนั้นได้ข้อมูลของเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ได้จากผู้ป่วยชาวเอเชียในประเทศญี่ปุ่น จีน และเกาหลีเป็นหลัก

ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ในการที่จะศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น โดยแบ่งชนิดย่อยของ *cagA* จีโนไทป์ อย่างละเอียดมากยิ่งขึ้น และศึกษาเกี่ยวกับ *hrgA* ยีนซึ่งยังไม่เคยมีการทำศึกษามาก่อนในประเทศไทยเลย ทั้งในแง่ของความชุกของยีนนี้ในเชื้อ *Helicobacter pylori* และความสัมพันธ์กับการเกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากรที่ศึกษา

ประชากรเป้าหมาย (Population) คือ ผู้ป่วยไทยที่มีอาการ dyspepsia และมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

ประชากรตัวอย่าง (Sample population) คือ ผู้ป่วยที่มีอาการ dyspepsia ที่มีข้อบ่งชี้ในการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น (Esophagogastroduodenoscope) โดยได้รับการส่องกล้องที่โรงพยาบาลธรรมศาสตร์ หรือ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

เกณฑ์การคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่มีอาการ dyspepsia และมีข้อบ่งชี้ในการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นตามแนวทางการจัดการผู้ป่วย dyspepsia ของสมาคมแพทย์ระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย ปี 1999
2. ได้รับการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นและพบว่ามี แผลในกระเพาะอาหาร หรือ แผลในลำไส้เล็กส่วนต้น หรือ พบเป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล
3. ได้รับการตัดชิ้นเนื้อของกระเพาะอาหารขณะส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นและนำไปเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori* แล้วขึ้นเชื้อ

เกณฑ์การคัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยหญิงที่ตั้งครรภ์
2. ผู้ป่วยที่มีเลือดออกง่าย (bleeding diathesis)
3. ผู้ป่วยที่มีข้อห้ามในการตัดชิ้นเนื้อของกระเพาะอาหารขณะส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น
4. ผู้ป่วยที่มีโรคร่วมที่รุนแรง เช่น ผู้ป่วยที่มีภาวะหัวใจวาย ผู้ป่วยที่มีไตวายเรื้อรัง เป็นต้น
5. ผู้ป่วยที่ทราบมาก่อนว่ามีการติดเชื้อเอชไอวี (HIV infection)
6. ผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) มาก่อนในช่วง 1 เดือน

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

จำนวนขนาดตัวอย่างต่อ 1 กลุ่ม $= \dfrac{2\,(Z_{\alpha/2} + Z\beta)^2 \quad \bar{P}\ \bar{Q}}{(p_1 - p_2)^2}$

โดยที่ $\alpha = 0.05 \rightarrow Z_{\alpha/2} = 1.96$

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

p_1 = ความชุกของ *cagA* 1a ในผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น [109] = 0.66

p_2 = ความชุกของ *cagA* 1a ในผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล [109] = 0.38

$\overline{P} = (p_1 + p_2)/2$

$\overline{Q} = 1 - \overline{P}$

ดังนั้น คำนวณขนาดตัวอย่างต่อ 1 กลุ่มของผู้ป่วยได้เท่ากับ 50 คน ได้แก่ ผู้ป่วยโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นจำนวน 50 คน และ ผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผลจำนวน 50 คน รวมทั้งสิ้นเท่ากับ 100 คน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย
2. Case record form
3. สารเคมีที่ใช้เตรียมน้ำยาเลี้ยงเชื้อ *Helicobacter pylori*
4. อุปกรณ์ที่ใช้เพาะเชื้อ *Helicobacter pylori*
5. QIAamp® DNA Mini Kit
6. Primer ในการทำ PCR

วิธีการศึกษา

1. ผู้ป่วยที่มีอาการ dyspepsia ที่มีข้อบ่งชี้ในการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น และไม่มีลักษณะที่เข้ากับเกณฑ์การคัดออกของการศึกษานี้ จะได้รับข้อมูลเกี่ยวกับโครงการวิจัยนี้ ถ้าผู้ป่วยสมัครใจที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัย ก็จะได้รับการบันทึกข้อมูลทางคลินิกที่เกี่ยวข้องและเซ็นใบยินยอม หลังจากนั้นจะได้รับการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ขณะทำการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น จะบันทึกผลการส่องกล้อง

2.1. ถ้าพบว่าเป็นแผลในกระเพาะอาหาร หรือ แผลในลำไส้เล็กส่วนต้น จะทำการตัดชิ้นเนื้อผ่านกล้อง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม. จำนวน 2 ชิ้นจากกระเพาะอาหารบริเวณ gastric antrum เพื่อตรวจดูการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* (1 ชิ้น ใส่ใน CLO-test , 1 ชิ้น ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับขนย้าย (transport media)ซึ่งประกอบด้วย Brain heart infusion broth, horse serum และ agar) ซึ่งจะทำการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อกระเพาะอาหารในอุปกรณ์แช่แข็งที่มีน้ำแข็งแห้ง (dry ice) เพื่อทำการเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori* และทำ PCR (Polymerase Chain Reaction)

2.2. ถ้าพบว่าเป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล จะทำการตัดชิ้นเนื้อผ่านกล้องจำนวน 2 ชิ้นจากกระเพาะอาหารบริเวณ gastric antrum เหมือนกับผู้ป่วยที่มีแผลในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็กส่วนต้น (1 ชิ้น ใส่ใน CLO-test , 1 ชิ้น ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับขนย้าย (transport media)) เพื่อทำการเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori* และทำ PCR (Polymerase Chain Reaction)

2.3. ถ้าพบมะเร็งในกระเพาะอาหาร หรือ หลอดอาหารอักเสบ คัดออกจากการศึกษา แต่ผู้ป่วยก็จะได้รับการตรวจรักษาต่อไปตามแนวทางปฏิบัติทั่วไปของโรคนั้น

3. นำชิ้นเนื้อที่ได้ 1 ชิ้น ที่ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับขนย้าย (transport media) ไปทำการเพาะเชื้อ *Helicobacter pylori* ถ้าเพาะเชื้อขึ้น จึงจะนำมาทำการศึกษาต่อไป โดยนำเชื้อที่ขึ้นนั้นมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ QIAamp Tissue kit (Qiagen Inc., Santa Clarita, CA) หลังจากสกัดดีเอ็นเอได้แล้วจึงนำไปทำ PCR เพื่อดูจีโนไทป์ของเชื้อ โดยจะได้ผลดังนี้

3.1. *cagA* จีโนไทป์ แบ่งเป็น 3 แบบ คือ ไม่มียีน *cagA*, มียีน *cagA* 1a, มียีน *cagA* 2a

3.2. *hrgA* ยีน แบ่งเป็น 2 แบบ คือ ไม่มียีน *hrgA*, มียีน *hrgA*

4. ในผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล ถ้าชิ้นเนื้อที่นำไปเพาะเชื้อแล้วขึ้นเชื้อ จึงจะนำชิ้นเนื้ออีก 2 ชิ้นที่ใส่ในน้ำยาฟอร์มาลิน (formalin) เพื่อไปศึกษาทางพยาธิวิทยา (histopathology)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการทำ PCR เพื่อหา *cagA* จีโนไทป์

1. Oligonucleotide primer ที่ใช้ในการทำ PCR แสดงดังตารางที่ 6 [116]

   1.1. Primers CAGTF และ CAGTR สร้างขึ้นมาเพื่อที่จะรวมบริเวณ 3′ repeat region ของ *cagA* ยีนทั้งหมด ดังรูปที่ 9 โดยในบริเวณนี้จะเป็นบริเวณที่พบได้ทั้งใน *cagA* 1a จีโนไทป์ และ *cagA* 2a จีโนไทป์

   1.2. Primers CAGTF/CAGJR และ CAGJF/CAGTR ใช้เพื่อเพิ่มจำนวนบริเวณที่จำเพาะกับ *cagA* 1a จีโนไทป์ ดังแสดงรายละเอียดต่อไป

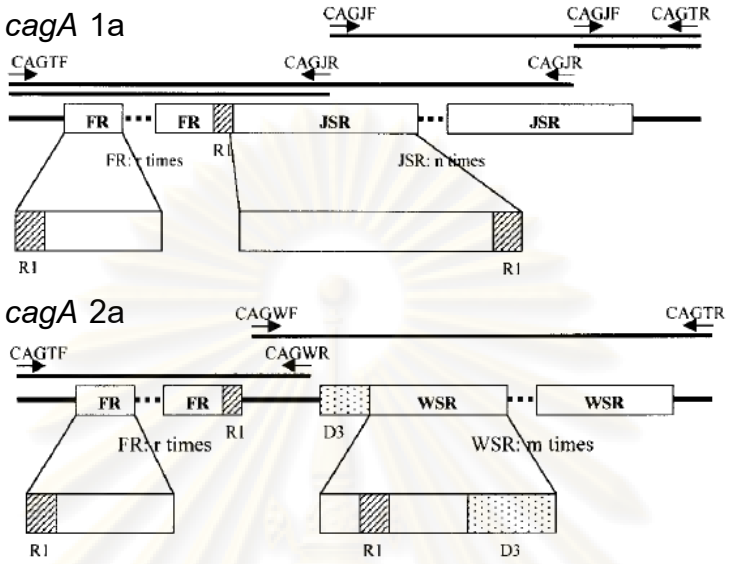
   1.3. Primers CAGTF/CAGWR และ CAGWF/CAGTR ใช้เพื่อเพิ่มจำนวนบริเวณที่จำเพาะกับ *cagA* 2a จีโนไทป์ ดังแสดงรายละเอียดต่อไป

ตารางที่ 6 PCR primers สำหรับการเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอของ *cagA* ยีน [116]

Primer (polarity)	Sequence (5′–3′)	Position
Entire repeat region		
CAGTF (+)	ACCCTAGTCGGTAATGGG	2536–2553[a]
CAGTR (–)	GCTTTAGCTTCTGAYACYGC	3025–3044[a]
1st repeat region specific for Japanese strains		
CAGJR (–)	GCAATTTTGTTAATCCGGTC	[b]
2nd repeat region specific for Japanese strains		
CAGJF (+)	GCATCAGCAGGTAAAGGAGT	[b]
1st repeat region specific for Western strains		
CAGWR (–)	TGCCCTACAMCACCSAAACCAC	2797–2819[a]
2nd repeat region specific for Western strains		
CAGWF (+)	AAAAATTGACCRACTCAATC	2766–2785[a]

NOTE. Y = C + T, M = A + C, S = C + G, R = A + G.
[a]GenBank accession number L117714.
[b]These sequence data were available in GenBank accession numbers AF043457, AF043458, AF04359, and AF043460. No entire *cagA* sequences of Japanese strains were available.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9 โครงสร้างบริเวณ 3' region ที่แตกต่างกันของ *cagA* 1a ยีน และ *cagA* 2a ยีน [116]

2. Primers CAGTF/CAGJR และ CAGJF/CAGTR ซึ่งอยู่ภายในลำดับของดีเอ็นเอที่จำเพาะกับ *cagA* 1a จีโนไทป์ เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนบริเวณที่เป็น first repeat (FR region, 57 bp (base pairs)) และบริเวณที่เป็น second repeat (JSR region, 162 bp) ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 9 [116] ใน *cagA* 1a จีโนไทป์นี้ จะมีบริเวณ R1 (EPIYA) ซึ่งจะตามมาด้วย JSR regions ทันที จึงมีการใช้ primer ภายใน JSR regions และเมื่อสร้างสายดีเอ็นเอออกมาแล้วก็จะได้หลายสายซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนของ JSR regions ดังนั้นความยาวของสายดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ที่คาดหมายไว้ คือ

   2.1. ความยาว [(236-242) + 57r + 162(n-1)] bp เมื่อ n = 1-n ในสายดีเอ็นเอที่ได้จาก primers CAGTF/CAGJR เมื่อเชื้อมีจำนวน FR regions เท่ากับ “r” ครั้ง และมี JSR regions เท่ากับ “n” ครั้ง

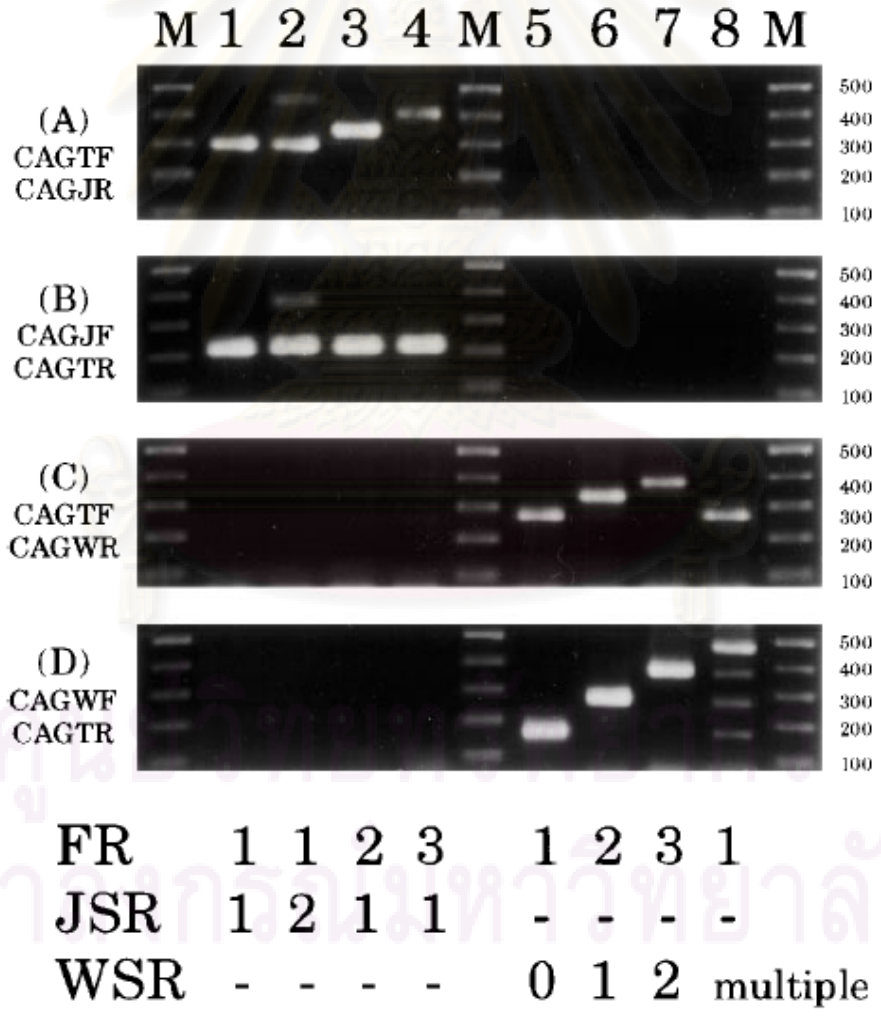
   2.2. ความยาว [222 + 162(n-1)] bp เมื่อ n = 1-n ในสายดีเอ็นเอที่ได้จาก primers CAGJF/CAGTR เมื่อเชื้อมีจำนวน JSR regions เท่ากับ “n” ครั้ง

3. Primers CAGTF/CAGWR และ CAGWF/CAGTR ซึ่งอยู่ภายในลำดับของดีเอ็นเอที่จำเพาะกับ *cagA* 2a จีโนไทป์ เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนบริเวณที่เป็น first repeat (FR region, 57 bp) และบริเวณที่เป็น second repeat (WSR region, 102 bp) ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 9 [116] ดังนั้นความยาวของสายดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ที่คาดหมายไว้ คือ

3.1. ความยาว [(218-227) + 57r] bp ในสายดีเอ็นเอที่ได้จาก primers CAGTF/CAGWR เมื่อเชื้อมีจำนวน FR regions เท่ากับ “r” ครั้ง

3.2. ความยาว [(174-177) + 102m] bp ในสายดีเอ็นเอที่ได้จาก primers CAGWF/CAGTR เมื่อเชื้อมีจำนวน WSR regions เท่ากับ “m” ครั้ง

4. การทำ PCR เพื่อเพิ่มจำนวนจะทำทั้งหมด 35 รอบ (cycle) โดยในแต่ละรอบประกอบด้วย ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 1 นาที ตามด้วย อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส 1 นาที และ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที [117] ในแต่ละรอบจะใช้เวลาเพิ่มอีก 7 นาที เพื่อที่จะให้ได้จำนวนผลิตภัณฑ์ PCR เต็มที่



รูปที่ 10 ตัวอย่างการวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* ยีน [116]

5. นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยการทำ gel electrophoresis โดยใช้ ethidium bromide ซึ่งมี 1.5% agarose gel จะได้ผลดังตัวอย่างจากการศึกษาที่เคยมีมาก่อน ดังแสดงในรูปที่ 10 [116]

6. การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* ยีน โดยดูตัวอย่างจากรูปที่ 10

   6.1. แถวที่ 1-4 แสดงผลที่ได้จากเชื้อที่มี *cagA* 1a ยีน ซึ่งจะเห็นว่าเกิดสายดีเอ็นเอเฉพาะที่เป็นผลิตภัณฑ์จาก primer A และ B

   6.2. แถวที่ 5-8 แสดงผลที่ได้จากเชื้อที่มี *cagA* 2a ยีน ซึ่งจะเห็นว่าเกิดสายดีเอ็นเอเฉพาะที่เป็นผลิตภัณฑ์จาก primer C และ D

   6.3. แถว M เป็นแถวที่ใช้บอกขนาดโมเลกุล (molecular size marker)

   6.4. การที่มีสายดีเอ็นเอขนาดแตกต่างกันไปในยีนชนิดเดียวกัน เนื่องจากมีบริเวณ FR region, JSR region และ WSR region ในจำนวนที่แตกต่างกันไปนั่นเอง

วิธีการทำ PCR เพื่อหา *hrgA* ยีน

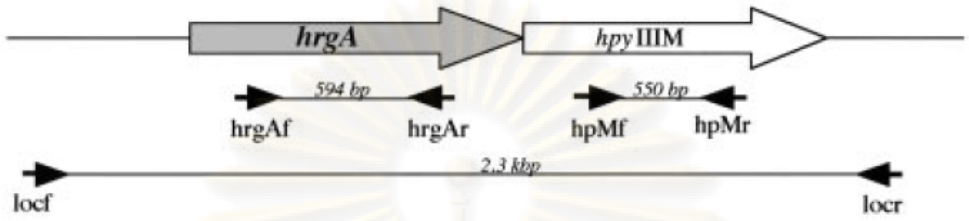
1. ขั้นตอนในการทำ PCR [110] ใช้ปริมาตรทั้งหมด 50 ไมโครลิตร ประกอบด้วย Taq polymerase (Qiagen) 0.5 หน่วย แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) 1.5 มิลลิโมล และ primer แต่ละชนิด ชนิดละ 200 นาโนกรัม

2. การทำ PCR เพื่อเพิ่มจำนวนจะทำทั้งหมด 30 รอบ โดยในแต่ละรอบประกอบด้วย ขั้นตอน denature ใช้อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที ตามด้วย ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิหลอมละลายที่คาดหวัง (predicted melting temperature) 5 องศาเซลเซียส 1 นาที และ ระยะ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 1 นาทีต่อกิโลบิต (min/kb) ของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มจำนวนได้

3. Primer ที่ใช้ ได้แก่ hrgAf และ hrgAr ดังแสดงในรูปที่ 11

   3.1. hrgAf อยู่ตำแหน่งที่ 252-272 ใน *hrgA* ยีน มีลำดับการเรียงตัวของ nucleotide จาก 5′ → 3′ คือ TCTCGTGAAAGAGAATTTCC

3.2. hrgAr อยู่ตำแหน่งที่ 933-914 ใน *hrgA* ยีน มีลำดับการเรียงตัวของ nucleotide จาก 5′ → 3′ คือ TAAGTGTGGGTATATCAATC



รูปที่ 11 Primer ที่ใช้ในการทำ PCR ของ *hrgA* ยีน [110]

4. นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยการทำ gel electrophoresis ซึ่งมี 1.0% agarose gel จะได้ผลดังแสดงในตัวอย่างจากการศึกษาเดิม [110] ดังแสดงในรูปที่ 12

รูปที่ 12 ตัวอย่างการวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *hrgA* ยีน [110]

5. การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *hrgA* ยีน โดยดูตัวอย่างจากรูปที่ 12 [110]

5.1. แถวด้านซ้ายสุดที่ไม่มีตัวเลขกำกับ คือ แถวที่ใช้บอกขนาดโมเลกุล

5.2. แถวที่ 4 แสดงผลที่ได้จากเชื้อที่มี *hrgA* ยีน ซึ่งผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้จะมีขนาด 550-594 bp

การเก็บรวบรวมข้อมูล

1. ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยบันทึกลงใน case record form

2. ผลการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นบันทึกลงใน case record form

3. ผลการตรวจ *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีน บันทึกแยกเป็นข้อมูลดิบของผู้ป่วยแต่ละคน

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การสรุปข้อมูล (Summarization of data)

    1.1. ข้อมูลเชิงคุณภาพ สรุปเป็น ร้อยละ

    1.2. ข้อมูลเชิงปริมาณ สรุปเป็น ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. การนำเสนอข้อมูล

    2.1. ตาราง และ แผนภูมิแท่ง

3. การทดสอบสมมติฐาน

    3.1. ข้อมูลเชิงคุณภาพ ใช้ Chi-square test หรือ Fisher's exact test

    3.2. ข้อมูลเชิงปริมาณ ใช้ T test

    3.3. ค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์

ผู้ป่วยทั้งหมด 100 คนที่เข้าร่วมในโครงการวิจัยตั้งแต่เดือน ธ.ค. 2550 ถึง เดือน ก.ย. 2551 ได้รับการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นตามข้อบ่งชี้ ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ และตรวจพบเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยแบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม คือ ผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น 50 คน (พบแผลในกระเพาะอาหาร 42 คน แผลในลำไส้เล็กส่วนต้น 3 คน และ แผลทั้งในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น 5 คน) และผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล 50 คน

ลักษณะพื้นฐานโดยรวม

ผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน เป็นเพศหญิงเป็นส่วนใหญ่ (52%) อายุเฉลี่ย 51 ปี โดยช่วงอายุ คือ 22 – 76 ปี ส่วนใหญ่ประกอบอาชีพ 69% อาชีพที่มากที่สุด คือ รับจ้าง 29% ผู้ป่วยทุกรายมาด้วยอาการ dyspepsia รองลงมามีอาการอืดแน่นท้อง 17% และ ถ่ายอุจจาระเป็นสีดำ 11% ผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่มีโรคประจำตัว (84%) รองลงมา คือ โรคความดันโลหิตสูง 14% และ โรคไขมันในเลือดสูง 6% รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ลักษณะพื้นฐานโดยรวมของผู้ป่วยในการศึกษาทั้งหมด 100 คน

ตัวแปร	ค่าที่วัดได้
เพศหญิง	52%
อายุ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	51 $\pm$ 13 ปี
อาชีพ	
ไม่ได้ประกอบอาชีพ	31%
รับจ้าง	29%
ค้าขาย	18%
ข้าราชการ	8%
นักธุรกิจ	8%
นักเรียน นักศึกษา	6%

ตารางที่ 7 (ต่อ) ลักษณะพื้นฐานโดยรวมของผู้ป่วยในการศึกษาทั้งหมด 100 คน

ตัวแปร	ค่าที่วัดได้
น้ำหนักตัว (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	62.6 $\pm$ 9.3 กก.
ความดันซิสโทลิก (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	125.4 $\pm$ 10.1 มม.ปรอท
ความดันไดแอสโทลิก (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	80.4 $\pm$ 7.5 มม.ปรอท
ประวัติโรคมะเร็งกระเพาะอาหารในครอบครัว	0%
ประวัติโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในครอบครัว	32%
โรคประจำตัว ไม่มีโรคประจำตัว 1 โรค $\geq$ 2 โรค	 84% 9% 7%
ประวัติดื่มสุรา	25%
ประวัติสูบบุหรี่	18%
อาการที่มาพบแพทย์ 1 อาการ $\geq$ 2 อาการ	 57% 43%
อาการเตือนก่อนพบแพทย์ (alarm symptoms) ไม่มีอาการเตือน 1 อาการ $\geq$ 2 อาการ	 20% 68% 12%
อาการอื่นนอกเหนือจาก dyspepsia อืดแน่นท้อง ถ่ายอุจจาระเป็นสีดำ (melena) ปวดท้องตอนกลางคืน คลื่นไส้ ท้องผูก อาเจียน	 17% 11% 10% 7% 6% 5%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 (ต่อ) ลักษณะพื้นฐานโดยรวมของผู้ป่วยในการศึกษาทั้งหมด 100 คน

ตัวแปร	ค่าที่วัดได้
อาการอื่นนอกเหนือจาก dyspepsia (ต่อ) น้ำหนักลด	5%
ท้องเสีย	1%
ระยะเวลาของอาการก่อนมาโรงพยาบาล (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	60.3 ± 61 วัน

ลักษณะพื้นฐานแยกตามกลุ่มของผู้ป่วย

ผู้ป่วย 2 กลุ่ม คือ ผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น 50 คน และผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล 50 คน ลักษณะพื้นฐานของทั้งสองกลุ่มโดยส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกัน มีลักษณะที่แตกต่างกัน คือ ผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นมีอายุเฉลี่ยสูงกว่า ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (54.6 ปี กับ 47.5 ปี ตามลำดับ) นอกจากนั้นยังมีความดันไดแอสโทลิกสูงกว่า (82.1 มม.ปรอท กับ 78.7 มม. ปรอท ตามลำดับ) มีอาการเตือนได้บ่อยกว่าด้วย (92% กับ 68% ตามลำดับ) โดยมีถ่ายอุจจาระเป็นสีดำมากกว่า (18% กับ 4% ตามลำดับ) และมาพบแพทย์ด้วยระยะเวลาสั้นกว่าด้วย (77.3 วัน กับ 43.3 วัน) รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ลักษณะพื้นฐานแยกตามกลุ่มของผู้ป่วย (NUD คือ ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล, Ulcer คือ ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น)

ตัวแปร	NUD	Ulcer	ค่า P*
เพศหญิง	60%	44%	0.109
อายุ (ปี)**	47.5 ± 14.3	54.6 ± 10.7	**0.006**
อาชีพ ไม่ได้ประกอบอาชีพ รับจ้าง	 24% 30%	 38% 28%	0.358

* ค่า P < 0.05 ถือว่า มีนัยสำคัญทางสถิติ

** ตัวแปรเชิงปริมาณ แสดงค่าเป็น ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 8 (ต่อ) ลักษณะพื้นฐานแยกตามกลุ่มของผู้ป่วย (NUD คือ ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล, Ulcer คือ ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น)

ตัวแปร	NUD	Ulcer	ค่า P*
อาชีพ (ต่อ)			
ค้าขาย	20%	16%	
ข้าราชการ	6%	10%	
นักธุรกิจ	10%	6%	
นักเรียน นักศึกษา	10%	2%	
น้ำหนักตัว (กก.)**	62.3 ± 9.9	62.8 ± 8.7	0.822
ความดันซิสโทลิก (มม.ปรอท)**	123.9 ± 11.0	126.8 ± 9.0	0.144
ความดันไดแอสโทลิก (มม.ปรอท)**	78.7 ± 8.8	82.1 ± 5.5	**0.026**
ประวัติโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในครอบครัว	28%	36%	0.391
โรคประจำตัว			0.847
ไม่มีโรคประจำตัว	86%	82%	
1 โรค	6%	12%	
≥ 2 โรค	8%	6%	
โรคความดันโลหิตสูง	14%	14%	1.000
โรคเบาหวาน	4%	6%	0.646
โรคหัวใจขาดเลือด	4%	4%	1.000
โรคไขมันในเลือดสูง	6%	6%	1.000
ประวัติดื่มสุรา	22%	28%	0.488
ประวัติสูบบุหรี่	16%	20%	0.603
อาการที่มาพบแพทย์			0.546
1 อาการ	62%	52%	
≥ 2 อาการ	38%	48%	

* ค่า P < 0.05 ถือว่า มีนัยสำคัญทางสถิติ

** ตัวแปรเชิงปริมาณ แสดงค่าเป็น ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 8 (ต่อ) ลักษณะพื้นฐานแยกตามกลุ่มของผู้ป่วย (NUD คือ ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล, Ulcer คือ ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น)

ตัวแปร	NUD	Ulcer	ค่า P*
อาการเตือนก่อนพบแพทย์ (alarm symptoms)			**0.015**
ไม่มีอาการเตือน	32%	8%	
1 อาการ	56%	80%	
$\geq$ 2 อาการ	12%	12%	
อาการอื่นนอกเหนือจาก dyspepsia			
อืดแน่นท้อง	16%	18%	0.790
ถ่ายอุจจาระเป็นสีดำ (melena)	4%	18%	**0.025**
ปวดท้องตอนกลางคืน	10%	10%	1.000
คลื่นไส้	8%	6%	0.695
ท้องผูก	6%	6%	1.000
อาเจียน	4%	6%	0.646
น้ำหนักลด	4%	6%	0.646
ท้องเสีย	2%	0%	0.315
ระยะเวลาของอาการก่อนมาโรงพยาบาล (วัน)**	77.3 $\pm$ 70.2	43.3 $\pm$ 44.8	**0.005**

* ค่า P < 0.05 ถือว่า มีนัยสำคัญทางสถิติ

** ตัวแปรเชิงปริมาณ แสดงค่าเป็น ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เมื่อนำลักษณะพื้นฐานที่แตกต่างกันของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มทั้ง 4 ลักษณะ มาทำ Binary logistic regression เพื่อหาลักษณะพื้นฐานที่มีความแตกต่างจริงโดยไม่ได้มีผลจากลักษณะพื้นฐานอื่น พบว่า ลักษณะพื้นฐานที่ยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ระยะเวลาก่อนมาพบแพทย์ (P = 0.009) ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 Binary logistic regression ของลักษณะพื้นฐานที่มีความแตกต่างกันในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 0	Constant	.000	.200	.000	1	1.000	1.000

Variables not in the Equation

			Score	df	Sig.
Step 0	Variables	age	7.417	1	.006
		dbp	4.991	1	.025
		alarm	4.897	1	.027
		sym_dur	7.802	1	.005
	Overall Statistics		9.967	4	.041

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1[a]	sym_dur	-.010	.004	6.888	1	.009	.990
	Constant	.598	.296	4.087	1	.043	1.819

a. Variable(s) entered on step 1: sym_dur.

Variables not in the Equation

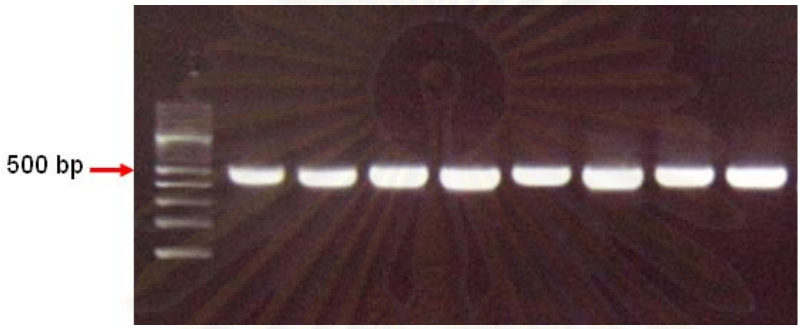
			Score	df	Sig.
Step 1	Variables	age	1.383	1	.240
		dbp	1.692	1	.193
		alarm	.321	1	.571
	Overall Statistics		2.196	3	.533

dbp = ความดันไดแอสโทลิก, alarm = อาการเตือน, sym_dur = ระยะเวลาก่อนมาพบแพทย์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

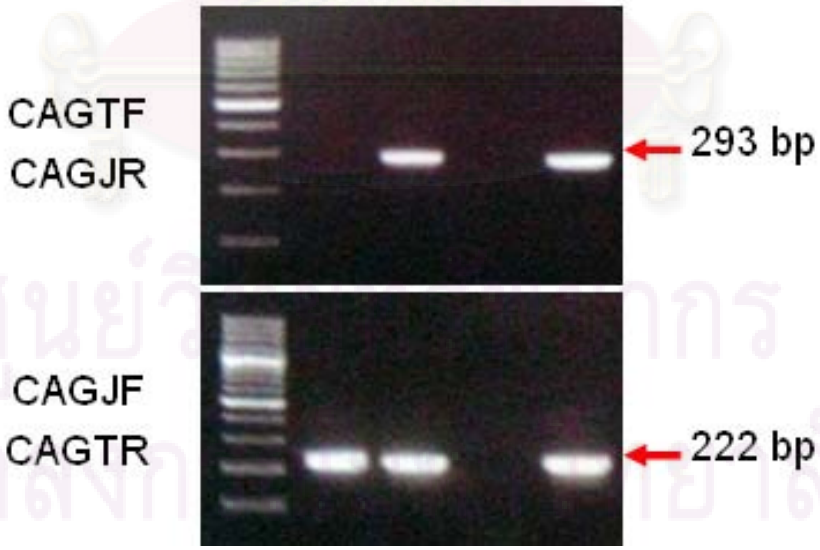
ผลการศึกษายีนของเชื้อ *Helicobacter pylori*

ผลของการศึกษา *cagA* ยีนหลังจากทำ PCR แล้ว ได้รูปของ gel electrophoresis โดยใช้ primer CAGTF/CAGTR ดังแสดงในรูปที่ 13 ซึ่งแปลผลได้ว่า ถ้าตรวจพบผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 500 bp แสดงว่า เชื้อนั้นมี *cagA* ยีน



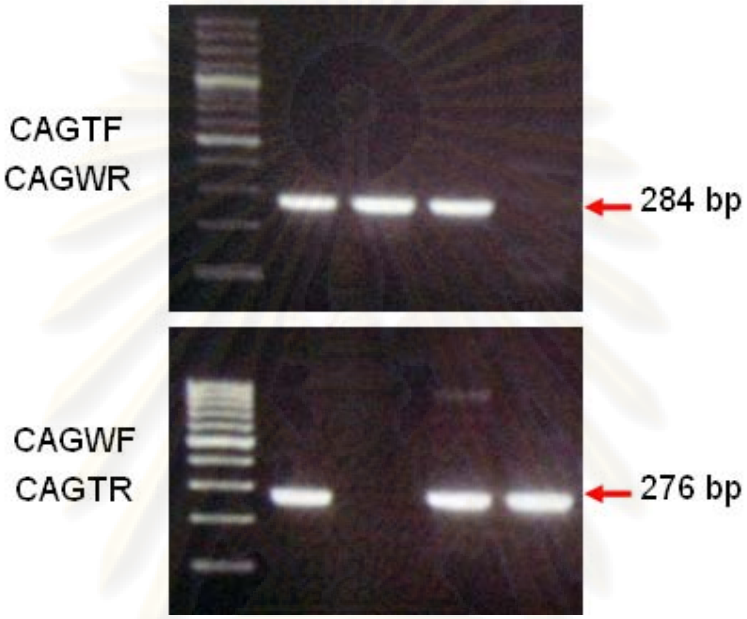
รูปที่ 13 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* ยีน

ผลของการศึกษา *cagA* 1a ยีนหลังจากทำ PCR แล้ว ได้รูปของ gel electrophoresis ดังแสดงในรูปที่ 14 ซึ่งแปลผลได้ว่า ถ้าตรวจพบผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 293 bp โดยใช้ primer CAGTF/CAGJR ร่วมกับ ตรวจพบผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 222 bp โดยใช้ primer CAGJF/CAGTR แสดงว่า เชื้อนั้นมี *cagA* 1a ยีน



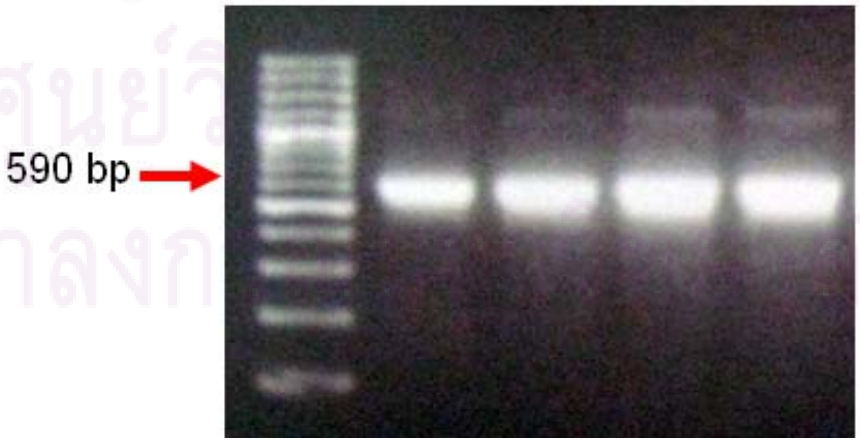
รูปที่ 14 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* 1a ยีน

ผลของการศึกษา *cagA* 2a ยีนหลังจากทำ PCR แล้ว ได้รูปของ gel electrophoresis ดังแสดงในรูปที่ 15 ซึ่งแปลผลได้ว่า ถ้าตรวจพบผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 284 bp โดยใช้ primer CAGTF/CAGWR ร่วมกับ ตรวจพบผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 276 bp โดยใช้ primer CAGWF/CAGTR แสดงว่า เชื้อนั้นมี *cagA* 2a ยีน



รูปที่ 15 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *cagA* 2a ยีน

ผลของการศึกษา *hrgA* ยีนหลังจากทำ PCR แล้ว ได้รูปของ gel electrophoresis โดยใช้ primer hrgAf/hrgAr ดังแสดงในรูปที่ 16 ซึ่งแปลผลได้ว่า ถ้าตรวจพบผลิตภัณฑ์ PCR ขนาด 590 bp แสดงว่า เชื้อนั้นมี *hrgA* ยีน



รูปที่ 16 การวิเคราะห์ผลจากผลิตภัณฑ์ PCR ของ *hrgA* ยีน

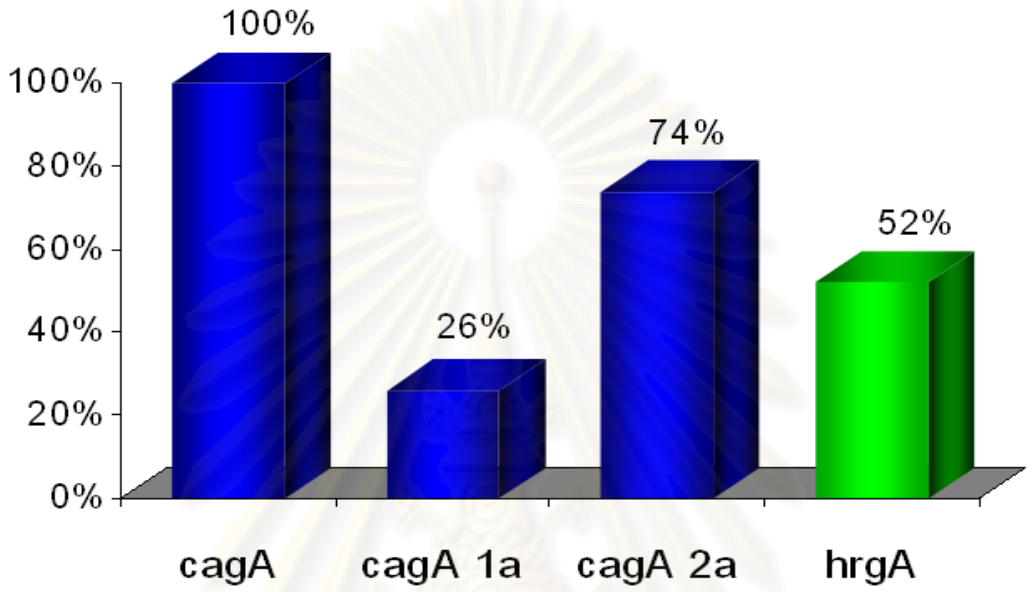
เชื้อ *Helicobacter pylori* ทั้งหมดที่ได้จากผู้ป่วยมี *cagA* ยีน โดยพบ *cagA* 1a จีโนไทป์ 26% และ พบ *cagA* 2a จีโนไทป์ 74% ส่วน *hrgA* ยีนนั้น พบเพียง 52% ของเชื้อทั้งหมด โดยถ้านำผลจีโนไทป์ของยีนทั้งสองมารวมกัน พบว่า จีโนไทป์ *cagA* 2a ร่วมกับมี *hrgA* ยีนนั้น พบบ่อยที่สุด (41%) รองลงมา คือ จีโนไทป์ *cagA* 2a แต่ไม่มี *hrgA* ยีน 33% ส่วนจีโนไทป์ *cagA* 1a แต่ไม่มี *hrgA* ยีน พบ 15% ส่วนจีโนไทป์ที่น้อยสุด คือ จีโนไทป์ *cagA* 1a ร่วมกับมี *hrgA* ยีน (11%) ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 10 และ แผนภูมิที่ 1 และ 2

ตารางที่ 10 ความชุกของ *cagA* ยีน *cagA* จีโนไทป์ *hrgA* ยีน และ จีโนไทป์โดยรวม ที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน

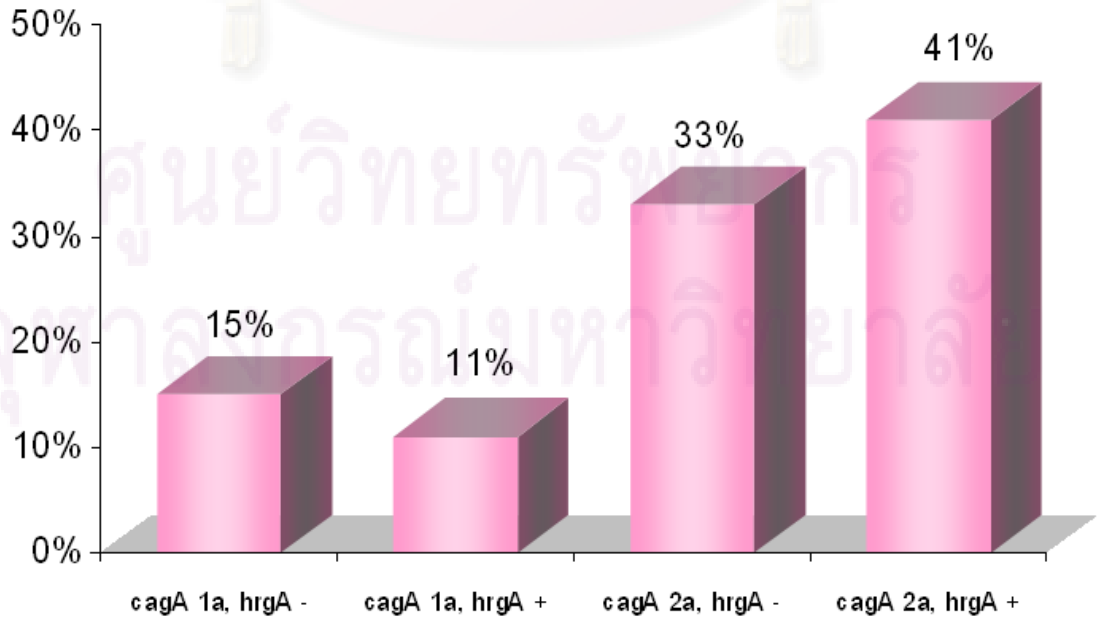
ตัวแปร	ค่าที่วัดได้
cagA	100%
cagA จีโนไทป์	
cagA 1a	26%
cagA 2a	74%
hrgA	52%
จีโนไทป์โดยรวม	
cagA 1a, ไม่พบยีน *hrgA*	15%
cagA 1a, พบยีน *hrgA*	11%
cagA 2a, ไม่พบยีน *hrgA*	33%
cagA 2a, พบยีน *hrgA*	41%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 1 ความชุกของ *cagA* ยีน *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีน ที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน



แผนภูมิที่ 2 ความชุกของ *cagA* จีโนไทป์และ *hrgA* ยีนโดยการรวมทั้งสองยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในผู้ป่วยทั้งหมด 100 คน



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อนำผลการตรวจยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* มาแบ่งตามกลุ่มของผู้ป่วย พบว่าผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล และ ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น มี *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีน ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 11 และ แผนภูมิที่ 3 และ 4

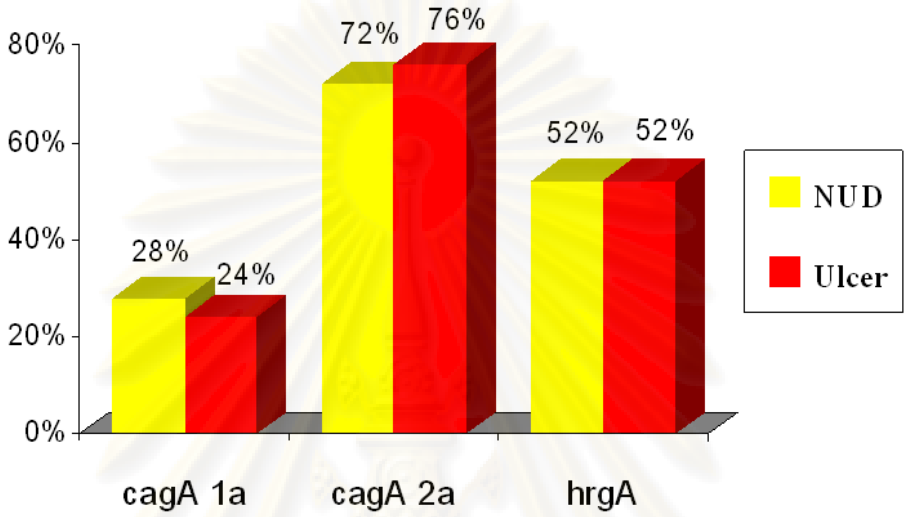
ตารางที่ 11 ความสัมพันธ์ของยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้น (NUD คือ ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล และ Ulcer คือ ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น)

ตัวแปร	NUD	Ulcer	ค่า P*
cagA	100%	100%	1.000
cagA จีโนไทป์			0.648
cagA 1a	28%	24%	
cagA 2a	72%	76%	
hrgA	52%	52%	1.000
จีโนไทป์โดยรวม			0.769
cagA 1a, ไม่พบยีน *hrgA*	14%	16%	
cagA 1a, พบยีน *hrgA*	14%	8%	
cagA 2a, ไม่พบยีน *hrgA*	34%	32%	
cagA 2a, พบยีน *hrgA*	38%	44%	

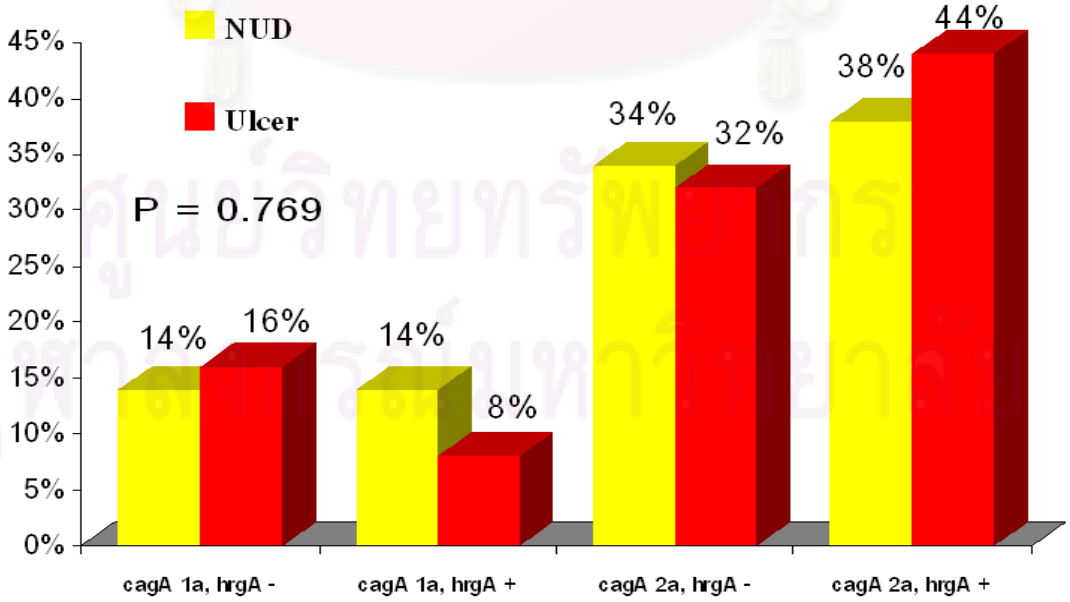
* ค่า $P < 0.05$ ถือว่า มีนัยสำคัญทางสถิติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนภูมิที่ 3 ความสัมพันธ์ของ *cagA* จีโนไทป์และ *hrgA* ยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้น (NUD คือ ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล และ Ulcer คือ ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น)



แผนภูมิที่ 4 ความสัมพันธ์ของ *cagA* จีโนไทป์และ *hrgA* ยีนโดยการรวมทั้งสองยีนที่ตรวจพบของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับโรคที่เกิดขึ้น (NUD คือ ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล และ Ulcer คือ ผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น)



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษานี้โดยรวมมีอายุค่อนข้างมาก คือ มีอายุเฉลี่ย 51 ปี และมีความแตกต่างของอายุมาก คือ อายุน้อยที่สุด 22 ปี มากที่สุด 76 ปี และ มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 13 ปี ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (52%) ประกอบอาชีพรับจ้าง (29%) ไม่มีโรคประจำตัว (84%)

เมื่อแบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่มตามโรคที่เกิดขึ้น พบว่า มีลักษณะพื้นฐานที่แตกต่างกัน 4 อย่าง คือ อายุ ความดันไดแอสโทลิก อาการเตือน และ ระยะเวลาที่มาพบแพทย์ โดยผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น มีอายุเฉลี่ยสูงกว่า ความดันไดแอสโทลิกสูงกว่า มีอาการเตือนได้บ่อยกว่า โดยมีถ่ายอุจจาระเป็นสีดำมากกว่า และ มาพบแพทย์ด้วยระยะเวลาสั้นกว่า ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อนำลักษณะพื้นฐานทั้งหมดที่แตกต่างกันมาทำ Binary logistic regression แล้ว พบว่า ลักษณะพื้นฐานที่แตกต่างกันจริง โดยไม่ได้มีผลมาจากลักษณะพื้นฐานอื่น ได้แก่ ระยะเวลาที่มาพบแพทย์

ผลการตรวจหา *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* จากผู้ป่วยทั้งหมด พบว่า ทั้งหมดตรวจพบมี *cagA* ยีน โดยพบ *cagA* 2a จีโนไทป์ มากกว่า *cagA* 1a จีโนไทป์ (74% เทียบกับ 26%) ส่วน *hrgA* ยีนพบ 52% เมื่อทำผลจีโนไทป์ของยีนทั้งสองมารวมกัน พบว่า จีโนไทป์ *cagA* 2a ร่วมกับมี *hrgA* ยีนนั้น พบบ่อยที่สุด (41%) รองลงมา คือ จีโนไทป์ *cagA* 2a แต่ไม่มี *hrgA* ยีน 33% จีโนไทป์ *cagA* 1a แต่ไม่มี *hrgA* ยีน 15% และ จีโนไทป์ *cagA* 1a ร่วมกับมี *hrgA* ยีน 11% ตามลำดับ

ผลการตรวจหา *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น และกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล พบว่า *cagA* จีโนไทป์ และ *hrgA* ยีน ไม่แตกต่างกันในทั้งสองกลุ่ม โดยพบ *cagA* 2a จีโนไทป์ มากกว่า *cagA* 1a จีโนไทป์ และ พบ *hrgA* ยีน มากกว่า ไม่พบ *hrgA* ยีนเล็กน้อย และเมื่อนำจีโนไทป์โดยรวม โดยใช้ผลของทั้งสองยีนมารวมกัน พบว่า ไม่แตกต่างกันในทั้งสองกลุ่ม โดยพบจีโนไทป์ *cagA* 2a ร่วมกับมี *hrgA* ยีนนั้น บ่อยที่สุดในทั้งสองกลุ่ม

อภิปรายผลการวิจัย

ความแตกต่างของลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มที่แบ่งตามโรคที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยที่พบผู้ป่วยโรคแผลกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น มีอายุเฉลี่ยสูงกว่า ผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล น่าจะอธิบายได้จากพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ โดยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในระยะเริ่มต้นจะทำให้เกิดการอักเสบของกระเพาะอาหารก่อน หลังจากนั้นจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร และเกิดโรคแทรกซ้อนขึ้นในภายหลัง หลังจากที่ติดเชื้อเป็นระยะเวลาหนึ่งแล้ว ส่วนลักษณะพื้นฐานอื่นนั้น อธิบายได้จากโรคที่แตกต่างกันของผู้ป่วย โดยที่โรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กนั้น มักจะมีอาการเตือน และเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยมาพบแพทย์เร็วกว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล

ผลการตรวจหา *cagA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* จากผู้ป่วยทั้งหมด ที่พบ *cagA* 2a จีโนไทป์ มากกว่า *cagA* 1a จีโนไทป์นั้น แตกต่างจากการศึกษา *cagA* จีโนไทป์ในช่วงแรก [103-105] ซึ่งพบ *cagA* 1a จีโนไทป์ มากในประเทศแถบเอเชีย ส่วน *cagA* 2a จีโนไทป์พบมากในประเทศแถบตะวันตก แต่คล้ายกับการศึกษาจากประเทศตุรกี [106] ที่พบว่า *cagA* จีโนไทป์ทั้งหมดเป็น *cagA* 2a และ การศึกษาในประเทศไทย 2 การศึกษา ที่พบ *cagA* 2a จีโนไทป์มากกว่า คือ 55.4% [107] และ 51% [108] แต่ต่างจาก 1 การศึกษาที่พบ *cagA* 2a จีโนไทป์น้อยกว่า คือ พบ 49.2% [109] ซึ่งเนื่องจากแต่ละการศึกษามีความแตกต่างของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา ทั้งในแง่เชื้อชาติ ถิ่นที่อยู่อาศัย โรคที่เกิดขึ้นจากเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยในบางการศึกษารวมผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหารไว้ด้วย จึงทำให้มีผลการศึกษาแตกต่างกัน

ผลการตรวจหา *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* จากผู้ป่วยทั้งหมด พบความชุกของ *hrgA* ยีนเท่ากับ 52% ซึ่งคล้ายกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ชาวตะวันตกมากกว่า โดยผู้ป่วยชาวตะวันตกที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* พบมี *hrgA* ยีนเท่ากับ 50.8% [110] และ 49% [111] ส่วนผู้ป่วยชาวเอเชียตะวันออกที่ติดเชื้อ *Helicobacter pylori* พบมี *hrgA* ยีนเท่ากับ 24.6% [110] และ 29% [111] ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากการที่ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาแตกต่างกัน คือ ทั้งสองการศึกษาที่ผ่านมา มีผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร และ โรคแผลในลำไส้เล็กส่วนต้นร่วมด้วย และอาจมีผลจากการที่เชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย มีความรุนแรงน้อยกว่าประเทศแถบเอเชียตะวันออก ซึ่งเป็นประเทศที่มีอัตราการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารสูง ทั้งๆที่ประเทศไทยก็พบมีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในอัตราที่สูงพอกับประเทศแถบเอเชียตะวันออก

ผลการตรวจหา *cagA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยสองกลุ่มที่แยกตามโรคที่เกิดขึ้น พบว่า *cagA* จีโนไทป์ ไม่แตกต่างกันในทั้งสองกลุ่ม โดยพบจีโนไทป์ *cagA* 2a มากกว่า จีโนไทป์ *cagA* 1a ในทั้งสองกลุ่ม ซึ่งผลการศึกษานี้เหมือนกับสองการศึกษาเดิม [107, 108] ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ของ *cagA* จีโนไทป์ในผู้ป่วยโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น และผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล แต่พบความสัมพันธ์ของ *cagA* จีโนไทป์ในผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยพบ จีโนไทป์ *cagA* 1a ในผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหารมากกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร คือ 71% เทียบกับ 39% [107] และ 71% เทียบกับ 34% [108] ดังนั้น *cagA* จีโนไทป์ จึงไม่สามารถใช้เป็นเครื่องหมาย (marker) บ่งบอกว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ใดมีความรุนแรง

ผลการตรวจหา *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยสองกลุ่มที่แยกตามโรคที่เกิดขึ้น พบว่า ความชุกของ *hrgA* ยีนไม่แตกต่างกันในทั้งสองกลุ่ม ซึ่งผลการศึกษานี้เหมือนกับการศึกษาทั้งสองการศึกษาเกี่ยวกับ *hrgA* ยีนที่เคยมีมาก่อน [110, 111] ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ของ *hrgA* ยีนในผู้ป่วยโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น และผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารชนิดไม่พบแผล แต่พบความสัมพันธ์ของ *hrgA* ยีนในผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร ในการศึกษาเดียว [110] เนื่องจากทั้งสองการศึกษานี้ ไม่ได้นำเชื้อ *Helicobacter pylori* จากประเทศไทยมาตรวจหายีน ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ จึงช่วยบอกข้อมูลของ *hrgA* ยีนที่จำเพาะกับการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศไทย การที่ *hrgA* ยีนไม่ได้เป็นปัจจัยที่บ่งความรุนแรงของเชื้อ *Helicobacter pylori* ดังเช่นที่พบในการศึกษาแรกสุดของ *hrgA* ยีน [110] อาจเนื่องจากการศึกษาเดิมนั้น พบยีนนี้โดยบังเอิญ ยังไม่ทราบหน้าที่การทำงานของยีนนี้ ความสัมพันธ์ที่พบนั้นจึงอาจเป็นความสัมพันธ์ที่พบจากการทำการวิเคราะห์โดยการแบ่งกลุ่มย่อย (subgroup analysis) โดยไม่ได้เป็นความสัมพันธ์ที่แท้จริงก็เป็นได้

ผลการตรวจหา *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีนของเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยนำจีโนไทป์โดยรวม ซึ่งใช้ผลของทั้งสองยีนมารวมกัน มาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น พบว่า ไม่แตกต่างกันในทั้งสองกลุ่ม โดยพบจีโนไทป์ *cagA* 2a ร่วมกับมี *hrgA* ยีนนั้น บ่อยที่สุดในทั้งสองกลุ่ม เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรก ที่ตรวจหายีนทั้งสองยีนนี้ร่วมกัน และนำมาทำจีโนไทป์โดยรวม จึงไม่สามารถเปรียบเทียบกับการศึกษาใดได้ ผลการศึกษานี้จึงให้ข้อมูลความชุกของจีโนไทป์โดยรวมของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในประเทศ

ไทย ในผู้ที่ติดเชื้อทั้งหมด และ แยกตามโรคที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อ และจากผลการศึกษานี้ สรุปได้ว่า จีโนไทป์โดยรวมของ *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีน ไม่มีความสัมพันธ์กับโรคที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อ *Helicobacter pylori*

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษาวิจัยนี้ไม่มีผู้ป่วยโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร และผู้ป่วยทั้งหมดมีจำนวนน้อย การศึกษาวิจัยต่อไปเกี่ยวกับปัจจัยที่แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยการตรวจหาจีโนไทป์ของ *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีน จึงน่าจะรวมผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร และใช้จำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้น เนื่องจากต้องนำมาทำการวิเคราะห์โดยการแบ่งกลุ่มย่อย (subgroup analysis) เป็น 4 กลุ่ม ตามจีโนไทป์โดยรวมของ *cagA* ยีน และ *hrgA* ยีน เพื่อที่จะได้ผลการศึกษาที่ละเอียดและมีความถูกต้องมากขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

[1] Ernst PB and Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. **Annu Rev Microbiol** 2000;54:615-40.

[2] Kuipers EJ. Review article: exploring the link between *Helicobacter pylori* and gastric cancer. **Aliment Pharmacol Ther** 1999;13:3-12.

[3] Kuipers EJ, Thijs JC, and Festen HP. The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. **Aliment Pharmacol Ther** 1995;9 Suppl 2:59-69.

[4] Kusters JG, Vliet AHM, and Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. **Clin Microbiol Rev** 2006;19:449-90.

[5] Malaty HM and Graham DY. Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. **Gut** 1994;35:742-5.

[6] Fiedorek SC, Malaty HM, Evans DL, Pumphrey CL, Casteel HB, Evans DJ, et al. Factors influencing the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children. **Pediatrics** 1991;88:578-82.

[7] Parsonnet J. The incidence of *Helicobacter pylori* infection. **Aliment Pharmacol Ther** 1995;9 Suppl 2:45-51.

[8] Raymond J, Thiberg JM, Chevalier C, Kalach N, Bergeret M, Labigne A, et al. Genetic and transmission analysis of of *Helicobacter pylori* strains within a family. **Emerg Infect Dis** 2004;10:1816-21.

[9] Megraud F. Transmission of *Helicobacter pylori*: faecal-oral versus oral-oral. **Aliment Pharmacol Ther** 1995;9:85-91.

[10] Graham DY, Opekun AR, Osato MS, El-Zimaity HM, Lee CK, Yamaoka Y, et al. Challenge model for *Helicobacter pylori* infection in human volunteers. **Gut** 2004;53:1235-43.

[11] Kuipers EJ, Uyterlinde AM, Pena AS, Hazenberg HJ, Bloemena E, Lindeman J, et al. Increase of *Helicobacter pylori*-associated corpus gastritis during acid suppressive therapy: implications for long-term safety. **Am J Gastroenterol** 1995;90:1401-6.

[12] Huang JQ, Sridhar S, and Hunt RH. Role of *Helicobacter pylori* infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. **Lancet** 2002;359:14-22.

[13] Moayyedi P, Deeks J, Talley NJ, Delaney B, and Forman D. An update of the Cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systemic reviews. **Am J Gastroenterol** 2003;98:2621-6.

[14] Moayyedi P, Soo S, Deeks J, Forman D, Mason J, Innes M, et al. Systemic review and economic evaluation of *Helicobacter pylori* eradication treatment for non-ulcer dyspepsia. Dyspepsia Review Group. **BMJ** 2000;321:659-64.

[15] Malfertheiner P, Megraud F, Morain CO, Bazzoli F, El-Omar E, Graham DY, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. **Gut** 2007;56:772-81.

[16] Kuipers EJ, Uyterlinde AM, Pena AS, Roosendaal R, Pals G, Nelis GF, et al. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. **Lancet** 1995;345:1525-8.

[17] Sipponen P, Kekki M, Haapakoski J, Ihamaki T, and Siurala M. Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross-sectional data. **Int J Cancer** 1985;35:173-7.

[18] International Agency for Research on Cancer. **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*.** vol.61. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 1994.

[19] Kuipers EJ, Nelis GF, Klinkenberg-Knol EC, Snel P, Goldfain D, Kolkman JJ, et al. Cure of *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with long-term omeprazole reverses gastritis without exacerbation of reflux disease: results of a randomized controlled trial. **Gut** 2004;53:12-20.

[20] Leung WK, Lin SR, Ching JY, To KF, Ng EK, Chan FK, et al. Factors predicting progression of gastric intestinal metaplasia: results of a randomized trial on *Helicobacter pylori* eradication. **Gut** 2004;53:1244-9.

[21] Ley C, Mohar A, Guarner J, Herrera-Goepfert R, Figueroa LS, Halperin D, et al. *Helicobacter pylori* eradication and gastric preneoplastic conditions: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.** 2004;13:4-10.

[22] Mera R, Fontham ET, Bravo LE, Bravo JC, Piazuelo MB, Camargo MC, et al. Long term follow up of patients treated for *Helicobacter pylori* infection. **Gut** 2005;54:1536-40.

[23] Schenk BE, Kuipers EJ, Nelis GF, Bloemena E, Thijs JC, Snel P, et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on chronic gastritis during omeprazole therapy. **Gut** 2000;46:615-21.

[24] Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, et al. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. **JAMA** 2004;291:187-94.

[25] Take S, Mizuno M, Ishiki K, Nagahara Y, Yoshida T, Yokota K, et al. The effect of eradicating *Helicobacter pylori* on the development of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. **Am J Gastroenterol** 2005;100:1037-42.

[26] Eidt S, Stolte M, and Fischer R. *Helicobacter pylori* gastritis and primary gastric non-Hodgkin's lymphomas. **J Clin Pathol** 1994;47:436-9.

[27] Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. **N Engl J Med** 1994;330:1267-71.

[28] Parsonnet J, and Isaacson PG. Bacterial infection and MALT lymphoma. **N Engl J Med** 2004;350:213-5.

[29] de Mascarel A, Ruskone-Fourmestraux A, Lavergne-Slove A, Megraud F, Dubus P, and Merlio JP. Clinical, histological and molecular follow-up of 60 patients with gastric marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. **Virchows Arch** 2005;446:219-24.

[30] Fischbach W, Goebeler-Kolve ME, Dragosics B, Greiner A, and Stolte M. Long term outcome of patients with gastric marginal zone B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue (MALT) following exclusive

Helicobacter pylori eradication therapy: experience from a large prospective series. **Gut** 2004;53:34-7.

[31] Nakamura S, Matsumoto T, Suekane H, Matsumoto H, Esaki M, Yao T, et al. Long-term clinical outcome of *Helicobacter pylori* eradication for gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma with a reference to second-line treatment. **Cancer** 2005;104:532-40.

[32] Wundisch T, Thiede C, Morgner A, Dempfle A, Gunther A, Liu H, et al. Long-term follow-up of gastric MALT lymphoma after *Helicobacter pylori* eradication. **J Clin Oncol** 2005;23:8018-24.

[33] Fallone CA, Barkun AN, Gottke MU, Best LM, Loo VG, Veldhuyzen van Zanten S, et al. Association of *Helicobacter pylori* genotype with gastroesophageal reflux disease and other upper gastrointestinal diseases. **Am J Gastroenterol** 2000;95:659-69.

[34] Labenz J, Blum AL, Bayerdorffer E, Meining A, Stolte M, and Borsch G. Curing *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcer may provoke reflux esophagitis. **Gastroenterology** 1997;112:1442-7.

[35] Vakil N, Hahn B, and McSorley D. Recurrent symptoms and gastro-oesophageal reflux disease patients with duodenal ulcer treated for *Helicobacter pylori* infection. **Aliment Pharmacol Ther** 2000;14:45-51.

[36] Schwizer W, Thumshrin M, Dent J, Guldenschuh I, Menne D, Cathomas G, et al. *Helicobacter pylori* and symptomatic relapse of gastro-oesophageal reflux disease: a randomized controlled trial. **Lancet** 2001;357:1738-42.

[37] Gasbarrini A, Carloni E, Gasbarrini G, and Chisholm SA. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases-other Helicobacters. **Helicobacter** 2004; 9 Suppl 1:57-66.

[38] Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, and Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. **Lancet** 1975;ii:58-9.

[39] Correa P, and Houghton J. Carcinosis of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology** 2007;133:659-72.

[40] Chey WD, Wong BCY, and the Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. **Am J Gastroenterol** 2007;102:1-18.

[41] el-Zimaity HM. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori* with biopsy. **Gastroenterol Clin N Am** 2000;29:863-9.

[42] van IJzendoorn MC, Laheij RJ, de Boer WA, and Jansen JB. The importance of corpus biopsies in the determination of *Helicobacter pylori* infection. **Neth J Med** 2005;63:141-5.

[43] Midolo P, and Marshall BJ. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Urease tests. **Gastroenterol Clin N Am** 2000;29:871-8.

[44] Perna F, Ricci C, Gatta L, Bernabucci V, Cavina M, Miglioli M, et al. Diagnostic accuracy of a new rapid urease test (Pronto Dry), before and after treatment of *Helicobacter pylori* infection. **Minerva Gastroenterol Dietol** 2005;51:247-54.

[45] Lee JM, Breslin NP, Fallon C, O'Morain CA. Rapid urease tests lack sensitivity in *Helicobacter pylori* diagnosis when peptic ulcer disease presents with bleeding. **Am J Gastroenterol** 2000;95:1166-70.

[46] Laine LA, Nathwani RA, and Naritoku W. The effect of GI bleeding on *Helicobacter pylori* diagnostic testing: A prospective study at the time of bleeding and 1 month later. **Gastrointest Endosc** 2005;62:853-9.

[47] Gisbert JP, and Abraira V. Accuracy of *Helicobacter pylori* diagnostic tests in patients with bleeding peptic ulcer: A systematic review and meta-analysis. **Am J Gastroenterol** 2006;101:848-63.

[48] Perez-Perez GI. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Culture, including transport. **Gastroenterol Clin N Am** 2000;29:879-84.

[49] Makristathis A, Hirschl AM, Lehours P, and Mégraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter** 2004;9:7-14.

[50] Lehours P, Ruskone-Fourmestraux A, Lavergne A, Cantet F, and Mégraud F. Which test to use to detect *Helicobacter pylori* infection in patients with

low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma? **Am J Gastroenterol** 2003;98:291-5.

[51] Zsikla V, Hailemariam S, Baumann M, Mund MT, Schaub N, Meier R, et al. Increased rate of *Helicobacter pylori* infection detected by PCR in biopsies with chronic gastritis. **Am J Surg Pathol** 2006;30:242-8.

[52] Lawson AJ, Elviss NC, and Owen RJ. Real-time PCR detection and frequency of 16S rDNA mutations associated with resistance and reduced susceptibility to tetracycline in *Helicobacter pylori* from England and Wales. **Antimicrob Chemother** 2005;56:282-6.

[53] Rimbara E, Noguchi N, Yamaguchi T, Narui K, Kawai T, and Sasatsu M. Development of a highly sensitive method for detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* from human feces. **Current Microbiol** 2005;51:1-5.

[54] De Francesco V, Margiotta M, Zullo M, Hassan C, Valle ND, Burattini O, et al. Primary clarithromycin resistance in Italy assessed on *Helicobacter pylori* DNA sequences by TaqMan real-time polymerase chain reaction. **Aliment Pharmacol Ther** 2006;23:429-35.

[55] Ho GY, Windsor HM. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Polymerase chain reaction tests. **Gastroenterol Clin N Am** 2000;29:903-15.

[56] Ho B, and Marshall BJ. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Serologic testing. **Gastroenterol Clin N Am** 2000;29:853-62.

[57] Loy CT, Irwig LM, Katelaris PH, and Talley NJ. Do commercial serological kits for *Helicobacter pylori* infection differ in accuracy? A meta-analysis. **Am J Gastroenterol** 1996;91:1138-44.

[58] Nurgalieva ZZ, and Graham DY. Pearls and pitfalls of assessing *Helicobacter pylori* status. **Dig Liver Dis** 2003;35:375-7.

[59] Hoang TT, Wheeldon TU, Bengtsson C, Phung DC, Sörberg M, and Granström M. Enzyme-linked immunosorbent assay for *Helicobacter pylori* needs adjustments for the population investigated. **J Clin Microbiol** 2004;42:627-30.

[60] Chey WD. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. ^{14}C-urea breath test. **Gastroenterol Clin N Am** 2000;29:895-902.

[61] Gisbert JP, and Pajares JM. Review article: ^{13}C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection –a critical review. **Aliment Pharmacol Ther** 2004;20:1001-17.

[62] Leodolter A, Domingues-Munoz JE, von Arnim U, Kahl S, Peitz U, and Malfertheiner P. Validity of a modified ^{13}C-urea breath test for pre- and post-treatment diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in the routine clinical setting. **Am J Gastroenterol** 1999;94:2100-4.

[63] Chey WD, Metz DC, Shaw S, Kearney D, Montague J, and Murthy U. Appropriate timing of the ^{14}C-urea breath test to establish eradication of *Helicobacter pylori* infection. **Am J Gastroenterol** 2000;95:1171-4.

[64] Laine L, Estrada R, Trujillo M, Knigge K, and Fennerty MB. Effect of proton-pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. **Ann Intern Med** 1998;129:547-50.

[65] Graham DY, Opekun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Reddy R, Osato MS, et al. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibitors. **Am J Gastroenterol** 2003;98:1005-9.

[66] Savarino V, Tracci D, Dulbecco P, Mele MR, Zentilin P, Mansi C, et al. Negative effect of ranitidine on the results of urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. **Am J Gastroenterol** 2001;96:348-52.

[67] Graham DY, Opekun AR, Jogi M, Yamaoka Y, Lu H, Reddy R, et al. False negative urea breath tests with H2-receptor antagonists: Interactions between *Helicobacter pylori* density and pH. **Helicobacter** 2004;9:17-27.

[68] Gisbert JP, and Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: A systematic review. **Helicobacter** 2004;9:347-68.

[69] Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther 2002;16:167-80.

[70] Bravo LE, Realpe JL, Campo C, Mera R, and Correa P. Effects of acid suppression and bismuth medications on the performance of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection. **Am J Gastroenterol** 1999;94:2380-3.

[71] Manes G, Balzano A, Iaquinto G, Ricci C, Piccirillo MM, Giardullo N, et al. Accuracy of the stool antigen test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before treatment and in patients on omeprazole therapy. **Aliment Pharmacol Ther** 2001;15:73-9.

[72] Peitz U, Leodolter A, Kahl S, Agha-Amiri K, Wex T, Wolle K, et al. Antigen stool test for assessment of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal bleeding. **Aliment Pharmacol Ther** 2003;17:1075-84.

[73] Lin HJ, Lo WC, Perng CL, Li AF, Tseng GY, Sun IC, et al. *Helicobacter pylori* stool antigen test in patients with bleeding peptic ulcers. **Helicobacter** 2004;9:663-8.

[74] Graham DY and J.Y. Sung J. *Helicobacter pylori*. In: Feldman M, Friedman LS, and Brandt LJ, editors; **Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management**. Philadelphia:Saunders, 2006:1051-3.

[75] Itoh T, Yanagawa Y, Shingaki M, Takahashi M, Kai A, Ohashi M, et al. Isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa and characterization of the isolates. **Microbiol Immunol** 1987; 31:603-14.

[76] Boren T, Falk P, Roth KA, Larson G, and Normark S. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. **Science** 1993; 262:1892-5.

[77] Moran AP. The role of lipopolysaccharide in *Helicobacter pylori* pathogenesis. **Aliment Pharmacol Ther** 1996;10 Suppl 1:39-50.

[78] Ernst PB, Crowe SE, Reyes VE. How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? The inflammatory response. **Gastroenterology** 1997;113 Suppl 6:S35-42; discussion S50.

[79] Evans Jr DJ, Evans DG, Takemura T, Nakano H, Lampert HC, Graham DY, et al. Characterization of a *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein. **Infect Immun** 1995;63:2213-20.

[80] Tufano MA, Rossano F, Catalanotti P, Liguori G, Capasso C, Ceccarelli MT, et al. Immunobiological activities of *Helicobacter pylori* porins. **Infect Immun** 1994;62:1392-9.

[81] Blaser MJ. Role of *vacA* and the *cagA* locus of *Helicobacter pylori* in human disease. **Aliment Pharmacol Ther** 1996;10 Suppl 1:73-7.

[82] Yamaoka Y, Kodama T, Kita M, Imanishi J, Kashima K, and Graham DY. Relationship of *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* to *cagA* status, cytotoxin production, and clinical outcome. **Helicobacter** 1998;3:241-53.

[83] Yamaoka Y, Kwon DH, and Graham DY. A M(r) 34,000 proinflammatory outer membrane protein (oipA) of *Helicobacter pylori*. **Proc Natl Acad Sci U S A** 2000;97:7533-8.

[84] Blaser MJ, and Atherton JC. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. **J Clin Investig** 2004;113:321-3.

[85] Leunk RD, Johnson PT, David BC, Kraft WG, and Morgan DR. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of Campylobacter pylori. **J Med Microbiol** 1988;26:93-9.

[86] Covacci A, Censini S, Bugnoli M, Petracca R, Burroni D, Macchia G, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. **Proc Natl Acad Sci USA** 1993;90:5791-5.

[87] Ito Y, Azuma T, Ito S, Miyaji H, Hirai M, Yamazaki Y, et al. Analysis and typing of the *vacA* gene from *cagA*-positive strains of *Helicobacter pylori* isolated in Japan. **J Clin Microbiol** 1997;35:1710-4.

[88] Miehlke S, Kibler K, Figura N, Small SM, Graham DY, and Go MF. Allelic variation in the *cagA* gene of *Helicobacter pylori* obtained from Korea compared to the United States. **Am J Gastroenterol** 1996;91:1322-5.

[89] Pan ZJ, Hulst RWM, Feller M, Xiao SD, Tytgat GNJ, Dankert J, et al. Equally high prevalence of infection with *cagA*-positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis-associated dyspepsia. **J Clin Microbiol** 1997;35:1344-7.

[90] Blaser MJ. *Helicobacter pylori* phenotypes associated with peptic ulceration. **Scand J Gastroenterol** 1994;29 Suppl 205:1-5.

[91] Crabtree JE and Farmery SM. *Helicobacter pylori* and gastric mucosal cytokines: evidence that *CagA*-positive strains are more virulent. **Lab Investig** 1995;73:742-5.

[92] Rudi J, Kolb C, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Galle PR, et al. Diversity of *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. **J Clin Microbiol** 1998;36:944-8.

[93] van der Ende A, Pan ZJ, Bart A, van der Hulst RWM, Feller M, Xiao SD, et al. *cagA*-positive *Helicobacter pylori* populations in China and The Netherlands are distinct. **Infect Immun** 1998;66:1822-6.

[94] Weel JFL, van der Hulst RWM, Gerrits Y, Roorda P, Feller M, Dankert J, et al. The interrelationship between cytotoxin-associated gene A, vacuolating cytotoxin, and *Helicobacter pylori*-related diseases. **J Infect Dis** 1996;173:1171-5.

[95] Perez-Perez GI, Bhat N, Gaensbauer J, Fraser A, Taylor DN, Kuipers EJ, et al. Country-specific constancy by age in *cagA*(1) proportion of *Helicobacter pylori* infections. **Int J Cancer** 1997;72:453-6.

[96] Blaser MJ, and Crabtree JE. CagA and the outcome of *Helicobacter pylori* infection. **Am J Clin Pathol** 1996;106:565–7.

[97] Kuipers EJ, Perez-Perez GI, Meuwissen SG, and Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the *cagA* status. **J Natl Cancer Inst** 1995;87:1777-80.

[98] van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Blaser MJ, and Quint WG. Distinct variants of *Helicobacter pylori cagA* are associated with *vacA* subtypes. **J Clin Microbiol** 1999;37:2306-11.

[99] Beales ILP, Crabtree JE, Scunes D, Covacci A, and Calam J. Antibodies to CagA protein are associated with gastric atrophy in *Helicobacter pylori* infection. **Eur J Gastroenterol Hepatol** 1996;8:645-9.

[100] Go MF, and Graham DY. Presence of the *cagA* gene in the majority of *Helicobacter pylori* strains is independent of whether the individual has duodenal ulcer or asymptomatic gastritis. **Helicobacter** 1996;1:107-11.

[101] Hamlet A, Thoreson AC, Nilsson O, Svennerholm AM, and Olbe L. Duodenal *Helicobacter pylori* infection differs in *cagA* genotype between asymptomatic subjects and patients with duodenal ulcers. **Gastroenterology** 1999;116:259-68.

[102] Peek RM, Miller GG, Tham KT, Pe´rez-Pe´rez GI, Zhao XM, Atherton JC, et al. Heightened inflammatory response and cytokine expression in vivo to *cagA*+ *Helicobacter pylori* strains. **Lab Investig** 1995;73:760-70.

[103] Rota CA, Pereira-Lima JC, Blaya C, and Nardi NB. Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3′ region of *cagA* gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. **J Clin Microbiol** 2001;39:606-12.

[104] Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY, and Sepulveda AR. Variants of the 3′ region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different *Helicobacter pylori*-associated diseases. **J Clin Microbiol** 1998;36:2258-63.

[105] Yamaoka Y, Orito E, Mizokami M, Gutierrez O, Saitou N, Kodama T, et al. *Helicobacter pylori* in North and South America before Columbus. **FEBS Lett** 2002;517:180-4.

[106] Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, and Sander E. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. **J Clin Microbiol** 2004;42:1648-51.

[107] Vilaichone RK, Mahachai V, Tumwasorn S, Wu JY, Graham DY, and Yamaoka Y. Gastric mucosal cytokine levels in relation to host interleukin-1 polymorphisms and *Helicobacter pylori cagA* genotype. **Scan J Gastroenterol** 2005;40:530-9.

[108] Vilaichone RK, Mahachai V, Tumwasorn S, Wu JY, Graham DY, and Yamaoka Y. Molecular epidemiology and outcome of *Helicobacter pylori* infection in Thailand: a cultural cross roads. **Helicobacter** 2004;9:453-9.

[109] Vilaichone RK, Tumwasorn S and Mahachai V. Clinical relevance of the gene *cagA, vacA* and *iceA* genotypes of *Helicobacter pylori* in Thailand. **Helicobacter** In press.

[110] Ando T, Wassenaar TM, Peek Jr. RM, Aras RA, Tschumi AI, van Doorn LJ, et al. A *Helicobacter pylori* restriction endonuclease-replacing gene, *hrgA*, is associated with gastric cancer in Asian strains. **Cancer Res** 2002;62:2385-9.

[111] Lu H, Graham DY, and Yamaoka Y. The *Helicobacter pylori* restriction endonuclease-replacing gene, *hrgA*, and clinical outcome: comparison of East Asia and Western countries. **Dig Dis Sci** 2004;49:1551-5.

[112] Atisook K, Kachinthorn U, Luengrojanakul P, Tanwandee T, Pakdirat P, and Puapairoj A. Histology of gastritis and *Helicobacter pylori* infection in Thailand: a nationwide study of 3376 cases. **Helicobacter** 2003;8:132-41.

[113] Mahachai V, Tankijvanich P, Wannachai N, Sumpathanukul P, and Kullavanijava P. CagA and VacA: virulence factors of *Helicobacter pylori* in Thai patients with gastroduodenal diseases. **Helicobacter** 1999;4:143-7.

[114] Linpisarn S, Suwan W, Lertprasertsuk N, Koosirirat C, Steger HF, Prommuangyong K, et al. *Helicobacter pylori cagA, vacA* and *iceA* genotypes in northern Thai patients with gastric disease. **Southeast Asian J Trop Med Public Health** 2007;38(2):356-62.

[115] Chomvarin C, Namwat W, Chaicumpar K, Mairiang P, Sangchan A, Sripa B, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA* and *babA2* genotypes in Thai dyspeptic patients. **Int J Infect Dis**. In press.

[116] Yamaoka Y, El-Zimaity HMT, Gutierrez O, Figura N, Kim JK, Kodama T, et al. Relationship between the *cagA* 3′ repeat region of *Helicobacter pylori*, gastric histology, and susceptibility to low pH. **Gastroenterology** 1999;117:342-9.

[117] Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY, and Sepulveda AR. Variants of the 3′ region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates from different *H. pylori* associated diseases. **J Clin Microbiol** 1998;36:2258-63.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
ใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

การวิจัยเรื่อง การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *แค้กเอ* จีโนไทป์ และ *เอชอาร์จีเอ* ยีนในการติดเชื้อ *เฮลิโคแบ็คเตอร์ ไพโลไร* กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในประเทศไทย

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

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

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

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผลและการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยหรือผู้ได้รับอำนาจมอบหมายให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของผู้เข้าร่วมวิจัย เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิทยาศาสตร์ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้ายินดีลงนามในเอกสารยินยอมนี้เพื่อเข้าร่วมการวิจัยด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข
ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *แค้กเอ*จีโนไทป์ และ *เอชอาร์จีเอ*ยีนในการติดเชื้อ*เฮลิโคแบ็คเตอร์ ไพโลไร* กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นในประเทศไทย

แพทย์ผู้ทำการวิจัย

พญ. ฉัตรพร กิตติตระกูล
ที่อยู่ หน่วยโรคทางเดินอาหาร ตึกพร้อมพันธ์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เบอร์โทรศัพท์ที่ทำงาน 02 2564265, มือถือ 081 9033291

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่แสดงข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจของท่านในการเข้าร่วมการศึกษาวิจัย อย่างไรก็ตามก่อนที่ท่านตกลงเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างละเอียดเพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย ซึ่งจะเป็นผู้สามารถให้ความกระจ่างแก่ท่านได้ ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านเซ็นชื่อยินยอมในเอกสารฉบับนี้

วัตถุประสงค์หลักของการวิจัย

เพื่อศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในกระเพาะอาหาร กับการเกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น โดยมีผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทั้งหมดประมาณ 100 คน

ขั้นตอนและวิธีการศึกษา

ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับการซักประวัติและตรวจร่างกายตามแบบฟอร์มที่เตรียมไว้ ร่วมกับการส่องกล้องทางเดินอาหารส่วนต้น โดยต้องงดอาหารและน้ำหลังเที่ยงคืนมาก่อน เมื่อจะทำการส่องกล้องจะทำการพ่นยาชาในคอผู้เข้าร่วมการวิจัยและเริ่มทำการส่องกล้องตรวจโดยผู้เข้าร่วมการวิจัยจะนอนในท่าตะแคงซ้ายและทำการตัดชิ้นเนื้อกระเพาะอาหาร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มม.

โดยถ้าตรวจพบแผลในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็กส่วนต้น จะตัดชิ้นเนื้อ จำนวน 2 ชิ้น แต่ถ้าไม่พบแผล จะตัดชิ้นเนื้อ จำนวน 4 ชิ้น หลังจากส่องกล้องแล้วควรรออีกประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้คอหายชาจึงเริ่มทานอาหารและน้ำได้ตามปกติ

ชิ้นเนื้อที่ได้ จะนำไปทำการเพาะเชื้อแบคทีเรีย และ/หรือ ส่งตรวจทางพยาธิวิทยา ถ้าพบเชื้อแบคทีเรียก็จะทำการตรวจชนิดของสารพันธุกรรมแล้วนำมาเปรียบเทียบกัน

หลังส่องกล้องทางเดินอาหาร จะนัดมาฟังผลการเพาะเชื้อในภายหลังอีกประมาณ 2 อาทิตย์ ถ้าพบเชื้อ ผู้เข้าร่วมการวิจัยก็จะได้รับการรักษาตามมาตรฐานปกติ

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

การส่องกล้องทางเดินอาหารมีความปลอดภัยสูงโดยโอกาสเกิดภาวะแทรกซ้อนมีไม่เกิน 0.1% เช่น การสำลัก ทางเดินอาหารอาจทะลุหรือฉีกขาด ซึ่งพบได้น้อยมาก การตัดชิ้นเนื้อ อาจมีเลือดออกมาบ้าง ซึ่งจะหยุดได้เอง

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบโทรศัพท์มาปรึกษาแพทย์ผู้วิจัยหรือมาพบแพทย์ที่โรงพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน หากอาการต่างดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาทางการแพทย์ที่เหมาะสม โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่ท่านจะได้รับจากการเข้าร่วมการวิจัย

1. ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับการตรวจชิ้นเนื้อโดยการเพาะเชื้อ และ/หรือ ตรวจทางพยาธิวิทยาเพิ่มขึ้นจากการส่องกล้องทางเดินอาหารส่วนต้นโดยปกติ และจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในการตรวจเพิ่มเติมนี้
2. เนื่องจากปัจจุบัน เชื้อแบคทีเรียในกระเพาะอาหารมีการดื้อยามากขึ้น การที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยนี้ได้ทำการเพาะเชื้อเพิ่มเติมจากการตรวจปกติ ถ้าผลการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาในเบื้องต้นไม่ดีขึ้นแล้ว สามารถนำเชื้อที่เพาะขึ้นนี้มาทดสอบการดื้อยาได้ ว่าดื้อยาชนิดใด ทำให้สามารถเปลี่ยนไปใช้ยาที่ฆ่าเชื้อได้มีประสิทธิภาพขึ้น

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมโครงการวิจัย

สิ่งที่ท่านควรปฏิบัติคือ

1. ท่านต้องให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่แพทย์ผู้ทำวิจัย

2. ท่านต้องแจ้งให้แพทย์ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
3. ท่านต้องงดอาหารและน้ำก่อนทำการตรวจอย่างน้อย 6 ชั่วโมง

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการวิจัยแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด แพทย์ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือ ท่านไม่ให้ความร่วมมือ และไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์ผู้ทำวิจัย

การปกป้องรักษาข้อมูลของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้ร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
6. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
7. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลเสียใดๆ ทั้งสิ้น
8. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่

9. ท่านจะได้โอกาสในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านมีข้อสงสัยในสิทธิหรือมีปัญหาที่ไม่ได้รับคำตอบจากผู้วิจัยหรือไม่ได้รับความคุ้มครองในสิทธิของผู้ร่วมวิจัย สามารถติดต่อได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค
แบบบันทึกผู้ป่วย

1. เลขที่..... วันที่ตรวจ .....

2. ชื่อย่อ.....

3. เลขที่ผู้ป่วย.....

4. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

5. วันเดือนปีเกิด..... อายุ.....ปี อาชีพ

.....

6. ที่อยู่ปัจจุบัน (ที่สามารถติดต่อได้).....

.....

โทรศัพท์บ้าน .....โทรศัพท์มือถือ .....

7. น้ำหนัก.....ก.ก.

8. ประวัติการแพ้ยา.....

9. ความดันโลหิต.....mmHg.

10. Endoscopics finding.....

.....

.....

.....

11. *H. pylori* (Clo-test) ☐ Positive ☐ Negative

12. ตัดชิ้นเนื้อรวม ..... ชิ้น

Antrum 3 ชิ้น

☐ ใส่ CLO-test 1 ชิ้น

☐ ใส่ Transport Media 1 ชิ้น

☐ ใส่ Formalin

Body 1 ชิ้น

☐ ใส่ Formalin

ชื่อแพทย์ผู้ตรวจ.....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

13. อาการเป็นมานาน.....เดือน / ปี

	ไม่มี	มี	
เรอเปรี้ยว	☐	☐	
ปวดท้องช่วงบน	☐	☐	
ท้องอืด จุกแน่น	☐	☐	
คลื่นไส้	☐	☐	
อาเจียน	☐	☐	
ปวดท้องกลางคืน	☐	☐	

14. อาการเตือน

ท้องเสีย	☐	☐	
ท้องผูก	☐	☐	
น้ำหนักลด	☐	☐	(.....ก.ก./เดือน)
ถ่ายมีเลือดปน	☐	☐	
ถ่ายเป็นสีดำ	☐	☐	
กลืนลำบาก	☐	☐	
ตาเหลือง	☐	☐	

อาการอื่น ๆ

.....

15. ประวัติครอบครัว

มะเร็งกระเพาะอาหาร	☐ ไม่มี	☐ มี
โรคกระเพาะ	☐ ไม่มี	☐ มี

16. โรคประจำตัวอื่น ๆ ☐ ไม่มี ☐ มี

ถ้ามีได้แก่ ☐ เบาหวาน ☐ ความดัน ☐ หัวใจ ☐ โรคอื่น ๆ .....

17. ยาที่ใช้เป็นประจำ.....

ประวัติการแพ้ยา	☐ ไม่มี	☐ มี
ทานยาแก้ปวดเป็นประจำ	☐ ไม่มี	☐ มี

18. ประวัติการดื่มสุรา ☐ ไม่ดื่ม ☐ ดื่ม (จำนวน.....)

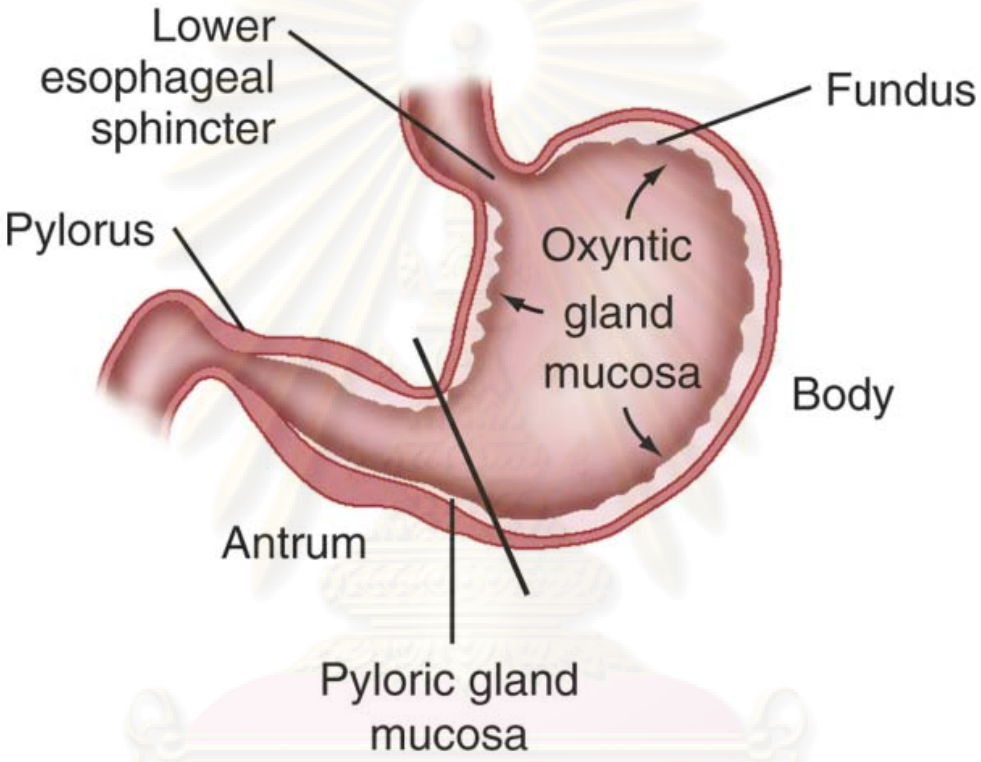
19. ประวัติการสูบบุหรี่ ☐ ไม่สูบ ☐ สูบ (จำนวน.....)

ลงบันทึกโดย

.....

ภาคผนวก ง

กายวิภาคแสดงส่วนของกระเพาะอาหาร [74]



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ พญ. ฉัตรพร กิตติตระกูล

วันเดือนปีเกิด 5 พฤษภาคม พ.ศ. 2521 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นิสิตคณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2538-2543
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา	2544
แพทย์ประจำโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน	2545-2546
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์	2547-2549

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1) จุฬาลงกรณ์	2543
วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2549

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย

สมาชิกสมาคมแพทย์ระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย