

## สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงจีโนไทป์และฟีโนไทป์ของกลูตาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส ในคนไทยที่เป็นมะเร็งตับ โดยทำการศึกษาถึงชนิด และความถี่ของยีน GSTs ชนิด M1, P1 และ T1 ในคนไทยที่เป็นมะเร็งตับเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติที่มีสุขภาพดี ซึ่งพบความถี่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTM1* แบบ homozygous mutant ในกลุ่มคนปกติที่มีสุขภาพดี คิดเป็นร้อยละ 56.79 ซึ่งน้อยกว่าความถี่ที่มีการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาในกลุ่มประชากรไทยที่มีสุขภาพดี ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ คิดเป็นร้อยละ 62.7 [4] ส่วนความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTP1* และ *GSTT1* พบว่ามีความถี่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกับประชากรในเชื้อชาติต่างๆ ที่ได้มีการศึกษาในกลุ่มประชากรในแถบเอเชีย [12] แต่ไม่มีข้อมูลการศึกษาในกลุ่มของประชากรไทย

ส่วนในการศึกษาผลของจีโนไทป์ต่อความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับนั้น ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน GSTs ชนิด M1, P1 และ T1 ในคนไทยที่เป็นมะเร็งตับจำนวน 140 คน และคนปกติที่มีสุขภาพดี จำนวน 280 คน จากตารางที่ 15 พบว่าในยีน *GSTP1* แบบ heterozygous mutant (Ile/Val) มีผลในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับในกลุ่มประชากรไทยเมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ โดยมีค่า OR เท่ากับ 0.5745, 95% CI (0.3648-0.9046) และมีค่า *p*-value เท่ากับ 0.016 ( $p < 0.05$ ) ซึ่งมีการกระจายตัวของยีนเป็นไปตามสมการของ Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) และมีค่า chi-square เท่ากับ 5.79 เนื่องมาจากการเกิด SNPs ของยีน *GSTP1* ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 104 จาก Isoleucine เป็น Valine ซึ่งทำให้ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารก่อมะเร็งบางชนิดที่มีความจำเพาะกับสารตั้งต้น (specific substrate) เพิ่มขึ้น เช่น สารจำพวก polycyclic aromatic hydrocarbon เป็นต้น จึงพอจะสรุปได้ว่ายีน *GSTP1* น่าจะเป็นยีนที่ส่งผลในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับได้ [12]

เมื่อทำการศึกษาร่วมกันระหว่าง 2 ยีน จากตารางที่ 16 พบว่ายีน *GSTT1* แบบ wild type (+/+) กับยีน *GSTP1* แบบ heterozygous mutant (Ile/Val) มีผลในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับในกลุ่มประชากรไทยเมื่อทำการเปรียบเทียบกับคนปกติที่มีสุขภาพดี โดยมีค่า OR เท่ากับ 0.4125, 95% CI (0.1836-0.9269) และมีค่า *p*-value เท่ากับ 0.029 ( $p < 0.05$ ) จึงอาจจะสรุปได้ว่ายีน *GSTP1* น่าจะเป็นยีนที่มีอิทธิพลมากกว่ายีน *GSTT1* เพราะผลที่ได้เป็นการลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งตับ ทั้งนี้ต้องขึ้นกับความจำเพาะกับสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็งบางชนิด

เมื่อทำการศึกษาร่วมกันระหว่าง 3 ยีน แบบแยกเป็น wild type, heterozygous mutant และ homozygous mutant พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (statistical significant) แต่เมื่อนำมาศึกษาปฏิสัมพันธ์ โดยแบ่งออกเป็น null allele กับ wild type ของยีน *GSTM1* และ *GSTT1* และ wild type กับ mutant ของยีน *GSTP1* พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (statistical significant) จำนวน 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ *GSTM1* เป็น wild type (+/+), *GSTT1* เป็น wild type (+/+), และ *GSTP1* เป็น mutant (Ile/Val หรือ Val/Val) มีค่า OR เท่ากับ 0.3745, 95% CI (0.1742-0.8052) และค่า *p*-value เท่ากับ 0.011 ( $p < 0.05$ ), กลุ่มที่ *GSTM1* เป็น null allele (-/-), *GSTT1* เป็น wild type (+/+) และ *GSTP1* เป็น mutant (Ile/Val หรือ Val/Val) มีค่า OR เท่ากับ 0.1830, 95% CI (0.0707-0.4736) และค่า *p*-value เท่ากับ 0.0002 ( $p < 0.05$ ), กลุ่มที่ *GSTM1* เป็น wild type (+/+), *GSTT1* เป็น null allele (-/-) และ *GSTP1* เป็น mutant (Ile/Val หรือ Val/Val) มีค่า OR เท่ากับ 0.1220, 95% CI (0.0151-0.9862) และค่า *p*-value เท่ากับ 0.022 ( $p < 0.05$ ), และกลุ่มที่ *GSTM1* และ *GSTT1* เป็น null allele (-/-) และ *GSTP1* เป็น mutant (Ile/Val หรือ Val/Val) มีค่า OR เท่ากับ 0.3835, 95% CI (0.1573-0.9347) และค่า *p*-value เท่ากับ 0.032 ( $p < 0.05$ ) ดังตารางที่ 17 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTP1* แบบ heterozygous mutant อาจจะมีผลในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดเป็นมะเร็งตับ hepatocellular carcinoma หรือ cholangiocarcinoma ในกลุ่มประชากรไทย ซึ่งมีความแตกต่างจากกลุ่มประชากรในเชื้อชาติอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 5 [5] เนื่องจากงานวิจัยส่วนใหญ่ทำการศึกษาเฉพาะความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *GSTs* ชนิด M1 และ T1 ต่อการเกิดเป็นมะเร็งตับ เนื่องมาจากว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในยีนทั้งสองชนิดนั้น เป็นลักษณะของการเกิดการขาดหายไปของยีนทั้งยีน (whole gene deletion) ด้วยเหตุผลนี้จึงใช้เป็นสมมติฐานของวิจัยอื่นๆ ในการศึกษาต่อมาในภายหลัง เพราะว่าการเกิดการขาดหายไปของยีนทั้งนั้น ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ *GSTs* ทำให้เกิดการขาดหายไป ซึ่งให้ผลในงานวิจัยที่แตกต่างกันไปทางสถิติ ในแต่ละกลุ่มประชากร เชื้อชาติ และ พันธุกรรม เป็นต้น โดยการศึกษาวิจัยนี้ทำการศึกษาในกลุ่มประชากรไทยที่เป็นมะเร็งตับครั้งนี้

พบว่า ยีน *GSTP1* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทำการศึกษาร่วมกันระหว่าง 2 ยีน และ 3 ยีนกับยีน *GSTM1* และ/หรือยีน *GSTP1* ตามที่กล่าวมาข้างต้น จึงอาจสรุปได้ว่ายีน *GSTP1* มีผลในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับในกลุ่มประชากรไทย แต่เมื่อทำการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีน *GSTM1* หรือยีน *GSTT1* ยังไม่พบว่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั้งหมดนี้ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของเชื้อชาติ พันธุกรรม ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม และจำนวนตัวอย่าง เป็นต้น

ส่วนการศึกษาผลของความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ (genotype-phenotype correlation) ในกลุ่มประชากรไทยที่เป็นมะเร็งตับ พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (statistical significant) อาจเนื่องมาจาก

1. จำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้มีจำนวนน้อยเกินไป ทำให้เมื่อนำมาจัดกลุ่ม (haplo-group) แล้วพบความถี่และการกระจายตัวของประชากรในแต่ละกลุ่มมีจำนวนน้อยมาก ทำให้เมื่อนำไปคำนวณผลในทางสถิติ อาจจะไม่พบมีความแตกต่างกันทางสถิติ
2. สารตั้งต้นที่ใช้ไม่มีความจำเพาะกับเอนไซม์ GSTs เนื่องจากไม่สารตั้งต้นใดที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเอนไซม์ GSTs ซึ่งในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ทำการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ GSTs ชนิด M1, P1 และ T1 แต่ไม่มีสารใดที่มีความจำเพาะเจาะจงในทั้งสามชนิดนี้เลย แต่มีเพียงสาร CDNB เท่านั้นที่เป็นสารตั้งต้นที่มีความจำเพาะมากที่สุดกับเอนไซม์ GSTs กับชนิด M1 และ P1 จึงนำจีโนไทป์เฉพาะ 2 ยีนนี้มาหาความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ แต่สาร CDNB ก็ยังมีความจำเพาะกับเอนไซม์ GSTs ชนิดอื่น ๆ เช่น Alpha หรือ Mu เป็นต้น (ตารางที่ 9) ทำให้ค่าของประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ที่วัดออกมาได้ไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นค่าของเอนไซม์ GSTs ชนิดใด จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าค่าของประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ที่วัดได้เป็นค่าของเอนไซม์ GSTs ชนิดที่เราทำการศึกษารึจริง ๆ
3. ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกิดกับยีน GSTs ชนิด M1, P1 นั้นมีลักษณะที่แตกต่างกัน คือ ยีน *GSTM1* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นแบบการขาดหายไปของยีนทั้งยีน (whole gene deletion) ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ขาดหายไป ดังนั้นเมื่อทำการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ก็น่าจะไม่สามารถทำการวัดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ได้เลย ซึ่งตรงกันข้ามกับยีน *GSTP1* ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นแบบการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของลำดับเบสเดี่ยว (SNPs)

ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนชนิดของกรดอะมิโนจาก Isoleucine เป็น Valine ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะส่งผลโดยเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยนแปลงสารก่อมะเร็งบางชนิดที่มีความจำเพาะเช่น polycyclic aromatic hydrocarbon ได้เพิ่มมากขึ้นกว่า Isoleucine จำนวน 5 เท่า ดังนั้นจึงไม่อาจสรุปได้ว่าค่าของประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ที่วัดออกมาได้นั้นเป็นของเอนไซม์ GSTs ชนิด M1 หรือ P1 เป็นต้น ดังนั้นอาจจำเป็นต้องออกแบบการทดลองใหม่ที่สามารถทำการวัดเฉพาะเอนไซม์ GSTs ชนิดที่เราต้องการศึกษา โดยทำการ knock-out ยีนที่เราไม่ต้องการศึกษาออกไปให้เหลือเฉพาะยีนที่เราต้องการศึกษา หลังจากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ต่อไป จึงจะสรุปได้ว่าค่าของประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ที่วัดออกมาได้นั้นเป็นของเอนไซม์ GSTs ชนิด M1 หรือ T1 แล้วจึงสามารถนำมาการศึกษาผลของความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ (genotype-phenotype correlation) ในคนที่เป็นมะเร็งตับได้ว่ามีความสอดคล้องกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนในลักษณะดังกล่าวหรือไม่ จึงสามารถนำมาสรุปผลของความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ได้

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ยังไม่สามารถสรุปถึงความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างจีโนไทป์และฟีโนไทป์ได้ (genotype-phenotype correlation) ต้องทำการศึกษาต่อไปในอนาคต