



บรรณาธิการ

ธีรวุฒิ คุหะเปรมะ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

จรัญญา งามขำ

นงพงา สุวัฒน์นันท์

เพ็ญศรี แซ่หลี

วิโรจน์ เหล่าสุนทรศิริ

ศุทธิพร แสงกระจ่าง

สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์

คณะบรรณาธิการ

กนกพร ใจสถาวร

กิติ จินดาวิจักษณ์

กวิญ ลีละวัฒน์

ฉันทนา หมอกเจริญพงศ์

ชรินทร์ อภิภาณิชย์

दनัย ทิวาเวช

ธิดา ปัญจพันธ์พงศ์

ปัญญารัตน์ ลาภวงศ์วัฒนา

เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล

ธีรวุฒิ อิมสำราญ

วิชิต อภรณ์วิรัตน์

วุฒิ สุเมธโชติเมธา

วสันต์ สีนะสมิต

วรรณเพ็ญ เบ็ญจชัย

สมจิตร ประภากร

สมจินต์ จินดาวิจักษณ์

สายพิน ตั้งศรีชาติ

สุพล มโนรมณ์

สุเมธ รินสุรวงศ์

สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์

อนงค์ เทพสุวรรณ

อมรรัตน์ วิจิตรลีลา

อัศรียา สมรรคบุตร

อนันต์ กรลัษณ์

อารยะ อดุลยพันธ์

อารีย์ ประสิทธิ์พยางค์

อรชร เอี่ยมอารีรัตน์

ผู้จัดการ

อาคม ชัยวีระวัฒน์

ผู้ช่วยผู้จัดการ

พรนภา จันทรวีระกุล

มลินี สอนธิไชย

วารีพร ศักดิ์สมบูรณ์

เสาวคนธ์ ศุกรโยธิน

อุมานาฏ อุณอนันต์



วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL



ISSN 0125-2038

The National Cancer Institute Foundation

Editor-in-Chief

Thiravud Khuaprema

Assistant Editors

Jarunya Ngamkham

Nongpanga Suwattananand

Pensri Saelee

Wirote Lausontornsiri

Suleeporn Sangrajang

Sunanta Chariyalertsak

Editorial Board

Kanokporn Jaisathaporn

Kiti Chindavijak

Kawin Leelawat

Chantana Morkchareonpong

Chanin Apiwanich

Danai Tiwawech

Thida Panchaphanpong

Punyarat Lapvongwatana

Petcharin Srivatanakul

Weerawut Imsamran

Vichit Arpornwirat

Wutthi Sumetchotimaytha

Vasant Linasmita

Wanpen Benjachai

Somjit Prapakorn

Somjin Chindavijak

Saipin Tangkarat

Suphon Manoromana

Sumate Rinsurongkawong

Suwat Chariyalertsak

Anong Tepsuwan

Amornrat Vijitleela

Akariya Samakhaputra

Anant Karalak

Araya Adulbhan

Aree Prasitthipayong

Orachorn Aimarreerat

Managing Editor

Arkorn Chaiwerawattana

Assistant Managers

Pornnapa Jantaraweragul

Malinee Sontichai

Wareeporn Saksomboon

Saowakon Sukarayodhin

Aumanad Aunanant

KOSIT PRESS COMPANY LIMITED

373 Charansanitwong Rd., Bang-ow, Bangplad, Bangkok 10700 Tel. 0-2424-8715, 0-2433-3011



วารสารโรคมะเร็ง
THAI CANCER JOURNAL



วัตถุประสงค์

เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ ผลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคมะเร็ง
และอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

สำนักงาน

สำนักงานวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ
268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097

เว็บไซต์เผยแพร่

www.nci.go.th, www.kmnci.com

กำหนดการตีพิมพ์

กำหนดออกทุก 3 เดือน ปีละ 4 ฉบับ

การส่งต้นฉบับ

บรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง
สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทร. 0-2354-7025 ต่อ 2205
โทรสาร 0-2644-9097
E - mail : nci_journal@hotmail.com

การบอกรับเป็นสมาชิก

- ห้องสมุดและหน่วยงานราชการแจ้งความจำนงได้ที่สำนักงานวารสารโรคมะเร็งโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย
- หน่วยงานเอกชน และผู้สนใจส่งแบบฟอร์มสมัครสมาชิกที่สำนักงานวารสารโรคมะเร็ง อัตราค่าสมาชิก 200 บาท ต่อปี (4 ฉบับ) รวมค่าจัดส่งและโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาริบดี เลขที่บัญชี 026-2-27518-2
ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ



สารบัญ Content

ปีที่ 31 ฉบับที่ 2

เมษายน-มิถุนายน 2554

	หน้า
บทบรรณาธิการ	39
ผลการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าต่อความปวดประสาทส่วนปลาย ขณะได้รับยา Oxaliplatin ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ <i>สาคร ทับเจริญ, รุ่งรัตน์ วีระกุล</i>	41
การเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ความสมบูรณ์ของเลือดในผู้ป่วยมะเร็ง ด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 2100D และ Abbott CELL-DYN RUBY <i>ญานินี จรัสวิศรุตพร</i>	54
การตรวจหา <i>GSTM1</i> และ <i>GSTT1</i> Polymorphisms ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ด้วยวิธี Multiplex Real-Time PCR <i>दनัย ทิวาเวช, อติศักดิ์ ศรีพรหม, ญานินี จรัสวิศรุตพร, Takafumi Ishida</i>	63
การถ่ายทอดสัญญาณผ่านกลไก RAS-RAF <i>อดิศร เจษฎ์ปิยะวงศ์, สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์</i>	75

บทบรรณาธิการ

การเปลี่ยนในไวรัสเพื่อใช้พิชิตโรคมะเร็ง

สมัยก่อนเชื่อกันว่าโรคมะเร็งเป็นโรคที่เกิดขึ้นโดยไม่ทราบสาเหตุ เพียงแต่มีการสันนิษฐานกันว่าอาจจะเกิดขึ้นจากเนื้องอกแล้วมีการกลายป็นเนื้อร้ายในภายหลัง หรือบางครั้งอาจเกิดจากการบาดเจ็บหรือเป็นแผลเรื้อรังรักษาไม่หาย ก็อาจทำให้กลายเป็นมะเร็งได้ แต่ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ไขปริศนาของโรคมะเร็งได้แล้วว่า เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนเนื่องจากมีส่วนประกอบของยีนบางส่วนของยีนไปหรือเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม หรือยีนมีการสร้างโปรตีนซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดจากการทำงานของยีนนั้นมากกว่าปกติส่งผลให้เกิดโรคร้ายต่างๆตามมาในที่สุด¹ การตรวจหายีนที่มีความผิดปกติก่อนทำการรักษานั้นมีความจำเป็นมาก เนื่องจากผู้ป่วยแต่ละรายมีความผิดปกติของยีนที่แตกต่างกัน การรักษาด้วยยาใหม่ๆที่เรียกกันว่า การรักษาแบบมุ่งเป้า (targeted therapy) ซึ่งหากสามารถพัฒนาได้อย่างสมบูรณ์ ความหวังที่จะรักษาโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายได้ก็มีความหวังมากขึ้น ซึ่งหลักการรักษาด้วยยีนนั้นเป็นแบบตรงไปตรงมาคือยีนที่แข็งแรงและสมบูรณ์จะถูกใส่เข้าไปในเซลล์ เพื่อแก้ไขยีนที่ทำงานบกพร่องให้ดีขึ้นได้ในที่สุด

จากการศึกษาค้นคว้าวิจัยเบื้องต้นพบว่าการผนวกโปรตีนบางชนิดเข้าไปกับเชื้อไวรัส นั้นสามารถทำให้ไวรัสจดจำสัญลักษณ์พิเศษที่เป็นเอกลักษณ์

(unique markers) ของเซลล์มะเร็งได้ ดังนั้นเชื้อไวรัสที่ผ่านการดัดแปลงจึงสามารถส่งผ่านยีนบำบัด (gene therapy) ไปยังเซลล์มะเร็งนั้นได้ นอกจากนี้ข้อดีอีกประการหนึ่งคือการใช้ไวรัสไม่มีผลต่อเซลล์ปกติ ในขณะที่การรักษาโรคมะเร็งด้วยวิธีอื่นทำลายทั้งเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง จากการศึกษานี้ของ Chester และคณะ³ ซึ่งทำการศึกษาระดับเซลล์โดยการนำเชื้อไวรัสมาทดลองกับเซลล์มะเร็งกระเพาะปัสสาวะพบว่าเชื้อไวรัสสามารถจดจำเซลล์มะเร็งได้ และสามารถส่งผ่านยีนไปยังเซลล์เหล่านั้น ซึ่งยีนที่ถูกส่งผ่านนั้นสามารถเป็นได้ทั้งยีนที่จะไปทำให้เซลล์มะเร็งมีความอ่อนไหวต่อยารักษามากขึ้น (suicide gene) และเปลี่ยนยีนในเซลล์ที่ทำให้เซลล์กลายเป็นมะเร็งไปเป็นยีนชนิดอื่นแทน นอกจากนั้นทีมนักวิจัยด้านจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกันแห่งมหาวิทยาลัย Penn State College of Medicine, Pennsylvania ได้ทำการศึกษาเชื้อไวรัสที่เรียกว่า adeno-associated virus type 2 (AAV-2) ซึ่งเป็นไวรัสขนาดเล็กที่ไม่สามารถแบ่งตัวเองได้ ต้องอาศัยไวรัสชนิดอื่นช่วย ดังนั้นการทำงานของไวรัสชนิดนี้คือ การทำให้เซลล์มะเร็งติดเชื้อ AAV-2 ซึ่งต่อมาเซลล์มะเร็งที่ติดเชื่อดังกล่าวจะตายในที่สุด⁴ ปัจจุบันยังมีผู้สนใจศึกษาเชื้อไวรัสชนิดนี้ โดยการใช้เป็น gene therapy vector เพื่อช่วยในการทำลายเซลล์มะเร็ง

เอกสารอ้างอิง

1. ยีนบำบัด เทคโนโลยีรักษามะเร็ง. Available at: <http://www.nationejobs.com/content/worklife/afterwork/template.php?conno=698>. Accessed June 21, 2011.
2. Modified viruses 'attack cancer' Available at: http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/england/west_yorkshire/8639505.stm. Accessed June 21, 2011.
3. Chester JD, Kennedy W, Hall GD, Selby PJ, Knowles MA. Adenovirus-mediated gene therapy for bladder cancer: efficient gene delivery to normal and malignant human urothelial cells in vitro and ex vivo. *Gene Therapy* 2003;10:172-9.
4. Common virus 'kills cancer'. Available at: <http://edition.cnn.com/2005/HEALTH/06/22/cancer.virus/index.html>. Accessed June 21, 2011.

บรรณาธิการ

ผลการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าต่อความปวดประสาทส่วนปลายขณะได้รับยา Oxaliplatin ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่

ศาสตราจารย์
รุ่งรัตน์ วีระกุล

บทคัดย่อ การวิจัยกึ่งทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าต่อความปวดประสาทส่วนปลายขณะได้รับยา oxaliplatin ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ กลุ่มตัวอย่าง คือผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ได้รับยา oxaliplatin มารับยาเป็นครั้งที่ 2 ในศูนย์ให้ยาเคมีบำบัดโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ กลุ่มตัวอย่างประกอบด้วย กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง กลุ่มละ 34 ราย เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูลได้แก่ แบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคล แบบบันทึกข้อมูลขณะทำการทดลอง มาตราวัดความเจ็บปวดโดยใช้สายตา VAS และแบบสอบถามสำหรับการวินิจฉัยภาวะเจ็บปวดทางระบบประสาท DN4 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย ผ้าห่มไฟฟ้า ปลั๊กไฟ และเครื่องวัดอุณหภูมิแบบอัตโนมัติ ความตรงของเนื้อหาได้รับการตรวจสอบจากผู้ทรงคุณวุฒิ 3 ท่าน และหาความเที่ยงด้วยวิธีคูเดอร์-ริชาร์ดสัน ได้ค่า 0.93 กลุ่มทดลองได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าบริเวณแขนขณะที่ได้รับยา oxaliplatin โดยผู้วิจัยปรับระดับอุณหภูมิของผ้าห่มไฟฟ้าให้อยู่ในช่วง 26-37 องศาเซลเซียส กลุ่มควบคุมได้รับยา oxaliplatin ตามปกติจากพยาบาลประจำการ การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติ ความถี่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และใช้ chi-square และ t-test ในการเปรียบเทียบผล ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง ผลจากการศึกษาพบว่ากลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มมีลักษณะทั่วไปใกล้เคียงกัน ทั้งเพศ อายุ สถานภาพการสมรส การนับถือศาสนา และระดับการศึกษา เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนความปวดขณะได้รับยา oxaliplatin พบว่ากลุ่มทดลองที่ได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าขณะได้รับยา oxaliplatin มีระดับความปวดเฉลี่ย (4.23 และ SD=1.18) น้อยกว่ากลุ่มควบคุม (5.64 และ SD=1.17) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.00$) ผลการวิจัย นี้เป็นประโยชน์ต่อการใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการพยาบาลเพื่อลดความปวดในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ขณะได้รับยา oxaliplatin (วารสารโรคมะเร็ง 2554;31:41-53.)

คำสำคัญ : การประคบร้อน ผ้าห่มไฟฟ้า ความปวดประสาทส่วนปลาย ผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ ยา oxaliplatin

The Effects of Hot Compresses with Electric Blankets on the Peripheral Neuralgia of Colorectal Cancer Patients Receiving Oxaliplatin

by **Sakorn Hubjaroen, Rungrat Werakul**

Chemotherapy Infusion Center, Songklanagarind Hospital, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University

Abstract This quasi-experimental research study examined the effects of hot compresses and electric blankets on the peripheral neuralgia of colorectal cancer patients on oxaliplatin therapy. The subjects were colorectal cancer patients undergoing their second oxaliplatin treatment at the Chemotherapy Infusion Center of Songklanagarind Hospital, Thailand. Sixty-eight subjects were recruited and completed the study (intervention group: 34 subjects; control group: 34). The instruments consisted of a Demographic Data Form, Demographic Experimental Form, Visual Analogue Scale, and a Demographic DN4 Form. The equipment used in the experiment comprised an electric blanket, a plug, and an automatic thermometer. Content validity was examined by three experts. The Kuder-Richardson reliability test was used to measure knowledge, and yielded 0.93. The intervention group received a hot compress with an electric blanket while oxaliplatin was administered in the peripheral line; the temperature was maintained between 26-37 °C. The control group received normal medical and nursing care. The resulting data were analyzed by frequency, percentage, mean, standard deviation; group results were compared by chi-square and t-test. The results showed that the subjects in the two groups had similar characteristics, including gender, age, marital status, religion, and education. When the mean pain scores of the two groups were compared, it was found that the patients with a hot compress during oxaliplatin administration had statistically significantly lower pain (4.23 and SD=1.18) levels than those (5.64 and SD=1.17) who did not have any compress ($P=0.00$). The findings provided useful information for nurses to help alleviate the pain of patients with colorectal cancer undergoing oxaliplatin treatment. (*Thai Cancer J 2011;31:41-53.*)

Keywords: hot compress, electric blanket, peripheral neuralgia, colorectal cancer, oxaliplatin

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้นของประชากรทั่วโลก โดยเฉพาะมะเร็งลำไส้ใหญ่ จากรายงานสถิติมะเร็งในประเทศไทยพบว่า มะเร็งลำไส้ใหญ่มีอุบัติการณ์สูงเป็นอันดับ 3 ในเพศชาย และอันดับ 5 ในเพศหญิง โดยพบอัตราการเกิด 8.8 และ 7.6 ต่อประชากร 100,000 คนตามลำดับ ส่วนอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ในจังหวัดสงขลาพบ 10.2 และ 7.4 ต่อประชากร 100,000 คนในเพศชายและเพศหญิงตามลำดับ¹ สำหรับโรงพยาบาลสงขลานครินทร์มีผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่รายใหม่ที่มารักษาระมาณ 280 รายต่อปี² การรักษาโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่นิยม

ทำโดยทั่วไปในปัจจุบันมี 3 วิธีคือการผ่าตัด รังสีรักษา และเคมีบำบัด นอกจากนี้ยังมีแนวทางการรักษาวิธีใหม่ที่เรียกว่าการรักษาแบบมุ่งเป้า (targeted therapy)³ โดยแนวทางในการรักษานั้นแพทย์อาจพิจารณาใช้วิธีเดียวหรือหลายวิธีร่วมกัน ปัจจุบันเชื่อว่ามะเร็งลำไส้ใหญ่มีลักษณะการดำเนินโรคที่แพร่กระจายไปทั่วระบบ (systemic disease) มากกว่าโรคที่จำกัดอยู่เฉพาะแห่ง (localized disease) ผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่จึงจำเป็นต้องได้รับยาเคมีบำบัดในช่วงใดช่วงหนึ่งของการรักษา โดยคำนึงถึงระยะของโรคเป็นสำคัญ⁴ ยาเคมีบำบัดมีบทบาทในการรักษาเสริมภายหลังการผ่าตัดในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะที่ 2

ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการกลับเป็นซ้ำของโรค และในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ระยะที่ 3 ที่มีการแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลืองบริเวณข้างเคียง ยาเคมีบำบัดที่เป็นยาสูตรมาตรฐานในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ ได้แก่ยาในกลุ่ม fluoropyrimidine เช่น 5-FU ส่วนยาเคมีบำบัดที่พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิผลของการรักษาเมื่อให้ร่วมกับยาในกลุ่ม fluoropyrimidine ได้แก่ยา irinotecan และยา oxaliplatin⁵ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ายา oxaliplatin มีผลข้างเคียงหลักเรื่องภาวะเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนปลาย (neuropathy) มีทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง มากกว่าร้อยละ 90 ของผู้ป่วยเกิดแบบเฉียบพลันซึ่งเกิดขึ้นขณะกำลังได้รับยาหรือได้รับยาเสร็จใหม่ ๆ^{6,7} ภาวะเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนปลายแบบเฉียบพลัน เกิดจากปฏิกิริยาคีเลชัน (chelation) อย่างรวดเร็วโดยมีการจับของ calcium กับ metabolite ของ oxaliplatin ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ voltage-gated channels ของ calcium ions⁸ ผู้ป่วยรู้สึกเจ็บปวด/เจ็บชาปลายประสาทบริเวณที่ให้ยาเหมือนมีไฟฟ้าช็อต หรือมีกล้ามเนื้อหดตัว เกิดกล้ามเนื้อกระตุก ซึ่งการเกิด neuropathy จะเพิ่มมากขึ้นถ้าสัมผัสกับความเย็น^{6,7,9} ดังนั้นขณะให้ยา oxaliplatin ถ้าเกิด extravasation การประคบร้อนจะช่วยเพิ่มการไหลเวียนกลับของยาจากการที่หลอดเลือดขยายตัวและเป็นการหลีกเลี่ยงการเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนปลาย¹⁰ มีการศึกษาเรื่องการป้องกัน neuropathy ในผู้ป่วยที่ได้รับยา oxaliplatin โดยการให้ยา calcium and magnesium solution, glutathione, carbamazepine, gabapentin, amifostine⁶ จากประสบการณ์การดูแลผู้ป่วยที่ได้รับยา oxaliplatin infusion 2 ชั่วโมง พบว่าขณะกำลังได้รับยาผู้ป่วยมีอาการเจ็บปวด/เจ็บชาปลายประสาทบริเวณแขนที่ให้ยา ส่งผลให้ผู้ป่วยมีความวิตกกังวล การประคบร้อนช่วยบรรเทาอาการได้ระดับหนึ่งเนื่องจากการประคบร้อนช่วยทำให้เนื้อเยื่อ

พังผืดยึดตัวออก ลดการเกร็งของกล้ามเนื้อ ลดอาการปวด ลดอาการบวม และช่วยเพิ่มการไหลเวียนโลหิต^{11,12} แต่มีการศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่ 5-25 และ 38-48 องศาเซลเซียสกระตุ้นให้เกิดความปวดประสาทส่วนปลายขณะได้รับยา oxaliplatin¹³ ดังนั้นการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าซึ่งสามารถปรับระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วง 26-37 องศาเซลเซียส อาจช่วยลดความปวดได้ ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่พบรายงานเรื่องการประคบร้อนต่อการลดความปวดประสาทส่วนปลายขณะที่ได้รับยานี้ ในการศึกษาวิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าต่อความปวดประสาทส่วนปลายขณะได้รับยา oxaliplatin ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยการเปรียบเทียบระดับความเจ็บปวดประสาทส่วนปลายขณะได้รับยา oxaliplatin ระหว่างกลุ่มที่ได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า และไม่ได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า เพื่อนำผลการวิจัยมาพัฒนาวิธีการดูแลผู้ป่วยกลุ่มนี้ให้มีคุณภาพชีวิตที่ดี

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยกึ่งทดลอง กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเป็นผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ได้รับยา oxaliplatin เป็นครั้งที่ 2 ที่ศูนย์ให้ยาเคมีบำบัด โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในระหว่างเดือนมกราคม 2553-กุมภาพันธ์ 2554 ที่มีลักษณะเกณฑ์การคัดเลือกคือ เป็นผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ได้รับยาเคมีบำบัด oxaliplatin infusion 2 ชั่วโมงทางหลอดเลือดดำส่วนปลายบริเวณแขน มารับยาเคมีบำบัดครั้งที่ 2 กลุ่มตัวอย่างไม่มีโรคประจำตัวที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทหรือกำลังได้รับยาอื่นที่มีผลเกี่ยวกับระบบประสาท เข้าใจภาษาไทย มีการรับรู้และสื่อความหมายได้ และยินดีให้ความร่วมมือในการศึกษาคั้งนี้ ส่วนเกณฑ์การคัดออกคือ เมื่อประคบร้อนด้วยผ้าห่ม

ไฟฟ้าขณะได้รับยา oxaliplatin แล้ว กลุ่มตัวอย่างทนความร้อนไม่ได้ กลุ่มตัวอย่างมีโรคประจำตัวที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทหรือกำลังได้รับยาอื่น ที่มีผลเกี่ยวกับระบบประสาทหรือกำลังได้รับยาบรรเทาปวด

การคัดเข้ากลุ่มทดลองใช้ลำดับเลขคี่ 1, 3, 5,...67 ส่วนการคัดเข้ากลุ่มควบคุมใช้ลำดับเลขคู่ 2, 4, 6,...68 เนื่องจากการได้รับยา oxaliplatin นั้นจำนวนครั้งที่รับยาหรือขนาดยาสะสมมีผลต่อระดับความปวดประสาทส่วนปลาย⁶ ผู้ป่วยที่มารับยาครั้งหลังๆ จะมีความปวดเพิ่มมากกว่าครั้งแรก ซึ่งการให้ยาสูตรนี้ให้ยาประมาณ 6-8 ครั้ง ผู้วิจัยเลือกกลุ่มตัวอย่างที่มารับยาครั้งที่ 2 เนื่องจากการรับยาครั้งแรกผู้ป่วยยังรับรู้ความปวด ขณะที่ได้รับยาน้อย และถ้าเลือกครั้งหลังๆ ผู้ป่วยอาจมีการเปลี่ยนสูตรยาไปแล้วจากภาวะของโรคที่อาจเป็นมากขึ้นถ้าผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อยา oxaliplatin

ขนาดกลุ่มตัวอย่าง

การคำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้วิธี power analysis โดยกำหนดค่า estimated effect 0.6 power ที่ 0.7 และระดับนัยสำคัญที่ 0.05 ของ Polit และ Hungler¹⁴ ได้ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง กลุ่มละ 34 ราย

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองนี้ใช้ผ้าห่มไฟฟ้าซึ่งกำหนดระดับความร้อนให้คงที่ได้ ปรับอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 26-37 องศาเซลเซียส ปลั๊กไฟและเครื่องวัดอุณหภูมิแบบอัตโนมัติ

เครื่องมือที่ใช้ในการรวบรวมข้อมูล

แบบสอบถามประกอบด้วย 4 ส่วนได้แก่

ส่วนที่ 1 แบบบันทึกข้อมูลส่วนบุคคล ที่ผู้วิจัยสร้างขึ้น ซึ่งประกอบด้วย เพศ อายุ สถานภาพ

การสมรส ศาสนา ระดับการศึกษา อาชีพ สภาพการทำงาน รายได้ของครอบครัวเฉลี่ยต่อเดือน สภาพการเงินในครอบครัว ค่าใช้จ่ายในการรักษา

ส่วนที่ 2 แบบบันทึกข้อมูลขณะทำการทดลอง ประกอบด้วย วิธีที่ใช้ ปริมาณยาที่ได้รับ ตำแหน่งที่แทงเข็ม ขอบเขตที่ปวด ลักษณะความปวด บั๊จจัยที่ทำให้ปวดมากขึ้นหรือบรรเทาลง ระยะเวลาที่เริ่มปวด หลังได้รับยา ผลกระทบของความปวดและระดับความเจ็บปวดที่วัดได้จากมาตรวัดความเจ็บปวดโดยใช้สายตา visual analogue scale (VAS)¹⁵

ส่วนที่ 3 มาตรวัดความเจ็บปวดโดยใช้สายตา VAS ให้ระดับความรุนแรงของความเจ็บปวดนั้นแทนด้วยเส้นตรงยาว 10 เซนติเมตร ที่มีสเกลวัดแทนตัวเลขอย่างต่อเนื่องโดยที่ไม่แสดงตัวเลขให้เห็นจากระดับที่ไม่มีความเจ็บปวดเลย ซึ่งอยู่ที่ตำแหน่ง 0 (ศูนย์) ไปจนถึงระดับความเจ็บปวดมากที่สุดเท่าที่มีอยู่หรือตามที่สามารถนึกได้ ซึ่งอยู่ที่ตำแหน่งเลข 10

ส่วนที่ 4 แบบสอบถามสำหรับการวินิจฉัยภาวะเจ็บปวดทางระบบประสาท (DN4)¹⁶ ประกอบด้วยคำถาม 10 ข้อ ถ้าตอบว่าใช่ ให้คะแนนเท่ากับ 1 คะแนน ถ้าตอบว่าไม่ใช่ ให้คะแนนเท่ากับ 0 คะแนน หากผู้ป่วยได้คะแนนเท่ากับหรือมากกว่า 4 คะแนนขึ้นไป จัดเป็นภาวะเจ็บปวดทางระบบประสาท (neuropathic pain)

การตรวจสอบคุณภาพของเครื่องมือ

ผู้วิจัยพัฒนาเครื่องมือขึ้นต้น แล้วนำเครื่องมือไปตรวจสอบความตรงของเนื้อหาโดยผู้ทรงคุณวุฒิ 3 ท่านที่มีความเชี่ยวชาญด้านมะเร็งลำไส้ใหญ่และเคมีบำบัดซึ่งประกอบด้วย อาจารย์แพทย์ประจำภาควิชา ศัลยศาสตร์ 1 ท่าน ผู้ปฏิบัติการพยาบาลชั้นสูง สาขาการพยาบาลผู้ป่วยมะเร็ง (APN) 1 ท่าน และพยาบาลประจำศูนย์ให้ยาเคมีบำบัด 1 ท่าน หลังจากผ่านการตรวจสอบจากผู้ทรงคุณวุฒิทั้งหมดแล้ว ผู้วิจัยนำ

เครื่องมือมาปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติมตามข้อเสนอแนะ และหาความเที่ยงด้วยวิธีคูเคอร์-ริชาร์ดสันได้ค่า 0.93 ก่อนนำไปทดลองใช้กับผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติตามที่กำหนด เป็นกลุ่มตัวอย่าง เพื่อตรวจสอบความเข้าใจด้านภาษา ความเป็นไปได้ของวิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล และ ปัญหาอุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นขณะตอบแบบสอบถาม จากนั้นผู้วิจัยนำเครื่องมือที่ผ่านการทดลองใช้มาปรับปรุง ให้มีความเหมาะสมยิ่งขึ้นก่อนนำไปใช้จริง และเริ่ม เก็บรวบรวมข้อมูลเมื่อโครงการวิจัยผ่านการพิจารณา จากคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อพิทักษ์สิทธิผู้ป่วย ก่อนเก็บข้อมูล

ขั้นตอนและวิธีในการเก็บข้อมูล

คณะผู้วิจัยได้รับอนุญาตให้เก็บข้อมูล โดย ได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคนรหัส EC 53-171-15-7-2 จากคณะกรรมการอนุกรรมการ จริยธรรมด้านวิจัยเกี่ยวกับบริบาลผู้ป่วย สิ่งส่งตรวจ และสังคมศาสตร์ของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์

ในกรณีที่ผู้ป่วยเกิดภาวะวิกฤตทางอารมณ์ และจิตใจขณะเก็บข้อมูล หรือ burn จากความร้อนใน การประคบ ผู้วิจัยและ/หรือผู้ช่วยนักวิจัยเตรียมให้ การช่วยเหลือทันที โดยการยุติการเก็บข้อมูลและ เปิดโอกาสให้ผู้ป่วยระบายความรู้สึกอย่างอิสระ รับฟังอย่างตั้งใจรวมทั้งให้ความมั่นใจในการปกปิดข้อมูล ที่ได้รับฟังเป็นความลับ ในกรณีที่ผู้ป่วยมีสภาพวิกฤต ทางด้านอารมณ์และจิตใจมากเกินความช่วยเหลือ ของผู้วิจัยและ/หรือผู้ช่วยนักวิจัย ผู้วิจัยและ/หรือ ผู้ช่วยนักวิจัยติดต่อประสานงานกับพยาบาลที่ปฏิบัติงาน ในศูนย์ให้ยาเคมีบำบัดโรงพยาบาลสงขลานครินทร์

เมื่อผู้ป่วยยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย ผู้วิจัย และ/หรือผู้ช่วยนักวิจัยดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูล และขออนุญาตฉบับที่เก็บข้อมูล แล้วตรวจสอบความ

สมบูรณ์และครบถ้วนของข้อมูลจากแบบสอบถาม ที่เสร็จเรียบร้อยแล้ว

การเก็บรวบรวมข้อมูล

การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ ขั้นเตรียมการและขั้นดำเนินการ

1. ขั้นเตรียมการ ประกอบด้วย การเตรียม ตัวผู้วิจัยและทีมผู้วิจัย โดยการศึกษาร่วมกับการ วิจัยเชิงทดลองจากหนังสือและจากงานวิจัยลักษณะ เดียวกันและจากผู้เชี่ยวชาญ จัดการเตรียมตัวทาง ด้านทักษะและเทคนิคการเก็บรวบรวมข้อมูล การ จัดบันทึก การเตรียมตัวด้านภาควิเคราะห์ข้อมูล โดย ฝึกทักษะการวิเคราะห์ภายใต้คำแนะนำของผู้เชี่ยวชาญ การวิจัยเชิงทดลอง และการจัดเตรียมเครื่องมือใน การวิจัยและเก็บรวบรวมข้อมูล

2. ขั้นดำเนินการวิจัย เริ่มด้วยการคัดเลือก กลุ่มตัวอย่างตามลักษณะที่กำหนดไว้ จับฉลากเพื่อ จัดเข้ากลุ่มตัวอย่าง เป็นกลุ่มที่ 1 หรือกลุ่มที่ 2 ขอ ความร่วมมือในการเก็บข้อมูลจากผู้ป่วย พร้อมทั้ง ชี้แจงวัตถุประสงค์ของกรวิจัยแล้วอธิบายมาตรฐาน ความเจ็บปวดโดยใช้สายตา VAS การดำเนินการ มีวิธีการดังนี้ กลุ่มทดลองได้รับการประคบร้อนด้วย ผ้าห่มไฟฟ้าบริเวณแขนที่ให้ยาตั้งแต่เริ่มให้ยาจนการ ให้ยาเสร็จสิ้น ซึ่งการให้ยาใช้เวลา 2 ชั่วโมง โดยผู้วิจัย นำผ้าห่มไฟฟ้าที่เสียบปลั๊กไฟฟ้าและปรับระดับความ ร้อน ให้อุณหภูมิอยู่ในช่วง 26-37 องศาเซลเซียส ขณะ ที่กำลังให้ยาผู้วิจัยจะไม่สอบถามความรู้สึกเจ็บปวด หรือชวนพูดคุยเรื่องอื่นกับผู้ป่วย ส่วนกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าตั้งแต่เริ่มให้ยาจน การให้ยาเสร็จสิ้น ซึ่งการให้ยาใช้เวลา 2 ชั่วโมง ขณะที่กำลังให้ยาผู้วิจัยจะไม่สอบถามความรู้สึกเจ็บปวด หรือชวนพูดคุยเรื่องอื่นกับผู้ป่วย หลังการให้ยาเสร็จ สิ้นแล้ว ให้ผู้ป่วยบอกระดับคะแนนความเจ็บปวดตาม มาตรฐานความเจ็บปวดโดยใช้สายตา VAS ทั้งนี้

การวิเคราะห์ข้อมูล

คณะผู้วิจัยวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา วิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างด้วยสถิติไคสแควร์ (chi-square) และเปรียบเทียบค่าคะแนนของระดับความเจ็บปวดขณะได้รับยา oxaliplatin ระหว่างการได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าและไม่ได้ประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าด้วยสถิติ ที (independent t-test)

ผลการศึกษา

จากการศึกษาพบว่า กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีลักษณะทั่วไปไม่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ได้รับยาเคมีบำบัด oxaliplatin infusion 2 ชั่วโมง ทางหลอดเลือดดำส่วนปลายบริเวณแขน มารับยาเคมีบำบัดครั้งที่ 2 โดยรวมส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงคิดเป็นร้อยละ 69.7 มีอายุอยู่ในช่วงมากกว่า 60 ปี คิดเป็นร้อยละ 38.2 มีสถานภาพสมรสคู่ร้อยละ 79.4 นับถือศาสนาพุทธร้อยละ 89.7 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี หรือสูงกว่าร้อยละ 42.6 ประกอบอาชีพ รับราชการ/รัฐวิสาหกิจร้อยละ 36.8 ยังทำงานอยู่ร้อยละ 51.5 รายได้ของครอบครัวเฉลี่ยต่อเดือน 20,001 บาท ขึ้นไปร้อยละ 58.8 สภาพการเงินในครอบครัว มั่นคงสามารถใช้จ่ายได้สะดวก ร้อยละ 64.7 และส่วนใหญ่ผู้ป่วยเบิกเงินจากต้นสังกัด (ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ) ร้อยละ 67.6 (ตารางที่ 1)

จากการศึกษาพบว่า กลุ่มตัวอย่างที่เป็นกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม มีประวัติวินิจฉัยว่ามีพยาธิสภาพที่ลำไส้ใหญ่ร้อยละ 67.6 และ 55.9 ตามลำดับ มีระยะความรุนแรงของโรคระดับ 4 ร้อยละ 58.8 และ 55.9 ตามลำดับ โดยกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีประวัติการผ่าตัดลำไส้ร้อยละ 66.7 และ 71.9 ตามลำดับ ส่วนใหญ่กลุ่มตัวอย่างไม่มีโรคประจำตัวที่อาจมีผลต่อ peripheral neuropathy ยาที่กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมทุกรายทานเป็นประจำคือ ยาเคมีบำบัด

ชนิดรับประทานชื่อ xeloda สูตร xelox และแก้อาเจียน อาการข้างเคียงที่เกิดจากการได้ยาเคมีบำบัดในกลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุมที่พบมากที่สุด คือ อาการข้างเคียงเกี่ยวกับระบบการกินอาหารเบื่ออาหาร โดยพบ ร้อยละ 88.2 และ 82.4 ตามลำดับ รองลงมาคือ อาการไข้ อ่อนเพลีย ปวดศีรษะพบร้อยละ 52.9 และ 52.9 และอาการปวดเมื่อย ซากกระดูกร้อยละ 41.2 และ 50.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากตารางที่ 3 ตำแหน่งที่แทงเข็มให้ยาของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ส่วนใหญ่ เป็นหลังมือซ้ายร้อยละ 55.8 และ 41.2 ตามลำดับ ลักษณะความปวดของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีอาการปวดชาเท่ากันโดยพบร้อยละ 73.5 ลักษณะความปวดของกลุ่มควบคุมพบลักษณะ ปวดแปล็บมากที่สุดคือร้อยละ 79.4 จำนวนยา oxaliplatin ที่ฉีดของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม มีค่าเฉลี่ย 194.41 มก. (SD=23.04) และ 172.68 มก. (SD=7.93) ตามลำดับ และส่วนขอบเขตความปวดของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีระยะเฉลี่ย 25.44 ซม. (SD=5.05) และ 24.91 ซม. (SD=4.94) ตามลำดับ และมีปัจจัยที่ทำให้ความปวดเพิ่มขึ้นร้อยละ 58.8 และร้อยละ 79.4 ตามลำดับ และส่วนใหญ่ไม่มีปัจจัยที่ทำให้ความปวดลดลง กลุ่มทดลองเริ่มมีอาการปวดหลังได้รับยา 45-60 นาที พบร้อยละ 58.8 ส่วนกลุ่มควบคุม เริ่มมีอาการปวด (ร้อยละ 35.3) หลังได้รับยา 45-60 หรือมากกว่า 60 นาที ความปวดระหว่างได้รับยาไม่ส่งผลกระทบต่อกลุ่มทดลองส่วนใหญ่ (ร้อยละ 64.7) และในกลุ่มควบคุม ผู้ป่วยมีความกังวลร้อยละ 35.3

ค่าเฉลี่ยคะแนนของระดับความเจ็บปวดขณะได้รับยา oxaliplatin ระหว่างการได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า และไม่ได้ประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า (4.23 และ SD=1.18) และ (5.64 และ SD=1.17) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.000$) (ตารางที่ 4)

ส่วนคะแนนความปวดวินิฉัยภาวะเจ็บปวดทางระบบประสาท (DN4)¹⁶ ในตารางที่ 5 พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า

และไม่ได้ประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า มีค่าใกล้เคียงกันโดยพบค่าเฉลี่ย 4.35 (SD=1.32) และ 4.02 (SD=0.79) ตามลำดับ ซึ่งจัดเป็นภาวะเจ็บปวดทางระบบประสาท (neuropathic pain)

ตารางที่ 1 ข้อมูลลักษณะทั่วไป

ข้อมูลสุขภาพ	รวม		กลุ่มทดลอง		กลุ่มควบคุม		ค่า P
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
เพศ							
หญิง	47	69.7	20	58.8	27	9.4	0.066
ชาย	21	30.3	14	41.2	7	20.6	
อายุ (ปี)							
< 40	7	10.3	4	11.8	3	8.8	0.678
41-50	10	14.7	4	11.8	6	17.6	
51-60	25	36.8	11	32.4	14	41.2	
>60	26	38.2	15	44.1	11	32.4	
สถานภาพการสมรส							
คู่	54	79.4	26	6.5	28	82.4	0.835
โสด	7	10.3	4	11.8	3	8.8	
หม้าย หย่า แยกกันอยู่	7	10.3	4	11.8	3	8.8	
ศาสนา							
พุทธ	61	89.7	32	94.1	29	85.3	0.214
อิสลาม	7	10.3	2	28.6	5	14.7	
ระดับการศึกษา							
ไม่ได้รับการศึกษา	1	1.5	1	2.9	0	0	0.564
ประถมศึกษา	26	38.2	14	41.2	12	35.3	
มัธยมศึกษา	4	5.9	3	8.8	1	2.9	
ประกาศนียบัตร/อนุปริญญา	8	11.8	3	8.8	5	14.7	
ปริญญาตรี หรือสูงกว่า	29	42.6	13	38.2	16	47.1	

ตารางที่ 1 ข้อมูลลักษณะทั่วไป (ต่อ)

ข้อมูลสุขภาพ	รวม		กลุ่มทดลอง		กลุ่มควบคุม		ค่า P
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
อาชีพ							
ไม่ได้ทำงาน	10	14.7	5	14.7	5	14.7	0.670
รับราชการ/รัฐวิสาหกิจ	25	36.8	13	38.2	12	35.3	
รับจ้าง	5	7.4	3	8.8	2	5.9	
ค้าขาย	12	17.6	5	14.7	7	20.6	
เกษตรกร	11	16.2	7	20.6	4	11.8	
อื่นๆ	5	7.4	1	2.9	4	11.8	
สภาพการทำงาน							
ยังทำงานอยู่	35	51.5	16	47.1	19	55.39	
ไม่ได้ทำงาน/ลาออกจากงาน	33	48.50	18	52.9	15	44.1	
รายได้ของครอบครัวเฉลี่ยต่อเดือน							
น้อยกว่า 5,000 บาท	1	1.5	0	0	1	2.9	
5,001-10,000 บาท	10	14.7	5	14.7	5	14.7	
10,001-15,000 บาท	8	11.8	3	8.8	5	14.7	
15,001-20,000 บาท	9	13.2	5	14.7	4	11.8	
20,001 บาท ขึ้นไป	40	58.8	21	61.8	19	55.9	
สภาพการเงินในครอบครัว							
มั่นคงสามารถใช้จ่ายได้ สะดวก	44	64.7	23	67.6	21	61.8	
เหลือเก็บเล็กน้อย	20	29.4	10	29.4	10	29.4	
เพียงพอใช้จ่ายแต่ไม่มีเหลือเก็บ	2	2.9	1	2.9	1	2.9	
ไม่พอใช้จ่ายและมีหนี้สิน	2	2.9	0	0	2	5.9	
ค่าใช้จ่ายในการรักษาผู้ป่วย							
จ่ายเอง	11	16.2	5	14.7	6	17.6	
ใช้สิทธิบัตรทอง	2	2.9	0	0	2	5.9	
ประกันสังคม	5	7.4	3	8.8	2	5.9	
เบิกต้นสังกัด (ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ)	46	67.6	24	70.6	22	64.7	
อื่น	4	5.9	2	5.9	2	5.9	

ตารางที่ 2 จำนวน ร้อยละการบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับความเจ็บป่วย

ข้อมูลสุขภาพ	กลุ่มทดลอง		กลุ่มควบคุม	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
การวินิจฉัยโรค				
มีพยาธิสภาพที่ลำไส้ใหญ่	23	67.6	19	55.9
ลำไส้ตรงและทวารหนัก	11	32.4	15	44.1
ระยะความรุนแรงของโรค				
ระดับ 2	4	11.8	1	2.9
ระดับ 3	10	29.4	14	41.2
ระดับ 4	20	58.8	19	55.9
ประวัติการผ่าตัดลำไส้				
ผ่าตัดลำไส้และเย็บปิด	20	66.7	23	71.9
ผ่าตัดลำไส้และเปิดลำไส้ทางหน้าท้อง	10	33.3	9	28.1
โรคประจำตัวที่อาจมีผลต่อ Peripheral Neuropathy				
ไม่มีโรคประจำตัว	27	79.4	26	76.5
อื่นๆ	7	20.6	8	23.5
ยาที่รับประทานประจำ				
ยาเคมีบำบัดชนิดกิน ชื่อ xeloda	34	100.0	34	100.0
ยาแก้อาเจียน	32	94.1	34	100.0
อื่นๆ	23	50.0	23	50.0
อาการข้างเคียงที่เกิดจากการได้ยาเคมีบำบัด				
ระบบการกินอาหาร เบื่ออาหาร	30	88.2	28	82.4
ระบบขับถ่าย	5	14.7	7	20.6
ปวดเมื่อย ซา กระตุก	14	41.2	17	50.0
ผมร่วง ผิวดำ	1	2.9	1	2.9
มีไข้ อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ	18	52.9	18	52.9
นอนไม่หลับ	1	2.9	0	0.0

ตารางที่ 3 จำนวน ร้อยละการวัดระดับความเจ็บปวด

ข้อมูลสุขภาพ	กลุ่มทดลอง		กลุ่มควบคุม	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
ตำแหน่งที่แทงเข็มให้ยา				
ท้องแขนซ้าย	3	8.8	4	11.8
ข้อมือซ้าย	2	5.9	4	11.8
ข้อมือขวา	1	2.9	3	8.8
หลังมือซ้าย	19	55.8	14	41.2
หลังมือขวา	8	23.5	9	25.5
แขนขวา	1	2.9	0	0
ลักษณะความปวด				
ปวดเสียว	17	50.0	13	50.0
ปวดแปล็บ	20	58.8	27	79.4
ปวดแสบร้อน	3	8.8	7	20.6
ปวดชา	25	73.5	25	73.5
อื่นๆ	0	0	2	5.9
จำนวนยา Oxaliplatin ที่ฉีด (มก.)	$(\bar{X}=194.41, SD=23.04)$		$(\bar{X}=172.68, SD=7.93)$	
ขอบเขตที่ปวด (ซม.) นับจากบริเวณที่แทงเข็มให้ยา	$(\bar{X}=25.44, SD=5.05)$		$(\bar{X}=24.91, SD=4.94)$	
ปัจจัยที่ทำให้ปวดมากขึ้น				
ไม่มี	14	41.2	7	20.6
มี ได้แก่การเคลื่อนไหวแขน ถูกสัมผัส	20	58.8	27	79.4
ปัจจัยที่ทำให้ปวดลดลง				
ไม่มี	31	91.2	27	79.4
มี ได้แก่การไม่ขยับแขน	3	8.8	7	20.6

ตารางที่ 3 จำนวน ร้อยละการวัดระดับความเจ็บปวด (ต่อ)

ข้อมูลสุขภาพ	กลุ่มทดลอง		กลุ่มควบคุม	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
หลังได้รับยาเริ่มมีอาการปวด				
ปวดทันที				
ปวดหลังได้รับยา 15-30 นาที	2	5.9	5	14.7
ปวดหลังได้รับยา 30-45 นาที	6	17.6	5	14.7
ปวดหลังได้รับยา 45-60 นาที	20	58.8	12	35.3
ปวดหลังได้รับยา มากกว่า 60 นาที	6	17.6	12	35.3
ความปวดระหว่างได้รับยาส่งผลกระทบต่อ				
ไม่กระทบ / ทนได้ / เฉยๆ	22	64.7	11	32.4
ไม่ยับยั้ง	2	5.9	1	2.9
กังวล	4	11.8	12	35.3
หงุดหงิด	4	11.8	6	17.6
ไม่ชอบ	6	17.6	2	5.9
กลัว	1	2.9	5	14.7
ทุกข์ ทรมาน	0	0	2	5.9

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าคะแนนเฉลี่ยของระดับความเจ็บปวดขณะได้รับยา oxaliplatin ระหว่างการได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า และไม่ได้ประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า

กลุ่มตัวอย่าง	ระดับความปวด	จำนวน(%)	\bar{X}	SD	t	ค่า P
กลุ่มทดลอง	มาก	8(23.5)	4.235	1.182	-3.717	0.000
	ปานกลาง	25(73.5)				
	น้อย	1(2.9)				
กลุ่มควบคุม	มาก	3(8.8)	5.647	1.173		
	ปานกลาง	18(52.9)				
	น้อย	13(38.2)				

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าคะแนนความปวดวินิจฉัยภาวะเจ็บปวดทางระบบประสาท (DN4)¹⁶ ในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าและไม่ได้ประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
กลุ่มทดลอง	4.35	1.32
กลุ่มควบคุม	4.02	0.79

วิจารณ์และสรุป

จากการศึกษาพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการประคบร้อนบริเวณแขนที่ให้ยาด้วยผ้าห่มไฟฟ้าขณะได้รับยา oxaliplatin รายงานระดับความปวดน้อยกว่ากลุ่มตัวอย่างที่ได้รับยา oxaliplatin และไม่ได้รับการประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้า ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการใช้ความร้อนจากการใช้ผ้าห่มไฟฟ้า ความร้อนสามารถลดความปวดโดยทำให้เนื้อเยื่อต่างๆ และกล้ามเนื้อคลายตัว หลอดเลือดขยายตัว ทำให้เซลล์ได้รับสารอาหารและแลกเปลี่ยนของเสียต่างๆ ที่กระตุ้นความปวดออกไป และช่วยลดความปวดอีกทางหนึ่งด้วยการลดความไวของการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดความปวดของเนื้อเยื่อและเซลล์ประสาท^{11,12,17} ในการศึกษาที่กลุ่มทดลองได้รับยา oxaliplatin เฉลี่ย 194.41 มก. กลุ่มควบคุมได้รับยาเฉลี่ย 172.68 มก. ซึ่งการคำนวณขนาดยาขึ้นอยู่กับ body surface area (BSA) ของผู้ป่วยแต่ละราย และขนาดยาสะสมมีผลต่อภาวะเป็นพิษต่อประสาทส่วนปลาย⁶ จากการศึกษาที่กลุ่มทดลองได้รับขนาดยาเฉลี่ยมากกว่ากลุ่มควบคุม แต่การประคบร้อนด้วยผ้าห่มไฟฟ้าในกลุ่มทดลองช่วยบรรเทาความปวดซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Masuda และคณะ¹⁸ พบว่าผลของการบำบัดโรคโดยการช่วยประคบร้อนบ่อยๆ

ให้ผลที่ดีขึ้นในผู้ป่วยที่มีการปวดเรื้อรัง และสอดคล้องกับการศึกษาของ Bond¹⁹ ซึ่งพบว่าผลการใช้ความร้อนประคบทำให้ดีขึ้นในผู้ป่วยที่มีการอักเสบของ perineal ช่วยลดอาการปวดในระยะคลอด และหลังคลอดที่ก้นปีศาจไม่อยู่ อย่างไรก็ตามการประคบร้อนเพื่อลดความปวดประสาทส่วนปลายในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ได้รับยา oxaliplatin นั้น การปรับระดับอุณหภูมิมีความสำคัญ เนื่องจากมีการศึกษาพบว่า อุณหภูมิที่ 5-25 และ 38-48 องศาเซลเซียสกระตุ้นให้เกิดความปวดประสาทส่วนปลายขณะได้รับยา oxaliplatin¹³ ดังนั้นการใช้ผ้าห่มไฟฟ้าที่ปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมในช่วง 26-37 องศาเซลเซียสประคบบริเวณแขนที่ให้ยาจะสามารถบรรเทาความปวดให้ผู้ป่วยได้ในระดับหนึ่ง ซึ่งช่วยให้ผู้ป่วยผ่อนคลายรู้สึกสุขสบายขึ้น ลดความกลัวและความวิตกกังวลขณะได้รับยา oxaliplatin

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากคณะแพทยศาสตร์มหาวิทาลัยสงขลานครินทร์ ขอขอบคุณคุณอวยพร ภัทรภักดีกุล ที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยและกลุ่มตัวอย่างในการตอบแบบสอบถามที่ใช้ในการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Srisukho S, Srivatanakul P, Sumitsawan Y. Colon and rectum. In: Khuhaprema T, Srivatanakul P, Sriplung H, Wiangnon S, Sumitsawan Y, Attasara P, editors. Cancer in Thailand Vol. IV, 1998-2000. Bangkok: Bangkok Medical Publisher; 2007. p. 34-5.
2. Prechawittayakul P. Hospital-Based Cancer Register: Songklanagarind Hospital 2007. Songkhla: Songklanagarind Hospital; 2007.
3. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2006. Atlanta, GA: American Cancer Society; 2006.
4. ชวนพิศ นรเดชานนท์. เคมีบำบัด:หลักการพยาบาล. กรุงเทพมหานคร: คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2547.
5. ภัทรพิมพ์ สรรพวีรวงศ์. มะเร็งลำไส้ใหญ่ มหันตภัยใกล้ตัว. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ การพยาบาลอายุรศาสตร์ ครั้งที่ 4: วันที่ 13-14 สิงหาคม 2552. สงขลา; 2552.
6. Cersosimo RJ. Oxaliplatin-associated neuropathy: a review. Ann Pharmacother 2005;39:128-35.
7. Gamelin E, Gamelin L, Bossi L, Quasthoff S. Clinical aspects and molecular basis of oxaliplatin neurotoxicity: current management and development of preventive measures. Semin Oncol 2002;29:21-33.
8. Argyriou AA, Polychronopoulos P, Iconomou G, Chroni E, Kalofonos HP. A review on oxaliplatin-induced peripheral nerve damage. Cancer Treat Rev 2008;34:368-77.
9. Pasetto LM, D'Andrea MR, Rossi E, Monfardini S. Oxaliplatin-related neurotoxicity: how and why? Crit Rev Oncol Hematol 2006;59:159-68.
10. de Lemos ML, Walisser S. Management of extravasation of oxaliplatin. J Oncol Pharm Pract 2005;11: 159-62.
11. Lehmann JF, De Lateur BJ. Therapeutic heat. In: Lehmann JF, editor. Therapeutic heat and Cold. 4th ed. Baltimore Md: Williams and Wilkins; 1990. p. 417-580.
12. Wikipedia tfe. Heat therapy Retrieved. Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/Heat_therapy. Accessed February, 2010.
13. Attal N, Bouhassira D, Gautron M, Vaillant JN, Mityr E, Lep re C, et al. Thermal hyperalgesia as a marker of oxaliplatin neurotoxicity: a prospective quantified sensory assessment study. Pain 2009;144:245-52.
14. Polit DF, Hungler BP. Nursing research principles and methods. 6th ed. Philadelphia: Lippincott; 1999.
15. Jacox AK. Pain:a source book for nurses and other health professionals. Boston: Little Brown; 1977.
16. Chaudakshetrin P, Prateepavanich P, Chira-Adisai W, Tassanawipas W, Leechavengvongs S, Kitisomprayoonkul W. Cross-cultural adaptation to the Thai language of the neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4). J Med Assoc Thai 2007;90:1860-5.
17. ผ่องรัตน์ รัตนไทย. ประสพการณ์ความปวดและวิธีจัดการกับความปวดในผู้ป่วยโรคมะเร็ง. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล; 2540.
18. Masuda A, Hattanmaru M, Tei C. Repeated thermal therapy improves outcomes in patients with chronic pain. International congress series 2006;1287:298-300.
19. Bond S. Warm Perineal Compresses May Reduce Third-and Fourth Degree Lacerations, Pain During Birth, and Postpartum Urinary Incontinence. J Midwifery Womens Health 2008;53:272-3.

การเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ความสมบูรณ์ของ เลือดในผู้ป่วยมะเร็งด้วยเครื่องวิเคราะห์ เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 2100D และ Abbott CELL-DYN RUBY

ญานินี จรัสวิศรุตพร

บทคัดย่อ การตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count) เป็นการตรวจที่สำคัญในการบ่งชี้โรคทางโลหิตวิทยาและติดตามผลการรักษาหลังได้รับยาเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็ง ปัจจุบันเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติมีการพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์ ในการศึกษาี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด ระหว่างเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 2100D และเครื่อง Abbott CELL-DYN RUBY โดยใช้เลือดของผู้ป่วยมะเร็งหลังได้รับยาเคมีบำบัดที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 126 ราย จากการเปรียบเทียบผลความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด 6 พารามิเตอร์คือ white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (Hgb), hematocrit (Hct), mean corpuscular volume (MCV) และ platelet (PLT) ที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติทั้งสองเครื่องพบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของแต่ละพารามิเตอร์เท่ากับ 0.996, 0.997, 0.999, 0.993, 0.986 และ 0.977 ตามลำดับ ผลจากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 2100D และเครื่อง Abbott CELL-DYN RUBY ให้ผลการตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดสอดคล้องกันอย่างชัดเจน (วารสารโรคมะเร็ง 2554;31:54-62.)

คำสำคัญ: ความสมบูรณ์ของเลือด เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ

Complete Blood Counts among Cancer Patients: a Comparison of Automated Sysmex XE 2100D and Abbott CELL-DYN RUBY Hematology Analyzers

by Yaninee Jarratwisarutporn

Hematology Section, Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400

Abstract The complete blood count (CBC) is an important and useful test of hematological status, and also for following up cancer patients after chemotherapy. This study aimed to compare the results of complete blood count tests by automated Sysmex XE 2100D and Abbott CELL-DYN RUBY hematology analyzers. One hundred and twenty-six blood samples, obtained from the cancer patients after chemotherapy at the National Cancer Institute, were used in this study. The results for six complete blood count parameters--white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (Hgb), hematocrit (Hct), mean corpuscular volume (MCV) and platelets--from these two analyzers were compared. The correlation coefficients (r) of these six parameters were 0.996, 0.997, 0.999, 0.993, 0.986, and 0.977, respectively. This study showed that the results of complete blood count testing by the two different automated hematological analyzers correlated clearly (*Thai Cancer J 2011;31:54-62.*)

บทนำ

การตรวจวิเคราะห์ส่วนประกอบของเลือดในทางโลหิตวิทยาหรือที่เรียกว่า "complete blood count (CBC)" ประกอบด้วยการศึกษาหาปริมาณส่วนประกอบต่างๆของเลือด การตรวจสอบจำนวนและจำแนกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวและการตรวจสอบรูปร่างลักษณะของเม็ดเลือดแดงและเกร็ดเลือด เป็นการตรวจที่แพทย์ผู้ทำการรักษาโรคมักสั่งตรวจบ่อย ซึ่งการตรวจนี้ประกอบด้วย การตรวจวัดระดับฮีโมโกลบิน (hemoglobin; Hgb) การตรวจวัดระดับปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit; Hct) การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cell count; WBC) การตรวจจำแนกชนิดเม็ดเลือดขาว การตรวจรูปร่างลักษณะเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาวและการประมาณค่าและตรวจรูปร่างลักษณะที่ผิดปกติของเกร็ดเลือด (platelet)

จากสถิติของสถาบันมะเร็งแห่งชาติปี 2552¹ รายงานว่าแพทย์สั่งตรวจ CBC ในผู้ป่วยนอกสูงถึง 75,771 ครั้งหรือเฉลี่ย 281 ครั้งต่อวัน นอกจากนี้ยังมี การสั่งตรวจประจำสำหรับผู้ป่วยก่อนจะเข้าหอบุป่วย

เกือบทุกราย จำนวนครั้งของการสั่งตรวจ CBC เพิ่มขึ้นทุกปีในแต่ละโรงพยาบาล การตรวจ CBC จึงมีความสำคัญและได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีโดยการผลิตเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติขึ้น ซึ่งเครื่องอัตโนมัติที่ได้รับการพัฒนาและผลิตขึ้นในปัจจุบันมีหลายชนิดและมีความแตกต่างกันในแต่ละบริษัท เครื่องอัตโนมัติเหล่านี้ได้รับการพัฒนาให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำ ถูกต้อง สะดวกและรวดเร็ว สามารถลดความผิดพลาดจากการตรวจด้วยวิธี manual หรือการตรวจดูชนิดของเม็ดเลือดบนสไลด์สเมียร์ได้ อย่างไรก็ตามการตรวจดูสไลด์สเมียร์เลือดด้วยวิธี manual ยังมีความสำคัญในการใช้เป็นการตรวจยืนยัน (confirmatory test) ความผิดปกติของเม็ดเลือดบางชนิดที่พบเช่น ความผิดปกติของรูปร่างเม็ดเลือดแดงหรือเม็ดเลือดขาว เป็นต้น

ในปัจจุบันเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติได้รับการพัฒนาออกแบบการผลิตด้วยหลักการและเทคโนโลยีที่มีความแตกต่างกันในแต่ละบริษัท จึงต้องมีการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องอัตโนมัติเหล่านี้กับการตรวจสเมียร์เลือดใน

การตรวจ CBC เพื่อความน่าเชื่อถือและให้ได้ผลการตรวจที่ถูกต้อง

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ เป็นสถานพยาบาลขนาด 200 เตียงที่ให้บริการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งและรับบริการตรวจสุขภาพให้กับประชาชนทั่วไป จากสถิติของสถาบันมะเร็งแห่งชาติพบว่าแพทย์มีการสั่งตรวจ CBC เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากในแต่ละวัน การตรวจ CBC ในห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ โดยอาศัยการตรวจ manual ด้วยการทำ blood smear และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพียงอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอ ดังนั้นจึงได้มีการนำเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติมาใช้ในการตรวจ CBC เบื้องต้นจากเลือดที่ส่งมาเพื่อความสะดวกและรวดเร็วของการตรวจวินิจฉัยของแพทย์ เครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาของสถาบันมะเร็งแห่งชาติในปัจจุบันคือเครื่อง Sysmex XE2100D ซึ่งเป็นเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติชนิด 5 part Diff สามารถตรวจวิเคราะห์ CBC พร้อมแยกชนิดเม็ดเลือดขาวทั้ง 5 ชนิดโดยอัตโนมัติ ด้วยหลักการที่แตกต่างกันถึง 3 หลักการ คือการใช้หลักการ flow cytometry method using semi-conductor laser คู่กับการข่มเม็ดเลือดขาวด้วยสีฟลูออเรสเซนต์ ทำให้สามารถนับจำนวนเม็ดเลือดขาวและแยกชนิดเม็ดเลือดขาว และหลักการ hydrodynamic focusing method ในการตรวจนับเม็ดเลือดแดงและเกร็ดเลือดรวมทั้งใช้หลักการ SLS-hemoglobin method เป็นน้ำยาที่ไม่มีไซยาไนด์สำหรับวิเคราะห์ค่าฮีโมโกลบินโดยเฉพาะ^{2,3} เนื่องจากปริมาณและจำนวนของเลือดที่ส่งตรวจหาค่า CBC ในห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาของสถาบันมะเร็งแห่งชาติมีจำนวนมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงมีความจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัดมักมีผล CBC ที่เปลี่ยนแปลง เช่น ปริมาณเม็ดเลือดขาว

และเม็ดเลือดแดงลดต่ำลงเนื่องจากยาเคมีบำบัด⁴⁻⁶ ดังนั้นจึงต้องให้ได้ผลการตรวจ CBC ที่ถูกต้องและแม่นยำ เพื่อใช้ติดตามผลการรักษาในผู้ป่วย ถ้าได้ผลการตรวจที่ไม่แม่นยำพออาจส่งผลให้ผู้ป่วยต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายโดยไม่จำเป็นและบางครั้งอาจจะเสี่ยงต่ออาการข้างเคียงหลังจากได้รับส่วนประกอบของเลือดที่ไม่ถูกต้อง⁶⁻⁹

ปัจจุบันมีการนำเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ CELL-DYN RUBY ซึ่งใช้หลักการ optical light scatter with helium-neon laser ในการนับจำนวนเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดงและเกร็ดเลือด และแยกชนิดเม็ดเลือดขาวทั้ง 5 ชนิด ด้วยหลักการ multi-angle polarized scatter separation (MAPSS)^{2,3} มาใช้ในการตรวจ CBC อย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการในประเทศไทย ก่อนที่ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาของสถาบันมะเร็งแห่งชาติจะนำเครื่องมือดังกล่าวมาใช้ตรวจวิเคราะห์เพิ่มจากเครื่อง Sysmex XE2100D ที่มีอยู่เดิม จึงจำเป็นต้องเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์ทั้งสองเครื่อง เพื่อดูความสอดคล้องของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากเครื่องทั้งสองดังกล่าว เพื่อประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

ผู้วิเคราะห์ได้เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำของผู้ป่วยจำนวน 3 มล. ใส่สารกันเลือดแข็ง EDTA กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัดที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติจำนวน 126 ราย

วิธีการทดลอง

นำเลือดที่ได้มาตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE

21000D และเครื่อง Abbott CELL-DYN RUBY ก่อนดำเนินการวิเคราะห์ที่ได้มีการ calibration เครื่องโดยผู้เชี่ยวชาญจากบริษัททั้งสองแห่ง ด้วยการใช้น้ำยา calibrator ของแต่ละบริษัท และปรับค่าโดยใช้ commercial control product ของแต่ละบริษัทซึ่งจะทำให้ได้ค่าความเที่ยงตรง (accuracy) การทดสอบความแม่นยำ (precision) ทำตามข้อกำหนดของ International Committee for Standardized in Hematology (ICSH) ดังนี้

การทดสอบ within – run assay

ทดสอบด้วยการใช้ e-CHECK Control (Sysmex XE 21000D) และ CELL DYN 26 Plus Control (Abbott CELL-DYN RUBY) ที่มีค่า 3 ระดับ คือ ค่าต่ำ, ปกติ และสูง โดยทดสอบ 20 ครั้งภายในหนึ่งวัน แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (CV)

การทดสอบ between – run assay

ทดสอบด้วยการใช้ e-CHECK Control (Sysmex XE 21000D) และ CELL DYN 26 Plus Control (Abbott CELL-DYN RUBY) ที่มีค่า 3 ระดับ คือ ค่าต่ำ, ปกติ และสูง วันละ 3 ตัวอย่างจำนวน 20 วัน แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (CV)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผู้วิเคราะห์ได้ใช้โปรแกรม Excel 2007 ในการบันทึกผลการทดสอบและคำนวณข้อมูลทางสถิติ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (coefficient of variation; CV) และเปรียบเทียบผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจากเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Sysmex XE 21000D และ Abbott CELL-DYN RUBY ด้วยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r)

ผลการศึกษา

การทดสอบความแม่นยำ

ผลการทดสอบ within – run precision

ผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจาก control ที่มีค่า 3 ระดับคือ ค่าต่ำ, ปกติ และสูง เมื่อทดสอบแบบ within - run precision พบว่าได้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนค่อนข้างต่ำในทุกพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ โดยมีค่า CV สูงสุดที่ร้อยละ 3.72 เท่านั้นจากการใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 21000D (ตารางที่ 1) และร้อยละ 3.46 จากการใช้เครื่อง Abbott CELL-DYN RUBY (ตารางที่ 2)

ผลการทดสอบ between – run precision

ผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจาก control ที่มีค่า 3 ระดับคือ ค่าต่ำ, ปกติ และ สูง เมื่อทดสอบแบบ between - run precision พบว่าได้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนค่อนข้างต่ำในทุกพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ โดยมีค่า CV สูงสุดที่ร้อยละ 6.36 เท่านั้นจากการใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 21000D (ตารางที่ 3) และร้อยละ 5.2 จากการใช้เครื่อง Abbott CELL-DYN RUBY (ตารางที่ 4)

การเปรียบเทียบผลการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด โดยใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 21000D และ Abbott CELL-DYN RUBY

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 21000D และ Abbott CELL-DYN RUBY จากตัวอย่างเลือดทั้งหมดจำนวน 126 ราย พบค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ในการตรวจ WBC=0.996, RBC=0.997, Hgb=0.999, Hct=0.993, MCV=0.986 และ Plt=0.977 (รูปที่ 1 และตารางที่ 5)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจาก Control ที่มีค่า 3 ระดับ (ค่าต่ำ ปกติ และสูง) เพื่อทดสอบแบบ within-run precision จากการใช้เครื่อง Sysmex XE2100D

พารามิเตอร์	ค่าต่ำ			ค่าปกติ			ค่าสูง		
	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV
WBC($\times 10^3$)	3.04	0.055	1.81	6.96	0.139	2.01	17.88	0.180	1.01
RBC ($\times 10^6$)	2.30	0.015	0.65	4.43	0.032	0.72	5.40	0.031	0.56
Hgb (g/dl)	5.81	0.031	0.53	12.47	0.059	0.47	16.26	0.060	0.37
Hct (%)	18.3	0.108	0.59	37.93	0.255	0.68	48.7	0.283	0.58
MCV (fl)	79.68	0.426	0.53	85.64	0.135	0.16	90.25	0.164	0.18
PLT($\times 10^3$)	57.35	2.134	3.72	227.85	4.44	1.94	532.35	7.095	1.33

ตารางที่ 2 ผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจาก Control ที่มีค่า 3 ระดับ (ค่าต่ำ ปกติ และสูง) เพื่อทดสอบแบบ within-run precision จากการใช้เครื่อง Abotte Cell-DYN RUBY

พารามิเตอร์	ค่าต่ำ			ค่าปกติ			ค่าสูง		
	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV
WBC($\times 10^3$)	3.91	0.089	2.27	6.74	0.084	1.24	15.72	0.239	1.52
RBC ($\times 10^6$)	2.93	0.031	1.05	4.25	0.023	0.54	5.27	0.029	0.55
Hgb (g/dl)	7.34	0.039	0.53	12.07	0.048	0.4	15.85	0.105	0.66
Hct (%)	20.55	0.198	0.97	32.64	0.154	0.47	42.8	0.271	0.63
MCV (fl)	70.29	0.208	0.29	76.78	0.136	0.18	81.7	0.198	0.24
PLT($\times 10^3$)	87.95	3.036	3.46	249	6.394	2.57	538.9	10.249	1.9

ตารางที่ 3 ผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจาก Control ที่มีค่า 3 ระดับ (ค่าต่ำ ปกติ และสูง) เพื่อทดสอบแบบ between-run precision จากการใช้เครื่อง Sysmex XE2100D

พารามิเตอร์	ค่าต่ำ			ค่าปกติ			ค่าสูง		
	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV
WBC($\times 10^3$)	2.82	0.094	3.33	6.43	0.173	2.69	16.7	0.371	2.22
RBC ($\times 10^6$)	2.29	0.037	1.61	4.32	0.037	0.85	5.16	0.044	0.85
Hgb (g/dl)	5.7	0.065	1.14	12.4	0.077	0.62	16.1	0.101	0.63
Hct (%)	17.1	0.295	1.73	36.2	0.329	0.91	45.7	0.506	1.11
MCV (fl)	75.05	0.647	0.86	83.55	0.56	0.67	88.35	0.561	0.63
PLT($\times 10^3$)	56.5	3.592	6.36	205.5	9.179	4.47	480	11.57	2.41

ตารางที่ 4 ผลการตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยาจาก Control ที่มีค่า 3 ระดับ (ค่าต่ำ ปกติ และสูง) เพื่อทดสอบแบบ between-run precision จากการใช้เครื่อง Abbott Cell-DYN RUBY

พารามิเตอร์	ค่าต่ำ			ค่าปกติ			ค่าสูง		
	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV	mean	SD	%CV
WBC(x10 ³)	4.07	0.086	2.1	7.05	0.115	1.6	16.2	0.313	1.9
RBC (x10 ⁶)	2.93	0.036	1.2	4.25	0.041	1	5.23	0.08	1.5
Hgb (g/dl)	7.36	0.068	0.9	12.4	0.127	1	16.2	0.121	0.7
Hct (%)	20.6	0.357	1.7	32.7	0.541	1.7	42.3	0.985	2.3
MCV (fl)	70.4	0.62	0.9	76.9	0.674	0.9	80.9	0.877	1.1
PLT(x10 ³)	91.3	4.79	5.2	238	7.93	3.3	556	12.4	2.2

ตารางที่ 5 ผลการเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาจากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือด Sysmex XE2100D และ Abbott CELL-DYN RUBY

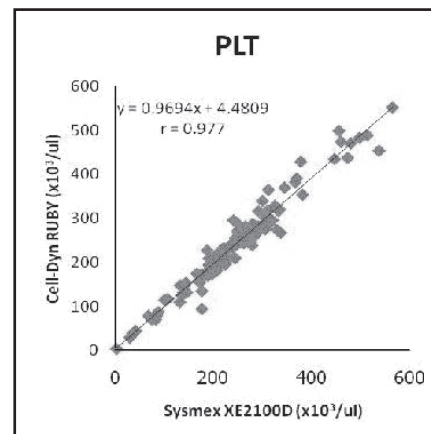
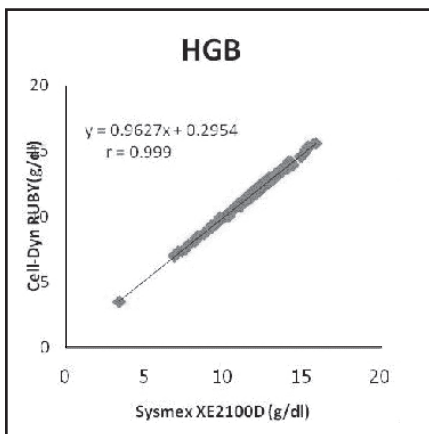
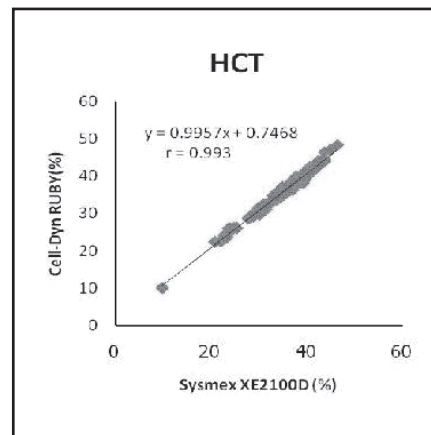
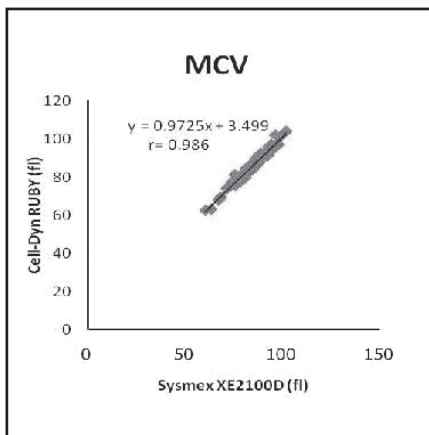
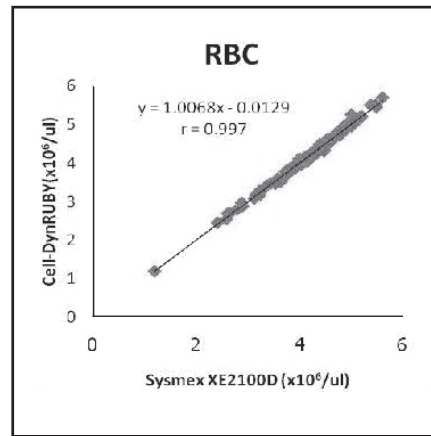
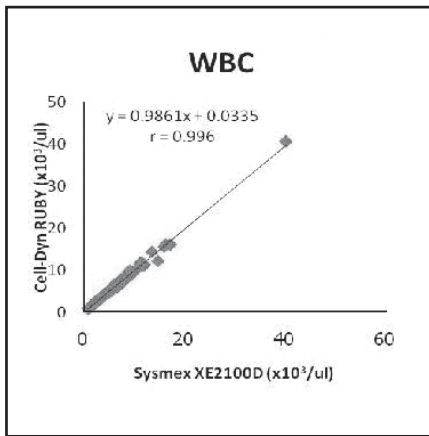
พารามิเตอร์	จำนวนตัวอย่าง	r
WBC	126	0.996
RBC	126	0.997
Hgb	126	0.999
Hct	126	0.993
MCV	126	0.986
PLT	126	0.977

r = สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

วิจารณ์และสรุป

จากการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ ความสมบูรณ์ของเลือดในผู้ป่วยมะเร็งด้วยเครื่อง วิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 2100D และ Abbott CELL-DYN RUBY พบว่าทั้งสองเครื่องมีความ สอดคล้องในการทดสอบหาค่าความสมบูรณ์ของ เลือดทั้ง 6 พารามิเตอร์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ อยู่ในช่วง 0.977-0.999 ซึ่งเป็นค่าที่สูงมาก แสดงให้เห็น ว่าเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 2100D และ Abbott CELL-DYN RUBY ให้ผลไป ในแนวทางเดียวกัน

จากรายงานของ Longair และคณะ¹⁰ ได้ทำ การเปรียบเทียบผลจากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Sysmex XE 2100 และ Celltac F ซึ่งใช้หลักการ เดียวกันได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ใน 6 พารามิเตอร์ ที่ทดสอบมากกว่า 0.98 แสดงถึงผลที่ได้มีความ สอดคล้องกันเป็นอย่างดี ในการศึกษาแม้ว่าจะใช้เครื่อง วิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติที่มีหลักการที่แตกต่าง กันก็ตาม พบว่าให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่สอดคล้อง กัน



รูปที่ 1 แสดงค่าความความสัมพันธ์ของค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดต่างๆ 6 พารามิเตอร์ระหว่างเครื่อง Sysmex XE2100D และ Abbott CELL-DYN RUBY

ปัจจุบันได้มีการนำเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติมาใช้ทดสอบทางโลหิตวิทยาพื้นฐานที่ใช้ในการวินิจฉัยและติดตามการรักษาผู้ป่วยคือ การตรวจ complete blood count เพื่อความถูกต้องแม่นยำ รวดเร็ว เครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติมีหลายชนิด หลากหลายบริษัท ซึ่งมีหลักการในการวิเคราะห์ค่าต่างๆที่แตกต่างกัน ผู้ตรวจวิเคราะห์ควรจะเข้าใจหลักการวิเคราะห์จะทำให้ผู้วิเคราะห์สามารถปฏิบัติงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเลือกใช้เครื่องมือที่มีหลักการที่แตกต่างกันนั้นทำให้ผู้ตรวจวิเคราะห์มั่นใจในผลการตรวจมากยิ่งขึ้น เพราะหลักการของแต่ละเครื่องมักมีข้อดีข้อเสียที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องอัตโนมัติก็ยังคงมีข้อจำกัดบางประการในการบ่งชี้ถึงความผิดปกติของตัวอย่างที่นำมาตรวจ ดังนั้นการผสมผสานเทคโนโลยีของเครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติรวมกับการตรวจ blood smear ก็จะทำให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำขึ้น นอกจากนี้การควบคุมคุณภาพ (quality control) และการปรับแต่ง (calibration) ของเครื่องก็เป็นส่วนที่มีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำและเชื่อถือได้

โรคมะเร็งเป็นโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทย โดยพบอัตราการตายมากเป็นอันดับหนึ่งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 เป็นต้นมาและมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง¹¹ จากสถิติผู้ป่วยมะเร็งที่มารับการตรวจและรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติเพิ่มขึ้นทุกปี^{12,13} ดังนั้นงานโลหิตวิทยาของกลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติจึงมีจำนวนตัวอย่างเลือดที่ต้องวิเคราะห์เป็นประจำเพิ่มขึ้นอย่างมาก โดยที่อัตรากำลังบุคลากรผู้ปฏิบัติงานมีจำกัด จึงจำเป็นต้องใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติซึ่งเดิมมีอยู่แล้ว

หนึ่งเครื่องก็ยังไม่เพียงพอต่อปริมาณผู้ป่วยมะเร็งที่สูงขึ้น ดังนั้นงานโลหิตวิทยาจึงได้เพิ่มเครื่องตรวจเม็ดเลือดอัตโนมัติอีกหนึ่งเครื่อง ซึ่งการศึกษานี้ได้เปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดที่ได้จากเครื่องทั้งสองดังกล่าวพบว่าให้ผลสอดคล้องกันอย่างแน่ชัด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร.สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์ งานพันธุศาสตร์ กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาและเขียนงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. ผลงานประจำปี 2552: สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; หน้า 101
2. นวพรรณ จารุรักษ์. การวิเคราะห์เม็ดเลือดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติและกรณีศึกษา. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: บริษัทเท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด; 2545. หน้า 20-80.
3. ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์. Verification of test results for CBC. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: เอก.ที.พี.เพรส. จำกัด; 2552. หน้า 33-47.
4. Chemotherapy and Low White Blood Cell (WBC) Counts. Available at: <http://www.lymphoma.about.com/od/glossary/g/anc.htm>. Accessed June 2, 2011.
5. Low White Blood Cell Count (Neutropenia). Available at: <http://www.oncolink.org>. Accessed June 2, 2011.
6. Groopman JE, Itri LM. Chemotherapy-induced anemia in adults: incidence and treatment. J Natl Cancer Inst 1999;91:1616-34.
7. Segal HC, Briggs C, Kunka S, Casbard A, Harrison P, Machin SJ, et al. Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion. Br J Haematol 2005;128:520-5.
8. Hong KH, Kim MJ, Lee KW, Park KU, Kim HS, Song J. Platelet count evaluation using three automated haematology analysers compared with the

- immunoplatelet reference method, and estimation of possible inadequate platelet transfusion. *Int J Lab Hematol.* 2009;31:298-306.
9. Platelet Transfusion Therapy. NIH Consensus Statement Online 1986;6:1-6.
 10. Longair I, Briggs C, Machin SJ. Performance evaluation of the Celltac F haematology analyser. *Int J Lab Hematol* 2011;33:357-68.
 11. สถิติสาธารณสุข พ.ศ. 2551 สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลัด กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
 12. Attasara P, Buasom R. Hospital-based cancer Registry 2008. National Cancer Institute, Thailand.
 13. Attasara P, Buasom R. Hospital-based cancer Registry 2009. National Cancer Institute, Thailand.

การตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* Polymorphisms ในผู้ป่วย มะเร็งเต้านมด้วยวิธี Multiplex Real-Time PCR

दनัย ทิวาเวช¹
อดิศักดิ์ ศรีพรหม²
ญานินฉิ จรัสวิศรุตพร³
Takafumi Ishida⁴

บทคัดย่อ มะเร็งเต้านม เป็นโรคที่เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย มีรายงานว่ายีน glutathione S-transferase Mu1 และยีน glutathione S-transferase Theta1 (*GSTM1* และ *GSTT1*) ซึ่งสร้างเอนไซม์เพื่อขจัดพิษของสารก่อมะเร็งในแต่ละบุคคลนั้น มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (polymorphisms) ได้สองชนิดคือ ชนิดที่มีพันธุกรรมทั้งสอง (normal genotype) และชนิดที่ไม่มีพันธุกรรมทั้งสอง (null genotype) พบว่าผู้ที่มี null genotype ของ *GSTM1* และ *GSTT1* ตั้งแต่กำเนิดมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งสูงกว่าผู้ที่มี normal genotype ด้วยเหตุนี้ *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms จึงเป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรมในการพยากรณ์ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งได้หลายชนิด แต่การตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกันตามปกติด้วยวิธี conventional multiplex polymerase chain reaction (CM-PCR) นั้นมีความซับซ้อนและใช้เวลามาก จึงไม่เหมาะที่จะใช้ตรวจในกรณีที่มีตัวอย่างครั้งละจำนวนมากได้ ปัจจุบันพบว่าวิธีการตรวจแบบ multiplex real-time PCR (MR-PCR) ซึ่งมีความสะดวกและรวดเร็วในการตรวจมากกว่า สามารถนำมาใช้แก้ไขปัญหที่เกิดจาก CM-PCR ได้ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกันในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม โดยใช้วิธี MR-PCR และเปรียบเทียบผลการตรวจด้วยวิธีดังกล่าวกับผลการตรวจด้วยวิธี CM-PCR ในการศึกษานี้ใช้ DNA ที่สกัดจาก peripheral blood leukocyte ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม จำนวน 90 ราย ตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms [*GSTM1* normal genotype (*GSTM1*+), *GSTM1* null genotype (*GSTM1*-), *GSTT1* normal genotype (*GSTT1*+), และ *GSTT1* null genotype (*GSTT1*-)] ด้วยวิธี MR-PCR และวิธี CM-PCR ผลการศึกษาพบว่าการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกันด้วยวิธี MR-PCR ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทุกรายได้ผลเหมือนกับวิธี CM-PCR ($K=1.0$, $95\%CI=1.0-1.0$) นอกจากนี้ยังพบว่าการศึกษา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี MR-PCR มีความสะดวก รวดเร็ว และลดค่าใช้จ่ายมากกว่าวิธี CM-PCR อีกด้วย การศึกษานี้สรุปได้ว่าวิธี MR-PCR น่าจะเป็นวิธีที่ดีกว่าในการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี CM-PCR (วารสารโรคมะเร็ง 2554;31:63-74.)

¹กลุ่มงานวิจัย กลุ่มงานศัลยศาสตร์ กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์

⁴Unit of Human Biology and Genetics, Department of Biological Sciences, School of Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

Simultaneous Detection of *GSTM1* and *GSTT1* Polymorphisms in Breast Cancer Patients by Multiplex Real-Time PCR Assay

by Danai Tiwawech¹, Adisak Sornprom², Yaninee Jarratwisarutporn³ and Takafumi Ishida⁴

¹Research, ²Surgery and ³Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand. ⁴Unit of Human Biology and Genetics, Department of Biological Sciences, School of Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

Abstract Breast cancer, (BRC) is a major public-health problem in Thailand. Glutathione S-transferase Mu1 and Theta1 genes (*GSTM1* and *GSTT1*), encoding *GSTM1* and *GSTT1* enzymes, to detoxify the epoxide form of several carcinogens, are polymorphic and expressed into 2 genotypes, normal and null. Carriers with null genotypes are reportedly susceptible to several cancers. Currently, *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms are used as genetic-risk markers for various cancers. However, the conventional multiplex polymerase chain reaction (CM-PCR) assay for *GSTM1* and *GSTT1* polymorphism detection is complicated, time-consuming and unsuitable for mass screening. To date, multiplex real-time PCR (MR-PCR) assays have been proposed as faster methods to deal with the problems of CM-PCR. This study aimed to establish a MR-PCR assay for the simultaneous detection of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms in BRC patients, and to compare the results of this new assay with the CM-PCR assays. Ninety DNA samples, extracted from the peripheral blood leukocytes of Thai BRC patients, were analyzed for *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms [*GSTM1* normal genotype (*GSTM1*+), *GSTM1* null genotype (*GSTM1*-), *GSTT1* normal genotype (*GSTT1*+), and *GSTT1* null genotype (*GSTT1*-)] by using MR-PCR and CM-PCR assays. The results of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphism detection for all BRC cases by MR-PCR assay were in full accord with CM-PCR ($K=1.0$, $95\%CI=1.0-1.0$). In addition, the MR-PCR assay was easier, faster and safer for *GSTM1* and *GSTT1* polymorphism detection than CM-PCR. In conclusion, our study suggests that the MR-PCR assay is a better tool for detecting *GSTM1* and *GSTT1* polymorphism in patients with BRC than the CM-PCR assay. (*Thai Cancer J* 2011;31:63-74.)

Keywords: glutathione S-transferase M1, glutathione S-transferase T1, polymorphisms, breast cancer, multiplex real-time PCR

บทนำ

มะเร็งเต้านมเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขของหลายประเทศเนื่องจากเป็นโรคที่พบบ่อยเป็นอันดับหนึ่งในสตรีทั่วโลก โดยมีอัตราการตรวจพบประมาณ 37.4 รายต่อประชากรสตรี 1 แสนคน และคาดว่าจะมีการตรวจพบผู้ป่วยมะเร็งเต้านมรายใหม่ทั่วโลกมากกว่า 1 ล้านคนต่อปี¹ ในประเทศไทยมะเร็งเต้านมพบมากเป็นอันดับหนึ่งในสตรีเช่นกัน (21,967 รายหรือประมาณ 20.9 รายต่อประชากรสตรี 1 แสนคน)² จากสถิติของกระทรวงสาธารณสุขพบว่ามะเร็งเต้านมเป็นสาเหตุการตายอันดับที่ 1 ของสตรีทั่วประเทศ

และอัตราการตายของมะเร็งดังกล่าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี³ มีรายงานว่ามะเร็งเต้านมหากตรวจพบได้ในระยะเริ่มแรกในขณะที่มีขนาดเล็ก (<1 ซม.) และยังไม่มีการกระจายไปสู่ต่อมน้ำเหลืองจะเป็นระยะที่มีผลในการรักษาดี ผู้ป่วยจะมีการรอดชีวิตในช่วง 5 ปีประมาณร้อยละ 90 ในทางตรงกันข้ามหากตรวจวินิจฉัยพบมะเร็งเต้านมเมื่อมีขนาดใหญ่ (>5 ซม.) และมีการกระจายไปสู่ต่อมน้ำเหลืองแล้ว การมีชีวิตรอดในช่วง 5 ปีของผู้ป่วยจะลดลงเหลือประมาณร้อยละ 40⁴ ดังนั้นการตรวจคัดกรองหามะเร็งเต้านมในระยะเริ่มแรกให้พบแต่เนิ่นๆ ในขณะที่ผู้ป่วยยังไม่มีอาการ

แล้วให้การรักษาในทันทีเพื่อหวังที่จะทำให้ผลการรักษาและการพยากรณ์โรคของผู้ป่วยมีประสิทธิภาพดีขึ้นจึงมีความสำคัญในการควบคุมโรคมะเร็งชนิดนี้

จากการศึกษาวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่องทางด้านอณูชีววิทยาในปัจจุบัน ทำให้ทราบว่ามนุษย์มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic polymorphisms) ที่ทำให้แต่ละบุคคลมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งไม่เหมือนกัน⁵ ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ตรวจพบเหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นประโยชน์ในการพยากรณ์และค้นหากลุ่มคนที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ที่กำลังจะกลายเป็นผู้ป่วยโรคมะเร็งระยะเริ่มแรกในอนาคตได้ เช่น โรคมะเร็งของปอด⁶ กระเพาะอาหาร⁷ ลำไส้ใหญ่⁸ ไพรอทหลังจุมูก⁹ กระเพาะปัสสาวะ¹⁰ เต้านม¹¹ และตับ¹² เป็นต้น

การศึกษาทางด้านระบาดวิทยาและในสัตว์ทดลองที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าการได้รับสารก่อมะเร็งหลายชนิด ได้แก่ สาร polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)¹³, polychlorinated biphenyls (PCBs)¹³, DDT¹⁴ และ Bisphenol A (BPA)¹⁵ ที่พบปนเปื้อนในอาหาร และมีอยู่ในควันบุหรี่ อาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดมะเร็งเต้านมในคนได้ และพบว่ายีน *GSTM1* และ *GSTT1* มีหน้าที่หลักในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิดซึ่งมีสาเหตุมาจากสารก่อมะเร็งดังกล่าวด้วยการสร้าง enzyme *GSTM1* และ *GSTT1* ไปจับกับสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากการถูกย่อยของสารก่อมะเร็งเหล่านั้น และขับสารอนุมูลอิสระที่จะเป็นสาเหตุให้เกิดโรคมะเร็งออกไปจากร่างกาย โดยทั่วไป *GSTM1* และ *GSTT1* ในแต่ละบุคคลมีความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ 2 ชนิดคือ ชนิดที่มี *GSTM1* และ *GSTT1* ตามปกติ (normal genotype หรือ *GSTM1+* และ *GSTT1+*) และชนิดที่ไม่มี *GSTM1* และ *GSTT1* (null genotype หรือ *GSTM1-* และ *GSTT1-*) ส่วนสาเหตุของการเกิด *GSTM1-* และ *GSTT1-* ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เชื่อว่าอาจมีสาเหตุมาจากการกลาย

พันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์ของบิดาและมารดาทำให้ *GSTM1* และ *GSTT1* หลุดหายไปก่อนที่จะเกิดการปฏิสนธิหรือมีการกลายพันธุ์ของเซลล์ตัวอ่อนในไข่ที่เพิ่งเกิดการปฏิสนธิช่วงระยะที่เป็นหนึ่งเซลล์กำลังแบ่งตัวเป็นสองเซลล์ทำให้ *GSTM1* และ *GSTT1* หลุดหายไป ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ผู้ที่มีพันธุกรรมชนิด *GSTM1-* และ *GSTT1-* มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งมากกว่าผู้ที่มีพันธุกรรมชนิด *GSTM1+* และ *GSTT1+* มีรายงานว่าผู้ที่มีพันธุกรรมชนิด *GSTM1-* และ *GSTT1-* มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีพันธุกรรมชนิด *GSTM1+* และ *GSTT1+*¹⁶⁻¹⁸

โดยทั่วไปการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ตามปกติด้วยวิธี conventional polymerase chain reaction (CM-PCR) นั้นไม่เหมาะที่จะใช้ในการตรวจคัดกรองที่มีตัวอย่างจำนวนมากได้ เนื่องจากขั้นตอนการตรวจยังมีความซับซ้อน และใช้เวลานาน โดยต้องมีการทำ multiplex PCR เพื่อเพิ่มปริมาณของ *GSTM1* และ *GSTT1* ก่อน แล้วตามด้วยการทำ gel electrophoresis เพื่อตรวจยืนยันความถูกต้องของขนาดของ *GSTM1* และ *GSTT1* ที่ตรวจพบซึ่งต้องใช้เวลาในการตรวจทั้งหมดประมาณ 4 ชั่วโมง ปัจจุบันพบว่าวิธีการตรวจแบบ multiplex real-time PCR (MR-PCR) ได้มีการพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้แก้ไขปัญหาดังกล่าวได้เป็นอย่างดี โดยมีการทำ real time PCR เพื่อเพิ่มปริมาณของ *GSTM1* และ *GSTT1* ไปพร้อมกัน วิธีนี้จะใช้ primers จำนวน 3 ชุด (แต่ละชุดมี primer 2 เส้น) ของ *GSTM1*, *beta-globin* gene และ *GSTT1* ในการทำ PCR ไปพร้อมๆกัน และใช้สารไซเบอร์กรีน I (SYBR green I) เป็นตัวตรวจวัดปริมาณของ *GSTM1*, *beta globin* และ *GSTT1* ที่เกิดขึ้นหลังจากการทำ PCR และ melting curve analysis เสร็จสิ้นลงซึ่งจะใช้เวลาในการตรวจประมาณ 2 ชั่วโมง แต่เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการศึกษารวบรวม *GSTM1* และ *GSTT1* poly-

morphisms ด้วยวิธี MR-PCR มาก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมด้วยการใช้วิธี MR-PCR แล้วเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธี CM-PCR

วัสดุและวิธีการ

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้คัดเลือกเฉพาะผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ที่มีผลการวินิจฉัยทางพยาธิวิทยายืนยันแล้วเท่านั้น และอยู่ระหว่างได้รับการรักษาที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 90 ราย ผู้ป่วยทุกรายให้ความยินยอมในการเข้าร่วมโครงการวิจัยก่อนได้รับการเจาะเลือดเพื่อเก็บตัวอย่าง EDTA blood จำนวน 3 มล. จากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปปั่นที่ความเร็ว 2500 rpm นาน 20 นาทีเพื่อแยกเม็ดเลือดขาวแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -40°C จนกว่าจะนำไปใช้ในการศึกษา

การสกัด DNA จากเม็ดเลือดขาว

ผู้วิจัยได้นำเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม มาสกัด DNA ด้วยการใช้น้ำยาสำเร็จรูป QuickGene DNA whole blood kit S (FUJIFILM Corporation, Japan) และใช้เครื่องสกัด DNA รุ่น QuickGene-810 (FUJIFILM Corporation, Japan) โดยทำตามขั้นตอนที่แนบมากับชุดน้ำยา DNA ที่สกัดได้มีความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 40 ng/ μ l จากนั้นนำ DNA ที่สกัดได้ทั้งหมดไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -40°C จนกว่าจะนำไปศึกษา

การตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี CM-PCR

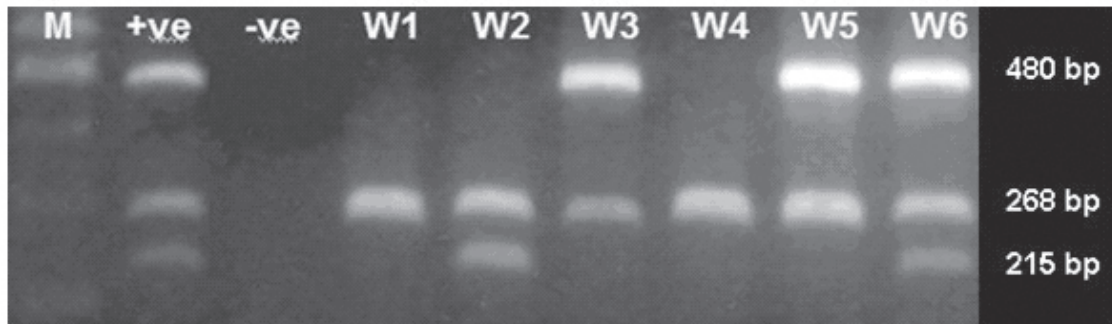
ในการทำ CM-PCR ใช้เครื่อง Thermo Cycler (Biometra รุ่น T-personal, Germany) และใช้

น้ำยาสำเร็จรูป REExtract-N-Amp™ Blood PCR kit (Sigma, Germany) เป็น master mixture reagent สำหรับ primers ทั้ง 3 ชุดซื้อมาจาก บริษัท Qiagen, Germany ซึ่งมีลำดับเบส ดังนี้คือ forward-5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3' และ reverse-5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3' สำหรับตรวจหา *GSTM1*¹⁹, forward-5'-TCT CCT TAC TGG TCC TCA CAT CTC-3' และ reverse-5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3' สำหรับตรวจหา *GSTT1*²⁰ และ forward-5'-AAC TTC ATC CAC GTT CAC C-3' และ reverse-5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3' สำหรับตรวจหา *beta-globin*¹⁹ (internal control)

ขั้นตอนการทำ CM-PCR เริ่มด้วยการนำ PCR reaction mixture²⁰ 1 [6 μ l ของ น้ำกลั่น 2 ครั้ง + 10 μ l ของ master mixture + 0.5 μ l ของ 20 pmole ของ primer แต่ละเส้น + 1 μ l ของ DNA template] ไป incubate ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 5 นาทีก่อนการทำ PCR จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณของ DNA เฉพาะบริเวณที่มี *GSTM1*, *beta-globin* และ *GSTT1* โดยการทำให้ CM-PCR ตามโปรแกรมดังนี้ อุณหภูมิ 94°C นาน 10 วินาที, 58°C นาน 20 วินาที และ 72°C นาน 45 วินาที จำนวน 40 รอบ แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 5 นาที

CM-PCR product ของ *GSTM1*, *beta-globin* และ *GSTT1* ที่ได้มีขนาด 215, 268 และ 480 base pair (bp) ตามลำดับเมื่อผ่านการทำ gel electrophoresis ใน agarose gel (2.5%) และย้อมด้วยน้ำยา gel star (1:4000)

ในการทำ CM-PCR ทุกครั้งใช้ *beta-globin* เป็น internal control ใช้ DNA ของผู้ที่มีพันธุกรรมชนิด *GSTM1*+/*GSTT1*+ เป็น positive control และใช้น้ำกลั่น 2 ครั้ง เป็น negative control (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงผลการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกัน ด้วยวิธี CM-PCR ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ซึ่งพบว่า PCR product ของ *GSTM1*, *beta-globin* และ *GSTT1* มีขนาด 215 bp, 268 bp และ 480 bp ตามลำดับ W1 และ W4 (พบแถบ DNA ขนาด 268 bp) คือ ผู้ป่วยที่มี genotype ชนิด *GSTM1*-/*GSTT1*-, W2 (พบแถบ DNA ขนาด 215 bp และ 268 bp) คือ ผู้ป่วยที่มี genotype ชนิด *GSTM1*+, W3 และ W5 (พบแถบ DNA ขนาด 268 bp และ 480 bp) คือ ผู้ป่วยที่มี genotype ชนิด *GSTT1*+, W6 (พบแถบ DNA ขนาด 215 bp, 268 bp และ 480 bp) คือ ผู้ป่วยที่มี genotype ชนิด *GSTM1*+/*GSTT1*+, +ve คือ positive control (ผู้ป่วยที่มีพันธุกรรมชนิด *GSTM1*+/*GSTT1*), -ve คือ negative control และ M คือ 100 bp size marker

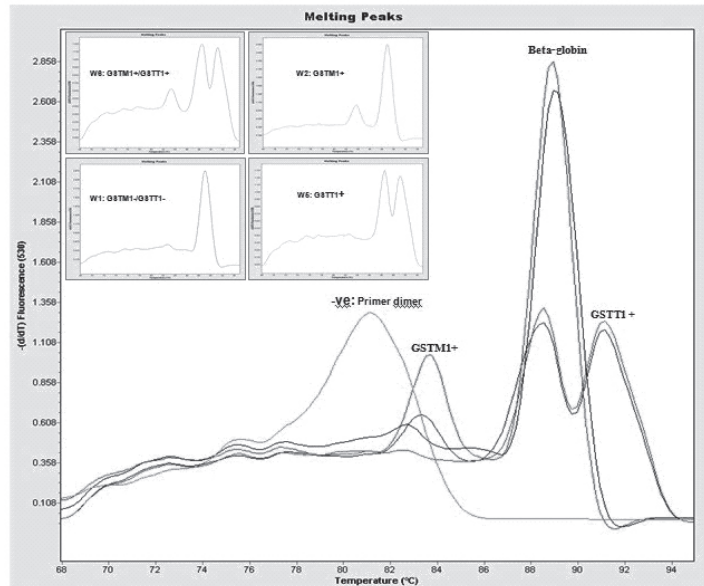
การตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี MR-PCR

ในการตรวจด้วยวิธี MR-PCR ใช้เครื่อง LightCycler model 1.5 (Roche, Germany) และใช้ primers ชุดเดียวกับที่ใช้ในวิธี CM-PCR ส่วนน้ำยา master mix นั้นใช้ The LightCycler® FastStart DNA MasterPLUS SYBR green I (Roche, Germany) โดยมีขั้นตอนดังนี้คือนำ PCR reaction mixture 20 μ l [12.0 μ l ของน้ำกลั่น 2 ครั้ง + 4 μ l ของ master mix + 0.5 μ l ของ 20 pmole ของแต่ละ primer + 1 μ l ของ DNA template] ไป incubate ที่ 95°C นาน 10 นาทีก่อนการทำ MR-PCR จากนั้นทำการเพิ่มจำนวน DNA โดยการทำ MR-PCR ตามโปรแกรมดังนี้ 95°C นาน 10 วินาที, 58°C นาน 5 วินาที และ 72°C นาน 10 วินาทีเป็นจำนวน 40 รอบแล้วตามด้วยการทำ

melting curve analysis จากอุณหภูมิ 68-95°C นาน 15 วินาที (ram rate 0.05 °C) จากนั้น cooling ที่อุณหภูมิ 40 °C นาน 30 วินาที

MR-PCR product ที่ได้แต่ละชนิดจะถูกตรวจวัดโดยอัตโนมัติในขณะที่เครื่องทำ melting curve analysis ด้วยการอ่านค่าจากการเรืองแสงของสาร SYBR green I ที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 530 nanometer ในการศึกษานี้ MR-PCR product ของ *GSTM1*, *beta-globin* และ *GSTT1* ที่ตรวจพบมี melting point อยู่ที่ 83.5°C, 89°C และ 91.5°C ตามลำดับ

ในการทำ MR-PCR ทุกครั้งใช้ DNA ของผู้ป่วยที่มีพันธุกรรมชนิด *GSTM1*+/*GSTT1*+ เป็น positive control และใช้น้ำกลั่น 2 ครั้ง เป็น negative control (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงผลการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกัน ด้วยวิธี MR-PCR ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม โดยมี melting point ของ *GSTM1*, *beta-globin* และ *GSTT1* อยู่ที่ 83.5°ซ, 89°ซ และ 91.5°ซ ตามลำดับ W1= *GSTM1*-/*GSTT1*- พบ melting point อยู่ที่ 89°ซ, W2= *GSTM1*+ พบ melting point อยู่ที่ 83.5°ซ และ 89°ซ, W5= *GSTT1*+ พบ melting point อยู่ที่ 89°ซ และ 91.5°ซ, W6= *GSTM1*+/*GSTT1*+ พบ melting point อยู่ที่ 83.5°ซ, 89°ซ และ 91.5°ซ และ -ve (negative control) พบ melting point อยู่ที่ 81°ซ ซึ่งเป็น primer dimer

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การคำนวณค่าของ Kappa (K) และ 95% confidence interval (95% CI) เพื่อวิเคราะห์ระดับการยอมรับในความเหมือนกันของผลที่ได้จากการตรวจด้วยวิธี MR-PCR กับ CM-PCR ในการศึกษาที่ใช้โปรแกรม The QuickCals online calculators for scientists²¹ โดยกำหนดให้ค่าของ K อยู่ระหว่าง 0-0.4 หมายถึงเห็นด้วยน้อยมากถึงค่อนข้างเห็นด้วยในความเหมือนกันของผลการตรวจที่ได้จาก 2 วิธี ค่าของ K อยู่ระหว่าง 0.4-0.8 หมายถึงเห็นด้วยปานกลางถึงเห็นด้วยในความเหมือนกันของผลการตรวจที่ได้จาก 2 วิธี และค่าของ K อยู่ระหว่าง 0.8-1.0 หมายถึงเห็นด้วยอย่างมากในความเหมือนกันของผลการตรวจที่ได้จาก 2 วิธี

ผลการศึกษา

ความถี่ของ genotypes ที่ตรวจพบใน *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms และเวลาที่ใช้ในการตรวจด้วยวิธี MR-PCR และวิธี CM-PCR ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ผลของการศึกษาพบว่า การตรวจด้วยวิธี MR-PCR ตรวจพบความถี่ของผู้ที่มี genotype เป็นชนิด *GSTM1*+ จำนวน 19 ราย, *GSTT1*+ จำนวน 22 ราย, *GSTM1*+/*GSTT1*+ จำนวน 15 ราย และ *GSTM1*-/*GSTT1*- จำนวน 34 ราย ในทำนองเดียวกันตรวจพบความถี่ของผู้ที่มี genotype เป็นชนิด *GSTM1*+ จำนวน 19 ราย, *GSTT1*+ จำนวน 22 ราย, *GSTM1*+/*GSTT1*+ จำนวน 15 ราย และ *GSTM1*-/*GSTT1*- จำนวน 34 ราย ด้วยวิธี CM-PCR เช่นกัน

เมื่อเปรียบเทียบผล ที่ได้จากวิธี MR-PCR และวิธี CM-PCR พบว่าผู้ป่วย กลุ่ม *GSTM1*+ ที่ตรวจพบ melting point อยู่ที่ 83.5°ซ และ 89°ซ ด้วยวิธี MR-PCR ให้ผลสอดคล้องกับการ ตรวจพบแถบ DNA ขนาด 215 bp และ 268 bp ด้วยวิธี CM-PCR ส่วนผู้ป่วยกลุ่ม *GSTT1*+ ที่ตรวจพบ melting point อยู่ที่ 89°ซ และ 91.5°ซ ด้วยวิธี MR-PCR ให้ผล สอดคล้องกับการตรวจพบแถบ DNA ขนาด 268 bp และ 480 bp ด้วยวิธี CM-PCR สำหรับผู้ป่วยกลุ่ม *GSTM1*+/*GSTT1*+ ที่ตรวจพบ melting point อยู่ที่ 83.5°ซ, 89°ซ และ 91.5°ซ ด้วยวิธี MR-PCR ให้ผลสอดคล้องกับการตรวจพบแถบ DNA ขนาด 215 bp, 268 bp และ 480 bp ด้วยวิธี CM-PCR และ ผู้ป่วยกลุ่ม *GSTM1*-/*GSTT1*- ที่ตรวจพบ melting

point อยู่ที่ 89°ซ ด้วยวิธี MR-PCR ให้ผลสอดคล้องกับ การตรวจพบแถบ DNA ขนาด 268 bp ด้วยวิธี CM-PCR (รูปที่ 3)

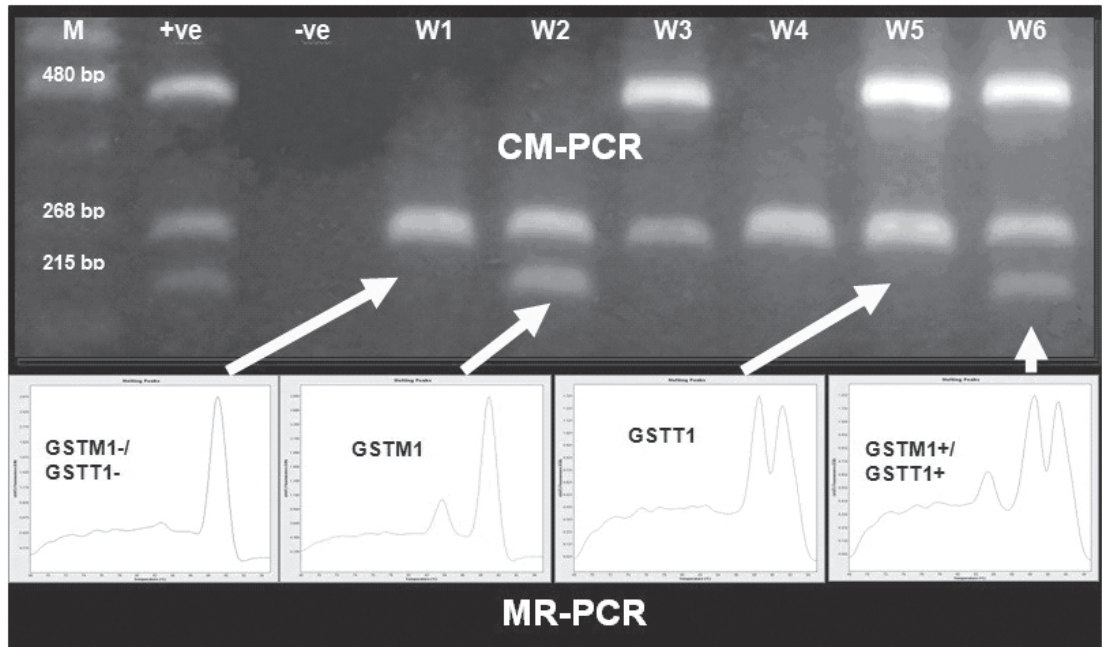
สำหรับผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า การตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี MR-PCR ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทุกราย ให้ผลเหมือนกันกับวิธี CM-PCR ($\kappa=1.0$, 95% CI=1.0-1.0) นอกจากนี้ยังพบว่าในการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี MR-PCR ใช้ เวลาในการตรวจน้อยกว่า (ใช้เวลา 2 ชั่วโมงหลังจากสกัด DNA เสร็จ) วิธี CM-PCR (ใช้เวลา 4 ชั่วโมง หลังจากสกัด DNA เสร็จ) นอกจากนี้ยังพบว่าวิธี MR-PCR ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการตรวจได้มากกว่าวิธี CM-PCR อีกด้วย

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบผลการตรวจ *GSTM1* และ *GSTT1* genotypes ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ด้วยวิธี MR-PCR และวิธี CM-PCR

วิธีตรวจ	จำนวน ตัวอย่าง	<i>GSTM1</i> และ <i>GSTT1</i> genotypes ^a				κ (95%CI)	เวลาที่ใช้ (ชั่วโมง)
		<i>M1</i> +	<i>T1</i> +	<i>M1</i> + <i>T1</i> +	<i>M-T1</i> -		
MR-PCR	90	19	22	15	34	1.0(1.0-1.0)	2
CM-PCR	90	19	22	15	34		4

^a, *GSTM1* และ *GSTT1* genotypes ตรวจด้วยวิธี MR-PCR และวิธี CM-PCR จากตัวอย่าง DNA ของผู้ป่วย รายเดียวกัน

κ , kappa; CI, confidence interval.



รูปที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบผลการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกัน ด้วยวิธี MR-PCR และ CM-PCR ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม รายเดียวกันซึ่งได้ผลเหมือนกัน ผู้ป่วย *GSTM1+* (W2) ที่พบ melting point 2 จุดที่ 83.5°C และ 89°C ด้วยวิธี MR-PCR ให้แถบ DNA 2 แถบขนาด 215 bp และ 268 bp ในวิธี CM-PCR, ผู้ป่วย *GSTT1+* (W5) ที่พบ melting point 2 จุดที่ 89°C และ 91.5°C ด้วยวิธี MR-PCR ให้แถบ DNA 2 แถบขนาด 268 bp และ 480 bp ในวิธี CM-PCR, ผู้ป่วย *GSTM1+/GSTT1+* (W6) ที่พบ melting point 3 จุดที่ 83.5°C, 89°C และ 91.5°C ด้วยวิธี MR-PCR ให้แถบ DNA 3 แถบขนาด 215 bp, 268 bp และ 480 bp ในวิธี CM-PCR และผู้ป่วย *GSTM1-/GSTT1-* (W1) ที่พบ melting point 1 จุดที่ 89°C ด้วยวิธี MR-PCR ให้แถบ DNA 1 แถบขนาด 268 bp ในวิธี CM-PCR

วิจารณ์และสรุป

มะเร็งเต้านมเป็นโรคมะเร็งที่มีอัตราการตรวจพบสูงเป็นอันดับหนึ่ง ในประชากรทั่วโลกและยังมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกกลุ่มอายุโดยเฉพาะในกลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงน้อย (low-risk population)^{22,23} แต่ในช่วงหลายสิบปีที่ผ่านมายังไม่สามารถค้นพบสาเหตุที่แน่ชัดของการทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งชนิดนี้ มีรายงานว่าการประมาณร้อยละ 90 ถึง 95 ของมะเร็งเต้านม มักเกิดขึ้นในกลุ่มสตรีที่ไม่มีอาการผิดปกติของพันธุกรรมเสี่ยงเช่น *BRCA1* และ *BRCA2*²⁴⁻²⁶ และประมาณสองในสามของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ตรวจพบในกลุ่มคน

ผ่าเผยนั้นไม่ได้มีสาเหตุมาจากพันธุกรรม²⁷ ดังนั้นในปัจจุบันนักวิจัยจึงให้ความสนใจมุ่งไปศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของปัจจัยจากสภาพแวดล้อมในการทำให้เกิดมะเร็งเต้านมมากขึ้น²⁸ อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลใดสนับสนุนว่าปัจจัยจากสภาพแวดล้อมเพียงชนิดเดียวสามารถทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรสดังกล่าวได้ แต่ในระยะสิบปีที่ผ่านมาข้อมูลที่ทำให้เชื่อได้ว่าการสูบบุหรี่เป็นปัจจัยจากสภาพแวดล้อมที่สำคัญซึ่งมีส่วนทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้น²⁹⁻³² นอกจากนี้ยังพบว่า การได้รับสารก่อมะเร็ง PAHs¹³, PCBs¹³, DDT¹⁴ และ BPA¹⁵ ที่ปนเปื้อนในอาหาร และฮอร์โมนต่างๆจากภายนอก

ร่างกายก็มีส่วนทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในสตรีได้เช่นกัน³³

เป็นที่น่าสังเกตว่าถึงแม้จะมีคนได้รับปัจจัยเสี่ยงจากสภาพแวดล้อมเหล่านี้เป็นจำนวนมากแต่กลับมีคนเพียงส่วนน้อยเท่านั้นในกลุ่มคนดังกล่าวที่เป็นมะเร็งเต้านม ดังนั้นจึงมีการตั้งสมมติฐานว่า จะมีปัจจัยเกี่ยวกับพันธุกรรมพื้นฐานของมนุษย์ที่แตกต่างกันเข้ามามีส่วนร่วมในการทำให้เกิดมะเร็งชนิดนี้ ในปัจจุบันพบหลักฐานแสดงว่าสารก่อมะเร็งเมื่อเข้าสู่ร่างกายมนุษย์จะถูกทำลายการออกฤทธิ์ได้โดย phase II enzymes เช่น *GSTM1* และ *GSTT1* ซึ่งสามารถทำลายการออกฤทธิ์ของสารไนโตรซามีน, PAHs และเบนโซไพรีน³⁴⁻³⁷ มีรายงานว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนเหล่านี้อาจเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม ดังนั้นจึงมีนักวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม ซึ่งผลของการศึกษาที่ผ่านมา ยังคงมีข้อโต้แย้งกันอยู่บ้างและไม่สามารถชี้ชัดได้ว่า *GSTM1* หรือ *GSTT1* polymorphism เป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งเต้านมจริงหรือไม่ Ramalhinho และคณะ¹⁸ รายงานว่าทั้ง *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในประชากรชาวตุรกี ในขณะที่ Egan และคณะ³⁸ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในประชากรชาวจีน สำหรับในประเทศไทยยังไม่พบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าว ดังนั้นการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกันในแต่ละบุคคลจึงมีความสำคัญและเป็นประโยชน์ต่อการตรวจคัดกรองหาผู้ที่เป็นกลุ่มเสี่ยงของมะเร็งเต้านมในประชากรไทย หนึ่งคณะผู้วิจัยได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี CM-PCR ขึ้น แต่วิธีดังกล่าว

ยังไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ในงานวิจัยทางระบาดวิทยา และงานบริการทางคลินิกที่มีการตรวจคัดกรองตัวอย่างเป็นจำนวนมากในแต่ละครั้งได้ เนื่องจากวิธีดังกล่าวมีขั้นตอนที่ซับซ้อน และใช้เวลานานถึง 4 ชั่วโมง³⁹⁻⁴⁰ ดังนั้นการพัฒนารูปแบบการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ให้ได้ผลพร้อมกันด้วยวิธี MR-PCR ซึ่งช่วยลดความซับซ้อน เวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายในการทดลอง จึงเป็นเรื่องที่มีประโยชน์และควรทำการศึกษาพัฒนาเพื่อนำไปใช้ในการทำงานวิจัยต่อยอดหรืองานบริการทางคลินิกที่จะมีเพิ่มมากขึ้นในอนาคตต่อไป

ในการศึกษาที่ผู้วิจัยได้พัฒนาการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms พร้อมกันในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ด้วยวิธี MR-PCR ขึ้นใหม่โดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธี MC-PCR และแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าทั้งสองวิธีดังกล่าวให้ผลการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms เหมือนกัน อย่างสมบูรณ์ ($K=1.0$) แต่วิธี MR-PCR มีการทำงานไม่ซับซ้อนและใช้เวลาลดลงเหลือประมาณ 2 ชั่วโมง วิธี MR-PCR นี้พัฒนามาจากวิธีของ Ueda และคณะ⁴¹ โดยใช้ primers ที่ให้ PCR products ของ *GSTM1*, *beta-globin* และ *GSTT1* เหมือนกัน แต่มีการปรับเปลี่ยนน้ำยา PCR reaction mixture และโปรแกรมการทำ PCR ให้เหมาะสม วิธี MR-PCR ที่พัฒนาขึ้นมาใช้นี้ช่วยลดขั้นตอน ความซับซ้อน เวลา และแรงงานในการตรวจลงได้มากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี CM-PCR เนื่องจากมีขั้นตอนการทำ MR-PCR เพื่อตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphism พร้อมกันในครั้งเดียว แต่ไม่มีขั้นตอนการทำ gel electrophoresis จึงทำให้การทำงานสะดวก และรวดเร็วขึ้น อีกทั้งวิธี MR-PCR มีการใช้ reaction mixture reagent และวัสดุวิจัยในการทำ PCR น้อยลง จึงช่วยลดค่าใช้จ่ายในการซื้อน้ำยาและวัสดุดังกล่าวได้ ปัจจุบันการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms

ด้วยวิธี MR-PCR กำลังมีการเริ่มพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ทดแทนวิธี CM-PCR⁴²⁻⁴⁴ ดังนั้นการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี MR-PCR จึงน่าจะเหมาะที่จะนำไปใช้ในหน่วยงานที่มีงบประมาณจำกัด

จากผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สรุปได้ว่าการตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ด้วยวิธี MR-PCR ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่นี้มีความน่าเชื่อถือและไม่ซับซ้อน สะดวก รวดเร็ว และลดค่าใช้จ่ายกว่าวิธี CM-PCR ดังนั้นวิธี MR-PCR จึงน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ตรวจหา *GSTM1* และ *GSTT1* polymorphisms ทดแทนวิธี CM-PCR ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการสถาบันมะเร็งแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของสำนักงานวิจัย กลุ่มงานพยาธิวิทยา กลุ่มงานศัลยศาสตร์ กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ และกลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Garcia M, Jemal A, Ward EM, Center MM, Hao Y, Siegel RL, et al. Global Cancer Facts and Figures 2007. Atlanta, GA: American Cancer Society; 2007.
- Khuhaprema T, Srivatanakul P, Attasara P, Sriplung H, Wiangnon S Sumitsawan Y. Cancer in Thailand, Vol. V, 2001-2003, Bangkok, Thailand, 2010.
- สถิติสาธารณสุข พ.ศ. 2550 กองสถิติสาธารณสุข สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงสาธารณสุข
- Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz A, Balch CM, Haller DG, et al, editors. American Joint Committee on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed, New York, NY, USA: Springer; 2002. p.157-64.
- Palli D, Saieva C, Gemma S, Masala G, Gomez-Miguel MJ, Luzzi I, et al. GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms and gastric cancer in a high-risk Italian population. Int J Cancer 2005;115:284-9.
- Nazar-Stewart V, Motulsky AG, Eaton DL, White E, Hornung SK, Leng ZT, et al. The glutathione S-transferase polymorphism as a marker for susceptibility to lung cancer. Cancer Res 1993;53:2313-8.
- Cai L, Yu SZ, Zhang ZF. Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk gastric cancer: A case-control study. World J Gastroenterol 2001;7:506-9.
- Ate NA, Tamer L, Ate C, Ercan B, Elipek T, Ocal K, et al. Glutathione S-transferase M1, T1, P1 genotypes and risk for development of colorectal cancer. Biochem Genet 2005;43:149-63.
- Deng ZL, Wei YP, Ma Y. Frequent genetic deletion of detoxifying enzyme GSTM1 and GSTT1 genes in nasopharyngeal carcinoma patients in Guangxi Province, China. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi 2004;26:598-600.
- Song DK, Xing DL, Zhang LR, Li ZX, Liu J, Qiao BP. Association of NAT2, GSTM1, GSTT1, CYP2A6, and CYP2A13 gene polymorphisms with susceptibility and clinicopathologic characteristics of bladder cancer in Central China. Cancer Detect Prev 2009;32:416-23.
- Syamala VS, Sreeja L, Syamala V, Raveendran PB, Balakrishnan R, Kuttan R, et al. Influence of germline polymorphisms of GSTT1, GSTM1, and GSTP1 in familial versus sporadic breast cancer susceptibility and survival. Fam Cancer 2008;7:213-20.
- Deng ZL, Wei YP, Ma Y. Polymorphism of glutathione S-transferase mu 1 and theta 1 genes and hepatocellular carcinoma in southern Guangxi, China. World J Gastroenterol 2005;11:272-4.
- Brody JG, Moysich KB, Humblet O, Attfield KR, Beehler GP, Rudel RA. Environmental pollutants and breast cancer: epidemiologic studies. Cancer 2007;109:2667-711.
- Clapp RW, Jacobs MM, Loechler EL. Environmental and occupational causes of cancer: new evidence 2005-2007. Rev Environ Health 2008;23:1-37.
- Vogel SA. The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol a "safety". Am J Public Health 2009;99:S559-66.

16. Unl A, Ates NA, Tamer L, Ates C. Relation of glutathione S-transferase T1, M1 and P1 genotypes and breast cancer risk. *Cell Biochem Funct* 2008;26:643-7.
17. Saxena A, Dhillon VS, Raish M, Asim M, Rehman S, Shukla NK, et al. Detection and relevance of germline genetic polymorphisms in glutathione S-transferases (GSTs) in breast cancer patients from northern Indian population. *Breast Cancer Res Treat* 2009;115:537-43.
18. Ramalhinho AC, Fonseca-Moutinho JA, Breitenfeld L. Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 genotypes and breast cancer risk: a study in a Portuguese population. *Mol Cell Biochem* 2011;11:[Epub ahead of print].
19. Nazar-Stewart V, Vaughan TL, Burt RD, Chen C, Berwick M, Swanson GM. Glutathione S-transferase M1 and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:547-51.
20. Abdel-Rhman SZ, el-Zein RA, Anwa WA, Au WW. A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of *GSTM1* and *GSTT1* genes in population studies. *Cancer Lett* 1996;107:229-33.
21. QuickCalcs online calculators for scientists. Available at: <http://graphpad.com/quickcalcs/kappa.cfm>. Accessed November 15, 2008.
22. Clegg LX, Feuer EJ, Midthune D, Fay MP, Hankey BF. Impact of reporting delay and reporting error on cancer incidence rates and trends. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1537-45.
23. Althuis M, Dozier JM, Anderson WF, Devesa SS, Brinton LA. Global trends in breast cancer incidence and mortality 1973 -1997. *Int J Epidemiol* 2005;34:405-12.
24. Jeffy BD, Schultz EU, Selmin O, Gudas JM, Bowden GT, Romagnolo D. Inhibition of BRCA-1 expression by benzo[a]pyrene and its diol epoxide. *Mol Carcinog* 1999;26:100-18.
25. Goth-G oldstein R, Stampfer MR, Erdmann CA, Russell M. Interindividual variation in CYP1A1 expression in breast tissue and the role of genetic polymorphism. *Carcinogenesis* 2000;21:2119-22.
26. Spurdle AB, Fahey P, Chen X, McGuffog L, Fab K, Easton D, et al. Pooled analysis indicates that the *GSTT1* deletion, *GSTM1* deletion, and *GSTP1* Ile105 Val polymorphisms do not modify breast cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2010;122:281-5.
27. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analysis of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000;343:78-85.
28. Brody JG, Rudel RA. Environmental pollutants and breast cancer. *Environ Health Perspect* 2003; 111:1007-19.
29. Morabia A. Smoking (active and passive) and breast cancer: epidemiologic evidence up to June 2001. *Environ Mol Mutagen* 2002;39:89-95.
30. Office on Smoking and Health (US). The health consequences of involuntary exposure to tobacco smoke: a report of the Surgeon General. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention (US), 2006.
31. Zhu HH, Gao YT, Blair A, Ji BT, Samet JM, Yang G, et al. Secondhand smoke and breast cancer risk: a community-based prospective cohort study [Abstract (SER)]. *Am J Epidemiol* 2006;163(Suppl):S98
32. Morabia A, Johnson KC, Wells AJ. Active and passive smoking in breast cancer. *Epidemiology* 2002;13:744-6.
33. Persson I, Weiderpass E, Bergkvist L, Bergstrom R, Schairer C. Risks of breast and endometrial cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. *Cancer Causes Control* 1999;10:253-60.
34. Fong YY, Chan WC. Bacterial production of dimethyl nitrosamine in salted fish. *Nature* 1973;243:421-2.
35. Fong YY, Walsh EO. Carcinogenic nitrosamines in cantonese salt dried fish. *Lancet* 1971;2:1032.
36. Bolt HM, Thier R. Relevance of the deletion polymorphisms of the glutathione S-transferases *GSTT1* and *GSTM1* in pharmacology and toxicology. *Curr Drug Metab* 2006;7:613-28.
37. Schneider J, Berges U, Philipp M, Weitowitz HJ. *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking. *Cancer Lett* 2004;208:65-74.
38. Egan KM, Cai Q, Shu XO, Jin F, Zhu TL, Dai Q, et al. Genetic Polymorphisms in *GSTM1*, *GSTP1*, and

- GSTT1* and the Risk for Breast Cancer Results from the Shanghai Breast Cancer Study and Meta-Analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:197-204.
39. Tiwawech D, Srivatanakul P, Karalak A, Ishida T. Glutathione S-transferase M1 Gene Polymorphism in Thai Nasopharyngeal Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005;6:270-5.
 40. Tiwawech D, Chindavijak S, Jaratwisarutporn Y, Ishida T. Detection of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms in nasopharyngeal carcinoma patients by multiplex PCR assay. *Thai Cancer J* 2010;30:94-103.
 41. Ueda M, Hung YC, Terai Y, Saito J, Nunobiki O, Noda S, et al. Glutathione-S-transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol* 2005;96:736-40.
 42. Tiwawech D, Chindavijak S, Karalak A, Ishida T. Real-Time PCR assay for Rapid Detection of *GSTM1* Polymorphism in Nasopharyngeal Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008;9:233-7.
 43. Tiwawech D, Chindavijak S, Sornprom A, Sumetchotimaytha W, Prasitthipayong A, Jarratwisarutporn Y, et al. Detection of *GSTT1* Polymorphisms in Cancer Patients by Real-Time PCR. *Thai Cancer J* 2008;28:172-83.
 44. Mañ F, Garça N, Muñoz X, Capell G, González CA, Agudo A, et al. Simultaneous genotyping of *GSTT1* and *GSTM1* null polymorphisms by melting curve analysis in presence of SYBR Green I. *J Mol Diagn* 2010;12:300-4.

การถ่ายทอดสัญญาณผ่านกลไก RAS-RAF

อดิศร เจษฎ์ปิยะวงศ์¹
สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์²

การศึกษาทางอณูชีววิทยาและพันธุวิศวกรรม นำมาซึ่งการพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งที่เกิดจากความผิดปกติของสารพันธุกรรมหรือยีน ปัจจุบันมีการคิดค้นการใช้ยากกลุ่ม molecular targeted therapy ที่ออกฤทธิ์เฉพาะในระดับโมเลกุลที่ยีน หรือกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ที่มีการส่งทอดสัญญาณในการกระตุ้นหรือควบคุมการทำงานของเซลล์ เช่น ควบคุมการแบ่งตัว การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การรอดชีวิตของเซลล์ และการทำงานอื่นๆ ยากกลุ่ม molecular targeted therapy สามารถยับยั้งการทำงานของโมเลกุลหรือกระบวนการดังกล่าวอย่างมีเป้าหมายจำเพาะ ส่งผลในการยับยั้งการแบ่งตัว การเติบโต การรอดชีวิต การแพร่กระจายของโรคมะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ

enzyme-coupled receptors เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่พบอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ มีบทบาทเกี่ยวกับการตอบสนองต่อการกระตุ้นโดย growth factors

หรือสารสื่อโมเลกุล (signal molecule) อื่นที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การแบ่งตัว การมีชีวิตรอด และมักเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นและการควบคุมการแสดงออกของยีนด้วย โดยทั่วไปสารสื่อโมเลกุลภายนอกที่ทำหน้าที่กระตุ้น enzyme-coupled receptor มักเป็นโปรตีนและเคลื่อนผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ไม่ได้ แต่จะยึดเกาะอยู่บนผิวเซลล์ด้านนอก receptor tyrosine kinase เป็นโปรตีนที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ มีส่วนที่เป็น ligand binding domain อยู่ที่ผิวเซลล์ด้านนอก และส่วนที่เป็น cytoplasmic domain ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์อยู่ที่เซลล์ด้านใน โปรตีน receptor กลุ่มนี้มีหน้าที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์หรือเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เชื่อมต่อ (adaptor) ให้กับโปรตีนที่เป็นสื่อสัญญาณ (signaling proteins) อื่น ส่วน cytoplasmic domain มักเป็น tyrosine protein kinase (TPK) ทำหน้าที่ไปเติมหมู่ฟอสเฟตแก่กรดอะมิโน tyrosine ที่โปรตีนเป้าหมาย receptor tyrosine kinase ทำหน้าที่เป็น

¹งานอิมมูโนวิทยา ²งานพันธุศาสตร์ กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

จุดรวมสัญญาณโมเลกุล ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสัญญาณโมเลกุลจากภายนอกจะทำให้โครงสร้างของ receptor tyrosine kinase แต่ละโมเลกุลเคลื่อนเข้ามาใกล้ชิดกันมากขึ้นบนผิวด้านในของเยื่อหุ้มเซลล์และรวมกันเป็น dimer เกิดการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ kinase ทำให้มีการเติมหมู่ฟอสเฟตแล้วส่งทอดสัญญาณ โดย tyrosine ที่ถูกเติมหมู่ฟอสเฟตซึ่งทำหน้าที่เป็นที่ยึดจับของโปรตีนต่างๆและถ่ายทอดหมู่ฟอสเฟตให้กับโปรตีนนั้น ทำให้เกิดการกระตุ้นต่อกัน ส่งผลให้มีการถ่ายทอดสัญญาณไปสู่นิวเคลียส ทำให้เกิดการตอบสนองภายในเซลล์ เช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือหน้าที่ การมีชีวิตอยู่ หรือการเคลื่อนตัวของเซลล์ และภายใต้การทำงานของเอนไซม์ protein tyrosine phosphatases จะทำให้มีการกำจัดหมู่ฟอสเฟตออกจากกรดอะมิโน tyrosine ทำให้มีการยับยั้งการส่งทอดสัญญาณ ถ้าโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งทอดสัญญาณ เกิดการผ่าเหล่า (mutation) จะทำให้มีการส่งทอดสัญญาณที่ผิดปกติออกไป ซึ่งอาจทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวที่ผิดปกติไป หรือมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่ผิดปกติ เกิดการลุกลามของเซลล์รวมทั้งการมีชีวิตที่นานขึ้นนำไปสู่การเกิดโรคมะเร็ง^{1,2}

Adaptor เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เชื่อมต่อกับโปรตีนที่เป็นสื่อสัญญาณอื่น โดยจับกับส่วน cytoplasmic domain ของ receptor tyrosine kinase ตรงตำแหน่งที่ tyrosine ถูกเติมหมู่ฟอสเฟต adaptor ที่จับกับ receptor จะทำหน้าที่เป็นที่ยึดเกาะของโปรตีนเป้าหมาย และมีการส่งทอดสัญญาณไปสู่โปรตีนเป้าหมายนั้น โดยปกติจะพบว่า receptor tyrosine kinase ที่ถูกกระตุ้นเกือบทุกโมเลกุลจะจับอยู่ที่โปรตีน RAS ผ่าน adaptor^{1,2}

การถ่ายทอดสัญญาณจาก cell surface receptor ผ่านกลไก RAS/RAF/MEK/ERK มีผลต่อการควบคุมการแสดงออกของยีนและส่งผลต่อการแสดง

ออกของโปรตีนต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การตายตามแบบธรรมชาติ (apoptosis) การดีอียา และยังมีความสำคัญต่อการรักษาผู้ป่วยแบบมุ่งเป้า (targeted therapy) โดยจะทำการยับยั้งการส่งสัญญาณที่จุด RAS, RAF, MEK และจุด downstream อื่นๆ

ยีน RAS จะถอดรหัสให้โปรตีน RAS ซึ่งเป็นโปรตีนขนาดเล็ก (small GTP-binding protein) มีน้ำหนักโมเลกุล 21,000 ดัลตัน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 188-189 ตัว โปรตีน RAS ประกอบด้วยโปรตีนหน่วยย่อยอัลฟา (α) ของ G-protein มีการทำงานแบบ molecular switch ทำหน้าที่เปิด-ปิด ส่งผลต่อการถ่ายทอดสัญญาณ โปรตีน RAS พบได้ 3 ชนิดคือ H-RAS, N-RAS และ K-RAS^{3,4} โปรตีน RAS ทำหน้าที่ควบคุม EGFR-induced cell signaling โดยส่งสัญญาณจาก receptor บนผิวเซลล์ไปยังบริเวณเป้าหมายภายในเซลล์โดยผ่านทาง pathway ต่างๆ เช่น RAS/RAF/mitogen-activated protein kinase (RAS/RAF/MAPK) และ phosphoinositide 3-kinase/protein kinase (PI3K/Akt) pathways เมื่อโปรตีน RAS ถูกกระตุ้นจะทำให้มีการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับเป้าหมายที่เกี่ยวข้องในการถ่ายทอดสัญญาณ การถ่ายทอดสัญญาณจะถูกส่งผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่นิวเคลียส โปรตีน kinase ตัวสุดท้ายจะทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีน (gene regulatory protein) ทำให้มีการกระตุ้นการแสดงออก หรือยับยั้งการแสดงออก การเพิ่มจำนวน การเจริญเติบโตของเซลล์² การเปลี่ยนแปลงของเซลล์รวมทั้งกระบวนการตายของเซลล์แบบ apoptosis^{5,6} ในวงจรชีวิตปกติของเซลล์ โปรตีน RAS มี 2 รูปแบบคือ RAS ที่สามารถทำงานได้ (active form) คือสามารถถ่ายทอดสัญญาณแล้วเกิดการกระตุ้นหรือยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนเป้าหมายโดยโปรตีน RAS จะจับกับ GTP (RAS-GTP) และอีกรูปแบบหนึ่งคือ RAS ที่ไม่สามารถทำงานได้

(inactive form) โดยจะจับกับ GDP (RAS-GDP) RAS-GTP และ RAS-GDP จะเปลี่ยนรูปกลับไปมา โดยที่โปรตีน RAS จะถูกกระตุ้นให้เป็น active form (RAS-GTP) ด้วย guanine nucleotide exchange factors (GEFs) และ RAS-GTP (active form) จะเปลี่ยนรูปเป็น RAS-GDP (inactive form) โดย GTPase-activating proteins (GAPs) ซึ่งเป็น enzyme ที่อยู่ในโปรตีนหน่วยย่อยอัลฟา (α) การเกิดการผ่าเหล่าของยีน RAS จะมีผลต่อสมดุลของโปรตีน RAS ในรูป active และ inactive ซึ่งมีผลต่อวงจรการแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์^{4,7,8} การเกิดการผ่าเหล่าของ KRAS ทำให้โปรตีน RAS อยู่ในรูป RAS-GTP (active form) เกิดการส่งทอดสัญญาณ ทำให้มีการกระตุ้นการเพิ่มจำนวน การเติบโต การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ในเซลล์ปกติ (wild type) active form ของโปรตีน RAS จะถูก GAPs เปลี่ยนรูปไปเป็น inactive ได้ในระยะเวลาอันสั้น⁹ ถ้าการทำงานของโปรตีน RAS ถูกยับยั้งด้วย RAS-inactivating protein แต่ยังมีทำให้ growth factor ในระดับปกติพบว่าเซลล์ไม่สามารถเจริญได้ในกรณีที่เกิดการผ่าเหล่าของยีน RAS (hyperactive mutant form) บางชนิด RAS จะถูกกระตุ้นอยู่ตลอดเวลาทำให้เซลล์ไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ พบว่าการผ่าเหล่าของยีน RAS อาจมีผลต่อการถอดรหัสเป็นโปรตีน RAS ทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวได้โดยไม่ต้องมีการกระตุ้นด้วย growth factor ใดๆ เกิดการเจริญและการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์รวมทั้งเซลล์มะเร็ง อาจเกิดขึ้นโดยทาง RAS signaling pathways^{9,10} จากการวิจัยพบร้อยละ 30 ของผู้ป่วยโรคมะเร็งมีโปรตีน RAS ที่ถูกกระตุ้นให้การทำงานตลอดเวลา^{11,12} เช่น การผ่าเหล่าของ KRAS ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่^{16,13,14} นอกจากนี้ยังพบว่าการผ่าเหล่าของ KRAS มีความสัมพันธ์กับการเป็นมะเร็งในกระเพาะอาหาร มีการลุกลามไปยังอวัยวะอื่นสูง มีระยะเวลาปลอดโรคและอยู่รอดสั้น มีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี¹⁵ ดี้อย่าง

ในกลุ่ม anti-EGFR monoclonal antibody เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่มี KRAS ชนิดปกติ (wild type)⁹

ยีน RAF เป็น protooncogene ชนิดหนึ่ง family ของยีนชนิดนี้ประกอบด้วย A-RAF, B-RAF และ C-RAF (RAF-1) RAF เป็น cytoplasmic protein kinase (serine/threonine kinase) จะถูกกระตุ้นด้วยโปรตีน RAS-GTP โดยที่ RAS จะจับกับส่วน N-terminal ของ RAF ทำให้โปรตีน RAF เกิดการรวมตัวกัน (dimerization) จากนั้นเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylation) และสลายหมู่ฟอสเฟต (dephosphorylation) บน domain ต่างๆของโปรตีน RAF เกิดการแตกตัวจาก RAF kinase inhibitory protein (RKIP) โดยการเติมหมู่ฟอสเฟตของ protein kinase C (PKC) และเกิดการรวมตัวกับ scaffolding complexes proteins เช่น kinase suppressor of RAS (KSR) ทำให้เกิดการถ่ายทอดสัญญาณ นอกจากนี้ RAF ยังสามารถเป็น multi-protein complex กับ chaperonin proteins, 14-3-3 protein และ heat shock protein 90 (Hsp 90)¹⁶ Hsp90 สามารถกระตุ้น RAF ให้คงอยู่ในรูป active¹⁷ โปรตีน RAF จะเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับ mitogen-activated protein kinase (MAP)/ERK kinase (MEK) ซึ่งเป็น tyrosine, serine/threonine specific kinase¹⁸ ที่ตำแหน่ง serine MEK ที่ถูกกระตุ้นจะไปกระตุ้น extracellular-signal-regulated kinases (ERK) แล้วสัญญาณ ERK จะเข้าไปยังนิวเคลียสเพื่อกระตุ้น transcription factor ต่างๆ¹⁹ เพื่อควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ การลุกลามของเซลล์²⁰ การตายของเซลล์²¹ และอื่นๆต่อไป

BRAF เป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในการส่งทอดสัญญาณของ RAS/RAF/MEK/ERK/MAPK ตำแหน่งบนยีน BRAF ที่มีกพบการผ่าเหล่า (mutate) อยู่ตรงตำแหน่ง nucleotide ที่ 600 ทำให้ valine เปลี่ยนเป็น glutamic acid (V600E)²² ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยา phosphorylation ได้เช่นเดียวกับเซลล์ปกติที่จะเกิด

ปฏิกิริยา phosphorylation ที่ตำแหน่ง Threonine599 และ Serine602 การผ่าเหล่าที่เกิดขึ้นนี้ทำให้ BRAF ทำงานได้เองโดยไม่ต้องได้รับการกระตุ้นจาก RAS การผ่าเหล่าของ BRAF พบได้ในโรคมะเร็งหลายชนิดเช่น melanoma (ร้อยละ 27-70) papillary thyroid (ร้อยละ 36-53) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (ร้อยละ 5-22) และมะเร็งที่มดลูก (ร้อยละ 30)²²⁻²⁵ การผ่าเหล่าของ BRAF พบมากในมะเร็ง melanoma และ thyroid เนื่องจากฮอริโมนสามารถกระตุ้นให้มีระดับของ BRAF เพิ่มขึ้น การส่งสัญญาณของฮอริโมนสามารถเพิ่มระดับ cAMP ภายในเซลล์ มีผลต่อการกระตุ้นให้ BRAF มีระดับเพิ่มมากขึ้น และกระตุ้นให้ BRAF ทำงาน ส่งผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์²⁶ RAS ควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์จากเซลล์ที่อยู่ในช่วง G1 phase ให้เข้าสู่ cell cycle โดยการกระตุ้น p16^{Ink4a27}, p15^{Ink4b28} และ p21^{Cip129} และส่งทอดสัญญาณผ่าน RAF/MEK/ERK pathway ถ้า RAF มีการแสดงออกมากเกินไปจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ (cell differentiation)³⁰ และการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell progression)³¹ การผ่าเหล่าของ RAF ยังมีผลต่อการดื้อยาและการตายของเซลล์โดยพบว่าการส่งทอดสัญญาณผ่าน RAF/MEK/ERK จะกระตุ้น transcription factor ที่ควบคุมการแสดงออกของการดื้อยา และการมีชีวิตรอดของเซลล์ เช่น จากการศึกษาในเซลล์มะเร็งเต้านมพบว่า RAF กระตุ้นให้ Mdr-1 drug pump³² และ anti-apoptotic Bcl-2 protein มีระดับสูงขึ้น^{16,33} ส่งผลให้เซลล์มะเร็งเต้านมดื้อต่อยาเคมีที่ใช้รักษา

RAF ยังมีบทบาทต่อ transcription factor ที่ควบคุมการตายตามแบบธรรมชาติ (apoptosis) ของเซลล์ การส่งทอดสัญญาณผ่าน RAF/MEK/ERK ทำให้มีการกระตุ้นเป็นทอดๆจากโปรตีน Bad ไปยัง 14-3-3 proteins³⁴ ส่งผลต่อการกระตุ้น Bcl-2 ทำให้เกิดขบวนการต้านการตายตามแบบธรรมชาติ (anti-apoptotic)^{21,35} การส่งทอดสัญญาณผ่าน RAF/MEK/

ERK ยังทำให้เกิดการกระตุ้นของ anti-apoptotic Mcl-1 protein และ pro-apoptotic Bim protein ซึ่งเป็นโปรตีนที่ยับยั้งการตายของเซลล์ เมื่อ Mcl-1 และ Bim ถูกกระตุ้นทำให้มีการยับยั้งการทำงานของ Bax ดังนั้นการตายแบบธรรมชาติจะถูกยับยั้งทำให้เซลล์ไม่ตาย การส่งทอดสัญญาณที่ผิดปกติออกไป อาจทำให้เซลล์มีการแบ่งตัวที่ผิดปกติ หรือมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่ผิดปกติมีการกลุ่ลของเซลล์ รวมทั้งการมีชีวิตที่นานขึ้น นำไปสู่การเกิดโรคมะเร็ง³⁶⁻³⁸

จากการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่พบว่าผู้ป่วยที่มี KRAS ชนิดปกติ (wild type) จะตอบสนองต่อยาชนิด anti-epidermal growth factor receptor (anti-EGFR) monoclonal antibody^{6,39,40} ซึ่งเป็นการรักษาแบบมุ่งเป้าทำให้ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีระยะเวลาปลอดโรคกำเริบ (progression-free survival) และอยู่รอด (overall survival) นานขึ้น และมีการพยากรณ์โรคที่ดีกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี KRAS ชนิดผ่าเหล่า (mutant type) ผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ร้อยละ 30 พบ KRAS ชนิดผ่าเหล่า⁴¹ อย่างไรก็ตามมีรายงานพบว่าผู้ป่วยที่มี KRAS ชนิดปกติร้อยละ 40-60 ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาชนิดนี้ ซึ่งผู้ป่วยในกลุ่มนี้มักพบ BRAF ชนิดผ่าเหล่าร่วมด้วย⁴²⁻⁴⁵

เอกสารอ้างอิง

1. Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al. Cell communication. In: Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al editors. Essential cell biology, 3rd ed. New York and London, Garland Science: Taylor&Francis Group; 2010. p. 531-70.
2. คมศรี ลมไธสง. การสื่อสารของเซลล์. Available at: http://www.champa.kku.ac.th/biochem/lecture_page/cellsignaling/htm. Accessed October 4, 2010.
3. Barbacid M. Ras genes. Annu Rev Biochem 1987; 56:779-827.
4. Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer Res 1989;49:4682-9.

5. James RM, Arends MJ, Plowman SJ, Brooks DG, Miles CG, West JD, et al. K-ras proto-oncogene exhibits tumor suppressor activity as its absence promotes tumorigenesis in murine teratomas. *Mol Cancer Res* 2003;1:820-5.
6. Samowitz WS, Curtin K, Schaffer D, Robertson M, Leppert M, Slattery ML. Relationship of Ki-ras mutations in colon cancers to tumor location, stage, and survival: a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:1193-7.
7. Watzinger F, Lion T. Ras family. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. Available at: <http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/Ras.html>. Accessed March 5, 2009.
8. McCormick F. ras GTPase activating protein: signal transmitter and signal terminator. *Cell* 1989;56:5-8.
9. van Krieken JH, Jung A, Kirchner T, Carneiro F, Seruca R, Bosman FT, et al. KRAS mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program. *Virchows Arch* 2008;453:417-31.
10. Araki Y, Okamura S, Hussain SP, Nagashima M, He P, Shiseki M, et al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and ras pathways. *Cancer Res* 2003;63:728-34.
11. Flotho C, Valcamonica S, Mach-Pascual S, Schmahl G, Corral L, Ritterbach J, et al. RAS mutations and clonality analysis in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). *Leukemia* 1999;13:32-7.
12. Stirewalt DL, Kopecky KJ, Meshinchi S, Appelbaum FR, Slovak ML, Willman CL, et al. FLT3, RAS, and TP53 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2001;97:3589-95.
13. Keller JW, Franklin JL, Graves-Deal R, Friedman DB, Whitwell CW, Coffey RJ. Oncogenic KRAS provides a uniquely powerful and variable oncogenic contribution among RAS family members in the colonic epithelium. *J Cell Physiol* 2007;210:740-9.
14. Castagnola P, Giaretti W. Mutant KRAS, chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta* 2005;1756:115-25.
15. Hassan AB, Paraskeva C. Colorectal cancer prognosis: is it all mutation, mutation, mutation? *Gut* 2005;54:1209-11.
16. McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Wong EW, Chang F, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 2007;1773:1263-84.
17. Blagosklonny MV. Hsp-90-associated oncoproteins: multiple targets of geldanamycin and its analogs. *Leukemia* 2002;16:455-62.
18. Alessi DR, Saito Y, Campbell DG, Cohen P, Sithanandam G, Rapp U, et al. Identification of the sites in MAP kinase kinase-1 phosphorylated by p74raf-1. *EMBO J* 1994;13:1610-9.
19. Steelman LS, Pohnert SC, Shelton JG, Franklin RA, Bertrand FE, McCubrey JA. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. *Leukemia* 2004;18:189-218.
20. Pouyssegur J, Lenormand P. Fidelity and spatio-temporal control in MAP kinase (ERKs) signalling. *Eur J Biochem* 2003;270:3291-9.
21. Deng X, Ruvolo P, Carr B, May WS Jr. Survival function of ERK1/2 as an IL-3 activated, staurosporine-resistant Bcl2 kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:1578-83.
22. Garnett MJ, Marais R. Guilty as charged: B-Raf is a human oncogene. *Cancer Cell* 2004;6:313-19.
23. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417:949-54.
24. Libra M, Malaponte G, Navolanic PM, Gangemi P, Bevelacqua V, Proietti L, et al. Analysis of BRAF mutation in primary and metastatic melanoma. *Cell Cycle* 2005;4:1382-4.
25. Franssen K, Klinton S, Osterström A, Dimberg J, Monstein HJ, Söderkvist P. Mutation analysis of the BRAF, ARAF and RAF-1 genes in human colorectal adenocarcinomas. *Carcinogenesis* 2004;25:527-33.
26. Busceti R, Abbe P, Mantoux F, Aberdam E, Peyssonnaud C, Eychenne A, et al. Ras mediates the cAMP-dependent activation of extracellular signal-regulated in melanocytes. *EMBO J* 2000;19:2900-10.
27. Chang F, McCubrey JA. P21Cip1 induced by Raf is associated with increased Cdk4 activity in hematopoietic cells. *Oncogene* 2001;20:4354-64.

28. Malumbres M, Perez De Castro I, Hernandez MI, Jimenez M, Corral T, Pellicer A. Cellular response to oncogenic ras involves induction of the Cdk4 and Cdk6 inhibitor p15INK4b. *Mol Cell Biol* 2000;20:2915-25.
29. Woods D, Parry D, Cherwinski H, Bosch E, Lees E, McMahon M. Raf-induced proliferation or cell cycle arrest is determined by the level of Raf activity with arrest mediated by p21Cip. *Mol Cell Biol* 1997; 19:5598-611.
30. Yen A, Williams M, Platko JD, Der C, Hisaka M. Expression of activated RAF accelerates cell differentiation and RB protein down-regulation but not hypophosphorylation. *Eur J Cell Biol* 1994;65:103-13.
31. Chang F, Steelman LS, McCubrey JA. Raf-induced cell cycle progression in human TF-1 hematopoietic cells. *Cell Cycle* 2002;1:220-6.
32. Kim SH, Lee SH, Kwak NH, Kang CD, Chung BS. Effect of the activated Raf protein kinase on the human multidrug resistance 1 (MDR1) gene promoter. *Cancer Lett* 1996;98:199-205.
33. Shelton JG, Steelman LS, Lee JT, Knapp SL, Blalock WL, Moye PW, et al. Effects of the RAF/MEK/ERK and PI3K/AKT signal transduction pathways on the abrogation of cytokine-dependence and prevention of apoptosis in hematopoietic cells. *Oncogene* 2003;22:2478-92.
34. Zha J, Harada H, Yang E, Jockel J, Korsmeyer SJ. Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not Bcl-XL. *Cell* 1996;87:619-28.
35. Deng X, Kornblau SM, Ruvulo PP, May WS Jr. Regulation of Bcl2 phosphorylation and Potential significance for leukemic cell chemoresistance. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2001;28:30-7.
36. Weston CR, Balmanno K, Chalmers C, Hadfield K, Molton SA, Ley R, et al. Activation of ERK1/2 by deltaRaf-1:ER* represses Bim expression independently of the JNK or PI3K pathways. *Oncogene* 2003;22:1281-93.
37. Ley R, Balmanno K, Hadfield K, Weston C, Cook SJ. Activation of the ERK1/2 signaling Pathway promotes phosphorylation and proteasome-dependent degradation of the BH3-only protein, Bim. *J Biol Chem* 2003;278:18811-16.
38. Harada H, Quearry B, Ruiz-Vela A, Korsmeyer SJ. Survival factor-induced extracellular signal regulated kinase phosphorylates BIM, inhibiting its association with BAX and proapoptotic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:15313-7.
39. Livre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile JF, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006;66:3992-5.
40. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates J, Dix BR, Iacopetta BJ, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the 'RASCAL II' study. *Br J Cancer* 2001;85:692-6.
41. Edkins S, O'Meara S, Parker A, Stevens C, Reis M, Jones S, et al. Recurrent KRAS codon 146 mutations in human colorectal cancer. *Cancer Biol Ther* 2006;5:928-32.
42. Loupakis F, Ruzzo A, Cremolini C, Vincenzi B, Salvatore L, Santini D, et al. KRAS codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in KRAS codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009;101: 715-21.
43. Li WQ, Kawakami K, Ruzsiewicz A, Bennett G, Moore J, Iacopetta B. BRAF mutations are associated with distinctive clinical, pathological and molecular features of colorectal cancer independently of microsatellite instability status. *Mol Cancer* 2006;5:2.
44. Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJ. BRAF mutation in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009;361: 98-9.
45. Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, Buc E, Bachet JB, Lecomte T, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5924-30.

คำแนะนำการส่งต้นฉบับ

วารสารโรคมะเร็งยินดีรับบทความทางวิชาการหรือเรื่องราวที่น่าสนใจเกี่ยวกับโรคมะเร็งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารนี้ สำหรับบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้ถือว่าเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารโรคมะเร็ง และเป็นผลงานวิชาการหรือวิจัยของคณะผู้เขียนไม่ใช่ความคิดเห็นของบรรณาธิการหรือผู้จัดทำขอให้ผู้นิพนธ์ส่งต้นฉบับที่จัดเตรียมถูกต้องตามคำแนะนำในเอกสารนี้มายังบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 หรือทาง E-mail: nci_journal@hotmail.com

ประเภทของบทความ

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)

ควรเขียนลำดับเป็นข้อๆ ได้แก่ บทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษและภาษาไทย) บทนำสั้นๆ (เหตุผลที่ทำการศึกษานี้ รวมทั้งวัตถุประสงค์) วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา วิจาร์ณ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

รายงานผู้ป่วย (Case Report)

ควรประกอบด้วยบทคัดย่อ (ทั้งภาษาอังกฤษ และภาษาไทย) บทนำ รายงานผู้ป่วย บทวิจารณ์ ข้อคิดเห็น สรุป และเอกสารอ้างอิง

บทความทางวิชาการหรือบทพินิจวิชาการ (Review Articles)

ควรเป็นบทความที่ให้ความรู้ รวบรวมสิ่งตรวจพบใหม่ หรือเรื่องที่น่าสนใจที่ผู้อ่านนำไปประยุกต์ได้ ประกอบด้วย บทนำ ความรู้เกี่ยวกับเรื่องที่เขียน และเอกสารอ้างอิง

การเตรียมต้นฉบับ

- บทความที่ส่งมาเพื่อตีพิมพ์ต้องส่งต้นฉบับ 2 ชุด (พร้อมไฟล์) และต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังส่งตีพิมพ์ที่ใด
- บทความที่พิมพ์รับทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยควรหลีกเลี่ยงคำภาษาอังกฤษ ยกเว้นในกรณีจำเป็นเท่านั้น พยายามไม่ใช้คำย่อ นอกจากคำที่ยอมรับกันโดยทั่วไป
- บทคัดย่อ ให้ย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษไม่ว่าเนื้อเรื่องจะเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ และมีคำสำคัญ (Key words) ด้วย
- ชื่อเรื่องและชื่อผู้เขียน ต้องมีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ พร้อมด้วยสถานที่ทำงาน (ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) และระบุผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ (corresponding author)
- ต้นฉบับต้องพิมพ์อย่างชัดเจนมีระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่อง พิมพ์หน้าเดียวในกระดาษ A4 โดยพิมพ์ห่างจากขอบทุกด้าน 1 นิ้ว โดยตลอด และ ใส่เลขหน้าทางมุมขวาบน
- ภาพประกอบ ถ้าเป็นภาพใช้ภาพขาวดำ ขนาดโปสเตอร์ ผิวน้ำเรียบเป็นมัน หรือพิมพ์จากคอมพิวเตอร์โดยใช้เครื่องพิมพ์เลเซอร์ ใหญ่กว่าขนาดที่จะตีพิมพ์เพื่อให้ได้ภาพชัดเจน กำกับหมายเลขภาพ ชื่อผู้เขียนไว้ด้านหลังภาพทุกภาพ พิมพ์คำบรรยายภาพเป็นลำดับแยกไว้ในกระดาษอีกแผ่น
- ตาราง พิมพ์แยกต่างหากโดยมีหัวข้อ (title) และเชิงอรรถ (foot note) พร้อมทั้งอธิบายตัวย่อในตารางตลอดจนบอกนัยสำคัญทางสถิติอย่างครบถ้วน

8. เอกสารอ้างอิง ใช้ระบบแวนคูเวอร์ซึ่งเป็นระบบที่ใช้กันอยู่ในวารสารทางการแพทย์ชั้นนำในขณะนี้ ให้กำกับการอ้างอิงด้วยหมายเลขและเรียงลำดับการอ้างอิงหมายเลขที่กำกับในรายชื่อเอกสารอ้างอิงจะต้องตรงกับหมายเลขในเนื้อเรื่องด้วย

การเขียนเอกสารอ้างอิง

8.1 จากวารสาร

วารสารภาษาอังกฤษ ประกอบด้วยชื่อผู้แต่ง (ถ้ามีผู้แต่งไม่เกิน 6 คน ให้ใส่ชื่อทุกคนแต่ถ้ามี 7 คนขึ้นไปให้ใส่เพียง 6 ชื่อแรก แล้วเติม et al.) ชื่อเต็มของบทความ ชื่อย่อวารสาร (ใช้ตาม Index Medicus) ปีที่พิมพ์; ปีที่หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

วารสารภาษาไทย ให้เขียนแบบเดียวกับภาษาอังกฤษ เว้นแต่ชื่อผู้เขียนใช้ชื่อเต็มโดยใส่ชื่อตัวก่อนแล้วตามด้วยนามสกุลและใช้ปี พ.ศ.

ตัวอย่าง

1. Chariyalertsak S, Sirikulchayanonta V, Mayer D, Kopp-Schneider A, Fuerstenberger G, Marks F, et al. Aberrant cyclooxygenase isozyme expression in human intrahepatic cholangio carcinoma. Gut 2001;48:80-6.

2. สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, พงษ์กิตติฐิคุภกร, สุวัฒน์ จริยาเลิศศักดิ์. Proliferating Cell Nuclear Antigen ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม: บทบาทในการพยากรณ์โรค.วารสารโรคมะเร็ง 2542;25:1-6.

8.2 จากหนังสือและโมโนกราฟอย่างอื่น

8.2.1 ผู้นิพนธ์เป็นบุคคล ตัวอย่างเช่น

Getzen TE. Health economics: fundamental of funds. New York: John Wiley & Sons; 1997.

8.2.2 บรรณาธิการ ผู้รวบรวม ประธานที่เป็นผู้นิพนธ์ ตัวอย่างเช่น

Millares M, editor. Applied drug information: strategies for information management. Vancouver, WA: Applied Therapeutics, Inc.; 1998.

8.2.3 บทหนึ่งในหนังสือหรือตำรา ตัวอย่างเช่น

Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical pharmacology. 6th ed. Norwalk, CN:Appleton and Lange; 1995. p. 361-80.

8.2.4 หนังสือที่เป็นชุด (series) ตัวอย่างเช่น

Bennett GL, Horuk R. Iodination of chemokines for use in receptor binding analysis. In:Horuk R, editor. Chemokine receptors. New York: Academic Press; 1997. p. 134-48. (Methods in enzymology; vol 288).

หมายเหตุ : Chemokine receptors = ชื่อหนังสือ
Methods in enzymology = ชื่อหัวข้อเรื่อง
ของ series

8.2.5 หนังสือ proceeding ของการประชุม ตัวอย่างเช่น

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

8.2.6 เอกสารหรือแหล่งข้อมูลอื่น

เรื่องจาก หนังสือพิมพ์ ตัวอย่างเช่น

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution : study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A: 3 (col.5).

เรื่องจากวารสารใน internet ตัวอย่างเช่น

Laporte RE, Marler E, Akazawa S, Sauer F. The death of biomedical journals. BMJ [serial online]. 1995;310:1387-90. Available from: <http://www.bmj.com/bmj/archive/6991ed2.htm>. Accessed September 26, 1996.

เรื่องจาก web site ตัวอย่างเช่น

Health on the net foundation. Health on the net foundation code of conduct (HONcode) for medical and health web sites. Available at : <http://www.hon.ch/conduct.html>. Accessed June 30, 1998.

หนังสือแจ้งความจำนงลงโฆษณา ในวารสารโรคมะเร็ง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรียน ผู้จัดการวารสารมะเร็ง

ข้าพเจ้า.....ตำแหน่ง.....

ในนามของ.....เลขที่.....ถนน.....

ตำบล/แขวง.....อำเภอ/เขต.....จังหวัด.....

รหัสไปรษณีย์.....โทรศัพท์.....โทรสาร.....

มีความประสงค์ลงโฆษณาในวารสารโรคมะเร็ง

- | | | | |
|--------------------------|-----------|-------------------------|------------|
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 1 | เดือน มกราคม - มีนาคม | ปีที่..... |
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 2 | เดือน เมษายน - มิถุนายน | ปีที่..... |
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 3 | เดือน กรกฎาคม - กันยายน | ปีที่..... |
| <input type="checkbox"/> | ฉบับที่ 4 | เดือน ตุลาคม - ธันวาคม | ปีที่..... |

รวม.....ฉบับ

โดยลงโฆษณาในลักษณะ

- | | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|-------|----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์เนื้อใน 1/2 หน้า | อัตรา | 5,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์เนื้อในเต็มหน้า | อัตรา | 10,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์ปกหลังด้านใน 1/2 หน้า | อัตรา | 10,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์ปกหลังด้านในเต็มหน้า | อัตรา | 20,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์ปกหลังด้านนอกเต็มหน้า | อัตรา | 35,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | ใบแทรก | อัตรา | 6,000 บาท ต่อ ฉบับ (1,000 เล่ม) |
| <input type="checkbox"/> | พิมพ์สี จ่ายค่าเพลทและค่าพิมพ์เพิ่ม | | 10,000 บาท |

รวมเป็นเงินทั้งสิ้นจำนวน.....บาท

ตัวอักษร (.....) บาท

ลงนาม.....ผู้ส่งโฆษณา

(.....)

หมายเหตุ

ถ้าลงโฆษณาทั้งปี (4 ฉบับ) จะลดค่าโฆษณาให้ 10 %

ส่งอาร์ตเวิร์ค / ข้อความโฆษณาทาง E-mail : nci_journal@hotmail.com

การชำระค่าโฆษณา ให้เขียนเช็คสั่งจ่ายในนาม "มูลนิธิรณรงค์ป้องกันมะเร็งแห่งชาติ"



วารสารโรคมะเร็ง

กองบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

ใบสมัครสมาชิก/ใบต่ออายุสมาชิก

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรียน ผู้จัดการวารสารโรคมะเร็ง

ข้าพเจ้า.....

ในนาม ส่วนราชการ/บริษัท/ส่วนตัว.....

ที่อยู่เลขที่.....ตรอก/ซอย.....แขวง.....

เขต.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....

โทรศัพท์.....โทรสาร.....

E-mail.....

มีความประสงค์ขอลงโฆษณาในวารสารโรคมะเร็ง

ปีที่ 30 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2553) รวม 4 ฉบับ เป็นเงิน 200 บาท

ปีที่ 31 ฉบับที่ 1-4 (พ.ศ. 2554) รวม 4 ฉบับ เป็นเงิน 200 บาท

พร้อมกันนี้ได้จัดส่งเงินจำนวนบาท (.....) ตัวอักษร

โดยโอนเงินผ่านบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ จำกัด (มหาชน) สาขารามาริบัติ

เลขที่บัญชี 026-2-27518-2 ชื่อบัญชี มูลนิธิสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ขอแสดงความนับถือ

ลงนาม.....

(.....)

หมายเหตุ: โปรดส่งสำเนาการโอนเงินผ่านธนาคารพร้อมใบสมัครสมาชิกมายังโทรสาร 02-644-9097

หรือส่งเอกสารทางไปรษณีย์โดยนำส่ง กองบรรณาธิการวารสารโรคมะเร็ง กลุ่มงานสนับสนุนวิชาการ

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6

เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400