



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนเบต้าไฟบริโนเจนกับภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย

Association Study of Beta-fibrinogen Gene and Ischemic Stroke in Thai People

โดย อ. นพ. มานพ พิทักษ์ภากร และ ศ. ดร. เพทาย เย็นจิตโสมหังส
ภาควิชาอายุรศาสตร์ และ สถานส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล

สิงหาคม 2552

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนเบต้าไฟบริโนเจนกับภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย Association Study of Beta-fibrinogen Gene and Ischemic Stroke in Thai People

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- | | |
|-------------------------------|---|
| 1. อ. นพ. มานพ พิทักษ์ภากร | ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล |
| 2. ศ. ดร. เพทาย เย็นจิตโสมนัส | สถานส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล |

สนับสนุนโดย สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)
ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

1. ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนเบต้าไฟบริโนเจนกับภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย
(ภาษาอังกฤษ) Association Study of Beta-fibrinogen Gene and Ischemic Stroke in Thai People

2. ชื่อหัวหน้าโครงการ และนักวิจัยที่ปรึกษา หน่วยงานที่สังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ชื่อหัวหน้าโครงการ (ไทย) มานพ พิทักษ์ภากร
(อังกฤษ) Manop Pithukpakorn

ตำแหน่งทางวิชาการ อาจารย์

ระยะเวลาดำเนินงาน 2 ปี

เวลาทำงานวิจัยในโครงการประมาณสัปดาห์ละ 18 ชั่วโมง

สถานที่ติดต่อ สาขาวิชาเวชพันธุศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
2 ถนนพราณนก เขตบางกอกน้อย
จังหวัด กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10700

โทรศัพท์ 02-418-3565 โทรสาร 02-418-3565

โทรศัพท์มือถือ 086-313-4774 e-mail simpt@mahidol.ac.th

ชื่อนักวิจัยที่ปรึกษา (ไทย) เพทาย เย็นจิตโสมนัส
(อังกฤษ) Pa-Thai Yenchitsomanus

ตำแหน่งทางวิชาการ ศาสตราจารย์

สถานที่ติดต่อ หน่วยอณูชีววิทยาทางการแพทย์ สถานส่งเสริมการวิจัย
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
2 ถนนพราณนก เขตบางกอกน้อย
จังหวัด กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10700

โทรศัพท์ 02-419-7000 ต่อ 6666 e-mail grpye@mahidol.ac.th

3. ชื่ออธิการบดี พรชัย มาตังคสมบัติ

ตำแหน่งทางวิชาการ ศาสตราจารย์เกียรติคุณ

ตำแหน่ง อธิการบดี

สถานที่ติดต่อ 999 ถนนพุทธมณฑล สาย 4 ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

โทรศัพท์ 02-354-0999

โทรสาร 02-849-6211

4. ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

โรคหลอดเลือดสมองตีบ เป็นภาวะที่มีความชุกเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทั้งในประเทศไทย และระดับนานาชาติ การศึกษาอุบัติการณ์ในต่างประเทศพบผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบด้วยความถี่ตั้งแต่ 47 ถึง 300 คนในแสนคน(1) การศึกษาในประเทศไทยพบความชุกรวมในผู้ที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไปสูงถึง 11.2 คนในหนึ่งพันคน(2) นอกจากนี้ภาวะดังกล่าวยังก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขอย่างมากโดยคาดการณ์ว่าผู้ป่วยทั่วโลกกว่า 3 ล้านคนเสียชีวิตจากโรคหลอดเลือดสมองทุกปี ถือเป็นสาเหตุการตายอันดับ 5 ในผู้มีอายุระหว่าง 15-59 ปี และกลายเป็นสาเหตุอันดับ 2 ในผู้ที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป ยิ่งไปกว่านั้น โรคหลอดเลือดสมองยังก่อให้เกิดปัญหาทั้งทางเศรษฐกิจและสังคม ผู้ป่วยหลอดเลือดสมองเป็นผู้ป่วยกลุ่มใหญ่ที่มีภาวะทุพพลภาพและต้องได้รับการช่วยเหลือจากผู้อื่นทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้ว และกำลังพัฒนา ในประเทศสหรัฐอเมริกาคาดการณ์ว่าค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวกับผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองจะสูงถึง 53,000 ล้านดอลลาร์ต่อปี

การศึกษาที่ผ่านมาหลายการศึกษา สนับสนุนปัจจัยทางพันธุกรรมของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ อย่างไรก็ดี แม้จะมีการศึกษาทางพันธุกรรมในภาวะดังกล่าวในประชากรหลายกลุ่มทั่วโลก ยังไม่มีข้อมูลปัจจัยทางพันธุกรรมของหลอดเลือดสมองตีบในประชากรทั่วไปที่แน่ชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคนไทย การตรวจพบความสัมพันธ์ของข้อมูลทางพันธุกรรมในภาวะหลอดเลือดสมองตีบ จะทำให้แพทย์สามารถระบุถึงกลุ่มประชากรหรือผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรค และอาจนำไปสู่การป้องกันเพื่อไม่ให้เกิดโรคที่ได้ผลดี นอกจากนี้ความรู้ความเข้าใจของกลไกพื้นฐานทางพยาธิสรีรวิทยาของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ อาจนำมาซึ่งความก้าวหน้าของการวินิจฉัยและรักษาที่ดีขึ้นในอนาคต เหตุผลดังกล่าวจึงเป็นที่มาของโครงการศึกษานี้

การเลือกยีนที่ต้องการศึกษา หาความสัมพันธ์กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบ จำเป็นต้องคำนึงถึงกลไกการทำหน้าที่ของยีนซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการถอดต้นของหลอดเลือด ข้อมูลเบื้องต้นจากการศึกษาพบว่ายีนที่สร้าง สารไฟบริโนเจนอาจมีความสำคัญ

ไฟบริโนเจนเป็นโปรตีนขนาด 340,000 กิโลดาลตัน และเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในกระบวนการแข็งตัวของเลือด และการเกิดลิ่มเลือด โครงสร้างของไฟบริโนเจนประกอบด้วยสายโปรตีนย่อยสามสาย ได้แก่สายอัลฟา, เบต้า และแกมมา การศึกษาโดย van't Hooft พบว่า polymorphism ของยีนที่สร้างสายเบต้าไฟบริโนเจน (FGB) ในบริเวณ promoter ในตำแหน่ง -455 สัมพันธ์กับปริมาณไฟบริโนเจนในเลือดที่เพิ่มขึ้น(3) การศึกษาโดย Kessler และคณะพบว่า polymorphism นี้สัมพันธ์กับการเกิดภาวะหลอดเลือดสมองขนาดใหญ่อุดตัน(4) ในขณะที่การศึกษาของ Martiskainen และคณะพบว่ามีความสัมพันธ์กับภาวะหลอดเลือดสมองอุดตันในผู้ที่มีอายุมากกว่า 55 ปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะความดันเลือดสูงร่วมด้วย(5) การศึกษาในประชากรจีนโดย Liu และคณะได้ผลคล้ายคลึงกัน บ่งชี้ว่าความสัมพันธ์นี้ไม่เฉพาะต่อประชากรกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง(6)

5. วัตถุประสงค์

- เพื่อค้นหาความสัมพันธ์ของ polymorphism ในยีนเบต้าไฟบริโนเจน กับการเกิดโรคหลอดเลือดสมองตีบ
- เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ polymorphism ในยีนเบต้าไฟบริโนเจน กับปัจจัยเสี่ยงหรือตัวแปรอื่นในโรคหลอดเลือดสมองตีบ (ได้แก่ อายุ, เพศ, การสูบบุหรี่, ชนิดของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ)
- เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ polymorphism ในยีนเบต้าไฟบริโนเจน กับสภาวะผู้ป่วยที่ 90 วันหลังได้รับการวินิจฉัย

6. ระเบียบวิธีวิจัย

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบ prospective case-control study ซึ่งจะดำเนินงานทั้งหมดที่โรงพยาบาลศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล โรงพยาบาลศิริราชเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศไทย รองรับผู้ป่วยใน 2,368 เตียง และคาดการณ์ผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลศิริราชประมาณ 500 รายต่อปี โครงการวิจัยนี้มีเป้าหมายจำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษา 400 คน แบ่งเป็นกลุ่มศึกษา (ผู้ป่วย) จำนวน 200 คน และกลุ่มควบคุมจำนวน 200 คน ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยภาวะหลอดเลือดสมองตีบต้องมีอายุไม่น้อยกว่า 18 ปีบริบูรณ์, ได้รับการตรวจที่โรงพยาบาลศิริราช, ได้รับการวินิจฉัยภายใน 14 วันหลังจากมีอาการ และต้องได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยหรือผู้แทน จึงสามารถเข้าร่วมการศึกษาได้ กลุ่มควบคุมคือผู้ที่ไม่มีประวัติภาวะหลอดเลือดสมองตีบหรือความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง, ไม่เกี่ยวข้องทางสายเลือดกับผู้ป่วย และได้รับความยินยอมเพื่อเข้าร่วมการศึกษา

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับการบันทึกประวัติ และข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ, การตรวจร่างกาย, ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ, ผลการตรวจภาพรังสี และการดำเนินโรคเมื่อติดตามการรักษาไปจนครบ 90 วัน กลุ่มควบคุมจะได้รับการบันทึกประวัติและข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ ผู้ที่เข้าร่วมการศึกษาทุกราย จะได้รับการเจาะเลือดเพื่อเก็บตัวอย่างตรวจสอบพันธุกรรม และนำไปใช้ในการศึกษายีนที่เกี่ยวข้อง ข้อมูลที่ได้จากห้องปฏิบัติการจะถูกนำมาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลทางคลินิกเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง polymorphism ของเบต้าไฟบริโนเจน กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบ นอกจากนี้ยังจะทำการวิเคราะห์ เพื่อหาความสัมพันธ์เพิ่มเติมในแง่ลักษณะทางคลินิก, ปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ ของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ เช่น การสูบบุหรี่, โรคความดันเลือดสูง และโรคไขมันในเลือดสูง เป็นต้น ผู้วิจัยคาดหวังว่าผลการศึกษาจากโครงการนี้จะได้รับการตีพิมพ์ในวารสารการแพทย์ที่สำคัญเช่น BMC Neurology, European Journal of Neurology หรือ Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry

7. แผนการดำเนินงานวิจัย

วัตถุประสงค์	แผนงานวิจัย	ปีที่ 1		ปีที่ 2	
		เดือนที่	เดือนที่	เดือนที่	เดือนที่
		1-6	7-12	1-6	7-12
1. สร้างและพัฒนาฐานข้อมูลทางคลินิกและพันธุศาสตร์	การเก็บข้อมูลทางคลินิกและตัวอย่างตรวจ	✓	✓	✓	✓
2. พัฒนาเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	การตรวจทางห้องปฏิบัติการของยีนที่เกี่ยวข้อง	✓	✓	✓	✓
3. ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบ	การวิเคราะห์ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการกับข้อมูลทางคลินิก		✓	✓	✓

8. ผลงานในแต่ละช่วงเวลา

ปีที่	เดือนที่	ผลงานที่คาดว่าจะสำเร็จ
1	1 – 6	ข้อมูลเริ่มต้นทางคลินิกของผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบ
	7 – 12	ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบ, การพัฒนาเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ, ผลการวิเคราะห์เบื้องต้นสำหรับความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์
2	1 – 6	ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบ, การพัฒนาเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ, ผลการวิเคราะห์เบื้องต้นสำหรับความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์
	7 – 12	ข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบ, การพัฒนาเทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ, สรุปผลการวิเคราะห์สำหรับความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์, การเตรียมข้อมูลสำหรับการตีพิมพ์ผลการศึกษาวิจัย

ชื่อเรื่องที่คาดว่าจะตีพิมพ์ :

Association between beta-fibrinogen gene polymorphism and ischemic stroke in Thai people

ชื่อวารสารที่คาดว่าจะตีพิมพ์ :

BMC Neurology (Impact factor 1.9)

Abstract

การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนเบต้าไฟบริโนเจนกับภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย

โรคหลอดเลือดสมองตีบ ถือเป็นโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญ และก่อให้เกิดปัญหาทั้งทางเศรษฐกิจและสังคม เป็นโรคที่มีค่าใช้จ่ายสูง ผู้ป่วยหลอดเลือดสมองเป็นผู้ป่วยกลุ่มใหญ่ที่มีภาวะทุพพลภาพ และต้องได้รับการช่วยเหลือจากผู้อื่น การศึกษาที่ผ่านมาบ่งชี้ว่า พันธุกรรมเป็นปัจจัยเสี่ยงหนึ่งของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ อย่างไรก็ตาม ไม่มีข้อมูลปัจจัยทางพันธุกรรมของหลอดเลือดสมองตีบในคนไทยมาก่อน การศึกษานี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อหาปัจจัยทางพันธุกรรมต่อภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย และหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมกับลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย และอาจนำมาซึ่งความรู้ความเข้าใจและการให้การป้องกันและรักษาผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบสำหรับคนไทยในอนาคต คณะผู้วิจัยเลือกศึกษายีนเบต้าไฟบริโนเจนซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการการก่อลิ่มเลือด โดยเลือกการศึกษาแบบเปรียบเทียบแบบไปข้างหน้าในกลุ่มผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบจำนวน 178 คน เทียบกับกลุ่มควบคุม ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการซักประวัติ และตรวจร่างกายร่วมกับการเก็บเลือดเพื่อสกัดสารพันธุกรรม สารพันธุกรรมถูกนำมาทดสอบหา polymorphism ที่ตำแหน่ง -455 ของยีนเบต้าไฟบริโนเจน และทำการเปรียบเทียบผลตรวจทางห้องปฏิบัติการร่วมกับข้อมูลทางคลินิก ผลการวิเคราะห์ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง polymorphism ของยีนเบต้าไฟบริโนเจนที่ตำแหน่งดังกล่าว กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบชนิด large vessel atherosclerosis และกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อย

คำสำคัญ: พันธุศาสตร์, โรคหลอดเลือดสมอง, พันธุกรรม, อัมพาต, หลอดเลือดแดงแข็ง

Association Study of Beta-fibrinogen Gene and Ischemic Stroke in Thai People

Ischemic stroke is considered a leading problem in public health. Majority of stroke patients suffer permanent disability and thus creates enormous economic and social burden. Previous data supported genetic factor as one of risks for ischemic stroke. However, there is no such information in Thai population. This study aimed to investigate whether there is an association between genetic factor and ischemic stroke, and correlate clinical data with genetic information that may help understand role of genetics in ischemic stroke among Thai population and improve treatment and prevention of this condition. Investigators chose to study beta-fibrinogen gene (FGB) due to its significant role in thrombus formation. The prospective case-control study had been conducted to recruit total of 178 affected individuals with newly diagnosed ischemic stroke compared to 200 healthy control subjects. Clinical data and blood sample were obtained. DNA was extracted and testing for polymorphism at -455 position of FGB was performed. Data analysis found that there was a significant association between G>A polymorphism at -455 position of FGB and large vessel atherosclerosis subtype of ischemic stroke. The similar association was also demonstrated in early-onset affected individuals.

Keyword: genetics, cerebrovascular, atherosclerosis

สรุปย่อ (Summary)

โรคหลอดเลือดสมองตีบ เป็นภาวะที่มีความชุกเพิ่มขึ้นอย่างมาก ทั้งในประเทศไทย และระดับนานาชาติ นอกจากนี้ภาวะดังกล่าวยังก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขโดยเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญในผู้ใหญ่ ยิ่งไปกว่านั้น โรคหลอดเลือดสมองยังก่อให้เกิดปัญหาทั้งทางเศรษฐกิจและสังคม เป็นโรคที่มีค่าใช้จ่ายสูง ผู้ป่วยหลอดเลือดสมองเป็นผู้ป่วยกลุ่มใหญ่ที่มีภาวะทุพพลภาพ และต้องได้รับการช่วยเหลือจากผู้อื่นทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้ว และกำลังพัฒนา

การศึกษาที่ผ่านมาหลายการศึกษา สนับสนุนปัจจัยทางพันธุกรรมของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ อย่างไรก็ตาม แม้จะมีการศึกษาทางพันธุกรรมในภาวะดังกล่าวในประชากรหลายกลุ่มทั่วโลก ยังไม่มีข้อมูลปัจจัยทางพันธุกรรมของหลอดเลือดสมองตีบในประชากรทั่วไปที่แน่ชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคนไทย การตรวจพบความสัมพันธ์ของข้อมูลทางพันธุกรรมในภาวะหลอดเลือดสมองตีบ จะทำให้แพทย์สามารถระบุถึงกลุ่มประชากรหรือผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรค และอาจนำไปสู่การป้องกันเพื่อไม่ให้เกิดโรคที่ได้อีก นอกจากนี้ความรู้ความเข้าใจของกลไกพื้นฐานทางพยาธิสรีรวิทยาของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ อาจนำมาซึ่งความก้าวหน้าของการวินิจฉัยและรักษาที่ดีขึ้นในอนาคต เหตุผลดังกล่าวจึงเป็นที่มาของโครงการศึกษาวิจัยระยะเวลา 2 ปี เพื่อศึกษาหาปัจจัยทางพันธุกรรมต่อภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย และหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมกับลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย และอาจนำมาซึ่งความรู้ความเข้าใจและการให้การป้องกันและรักษาผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบสำหรับคนไทยในอนาคต คณะผู้วิจัยเลือกศึกษายีนเบต้าไฟบริโนเจนซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการการก่อลิ่มเลือด และทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือด ข้อมูลเบื้องต้นจากหลายกลุ่มประชากรได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง polymorphism ของยีนเบต้าไฟบริโนเจน กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบ

คณะผู้วิจัยของโครงการ จะทำการศึกษาด้วยวิธี case-control โดยการรวบรวมผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบ ที่ได้รับการวินิจฉัยและรักษา ณ โรงพยาบาลศิริราช และยินดีเข้ารับการการศึกษา โดยทำการเก็บข้อมูลทางคลินิกร่วมกับการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ และนำมาเปรียบเทียบผลที่ได้กับกลุ่มควบคุมซึ่งมีอายุและเพศใกล้เคียงกันโดยใช้การคำนวณทางสถิติ เพื่อหาความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของยีนเบต้าไฟบริโนเจน กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบ และปัจจัยเสี่ยง รวมทั้งผลของการรักษาด้วย

หลังจากได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล เมื่อเดือนสิงหาคม 2550 ผู้วิจัยได้เริ่มเก็บข้อมูลและเลือดจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหลอดเลือดสมองตีบนับตั้งแต่เดือนกันยายน 2550 จนได้ผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการ 200 ราย คณะผู้วิจัยได้ทำการรวบรวมข้อมูลพื้นฐานลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยและจัดทำฐานข้อมูลเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลทางพันธุศาสตร์ ในด้านห้องปฏิบัติการ คณะผู้วิจัยได้ทำการแยกสารพันธุกรรมจากเลือดของผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมทั้งหมดและเก็บไว้เป็น DNA bank ของสำหรับการศึกษาโรคหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย และได้พัฒนาวิธีการตรวจ polymorphism ที่ตำแหน่ง -455 ของยีนเบต้าไฟบริโนเจน โดยวิธี restriction fragment length polymorphism ผลการตรวจพบว่า G>A polymorphism ที่ตำแหน่ง -455 ของยีนเบต้าไฟบริโนเจน มีความสัมพันธ์กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบชนิด large vessel atherosclerosis และผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบที่มีอายุน้อยอย่างมีนัยสำคัญ

ผลงานวิจัย

1. วัตถุประสงค์ของโครงการ

โครงการการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนเบต้าไฟบริโนเจนกับภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย เป็นโครงการศึกษาวิจัยระยะเวลา 2 ปี เพื่อศึกษาหาปัจจัยทางพันธุกรรมต่อภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย และหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมกับลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วย และอาจนำมาซึ่งความรู้ความเข้าใจและการให้การป้องกันและรักษาผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบสำหรับคนไทยในอนาคต โดยมีวัตถุประสงค์ดังนี้

- 1.1 เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ของยีนเบต้าไฟบริโนเจน กับภาวะหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย
- 1.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องข้างต้น กับเพศ, อายุ และ ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบ
- 1.3 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องข้างต้น กับผลการรักษา และระดับการช่วยเหลือตนเองของผู้ป่วยภาวะหลอดเลือดสมองตีบที่ออกจากโรงพยาบาล
- 1.4 เพื่อพัฒนาการตรวจหายีนเบต้าไฟบริโนเจน และอาจนำมาใช้ในทางคลินิก รวมทั้งพัฒนาแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยทางคลินิกแผนใหม่โดยอาศัยข้อมูลทางพันธุศาสตร์

2. การดำเนินงานวิจัยตามวัตถุประสงค์

โครงการเลือกดำเนินการวิจัย โดยใช้วิธีการวิจัยชนิดมีกลุ่มควบคุมแบบไปข้างหน้า (prospective case-control study) โดยศึกษาในกลุ่มประชากรผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลศิริราช ภายใต้ความดูแลของภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล โรงพยาบาลศิริราชเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ สังกัดคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มีเตียงผู้ป่วยในทั้งสิ้น 2,368 เตียง และมีผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลประมาณ 500 รายต่อปี เกณฑ์เข้าร่วมวิจัยได้แก่

- ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหลอดเลือดสมองตีบ ที่มีอายุตั้งแต่ 18 ปี
- ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหลอดเลือดสมองตีบ ภายใน 14 วันหลังจากมีอาการ
- ผู้ป่วยต้องได้รับการรักษา ณ โรงพยาบาลศิริราชในแผนกฉุกเฉิน, แผนกผู้ป่วยนอก และแผนกผู้ป่วยใน ที่ได้รับการดูแลรักษาหรือปรึกษาจากหน่วยโรคหลอดเลือดสมอง สาขาวิชาประสาทวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์
- ผู้ป่วยหรือผู้มีสิทธิยินยอมตามกฎหมายให้คำยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

กลุ่มควบคุม ได้แก่ชายหรือหญิงซึ่งมีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป ไม่ใช่ญาติของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการวิจัยและต้องไม่มีประวัติเป็นโรคหลอดเลือดสมอง หรือมีอาการอันชวนให้สงสัยว่าเป็นโรคหลอดเลือดสมอง โดยใช้การตรวจกรองด้วยแบบสอบถาม QVSS (Questionnaire for Verifying Stroke-free Status) ซึ่งเป็นแบบสอบถามมาตรฐานและได้รับการยืนยันจากการศึกษาทางคลินิกแล้ว(7) ผู้วิจัยอาจไม่เลือกบุคคลที่ให้ประวัติที่มีความน่าเชื่อถือต่ำ, มีปัญหาในการติดต่อสื่อสารและความจำ ผู้ป่วยที่มีประวัติหรือได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดหรือโรคหลอดเลือดแดงส่วนปลายจะถูกคัดออกจากกลุ่มควบคุม

ผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมจะได้รับการตรวจ ณ โรงพยาบาลศิริราชโดยประสาทแพทย์ และเก็บข้อมูลทางคลินิก หลังจากนั้นผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการเจาะเลือด 1 ครั้งและส่งไปที่ห้องปฏิบัติการอณูพันธุศาสตร์ เพื่อแยกดีเอ็นเอและทำการตรวจทางห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้นข้อมูลทางพันธุศาสตร์จะถูกนำมารวมกับข้อมูลทางคลินิกเพื่อทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างโรคหลอดเลือดสมองกับยีนที่ศึกษา

การวินิจฉัยโรคหลอดเลือดสมองอาศัยเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก ผู้ป่วยจะได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหลอดเลือดสมองตีบเมื่อมีอาการหรืออาการแสดงเข้าได้กับเกณฑ์การวินิจฉัยโรคหลอดเลือดสมอง ร่วมกับการตรวจภาพรังสีด้วย CT หรือ MRI ของสมองไม่พบความผิดปกติ หรือมีความผิดปกติที่เข้าได้กับภาวะสมองขาดเลือด ผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกหลังสมองขาดเลือด (hemorrhagic transformation) จะถูกรวมอยู่ในการวินิจฉัยนี้ด้วย เวลาที่เกิดเหตุนับจากเวลาสุดท้ายที่ผู้ป่วยมีสภาพปกติ และถึงวันที่ลงนามในใบยินยอมเป็นวันที่ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าร่วมการศึกษา กลุ่มควบคุมจะมีจำนวนเท่ากับผู้ป่วย ผู้วิจัยหรือผู้แทนที่ได้รับมอบหมาย จะให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงการวิจัย, ขอคำยินยอม, ทำการเก็บข้อมูลทางคลินิกทั้งจากผู้ป่วยโดยตรง และจากเวชระเบียน อันประกอบด้วยประวัติ, การตรวจร่างกาย, สัญญาณชีพ, ส่วนสูงและน้ำหนัก, ผลการตรวจภาพรังสีของสมอง, ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการและการตรวจเพิ่มเติมต่าง ๆ ประสาทแพทย์ผู้ร่วมวิจัยจะทำการยืนยันการวินิจฉัย, จำแนกชนิดของโรคหลอดเลือดสมองตีบด้วย Trial of ORG10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) classification(8), ประเมินความรุนแรงของโรคโดยใช้ National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)(9), ประเมินภาวะทุพพลภาพและระดับการช่วยเหลือตนเองของผู้ป่วยโดยใช้ Barthel index(10) ก่อนออกจากโรงพยาบาล ผู้ป่วยทุกรายจะได้รับการรักษาต่อเนื่องในแผนกผู้ป่วยนอกหลังเกิดโรค 90 วัน เพื่อประเมินสภาพผู้ป่วยโดยการสัมภาษณ์ผู้ป่วยโดยตรง ยกเว้นในกรณีที่ผู้ป่วยมีปัญหาทางการสื่อสารหรือความจำ หรือผู้ป่วยเสียชีวิตก่อนถึงวันนัด อาจให้ผู้ดูแลเป็นผู้ให้ข้อมูลแทน

ผู้เข้าร่วมวิจัยทุกรายจะได้รับการเจาะเลือด 1 ครั้งจำนวน 10 มล. เพื่อส่งไปที่ห้องปฏิบัติการอณูพันธุศาสตร์ ตัวอย่างตรวจจะได้รับการจัดเก็บโดยใช้หมายเลขจำเพาะ ห้องปฏิบัติการจะทำการแยกดีเอ็นเอจากเลือดและจัดเก็บในตู้แช่แข็งมาตรฐาน แยกเป็นสองชุดเพื่อป้องกันความเสียหาย ห้องปฏิบัติการจะทำการตรวจทางพันธุศาสตร์ด้วยเทคนิค restriction fragment length polymorphism, allele specific amplification, denatured high performance liquid chromatography หรือ genomic sequencing อย่างใดอย่างหนึ่งหรือร่วมกัน อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการอาจเลือกปรับเปลี่ยนวิธีการตรวจเป็นแบบอื่นที่เป็นมาตรฐานตามความเหมาะสม

ในการวิเคราะห์ข้อมูล ผู้วิจัยจะใช้การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย chi-square หรืออาจร่วมกับ logistic regression และ ANCOVA เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม กับข้อมูลทางคลินิกต่าง ๆ ขึ้นกับชนิดของข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์ โครงการวิจัยนี้คาดว่าจะมีผู้เข้าร่วมวิจัย 400 ราย ประกอบด้วยผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบ 200 ราย และกลุ่มควบคุม 200 ราย ในเวลาการวิจัยทั้งสิ้น 2 ปี จำนวนของผู้ป่วยได้จากการประมาณว่าร้อยละ 20 ของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบในโรงพยาบาลศิริราช เข้าเกณฑ์ และยินดีเข้าร่วมวิจัย การคำนวณจำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยเพื่อการศึกษาหาความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์ ด้วย Quanto (<http://hydra.use.edu/GxE>)(11) เมื่อกำหนด OR เท่ากับ 2 และมี power เท่ากับ 80% สำหรับโมเดลยีนที่มีลักษณะการถ่ายทอดแบบ autosomal dominant จะได้จำนวนผู้เข้าร่วมที่เหมาะสมเท่ากับ 177 ราย คณะผู้วิจัยเห็นว่าจำนวนผู้ป่วย 200 รายจึงมีความเหมาะสมเพียงพอและสำรองในกรณีที่ผู้เข้าร่วมวิจัยตัดสินใจถอนตัวจากโครงการ หรือมีข้อมูลไม่ครบถ้วน

เนื่องจากการวิจัยนี้เป็นการวิจัยทางคลินิกในผู้ป่วย ผู้วิจัยจึงได้เสนอขอรับรองโครงการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และได้รับการรับรองจากคณะกรรมการ

ตามหนังสือหมายเลข SI 311/2007 ลงวันที่ 4 กันยายน 2550 ผู้วิจัยได้เริ่มรับผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองเข้าศึกษาเมื่อวันที่ 14 กันยายน 2550 ผู้ป่วยทุกรายจะถูกรับไว้รักษาตัวในโรงพยาบาล, ได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคหลอดเลือดสมองตีบตามคำจำกัดความขององค์การอนามัยโลก และทำการตรวจทางรังสีด้วย CT scan และ/หรือ MRI brain เพื่อยืนยันการวินิจฉัย นอกจากนี้ผู้ป่วยยังได้รับการตรวจเลือดเพิ่มเติมเพื่อประเมินโรคและภาวะแทรกซ้อนอื่นที่อาจเกิดร่วมด้วย ได้แก่การตรวจเม็ดเลือด, การตรวจระดับน้ำตาล, การตรวจระดับไขมัน, การตรวจวัดการแข็งตัวของเลือด, การทำงานของตับและไต ผู้ป่วยทุกรายได้รับการรักษาตามมาตรฐานการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบในหอผู้ป่วยอายุรศาสตร์ และหอผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมอง และดูแลรักษาต่อเนื่องแบบผู้ป่วยนอกที่คลินิกโรคระบบประสาท โรงพยาบาลศิริราช มีผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัยรวม 200 ราย และมีผู้ป่วยจำนวน 22 รายมีข้อมูลทางคลินิกไม่ครบในส่วนการติดตามผลการรักษาจึงถูกคัดออกจากโครงการ คงเหลือผู้ป่วยทั้งสิ้น 178 ราย

3. ผลงานวิจัยที่ได้รับ

ข้อมูลทางคลินิก

ลักษณะของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาจำนวน 178 ราย ประกอบด้วยผู้ป่วยชาย 93 ราย ผู้ป่วยหญิง 85 ราย (สัดส่วนชายต่อหญิงเท่ากับ 1.09:1) มีอายุเฉลี่ยเมื่อได้รับการวินิจฉัย 65.86 ปี (พิสัยของอายุระหว่าง 27-91 ปี) ผู้ป่วยจำนวน 18 รายมีอายุน้อยกว่า 50 ปี (คิดเป็น 10.01%) ลักษณะอื่น ๆ ที่สำคัญของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษามีรายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะของผู้ป่วย

ลักษณะของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา	ร้อยละ
โรคประจำตัว เบาหวาน	26.5
ความดันโลหิตสูง	61.9
ไขมันในเลือดสูง	29.7
ประวัติการสูบบุหรี่	32.9
ประวัติการสูบบุหรี่ในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา	19.4
ได้รับยาต้านเกล็ดเลือด	26.5
ได้รับยาลดไขมัน	27.7
ได้รับยาลดความดันโลหิต	38.7
อาการ/อาการแสดงเมื่อได้รับการวินิจฉัย	
แขนขาอ่อนแรง/เดินลำบาก	84.5
ชา/ความรู้สึกลดลง	21.9
พูดไม่ชัด	62.6
ปวดศีรษะ	20
ชัก	0.6

เมื่อประเมินความรุนแรงของภาวะหลอดเลือดสมองตีบพบว่า ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาส่วนใหญ่มีอาการทางคลินิก ซึ่งแสดงถึงความบกพร่องทางระบบประสาทไม่รุนแรง อันแสดงได้จากค่า Glasgow coma scale ที่มีค่าสูง (13.97 คะแนน จากคะแนนเต็ม 15 คะแนน), ในขณะที่ค่า CNS score เท่ากับ 7.13 และ NIH Stroke scale มีค่าเท่ากับ 8.87 ดังตารางที่ 2

การจำแนกประเภทของภาวะหลอดเลือดสมองตีบในผู้เข้าร่วมการศึกษา พบว่าผู้ป่วยมีภาวะหลอดเลือดสมองตีบจาก large vessel atherosclerosis มากที่สุด (ร้อยละ 41.5) และเกิดจาก small vessel disease และ cardioembolic stroke ในลำดับรองลงมา (ร้อยละ 25.2) มีผู้ป่วยร้อยละ 3.7 เกิดจากสาเหตุอื่น และร้อยละ 4.4 ที่ไม่ทราบสาเหตุ ดังตารางที่ 3 ไม่พบว่ามีความแตกต่างของลักษณะผู้ป่วยสำหรับภาวะหลอดเลือดสมองตีบแต่ละประเภท

ข้อมูลสถานะของผู้ป่วยเมื่อจำหน่ายออกจากโรงพยาบาล พบว่าผู้ป่วยเพียงส่วนน้อย อยู่ในกลุ่มที่มีความบกพร่องทางระบบประสาทเหลือเพียงเล็กน้อย โดยที่อาจสามารถเดินและประกอบกิจวัตรประจำวันได้ด้วยตนเอง หรือสามารถทำงานได้ตามปกติ (ร้อยละ 9.4) ในขณะที่ผู้ป่วยกลุ่มที่พบบ่อยที่สุดคือ ผู้ป่วยที่มีความบกพร่องค่อนข้างรุนแรง ไม่สามารถเดินหรือประกอบกิจวัตรประจำวันได้เอง (ร้อยละ 47) รองลงมาคือกลุ่มผู้ป่วยที่มีความบกพร่องรุนแรงมาก ต้องนอนบนเตียง หรือได้รับความช่วยเหลือตลอดเวลา (ร้อยละ 18.6) และกลุ่มผู้ป่วยที่มีความบกพร่องปานกลาง (ร้อยละ 13.5) ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 2 การประเมินความรุนแรงของภาวะหลอดเลือดสมองตีบเมื่อได้รับการวินิจฉัย

Stroke severity assessment at diagnosis	
Glasgow coma scale	13.97
CNS score	7.13
NIHSS	8.87

ตารางที่ 3 การวินิจฉัยภาวะหลอดเลือดสมองตีบในผู้ป่วยที่เข้ารับการศึกษา

TOAST classification	ร้อยละ
Large vessel atherosclerosis	41.5
Lacunar infarction	25.2
Cardioembolic infarction	25.2
Other types	3.7
Undetermined etiology	4.4

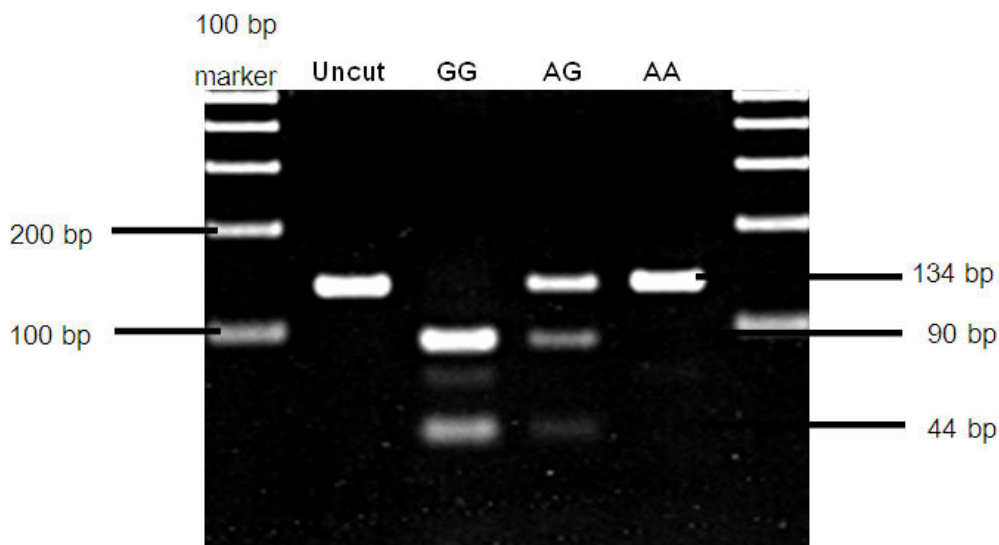
ตารางที่ 4 สถานะของผู้ป่วยเมื่อจำหน่ายผู้ป่วยจากโรงพยาบาล

สถานะของผู้ป่วยเมื่อจำหน่ายผู้ป่วย	ร้อยละ
ไม่มีอาการผิดปกติ	0
มีความบกพร่องเหลือเพียงเล็กน้อย สามารถทำงานได้ตามปกติ	4.7
มีความบกพร่องเล็กน้อย ไม่สามารถทำงานตามปกติได้ แต่ สามารถเดินและประกอบกิจวัตรประจำวันได้ด้วยตนเอง	4.7
มีความบกพร่องปานกลาง สามารถเดินได้เอง แต่ต้องการ ความช่วยเหลือในกิจวัตรประจำวัน	13.5
มีความบกพร่องค่อนข้างรุนแรง ไม่สามารถเดินหรือทำกิจวัตรประจำวันได้เอง	47
มีความบกพร่องรุนแรงมาก ต้องนอนบนเตียง หรือต้องการความช่วยเหลือตลอดเวลา	18.6
เสียชีวิต	0
ไม่มีข้อมูล	11.6

ข้อมูลทางพันธุศาสตร์

ในด้านห้องปฏิบัติการ คณะผู้วิจัยได้ทำการแยกสารพันธุกรรมจากเลือดของผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมทั้งหมดและเก็บไว้เป็น DNA bank ณ ห้องปฏิบัติการอนุพันธุศาสตร์ สถานส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล สำหรับใช้ในการศึกษาโรคหลอดเลือดสมองตีบในคนไทย คณะผู้วิจัยได้ทำการตรวจยีนเบต้าไฟบริโนเจน (*FGB*) โดยเลือกการตรวจวิธี restriction fragment length polymorphism

โดยเลือดจำนวน 10 มล.จากผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมถูกนำมาแยกสกัดสารพันธุกรรมโดยวิธี salting out ตามมาตรฐาน การทดสอบการตรวจหา polymorphism ของ *FGB* เริ่มโดยการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมโดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยชุด primer ลำดับดังนี้ 5' – GGGTATGAATTTGTTATTTT – 3' สำหรับ forward strand และ 5' – TGCTTATGTTTCTGACAATG – 3' สำหรับ reverse strand โดยที่ standard PCR reaction ประกอบด้วย 10x PCR buffer 2.5µl, 10mM dNTP 0.5µl, 50 mM MgCl₂ 1.75µl, primer 1.5µl, Taq DNA polymerase 0.5µl, 5x Q solution 5µl, DNA template 4µl และ dH₂O 9.25µl รวมปริมาตรของ reaction ทั้งสิ้น 25µl และ PCR reaction protocol ประกอบด้วย 95 °C เป็นเวลา 7 นาที, cycle ของ 95 °C เวลา 30 วินาที, 51 °C เวลา 30 วินาที, 65 °C เวลา 45 วินาที จำนวนทั้งสิ้น 35 cycles และ final extension ที่ 65 °C เวลา 7 นาที ได้ชิ้นส่วน DNA ขนาด 134 base pair (bp) ซึ่งจะทำทดสอบ polymorphism ที่ตำแหน่ง -455 ของ *FGB* โดยใช้ PCR product จำนวน 10 µl ทำปฏิกิริยากับ *HaeIII* 10 units และ incubate ที่ 37 °C เป็นเวลา 2 ชม. สาย DNA ที่มี G allele จะมี restriction site สำหรับ *HaeIII* ซึ่งจะตัดได้ product ขนาด 90 bp และ 44 bp ในขณะที่สาย DNA ที่มี A allele จะยังคงขนาด 134 bp ตามเดิม ทำให้ลักษณะของ PCR product ที่มี genotype เป็น GG, GA และ AA มีลักษณะดังรูป



ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการทดสอบข้างต้น พบว่า *FGB* polymorphism ที่ตำแหน่ง -455 นั้น กลุ่มควบคุมมีความถี่ของ GG genotype เท่ากับร้อยละ 57.61, GA genotype เท่ากับร้อยละ 40.22 และ AA genotype เท่ากับร้อยละ 2.17 โดยมี allele frequency ของ G เท่ากับร้อยละ 77.72 และ A เท่ากับร้อยละ 22.28

ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยมีความถี่ของ GG genotype เท่ากับร้อยละ 62.92, GA genotype เท่ากับร้อยละ 31.46 และ AA genotype เท่ากับร้อยละ 5.62 โดยมี allele frequency ของ G เท่ากับร้อยละ 78.67 และ A เท่ากับร้อยละ 21.35 ความถี่ของ genotype ทั้งกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมเป็นไปตาม Hardy-Weinberg Equilibrium การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ความถี่ของ G และ A alleles ในระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.8223$)

เมื่อแยกกลุ่มวิเคราะห์ผู้ป่วย ตามประเภทของโรคหลอดเลือดสมองตีบตาม TOAST classification พบว่าผู้ป่วยกลุ่ม large vessel atherosclerosis มีความถี่ของ GG genotype เท่ากับร้อยละ 46, GA genotype เท่ากับร้อยละ 46 และ AA genotype เท่ากับร้อยละ 8 โดยมี allele frequency ของ G เท่ากับร้อยละ 69 และ A เท่ากับร้อยละ 31 พบว่าความถี่ของ G และ A alleles ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Odds ratio 1.57, $P=0.0361$) ในทำนองเดียวกัน ผู้ป่วยกลุ่ม small vessel disease (lacunar infarction) มีความถี่ของ GG genotype เท่ากับร้อยละ 84.85, GA genotype เท่ากับร้อยละ 15.15 โดยไม่พบผู้ป่วยที่มี AA genotype โดยมี allele frequency ของ G เท่ากับร้อยละ 92.42 และ A เท่ากับร้อยละ 7.58 พบว่าความถี่ของ G และ A alleles ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน (Odds ratio 0.29, $P=0.0004$) ในขณะที่ ผู้ป่วยกลุ่ม cardioembolic stroke มีความถี่ของ GG genotype เท่ากับร้อยละ 61.76, GA genotype เท่ากับร้อยละ 32.35 และ AA genotype เท่ากับร้อยละ 5.88 โดยมี allele frequency ของ G เท่ากับร้อยละ 77.94 และ A เท่ากับร้อยละ 22.06 พบว่าความถี่ของ G และ A alleles ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.9578$)

เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของ genotype และ allele ระหว่าง 2 กลุ่ม โดยจำแนกตามลักษณะทางคลินิกที่สำคัญ อันได้แก่ประวัติการสูบบุหรี่ โดยเฉพาะประวัติการสูบบุหรี่ในช่วง 6 เดือนก่อนเกิดอาการ, ประวัติโรคเบาหวาน, ความดันโลหิตสูง และภาวะไขมันในเลือดสูง, ประวัติการได้รับยาต้านเกล็ดเลือด, ความรุนแรงของภาวะหลอดเลือดสมองตีบเมื่อได้รับการวินิจฉัย หรือสถานะของผู้ป่วยเมื่อจำหน่ายจากโรงพยาบาล ไม่พบว่าการกลุ่มผู้ป่วย และกลุ่มควบคุมมีความถี่ของ G และ A alleles ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การเปรียบเทียบความถี่ของ G และ A alleles ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 50 ปีและกลุ่มควบคุม พบว่าการกลุ่มผู้ป่วยมีความถี่ของ GG genotype เท่ากับร้อยละ 44.44, GA genotype เท่ากับร้อยละ 38.89 และ AA genotype เท่ากับร้อยละ 16.67 โดยมี allele frequency ของ G เท่ากับร้อยละ 63.89 และ A เท่ากับร้อยละ 36.11 พบว่าความถี่ของ G และ A alleles ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Odds ratio 2, $P<0.0001$)

อภิปรายและวิจารณ์ผล

การศึกษาในผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลันของโครงการ แสดงให้เห็นว่ากลุ่มผู้ป่วยเป็นเพศชายมากกว่า เพศหญิงเล็กน้อย และผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ยค่อนข้างมาก สอดคล้องกับลักษณะการเกิดหลอดเลือดสมองตีบในประชากรทั่วไป เป็นที่น่าสนใจว่าผู้ป่วยประมาณร้อยละ 10 มีอายุน้อยกว่า 50 ปี ผู้ป่วยส่วนใหญ่ มีโรคประจำตัวที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เรียงตามลำดับความชุกได้แก่ ความดันโลหิตสูง (ร้อยละ 61.9) ไขมันในเลือดสูง (ร้อยละ 29.7), และเบาหวาน (ร้อยละ 26.5) โดยรวมแล้ว ผู้ป่วยร้อยละ 70.7 มีโรคประจำตัวข้างต้นอย่างใดอย่างหนึ่ง อย่างไรก็ตาม พบว่าผู้ป่วยที่มีโรคความดันโลหิตสูงเพียงประมาณ 2 ใน 3 ได้รับยาลดความดันโลหิต สาเหตุอาจเป็นเพราะผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาต่อเนื่องหรือขาดการรักษาจนหน้าจะเกิดหลอดเลือดสมองตีบ นอกจากนี้ ผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลันราว 1 ใน 4 ได้รับยาต้านเกล็ดเลือดเป็นประจำ แสดงให้เห็นว่าอาจมีกระบวนการต่อต้านเกล็ดเลือด (antiplatelet resistance) ผ่านกลไกอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือมีปัจจัยอื่นที่ส่งเสริมการเกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบ นอกเหนือจากการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด

อาการและอาการแสดงส่วนใหญ่ของผู้ป่วย เกี่ยวกับการบกพร่องในการทำงาน ของระบบประสาท (neurological deficit) โดยอาการและอาการแสดงที่พบบ่อยสุดได้แก่อาการอ่อนแรงของแขนขา อธิบายได้ว่าอาการดังกล่าวมักทำให้ผู้ป่วยเกิดความผิดปกติชัดเจนและนำผู้ป่วยมาพบแพทย์ได้บ่อยกว่าอาการอื่น เป็นที่น่าสนใจที่ผู้ป่วยร้อยละ 20 มีอาการปวดศีรษะเมื่อมาพบแพทย์แม้จะไม่พบอาการและอาการแสดงของภาวะความดันช่องกระโหลกสูง (increased intracranial pressure) ซึ่งอาการปวดศีรษะนี้อาจสัมพันธ์กับภาวะความดันโลหิตสูง

การประเมินสาเหตุของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ พบว่าผู้ป่วยมีเหตุมาจาก large vessel atherosclerosis มากที่สุด (ร้อยละ 42) ซึ่งเชื่อว่ามีพยาธิกำเนิด และพยาธิสรีรวิทยาค่อนข้างคล้ายคลึงกับภาวะหลอดเลือดแดงแข็งที่ตำแหน่งอื่น เช่น ภาวะหลอดเลือดหัวใจตีบ (coronary artery disease) หรือภาวะหลอดเลือดแดงส่วนปลายตีบ (peripheral artery disease) จึงไม่น่าแปลกใจว่า ผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบมีความชุกของโรคความดันโลหิตสูง, เบาหวาน และไขมันในเลือดสูง รวมถึงประวัติสูบบุหรี่ อยู่ในเกณฑ์สูงคล้ายคลึงกับโรคหลอดเลือดแดงแข็งอื่น ๆ สิ่งที่น่าสนใจในผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบที่อาจแตกต่างกับภาวะอื่น ได้แก่ผู้ป่วยกลุ่มที่เกิดจากหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (small vessel disease) และกลุ่มที่เกิดจากภาวะลิ่มเลือดจากหัวใจ (cardioembolic stroke) ซึ่งอาจมีพยาธิกำเนิดและพยาธิสรีรวิทยาแตกต่างออกไป

เมื่อประเมินความรุนแรงของโรคหลอดเลือดสมองแล้ว พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มีความรุนแรงน้อยถึงปานกลาง สังเกตได้จาก Glasgow Coma Scale มีค่าสูง และ NIHSS มีค่าไม่มากนัก (ค่า NIHSS น้อยกว่า 15) อย่างไรก็ตาม ความรุนแรงของโรคหลอดเลือดสมอง กับความบกพร่องของสมรรถภาพในการใช้ชีวิตประจำวัน มีความสัมพันธ์กันน้อย กล่าวคือ ผู้ป่วยราว 2 ใน 3 มีความบกพร่องในกลุ่มก่อนข้างรุนแรงถึงรุนแรงมาก ไม่สามารถเดินหรือใช้ชีวิตประจำวันได้ด้วยตนเอง

การศึกษาปัจจัยทางพันธุศาสตร์ของยีนเบต้าไฟบริโนเจน โดยการเปรียบเทียบความถี่ของ G และ A alleles ที่ตำแหน่ง -455 ของยีน *FGB* ซึ่งอยู่ในส่วนของ promoter ที่ทำหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีน พบว่าความถี่ของ G และ A alleles ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์โดยจำแนกประเภทของผู้ป่วยออกตามลักษณะการเกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบตาม TOAST classification พบว่าผู้ป่วยกลุ่ม large vessel atherosclerosis มี A allele ในความถี่ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากการเกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบใน large vessel atherosclerosis มีความคล้ายคลึงกับกลุ่มหลอดเลือดหัวใจตีบ ซึ่งมีจุดเริ่มจาก atheromatous plaque rupture กระตุ้นให้เกิดการจับกลุ่มกันของเกล็ดเลือด และตามด้วยการกระตุ้นระบบการแข็งตัวของเลือดเป็นลำดับขั้น (coagulation cascade) จนเกิดการสร้างลิ่มเลือด ซึ่งมีไฟบริโนเจนปัจจัยหลักในส่วนประกอบของลิ่มเลือด การศึกษาหลายการศึกษาสนับสนุนว่าผู้ป่วยที่มีระดับไฟบริโนเจนสูงกว่าจะมีความเสี่ยงต่อโรค และผลการรักษาที่ด้อยกว่า(12) กลุ่มประชากรที่มี A

allele ที่ตำแหน่งดังกล่าวมีระดับไฟบริโนเจนในเลือดสูงกว่า โดยผู้ที่มี AA genotype จะมีระดับไฟบริโนเจนสูงกว่ากลุ่ม GA และ GG genotype ตามลำดับ(3, 6) การพบความถี่ของ A allele ในกลุ่มผู้ป่วย large vessel atherosclerosis สนับสนุนปัจจัยทางพันธุกรรมที่ส่งเสริมการเกิดลิ่มเลือดที่ก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดสมองตีบ เช่นเดียวกับผู้ป่วยในกลุ่มประชากรอื่น นอกจากนี้ ข้อมูลการศึกษาที่พบความสัมพันธ์ระหว่าง FGB polymorphism กับผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ ยิ่งช่วยสนับสนุนความเกี่ยวข้องของปัจจัยทางพันธุศาสตร์กับการเกิดภาวะหลอดเลือดตีบที่ผ่านกลไกคล้ายคลึงกันด้วย(13)

การศึกษาจำแนกผู้ป่วยกลุ่ม small vessel disease (lacunar infarction) กลับพบว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้มีความถี่ของ A allele ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม บ่งชี้ว่ากลไกพยาธิกำเนิด และพยาธิสรีรวิทยาของทั้งสองภาวะน่าจะแตกต่างกันผู้ป่วยกลุ่มแรกส่วนใหญ่ของพยาธิสภาพมักเกิดขึ้นกับหลอดเลือดขนาดเล็ก ซึ่งการอุดตันอาจเกิดจากการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet thrombus) โดยตรงโดยไม่ได้ผ่านกระบวนการสร้างลิ่มเลือดซึ่งเกี่ยวข้องกับไฟบริโนเจน นอกจากนี้โรค CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy) ซึ่งเป็น mendelian disorder ที่ทำให้เกิด small vessel stroke เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน NOTCH3 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญและพัฒนาของเซลล์ endothelium ของหลอดเลือดสมอง(14) แสดงให้เห็นว่าพยาธิกำเนิด และพยาธิสรีรวิทยาของ small vessel disease มีความหลากหลาย และเกี่ยวข้องกับกระบวนการอื่น นอกเหนือจากการก่อตัวของลิ่มเลือด (coagulation process) โดยตรง

เป็นที่น่าสนใจว่าผู้ป่วยกลุ่มที่เกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบที่มีอายุน้อยกว่า 50 ปี มีความถี่ของ A allele สูงกว่ากลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน ผู้ที่มีอายุน้อยโดยทั่วไปมีโอกาสเกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบ หรือภาวะหลอดเลือดตีบอื่นได้น้อยเนื่องจากมีอุบัติการณ์ของปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด atherosclerosis น้อยกว่าประชากรสูงอายุ จึงมีความเป็นไปได้ว่า กลุ่มผู้ป่วยอายุน้อยที่เกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบ มีปัจจัยเสี่ยงอื่นโดยเฉพาะปัจจัยทางพันธุกรรม ที่ส่งเสริมการเกิดโรคสูงกว่าประชากรทั่วไป การพบความถี่ของ A allele ในกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อยนี้ ถือเป็นหลักฐานสนับสนุนหนึ่งของปัจจัยทางพันธุกรรมที่ส่งเสริมการเกิดโรคที่พบบ่อย

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ได้แก่ กลุ่มประชากรในการศึกษานี้มาจากสถานพยาบาลแห่งเดียวในกรุงเทพมหานคร ผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมจึงเป็นประชากรที่อาศัยในกรุงเทพมหานครเป็นหลัก ลักษณะพื้นฐานทางคลินิกของผู้ป่วยอาจเป็นตัวแทนของประชาชนที่อาศัยในเขตเมืองใหญ่ ซึ่งมีอุบัติการณ์ของปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบ เช่น ความดันโลหิตสูง, ไขมันในเลือดสูง และเบาหวาน สูงกว่าประชากรในเขตชนบท นอกจากนี้การจำแนกประเภทของภาวะหลอดเลือดสมองตีบ และปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ทำให้กลุ่มผู้ป่วยที่ศึกษามีขนาดเล็กลงจนอาจไม่เพียงพอต่อการคำนวณทางสถิติ ซึ่งการเก็บข้อมูลเพื่อศึกษาในระยะถัดไป อาจเลือกทำการศึกษาเจาะจงในกลุ่มผู้ป่วยเฉพาะมากขึ้น เพื่อเพิ่มจำนวนผู้ป่วยและลดความหลากหลายของตัวแปรที่อาจมีผลต่อการรักษาและวิเคราะห์ผลได้

ในด้านห้องปฏิบัติการ โครงการวิจัยเลือกศึกษายีนที่เป็นตัวแทนของกระบวนการก่อลิ่มเลือด แม้ไฟบริโนเจนจะเป็นโปรตีนสำคัญและเป็นปัจจัยร่วมระยะท้ายในการเกิดลิ่มเลือด แต่กระบวนการนี้มีหลายขั้นตอนและมีความซับซ้อน อยู่ภายใต้การควบคุมของยีนหลายยีน นอกจากนี้ พยาธิกำเนิดของภาวะหลอดเลือดสมองตีบนั้นมีความหลากหลายและซับซ้อน ตัวอย่างหนึ่งที่ได้ชี้ชัดคือ กระบวนการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดซึ่งถือเป็นจุดเริ่มของการเกิดลิ่มเลือด ถือเป็นปัจจัยสำคัญเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นจากหลักฐานการลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน และภาวะหลอดเลือดสมองตีบในผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเกล็ดเลือด การศึกษาปัจจัยทางพันธุกรรมโดยเลือกยีนที่เกี่ยวข้องในจำนวนมากขึ้น น่าจะสามารถอธิบายความสัมพันธ์ และประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดสมองตีบได้ดียิ่งขึ้น

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

โดยสรุป การศึกษาโรคหลอดเลือดสมองตีบกลุ่มผู้ป่วยไทย มีลักษณะของผู้ป่วยที่คล้ายคลึงกับประชากรกลุ่มอื่น กล่าวคือผู้ป่วยกลุ่มนี้มีอายุมาก มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งอันได้แก่ โรคความดันโลหิตสูง, เบาหวาน, ไขมันในเลือดสูง และประวัติการสูบบุหรี่ การศึกษาทางพันธุศาสตร์แสดงให้เห็นว่า polymorphism ของยีน *FGB* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างสายไฟบริโนเจน มีความสัมพันธ์กับผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบชนิด large vessel atherosclerosis และ lacunar infarction และกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อย อย่างไรก็ตาม การที่ผู้ป่วยเหล่านี้สามารถจำแนกประเภทได้หลากหลาย และมีลักษณะแตกต่างกัน จึงอาจจะมีพยาธิกำเนิดและพยาธิสรีรวิทยาที่แตกต่างกันด้วย การศึกษาในระยะต่อไป คณะผู้วิจัยจะเน้นที่การศึกษาทางพันธุศาสตร์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคหลอดเลือดสมอง การศึกษาหาความสัมพันธ์ของข้อมูลพันธุศาสตร์ของยีนที่เกี่ยวข้องในจำนวนมากขึ้น และเลือกศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยที่จำเพาะ เพื่อให้เข้าใจกลไกพยาธิกำเนิด และนำมาซึ่งการประยุกต์ความรู้ที่ได้ กับการรักษาทางคลินิกในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal Investigators. Journal of clinical epidemiology. 1988;41(2):105-14.
2. Viriyavejakul A, Senanarong V, Prayoonwivat N, Praditsuwan R, Chaisevikul R, Pongvarin N. Epidemiology of stroke in the elderly in Thailand. Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmai het thangkaet. 1998 Jul;81(7):497-505.
3. van 't Hooft FM, von Bahr SJ, Silveira A, Iliadou A, Eriksson P, Hamsten A. Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 1999 Dec;19(12):3063-70.
4. Kessler C, Spitzer C, Stauske D, Mende S, Stadlmuller J, Walther R, et al. The apolipoprotein E and beta-fibrinogen G/A-455 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke involving large-vessel disease. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 1997 Nov;17(11):2880-4.
5. Martiskainen M, Pohjasvaara T, Mikkelsen J, Mantyla R, Kunnas T, Laippala P, et al. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke. Stroke; a journal of cerebral circulation. 2003 Apr;34(4):886-91.
6. Liu Y, Pan J, Wang S, Li X, Huang Y. beta-fibrinogen gene -455A/G polymorphism and plasma fibrinogen level in Chinese stroke patients. Chinese medical journal. 2002 Feb;115(2):214-6.
7. Jones WJ, Williams LS, Meschia JF. Validating the Questionnaire for Verifying Stroke-Free Status (QVSFS) by neurological history and examination. Stroke; a journal of cerebral circulation. 2001 Oct;32(10):2232-6.
8. Adams HP, Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke; a journal of cerebral circulation. 1993 Jan;24(1):35-41.

9. Lyden PD, Lu M, Levine SR, Brott TG, Broderick J. A modified National Institutes of Health Stroke Scale for use in stroke clinical trials: preliminary reliability and validity. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2001 Jun;32(6):1310-7.
10. Collin C, Wade DT, Davies S, Horne V. The Barthel ADL Index: a reliability study. *International disability studies*. 1988;10(2):61-3.
11. Gauderman WJ. Sample size requirements for association studies of gene-gene interaction. *American journal of epidemiology*. 2002 Mar 1;155(5):478-84.
12. Gonzalez-Conejero R, Fernandez-Cadenas I, Iniesta JA, Marti-Fabregas J, Obach V, Alvarez-Sabin J, et al. Role of fibrinogen levels and factor XIII V34L polymorphism in thrombolytic therapy in stroke patients. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2006 Sep;37(9):2288-93.
13. Chen X, Xu M, Jin L, Chen J, Chen W. Association of beta-fibrinogen gene -148C/T and -455G/A polymorphisms and coronary artery disease in Chinese population: a meta analysis. *Sci China C Life Sci*. 2008 Sep;51(9):814-20.
14. Razvi SS, Bone I. Single gene disorders causing ischaemic stroke. *Journal of neurology*. 2006 Jun;253(6):685-700.

กิจกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

1. รับเชิญเป็นวิทยากรบรรยายเรื่อง Genetics of Stroke ในงานการประชุมวิชาการอณูพันธุศาสตร์ของมนุษย์ (Human Molecular Genetics Conference) “อณูพันธุศาสตร์ของโรคพันธุกรรมที่ซับซ้อนและพบบ่อย” (Molecular Genetics of Complex and Common Genetic Diseases) สนับสนุนโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย เมื่อวันที่ 29 กันยายน พ.ศ. 2551
2. รับเชิญเป็นวิทยากรบรรยายเรื่อง Genetics of Atherosclerosis ในงานการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 7 สมาคมโรคหลอดเลือดแดงแห่งประเทศไทย เมื่อวันที่ 16 มกราคม พ.ศ. 2552
3. ตีพิมพ์บทความวิชาการเรื่อง Genetics of Stroke ใน Siriraj Medical Journal Volume 60 (5) September 2008
4. ผลงานวิจัยยังอยู่ในระหว่างเรียบเรียง และจัดเตรียมต้นฉบับ