ความสัมพันธ์ของความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* กับการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

นางสาวกรกฎ บัวเทศ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2555
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

ASSOCIATION OF VARIANTS IN *SCN1A*, *UGT1A4* AND *ABCB1* GENES WITH LAMOTRIGINE RESPONSIVENESS IN THAI EPILEPTIC PATIENTS

Miss Korakot Buathet

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmacology

Department of Pharmacology and Physiology

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ของความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* กับการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย
โดย	นางสาวกรกฎ บัวเทศ
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	พันเอก นายแพทย์ ดร. โยธิน ชินวลัญช์

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะเภสัชศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร. พิณทิพย์ พงษ์เพ็ชร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร. สุรีย์ เจียรณ์มงคล)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร. พรพิมล กิจสนาโยธิน)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(พันเอก นายแพทย์ ดร. โยธิน ชินวลัญช์)
.....กรรมการ
(อาจารย์ เภสัชกรหญิง ดร. รัชนี รอดศิริ)
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร. เจริญ ตรีศักดิ์)

กรกฎ บัวเทศ : ความสัมพันธ์ของความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* กับการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย. (ASSOCIATION OF VARIANTS IN *SCN1A*, *UGT1A4* AND *ABCB1* GENES WITH LAMOTRIGINE RESPONSIVENESS IN THAI EPILEPTIC PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ. ภญ. ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : พ.อ. นพ. ดร. โยธิน ชินวลัญช์, 66 หน้า.

ยาลาโมทริจินเป็นยากันชักที่เป็นยากันชักกลุ่มใหม่ที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคลมชักหลายชนิด ซึ่งพบว่าการตอบสนองต่อยามีความแตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละราย ประมาณร้อยละ 40 ของผู้ป่วยโรคลมชักที่ได้รับยาลาโมทริจินอย่างเหมาะสมแล้ว ไม่สามารถควบคุมอาการชักได้ ก่อให้เกิดผลเสียต่างๆ ซึ่งการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละรายนั้น เกิดจากหลายปัจจัย ทั้งปัจจัยทางคลินิกและปัจจัยทางพันธุกรรมของผู้ป่วย การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความผันแปรในยีนที่เกี่ยวข้องกับเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาลาโมทริจินได้แก่ *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* และปัจจัยทางคลินิกต่างๆ กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย โดยผู้ป่วยโรคลมชักจำนวน 104 คนได้ถูกคัดเลือกเข้าสู่งานวิจัย โดยได้ทำการเก็บข้อมูลทางคลินิกและเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G และ *ABCB1* c.3435 C>T จากนั้นประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน โดยแบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม คือผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน แล้ววิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อยาลาโมทริจิน กับความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* และปัจจัยทางคลินิกต่างๆด้วย Multiple Logistic Regression ผลการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยเกือบทั้งหมดเป็น symptomatic epilepsy ความถี่อัลลีลของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G และ *ABCB1* c.3435 C>T ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย เท่ากับ 61, 25 และ 48% ตามลำดับ และผลการวิเคราะห์ด้วย Multiple Logistic Regression พบความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อยาลาโมทริจิน กับความผันแปรทางพันธุกรรม *ABCB1* c.3435 C>T และปัจจัยทางคลินิก คือ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก และการใช้ยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วย โดยผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยาลาโมทริจินนั้น สัมพันธ์กับลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T แบบ CC และ CT มากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อยาลาโมทริจิน (adjusted OR = 3.95 [95% CI: 1.05-14.48] และ adjusted OR = 8.07 [95% CI: 2.26-28.80], ตามลำดับ) โมเดลทางเภสัชพันธุศาสตร์นี้ สามารถอธิบายความแปรปรวนของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 40.9 (R^2 = 0.409) ผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลชี้แนะว่าความผันแปรทางพันธุกรรม *ABCB1* c.3435 C>T และปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก และการใช้ยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วย มีความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้อาจสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาต่อไปเพื่อพิจารณาเลือกใช้ยาลาโมทริจินในการรักษาผู้ป่วยโรคลมชักให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ภาควิชา เภสัชวิทยาและสรีรวิทยา	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เภสัชวิทยา	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....
ปีการศึกษา 2555	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

5376583833 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEYWORDS : LAMOTRIGINE / LAMOTRIGINE RESPONSIVE EPILEPSY / LAMOTRIGINE RESISTANT EPILEPSY / *SCN1A* POLYMORPHISM / *UGT1A4* POLYMORPHISM / *ABCB1* POLYMORPHISM

KORAKOT BUATHET : ASSOCIATION OF VARIANTS IN *SCN1A*, *UGT1A4* AND *ABCB1* GENES WITH LAMOTRIGINE RESPONSIVENESS IN THAI EPILEPTIC PATIENTS. ADVISOR : ASST. PRO.PORNPIMOL KIJSANAYOTIN, Ph.D., CO-ADVISOR : COL. YOTIN CHINVARUN, M.D., Ph.D., 66 pp.

Lamotrigine (LTG) is a new generation antiepileptic drug for various types of epilepsy. About 40 percent of the patients on LTG cannot achieve goal for seizure control which potentially leads to several negative consequences. Treatment response in individual patients is influenced by multiple factors including clinical factors and genetic variability. Genetic variants in genes involved in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of LTG, may influence the drug response in patients with epilepsy. Therefore, this study aimed to investigate the association between three SNPs in *SCN1A*, *UGT1A4* and *ABCB1* genes, along with clinical factors and response to LTG treatment in Thai epileptic patients. 104 Thai patients diagnosed with epilepsy and being treated with LTG were included in the study. Two phenotypic groups were classified as LTG-responsive and LTG-resistant epilepsy. In addition to clinical data, blood samples were collected and genotyped for 3 candidate SNPs including, *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G and *ABCB1* c.3435 C>T. The allele frequencies of the studied variants in Thai epileptic patients were as follows: *SCN1A* IVS5N+5 G>A = 61%, *UGT1A4* c.142 T>G = 25% and *ABCB1* c.3435 C>T = 48%. A multiple logistic regression model revealed a significant association of LTG responsiveness with *ABCB1* c.3435 C>T, age at the onset of epilepsy and polytherapy. Patients with LTG resistant epilepsy were significantly more likely to have CC and CT genotypes than patients with LTG responsive epilepsy (adjusted OR = 3.95 [95% CI: 1.05-14.48] and adjusted OR = 8.07 [95% CI: 2.26-28.80], respectively). The SCN1A IVS5N+5 G>A and *UGT1A4* c.142 T>G genotypes revealed no significant influence on response to LTG. In this study the pharmacogenetic model explain 40.9% of the LTG responsiveness (R^2 = 0.49). This study suggests that the *ABCB1* c.3435 C>T polymorphism along with age at the onset of epilepsy and polytherapy may influence the response to LTG in Thai epileptic patients. This finding could lead to further study for LTG treatment optimization in individual patients, resulting in more efficacious treatment.

Department : Pharmacology and Physiology Student's Signature .....

Field of Study : Pharmacology Advisor's Signature .....

Academic Year : 2012 Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาของ ผศ. ภญ. ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือในการค้นคว้า และดำเนินการวิจัยเป็นอย่างดีมาโดยตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ พ.อ. นพ. ดร.โยธิน ชินวลัญช์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือในการคัดเลือกผู้ป่วย จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ. ภก. ดร.เจริญ ตรีศักดิ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขบทความวิจัย

ขอขอบพระคุณ นพ.สมชาย โตวณะบุตร ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างจากแผนกประสาทวิทยา สถาบันประสาทวิทยา เข้าร่วมงานวิจัยจนกระทั่งการวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่แผนกประสาทวิทยา และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และสถาบันประสาทวิทยา ที่ได้อำนวยความสะดวกเป็นอย่างดีมาโดยตลอดในการดำเนินการเก็บข้อมูลและเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย

ขอขอบพระคุณผู้ป่วยอาสาสมัครทุกๆ ท่านที่ได้สละเวลาและให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการเก็บข้อมูลและเก็บตัวอย่างเลือด จนกระทั่งงานวิจัยสามารถดำเนินการไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และบุคลากรทุกท่านในภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยาที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และให้คำแนะนำมาโดยตลอดในการศึกษาระดับมหาบัณฑิต

และขอบคุณเพื่อนๆ ร่วมห้องวิจัยทุกคน ที่ให้กำลังใจ สนับสนุนและให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัวของผู้วิจัยที่ได้ให้การสนับสนุนด้านการศึกษา และเป็นกำลังใจในทุกๆ ด้าน จนทำให้การเรียนระดับมหาบัณฑิตและการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ จ

กิตติกรรมประกาศ ฉ

สารบัญ ช

สารบัญตาราง ซ

สารบัญภาพ ฌ

สารบัญแผนภูมิ ญ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 สมมติฐาน 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

1.5 คำสำคัญ 3

บทที่ 2 ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 โรคลมชัก 4

2.2 ยาลาโมทริจิน (Lamotrigine) 5

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน 8

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 22

3.1 ลักษณะตัวอย่างหรือประชากรที่ทำการศึกษา 22

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 23

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย 24

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล 30

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 31
4.1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย 31
4.2 ความถี่ของ SNPs ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* 34
4.3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน 37

บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 43

รายการอ้างอิง 49
ภาคผนวก 56
ภาคผนวก ก เอกสารรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ 57
ภาคผนวก ข สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 60
ภาคผนวก ค ระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา 62
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 66

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาลาโมทริจิน	7
2	แสดงความถี่ของอัลลีล *SCN1A* IVS5N+5 G>A ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ	12
3	ตัวอย่างยาที่เป็น substrates ของเอนไซม์ UGT1A4	15
4	แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *UGT1A4* c.142 T>G ประชากรเชื้อชาติต่างๆ	16
5	แสดงรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *ABCB1* c.3435C>T กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก	18
6	แสดงตัวอย่างยาที่เกิดอันตรกิริยากับยาลาโมทริจิน และระดับความมีนัยสำคัญทางคลินิก	21
7	แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A	27
8	แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *UGT1A4* c.142 T>G	27
9	แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T	28
10	แสดงการตั้งค่าอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR	29
11	แสดงข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย	31
12	แสดงรายการโรคร่วมอื่นๆ ของผู้ป่วย	33
13	แสดงรายการยากันชักอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับร่วมกับยาลาโมทริจินและระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา	33
14	แสดงความถี่อัลลีลของ SNPs ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ*ABCB1*	34
15	แสดงความถี่จีโนไทป์ของ SNPs ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1*	35
16	แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *SCN1A* IVS5N+5 G>A ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ	36
17	แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *UGT1A4* c.142T>G ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ	36
18	แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *ABCB1* c.3435C>T ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ	37

ตารางที่ หน้า

19 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน 38

20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มจีโนไทป์ของความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ*ABCB1* และปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน 40

21 แสดงโมเดล Non genetic และ Phamacogenetics สำหรับอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรมและไม่ใช่พันธุกรรม กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน 41

22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินกับความผันแปรในยีน *ABCB1* ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาลาโมทริจินเพียงชนิดเดียวจำนวน 45 ราย 42

23 แสดงระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา 63

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างของยาลาโมทริจิน	5
2	แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยาลาโมทริจินและยากันชักอื่นๆ ที่ออกฤทธิ์กับ sodium channel	6
3	แสดงกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาลาโมทริจิน	8
4	แสดงโครงสร้างของ voltage-gated sodium channel	11
5	แสดงการเกิด alternative splicing บน exon 5 ของ *SCN1A*	12
6	แสดงกลไกของกระบวนการ glucuronidation	13
7	แสดงตำแหน่งบนโครโมโซมของเอนไซม์ UGTs	14
8	แสดงตำแหน่งของ *UGT1A4*	15
9	แสดงพหุสัณฐานของยีน *ABCB1*	17
10	แผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินงานในการทำวิจัย	24

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

mean ± SD.	ค่าเฉลี่ยบวกลบส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
OR	odds ratios
95% CI	95% confidence interval
UGT	Uridine diphosphate-glucurosyltranferase
PCR	Polymerase Chain Reaction
SNPs	Single-nucleotide polymorphisms
กก.	กิโลกรัม
มก.	มิลลิกรัม
มก./วัน	มิลลิกรัมต่อวัน
มก./กก./วัน	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน
มคก./มล.	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
มคล.	ไมโครลิตร
มล./นาที	มิลลิลิตรต่อนาที
ลิตร/ชม./กก.	ลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคลมชัก (Epilepsy) เป็นโรคที่พบได้บ่อยและเป็นปัญหาเรื้อรังของโรคความผิดปกติทางระบบประสาท โดยประมาณว่าทั่วโลกมีผู้ป่วยโรคลมชักประมาณ 50 ล้านคน (World Health Organization [WHO], 2009) สำหรับประเทศไทยนั้นพบความชุกของโรคลมชักในอัตรา 7.2 คนต่อประชากร 1,000 คน (Mac และคณะ, 2007; สมาคมโรคลมชักแห่งประเทศไทย และ สถาบันประสาทวิทยา กรมการแพทย์, 2552) จึงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญปัญหาหนึ่ง

ในการรักษาโรคลมชักนั้นมีเป้าหมายคือป้องกันไม่ให้เกิดอาการชัก (seizure free) และไม่เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยา (Lowenstein, 2008) ผู้ป่วยโรคลมชักส่วนใหญ่สามารถควบคุมอาการชักจากการรักษาด้วยยากันชัก แต่ยังมีผู้ป่วยโรคลมชักประมาณร้อยละ 30 ที่ยังคงมีอาการชักอยู่ถึงแม้ว่าจะได้รับการรักษาด้วยยากันชักที่เหมาะสมแล้วก็ตาม (Kwan และ Brodie, 2000; Kwan และ Sander, 2004) การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละรายนั้นไม่สามารถทำนายได้ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากความแตกต่างระหว่างบุคคล เป็นผลมาจากหลายปัจจัยร่วมกัน เช่น อายุ เพศ น้ำหนัก ลักษณะของโรคลมชัก และส่วนหนึ่งมาจากปัจจัยด้านพันธุกรรมของผู้ป่วย (Depondt, 2006; Löscher และคณะ, 2009)

ยาลาโมทริจิน (Lamotrigine; LTG) เป็นยากันชักกลุ่มใหม่ที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา คือมีฤทธิ์ยับยั้งช่องทางไอออนโซเดียมทำให้ยับยั้งการหลั่งของกรดอะมิโนชนิดกระตุ้น ใช้ในการรักษาโรคลมชักแบบ partial seizures ที่มีหรือไม่มี secondary generalization ร่วม และได้ผลดีกับ absence seizure ด้วย (Brodie, 1992) ซึ่งการใช้ยาลาโมทริจินก็ประสบปัญหาเช่นเดียวกับยากันชักชนิดอื่นๆ โดยพบว่าผู้ป่วยมีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินแตกต่างกัน กล่าวคือประมาณร้อยละ 40 ของผู้ป่วยโรคลมชักที่ได้รับการรักษาด้วยยาลาโมทริจินอย่างเหมาะสมแล้วนั้นไม่สามารถควบคุมอาการชักได้ ส่วนผู้ป่วยที่สามารถควบคุมอาการชักได้ก็ต้องการขนาดยาที่แตกต่างกันมาก ตั้งแต่ 50-600 มก./วัน (Kwan และ Brodie, 2001) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ต้องใช้เวลานานในการปรับขนาดหรือเปลี่ยนชนิดของยาเพื่อที่จะสามารถควบคุมอาการชักได้ ทำให้เกิดความเสี่ยงในการชักระหว่างที่ผู้ป่วยยังไม่สามารถควบคุมอาการชักได้

ปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีรายงานพบมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยากันชัก คือความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variations) ของยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยากันชัก ได้แก่ยีน *SCN1A* ที่ถ่ายทอด α subunit type I ของ voltage-gated sodium channel ในสมองซึ่งเป็นเป้าหมายหลักในการออกฤทธิ์ของยากันชัก ยีน *UGT1A4* ที่ถ่ายทอดเอนไซม์ UDP-glucuronosyl transferase ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักในการเปลี่ยนแปลงยาลาโมทริจิน และยีน *ABCB1* ที่ถ่ายทอด P-glycoprotein (P-gp) ซึ่งเป็น transmembrane protein ที่มีหน้าที่ในการขนส่งยาออกภายนอกเซลล์ โดยมีหลักฐานทางการศึกษาว่ายาลาโมทริจินมีเป้าหมายในการออกฤทธิ์ที่ voltage-gated sodium channel และเป็น substrate ของ P-gp (Potschka, 2002) ดังนั้นในการศึกษาเภสัชพันธุศาสตร์ครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความผันแปรทางพันธุกรรมในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย ซึ่งอาจช่วยในการอธิบายและทำนายการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยชาวไทยได้ และนำไปสู่การศึกษาเพิ่มเติมเพื่อการรักษาโรคลมชักด้วยยามีประสิทธิภาพ และช่วยให้ผู้ป่วยสามารถควบคุมอาการชักได้อย่างรวดเร็วและมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรมคือ ความผันแปรในยีน *SCN1A* ที่ถ่ายทอด α subunit type I ของ voltage-gated sodium channel ในสมอง (*SCN1A* IVS5N+5G>A), ความผันแปรในยีน *UGT1A4* ที่ถ่ายทอดเอนไซม์ UDP-glucuronosyl transferase (*UGT1A4* c.142T>G หรือ L48V) และความผันแปรในยีน *ABCB1* ที่ถ่ายทอด P-glycoprotein (*ABCB1* c.3435C>T) ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีขอบเขตในการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรม คือ ความผันแปรในยีน *SCN1A* คือ IVS5N+5G>A, ความผันแปรในยีน *UGT1A4* คือ c.142T>G หรือ L48V และความผันแปรในยีน *ABCB1* คือ c.3435C>T ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกต่างๆ กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

ปัจจัยทางพันธุกรรม คือ ความผันแปรในยีน *SCN1A* คือ IVS5N+5G>A, ความผันแปรในยีน *UGT1A4* คือ c.142T>G หรือ L48V และความผันแปรในยีน *ABCB1* คือ c.3435C>T ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการทำวิทยานิพนธ์

1.5.1 ได้ข้อมูลความสัมพันธ์ของความผันแปรของยีน *SCN1A* คือ IVS5N+5G>A, ความผันแปรในยีน *UGT1A4* คือ c.142T>G หรือ L48V และความผันแปรในยีน *ABCB1* คือ c.3435C>T และปัจจัยทางคลินิก กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย เพื่ออธิบายความแตกต่าง หรือทำนายการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.5.2 เพื่อทราบความถี่ของการเกิดความผันแปรทางพันธุกรรมแบบ single nucleotide polymorphisms (SNPs) ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และความผันแปรในยีน *ABCB1* ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.6 คำสำคัญ

Lamotigine

Lamotrigine responsive epilepsy

Lamotrigine resistant epilepsy

SCN1A polymorphism

UGT1A4 polymorphism

ABCB1 polymorphism

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคลมชัก

โรคลมชัก (Epilepsy) เป็นภาวะความผิดปกติของระบบประสาทที่ผู้ป่วยมีอาการชัก (seizure) ซ้ำโดยที่ไม่มีปัจจัยชักนำของการชักอย่างชัดเจน ซึ่งอาการชักนั้นเป็นอาการที่เกิดอย่างเฉียบพลันจากคลื่นไฟฟ้าที่ผิดปกติจำนวนมากที่เกิดขึ้นพร้อมกันในเซลล์ประสาทของระบบประสาทส่วนกลาง (Lowenstein, 2008) ซึ่งทั่วโลกนั้นพบผู้ป่วยโรคลมชักประมาณ 50 ล้านคน (World Health Organization [WHO], 2009) สำหรับประเทศไทยพบความชุกของโรคลมชักในอัตรา 7.2 คนต่อประชากร 1,000 คน หรือประมาณ 3.8-4.7 แสนคน โดยโรคลมชักอาจทำให้เกิดความพิการทางสมอง ซึ่งกระทบทั้งต่อตัวผู้ป่วยและเป็นภาระของครอบครัวและสังคม จึงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญ (Mac และคณะ, 2007; สมาคมโรคลมชักแห่งประเทศไทย และสถาบันประสาทวิทยา กรมการแพทย์, 2552)

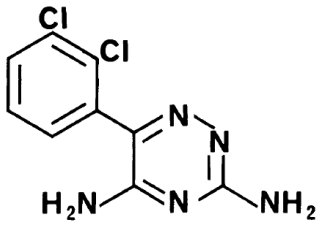
หลักการรักษาโรคลมชักมีหลายประการด้วยกันได้แก่ การให้ยากันชักเพื่อควบคุมอาการชัก การรักษาที่สาเหตุของการชักในรายที่เป็น symptomatic epilepsy การหลีกเลี่ยงและควบคุมสิ่งกระตุ้น การดูแลรักษาและฟื้นฟูสมรรถภาพทางด้านจิตใจและสังคม และการพิจารณารักษาโดยการผ่าตัด (epilepsy surgery) ในรายที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก (Lowenstein, 2008) ซึ่งเป้าหมายสูงสุดของการรักษาโรคลมชัก คือ การที่ผู้ป่วยไม่มีอาการชักอีกเลย (seizure free) และไม่มีอาการไม่พึงประสงค์จากยา โดยมุ่งหวังให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีที่สุด (Gidal และ Garnet, 2005; Hirsch และ Pedly, 2008; Vickrey และคณะ, 1994)

ในปัจจุบัน วิธีการหลักในการรักษาโรคลมชักคือการรักษาโดยการใช้ยากันชัก ซึ่งพบว่าผู้ป่วยกว่าร้อยละ 70 สามารถควบคุมอาการชักได้ด้วยยากันชัก แต่พบว่าผู้ป่วยอีกประมาณร้อยละ 30 ไม่สามารถควบคุมอาการได้ ทั้งที่ได้รับการรักษาด้วยยากันชักที่เหมาะสมแล้วก็ตาม นอกจากนี้ยังมีผู้ป่วยอีกส่วนหนึ่งที่เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการรักษาผู้ป่วยโรคลมชักนั้นมีความผันแปรสูงในประสิทธิภาพของการรักษา การเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา ตลอดจนขนาดยาที่เหมาะสมในผู้ป่วยแต่ละราย (Löscher และคณะ, 2009)

ทั้งนี้มีปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้ผู้ป่วยแต่ละรายมีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาที่แตกต่างกัน โดยสามารถแบ่งออกได้เป็นปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางพันธุกรรม (non-genetic factors) ซึ่งได้แก่ เพศ อายุ น้ำหนักตัว การเกิดอันตรกิริยาจากยาอื่นๆที่ใช้ร่วมกัน (drug interaction) เป็นต้น และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางพันธุกรรม (genetic factors) ที่ส่งผลต่อกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ของยาในร่างกาย ตั้งแต่กระบวนการดูดซึมยา (absorption) การกระจายยา (distribution) การเมแทบอลิซึม (metabolism) การออกฤทธิ์ที่ตำแหน่งเป้าหมายของยา (target) ตลอดจนการกำจัดยาออกจากร่างกาย (elimination) (Balant และคณะ, 1989)

2.2 ยาลาโมทริจิน (Lamotrigine; LTG)

ยาลาโมทริจินเป็นยากันชักกลุ่มใหม่ (new generation) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น [3,5-diamino-6-(2,3 dichlorophenyl)-1,2,4-triazine] ซึ่งเป็นสารประกอบ phenyltriazine ที่ถูกสังเคราะห์มาจาก folic acid antagonist ดังแสดงในภาพที่ 1 (Brodie, 1992)



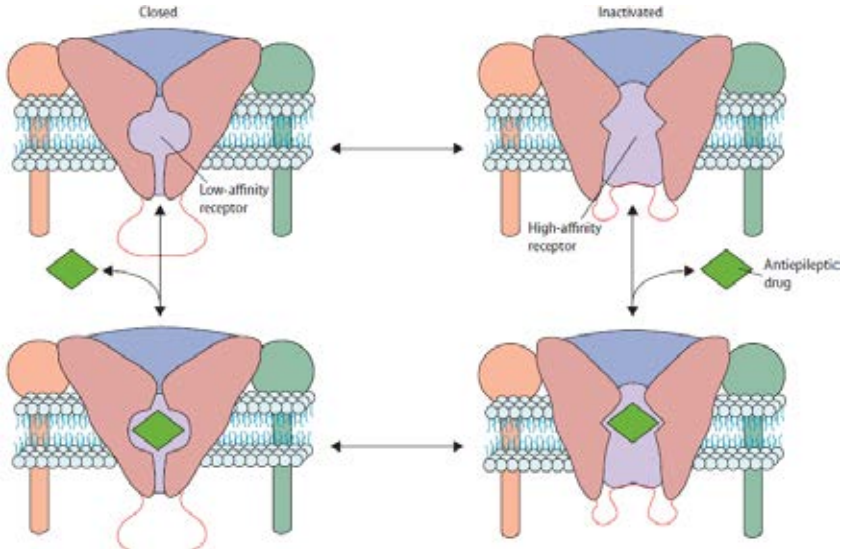
ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของยาลาโมทริจิน

ยาลาโมทริจินมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาคล้ายกับ phenytoin และ carbamazepine ถึงแม้ว่าคุณสมบัติทางเคมีจะแตกต่างกัน โดยได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา ในเดือนธันวาคม ค.ศ. 1994 ให้ใช้เป็นยากันชักในการรักษา partial seizures ที่มีหรือไม่มี secondary generalization ร่วม และได้ผลดีกับ absence seizure ด้วย นอกจากนี้ยังใช้ในการรักษา bipolar disorders (Brodie, 1992) โดยขนาดของยาในการรักษาโรคลมชักคือ 100-700 มก./วัน ขึ้นอยู่กับยากันชักตัวอื่นที่ใช้ร่วมด้วย โดยถ้าได้รับร่วมกับยากันชักกลุ่มเหนี่ยวนำเอนไซม์ เช่น phenytoin, carbamazepine และ phenobarbital ขนาดของยาเท่ากับ 200-700 มก./วัน แต่ถ้าได้รับยาร่วมกับยากันชักกลุ่มที่ยับยั้งเอนไซม์ ได้แก่ sodium valproate ขนาดของยาเท่ากับ 100-150

มก./วัน โดยมีช่วงยายังผลในการรักษา (therapeutic range) ระหว่าง 2.5-15 มคก./มล. (Kwan และ Brodie, 2001)

2.2.1 คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาและกลไกการออกฤทธิ์ของยาลาโมทริจิน

ยาลาโมทริจินออกฤทธิ์ต้านชักผ่านกลไกหลัก คือการยับยั้งที่ α subunit ของ voltage-gated sodium channel ในสมอง โดยการจับกับตัวรับที่อยู่บนผิวด้านนอกของ sodium channel ที่อยู่ในภาวะ inactivated state มีผลให้การปิดของ sodium channel ในภาวะ inactivated state มีระยะเวลานานขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 2 ทำให้การเกิด action potential ของเซลล์ประสาทที่เป็นลักษณะของอาการชัก ซึ่งมีความถี่สูงและเกิดแบบซ้ำๆ ลดลง ส่งผลให้ลดการอาการชักได้ ยังมีผลยับยั้งการหลั่งของกรดอะมิโนชนิดกระตุ้น ได้แก่ glutamate นอกจากนั้นยังอาจออกฤทธิ์ผ่าน voltage-gated calcium channel อีกด้วย (Stefani และคณะ, 1997; Wang และคณะ, 1996)



ภาพที่ 2 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยาลาโมทริจินและยากันชักอื่นๆ ที่ออกฤทธิ์กับ sodium channel (ที่มา; Mantegazza และคณะ, 2010)

2.2.2 คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาลาโมทริจิน

ยาลาโมทริจินถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารอย่างรวดเร็วและสมบูรณ์โดยไม่มี first pass metabolism พบระดับสูงสุดในเลือดหลังรับประทานยาไปแล้วประมาณ 2-5 ชั่วโมง การ

รับประทานยาหลังอาหารจะเลื่อนระยะเวลาที่ระดับยาสูงสุดของยาในเลือดออกไปเล็กน้อย แต่ไม่มีผลต่อปริมาณการดูดซึม พบว่ารูปแบบเภสัชจลนศาสตร์เป็นแบบแนวเส้นตรง เมื่อให้ยาแบบครั้งเดียวในขนาดสูงถึง 450 มก. นอกจากนี้ยังพบว่ามีความผันแปรระหว่างบุคคลมากที่ระดับยาสูงสุดที่สภาวะคงที่ แต่สำหรับความเข้มข้นในแต่ละบุคคลจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และมีการจับกับโปรตีนในพลาสมาได้ประมาณร้อยละ 55 โดยการแทนที่ยาจากโปรตีนในพลาสมาไม่มีผลให้เกิดเป็นพิษ มีปริมาตรของการกระจายยา (volume of distribution) ประมาณ 0.92-1.22 ลิตร/กิโลกรัม ทั้งนี้ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาลาโมทริจิน สรุปได้ดังตารางที่ 1

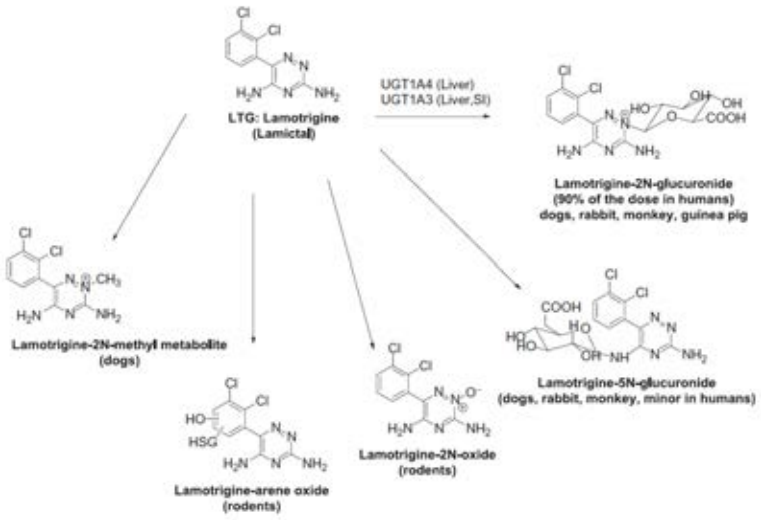
ตารางที่ 1 แสดงพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาลาโมทริจิน

พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	ค่าพารามิเตอร์ของยาลาโมทริจิน
ระยะเวลาที่ให้ระดับยาสูงสุด (T_{max})	2-5 ชั่วโมง
ค่าชีวประสิทธิผล (Bioavailability)	98%
ปริมาตรการกระจายของยา (Vd)	1-2 ลิตร/กิโลกรัม
การจับกับโปรตีน (Protein binding)	55%
ค่าครึ่งชีวิตของยา (Half-life)	29 ชั่วโมง
อัตราการกำจัดยา (Clearance)	42 มิลลิลิตร/นาที

ที่มา; Brodie, 1992.

การเปลี่ยนแปลงของยาลาโมทริจินพบว่า UDP-glucuronyl transferases (UGTs) เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดเมแทบอไลต์ของยาลาโมทริจิน โดยผ่านกระบวนการ glucuronidation ที่ตับ โดย UGT1A4 เป็นเอนไซม์หลัก นอกจากนั้นยังมีเอนไซม์ UGT1A3 และ UGT2B7 ที่มีส่วนในกระบวนการ glucuronidation

ยาลาโมทริจินถูกเมแทบอไลต์ที่ตำแหน่งที่ 2 ของ triazine ring ให้อยู่ในรูป quaternary ammonium glucuronide โดยได้เมแทบอไลต์หลักที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาคือ 2-N-glucuronide (ประมาณร้อยละ 80-90 ของขนาดยาที่ได้รับ) โดยที่ 5-N-glucuronide จะเป็นเมแทบอไลต์รอง (ประมาณร้อยละ 10 ของขนาดยาที่ได้รับ) ซึ่งทั้งหมดถูกขับออกทางปัสสาวะ ดังที่แสดงในภาพที่ 3 โดยยาลาโมทริจินสามารถเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงตัวเอง (autoinduction) โดยขึ้นกับขนาดยาที่ให้ ทำให้อัตราการกำจัดยาเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับยาลาโมทริจินเป็นยาเดี่ยวอย่างต่อเนื่อง



ภาพที่ 3 แสดงกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาลาโมทริจิน (ที่มา; Argikar และ Rammel, 2009)

ในอาสาสมัครสุขภาพดีมีค่าเฉลี่ยการกำจัดยาที่สภาวะคงที่ เท่ากับ 39±14 มล./นาที ค่าครึ่งชีวิตเฉลี่ยในการกำจัดยาเท่ากับ 24 ถึง 35 ชั่วโมง ค่าการกำจัดและค่าครึ่งชีวิตของยาลาโมทริจินไม่ได้ขึ้นกับขนาดยาที่ให้ แต่การให้ยากันชักที่ใช้รักษาร่วมกับยาลาโมทริจิน จะมีผลอย่างมากต่อค่าครึ่งชีวิตของยาลาโมทริจิน โดยเมื่อให้ยากันชักที่มีฤทธิ์ในการเหนี่ยวนำเอนไซม์ เช่น carbamazepine และ phenytoin จะทำให้ค่าครึ่งชีวิตเฉลี่ยของยาลาโมทริจิน ลดลงประมาณ 14 ชั่วโมง ในขณะที่ค่าครึ่งชีวิตของยาลาโมทริจินจะเพิ่มขึ้นประมาณ 70 ชั่วโมง เมื่อให้ร่วมกับ sodium valproate ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ นอกจากนั้นจากการศึกษาผู้ป่วยที่เป็น Gilbert's Syndrome เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เป็นปกติ พบว่าค่าเฉลี่ยการกำจัดยาลดลงร้อยละ 32 แต่ยังคงอยู่ในระดับของประชากรทั่วไป

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน พบว่าผู้ป่วยมีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละราย โดยพบว่าประมาณร้อยละ 40 ของผู้ป่วยโรคลมชักที่ได้รับการรักษาด้วยยาลาโมทริจินอย่างเหมาะสมแล้วนั้น ไม่สามารถควบคุมอาการชักได้ ส่วนผู้ป่วยที่สามารถควบคุมอาการชักได้ (seizure free) ก็ต้องการขนาดยาที่แตกต่างกันมาก ตั้งแต่ 50-600 มก./วัน (Kwan และ Brodie, 2001)

โดยประมาณว่าหนึ่งในสามของผู้ป่วยโรคลมชักนั้นไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก (Devinsky, 1999) ถึงแม้ว่าในปัจจุบันมียากันชักใหม่ๆ เพิ่มขึ้นหลายชนิด โดยผู้ป่วยโรคลมชักต้องได้รับการรักษาด้วยยากันชักหลายชนิดเป็นเวลานาน ก่อนที่จะพบว่าเกิดการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก ทำให้เกิดผลเสียทั้งการเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยากันชักหลายชนิด การดำเนินไปของโรคลมชักที่รุนแรง และค่าใช้จ่ายในการรักษาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญ มีการเสนอกระบวนการที่อธิบายการไม่ตอบสนองต่อยาคือ 1.ความแตกต่างของกระบวนการทางเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamics) เนื่องจากการตอบสนองของเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาในแต่ละบุคคลอาจแตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความผันแปรทางพันธุกรรมในยีนที่ถ่ายทอดส่วนประกอบของไอออนชาแนล หรือตัวรับสารสื่อประสาทที่ลดความไวต่อการตอบสนองต่อยากันชัก 2.ความแตกต่างของกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) เนื่องจากระดับยากันชักไม่สามารถไปถึงยังบริเวณที่ออกฤทธิ์ได้เพียงพอต่อการรักษา โดยมีการเปลี่ยนแปลงของการทำงานของเอนไซม์หรือมีการเปลี่ยนแปลงของการนำเข้ายากันชักไปยังสมองจุดที่เกิดพยาธิสภาพ (Remy และ Beck, 2006) โดยมีการรายงานถึงการเพิ่มขึ้นของ multidrug transporters ที่เนื้อสมองบริเวณที่มีพยาธิสภาพของผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักที่ต้องเข้ารับการผ่าตัด (Kwan และ Brodie, 2001) อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลยืนยันที่จำกัดเกี่ยวกับยากันชักที่มีการขนส่งผ่านทาง multidrug transporters

นอกจากนี้ความแตกต่างกันของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินเช่นเดียวดับยากันชักชนิดอื่นๆ ในผู้ป่วยแต่ละรายนั้น อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ของยาระหว่างบุคคล ตั้งแต่กระบวนการดูดซึม (absorption) การกระจายยา (distribution) การเปลี่ยนแปลงยา (metabolism) การออกฤทธิ์ที่ตำแหน่งเป้าหมายของยา (target) และการกำจัดยาออกจากร่างกาย (elimination) ซึ่งเป็นผลจากหลายปัจจัยทั้งปัจจัยทางคลินิก เช่น เพศ อายุ น้ำหนักตัว สภาวะของโรค การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา และส่วนหนึ่งอาจเป็นผลมาจากปัจจัยทางพันธุกรรมของผู้ป่วย (Depondt, 2006; Löscher และคณะ, 2009)

2.3.1 ปัจจัยด้านพันธุกรรม

ในด้านเภสัชพลศาสตร์ยาลาโมทริจินออกฤทธิ์ผ่านกลไกหลักคือการยับยั้งที่ voltage-gated sodium channel ที่ α subunit ใน inactivated state ทำให้ลดการเกิด action potential

ที่มีความถี่สูงและเกิดขึ้นซ้ำๆของเซลล์ประสาท เป็นลักษณะของการเกิดอาการชัก ซึ่งมีผลยับยั้งการหลั่งของกรดอะมิโนชนิดกระตุ้น ได้แก่ glutamate นอกจากนั้นยังอาจออกฤทธิ์ผ่าน voltage-gated calcium channel อีกด้วย (Stefani และคณะ, 1997; Wang และคณะ, 1996) ซึ่งความผันแปรทางพันธุกรรมในยีนที่ถ่ายทอด voltage-gated sodium channel ซึ่งเป็นเป้าหมายหลักในการออกฤทธิ์ของยาลาโมทริจินอาจเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเภสัชพลศาสตร์ของยาและเป็นสาเหตุของความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินระหว่างบุคคล

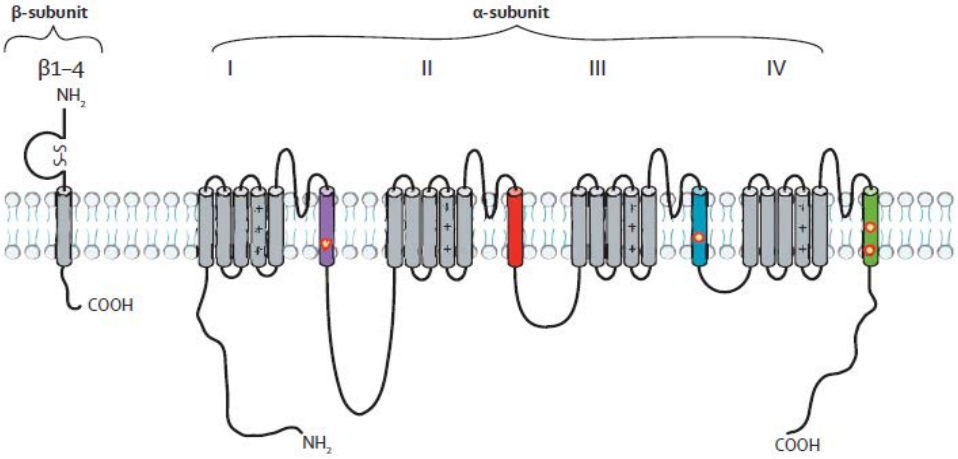
ในด้านเภสัชจลนศาสตร์ยาลาโมทริจินถูกเปลี่ยนแปลงโดยการ glucuronidation ที่อะตอมของไนโตรเจนตำแหน่งที่ 2 ของ triazine ring ทำให้เป็นเมแทบอไลต์ที่ไม่มีฤทธิ์ โดยเอนไซม์ UDP-glucuronosyl transferase (Lu และ Uetrecht, 2007) ซึ่งความผันแปรทางพันธุกรรมในยีนที่ถ่ายทอด UDP-glucuronosyl transferase ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาลาโมทริจินอาจเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาและเป็นสาเหตุของความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาระหว่างบุคคล

นอกจากคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของยาที่เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึมยาเข้าสู่กระแสเลือด ยังพบว่ามี drug efflux transporter เป็นตัวจำกัดการดูดซึม การกระจายยา หรือการขับออกของยา โดยปกติร่างกายมี drug efflux transporter หลายชนิด พบว่าตัวหนึ่งที่สำคัญและมีความเกี่ยวข้องกับการดื้อยาหลายชนิดคือ P-glycoprotein (P-gp) (Fromm, 2004) รายงานการศึกษาของ Potschka และคณะ(2002) ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ *in vivo* microdialysis ในหนูแรทโดยใช้ยา verapamil ที่มีผลยับยั้ง P-gp เพื่อดูระดับยากันชักทั้ง 3 ชนิดได้แก่ phenobarbital, felbamate และยาลาโมทริจินที่สมอง พบว่าเมื่อมีการให้ verapamil ผ่านทาง microdialysis probe ระดับยากันชักทั้ง 3 ชนิดใน extracellular fluid ของสมองส่วน cerebral cortex เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายาลาโมทริจินเป็น substrate ตัวหนึ่งของ P-gp

2.3.1.1 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน *SCN1A*

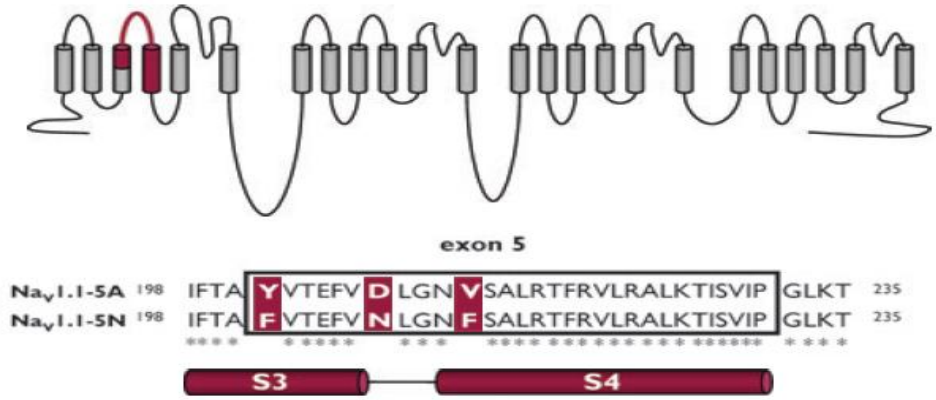
ความผันแปรทางพันธุกรรมในยีนที่ถ่ายทอด voltage-gated sodium channel ซึ่งเป็นเป้าหมายหลักในการออกฤทธิ์ของยาลาโมทริจิน โดย voltage-gated sodium channel นั้นประกอบด้วย α และ β subunit ซึ่งยาลาโมทริจินออกฤทธิ์ยับยั้ง sodium channel โดยการจับกับตัวรับที่อยู่บน α subunit ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักและควบคุมคุณสมบัติที่สำคัญของ channel โดย

α subunit ประกอบด้วย 4 โดเมน (DI-DIV) ซึ่งแต่ละโดเมนมี 6 เซกเมนต์ (S1-S6) ประกอบกันเป็น ion-conducting pore และ channel gate สำหรับการเกิด activation และ inactivation ของ sodium channel โดยที่เซกเมนต์ที่ 4 ของทุกโดเมนประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีประจุบวก และทำหน้าที่เป็น voltage sensor ส่วนเซกเมนต์ที่ 6 ของโดเมนที่ 1, 3 และ 4 เป็นตำแหน่งที่จับกับยากันชักต่างๆ ดังที่แสดงในภาพที่ 4 (Ragsdale และ Avoli, 1998; Denac, Mevissen และ Scholtysik, 2000; Catterall, Goldi และ Waxman, 2005; Mantegazza และคณะ, 2010) มีการศึกษาพบว่า α subunitมีอยู่ 9 subtype ($Na_v1.1$-$Na_v1.9$) โดยที่มีการแสดงออกในสมอง ที่สำคัญคือ $Na_v1.1$, $Na_v1.2$, $Na_v1.3$ และ $Na_v1.6$ ซึ่งถูกควบคุมโดยยีน *SCN1A SCN2A SCN3A และ SCN6A* ตามลำดับ (Yu และ Catterall, 2003; Mantegazza และคณะ, 2010)



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของ voltage-gated sodium channel (ที่มา Mantegazza และคณะ, 2010)

SCN1A เป็นยีนที่ควบคุมการแสดงออกของ $Na_v1.1$ ซึ่งเป็น α subunit ที่สำคัญที่แสดงออกในสมอง ยีน *SCN1A* มีขนาด 81 กิโลไบต์ ประกอบด้วย 26 exon อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 ตำแหน่ง 2q24.3 และเป็นส่วนหนึ่งของกลุ่มยีน voltage-gated sodium channel ซึ่งประกอบด้วยยีน *SCN2A, SCN3A, SCN7A และ SCN9A* (Lossin, 2009) การเกิดพหุสัณฐานของ *SCN1A* คือ IVS5N+5 G>A (rs3812718) มีตำแหน่งอยู่บน intron 5 โดยการเกิดพหุสัณฐานนี้มีความสำคัญต่อกระบวนการ splicing ของ exon 5 ซึ่ง exon 5 จะควบคุมการแสดงออกของ voltage sensor ของ channel ซึ่งพบว่า exon 5 มีการแสดงออกทั้งในรูปแบบ neonatal exon (5N) และ adult exon (5A) ซึ่งมีกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน 3 ตำแหน่ง ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 แสดงการเกิด alternative splicing บน exon 5 ของ *SCN1A* (ที่มา; Thompson และคณะ, 2011)

จากการศึกษาที่ผ่านมาในผู้ป่วยโรคลมชัก พบความถี่ของอัลลีล *SCN1A* IVS5N+5 G>A มีความแตกต่างกันไปในประชากรเชื้อชาติต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงความถี่ของอัลลีล *SCN1A* IVS5N+5 G>A ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

Ethnicity	G allele	A allele	เอกสารอ้างอิง
British, n = 850	406 (47.8)	444 (52.2)	Tate และคณะ, 2005
Japanese, n = 456	158 (34.6)	298 (65.4)	Abe และคณะ, 2008
Austrian, n = 738	304 (41.2)	434 (58.8)	Zimprich และคณะ, 2008
Han Chinese, n = 934	373 (39.9)	561 (60.1)	Kwan และคณะ, 2008
Indian, n = 724	336 (46.4)	388 (53.6)	Grover และคณะ, 2010
Italian, n = 1766	855 (48.4)	911 (51.6)	Manna และคณะ, 2011

แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ), n = จำนวนอัลลีล

โดยการศึกษาของ Tate และคณะ(2005) เป็นการศึกษาแรกที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความผันแปรทางพันธุกรรมในยีน *SCN1A* ซึ่งควบคุมการแสดงออกของ α subunit ของ sodium channel ในสมองกับขนาดของยาในผู้ป่วยโรคลมชัก พบว่า IVS5N+5 G>A ซึ่งเป็น single nucleotide polymorphism (SNP) ในยีน *SCN1A* มีความสัมพันธ์กับขนาดยาสูงสุดที่

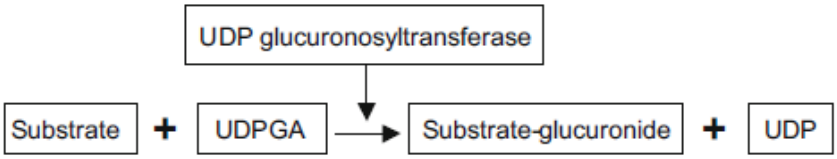
ใช้ในการรักษาของยา carbamazepine โดยผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ AA จะสัมพันธ์กับขนาดยาสูงสุดที่ใช้ในการรักษาของยา carbamazepine ที่สูงกว่าผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ GG

โดยรายงานการศึกษาของ Thompson และคณะ(2011) รายงานการทดสอบความแตกต่างทั้งคุณสมบัติทางชีวภาพและทางเภสัชวิทยาของความผันแปรทางพันธุกรรมในยีน *SCN1A* คือ IVS5N+5 G>A ซึ่งพบในส่วน splice donor site ในยีน *SCN1A* ของระบบประสาทที่ถ่ายทอด Nav1.1 พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมสัดส่วนของ transcripts แบบ canonical (5A) หรือ alternative (5N) ที่ exon 5 โดยพบว่า G allele มีการแสดงออกทั้งในรูปแบบ 5A และ 5N ในขณะที่ A allele มีผลให้การแสดงออกของ 5N ลดลง เมื่อทดสอบโดยใช้ whole-cell patch clamp พบว่า Nav1.1 channels ที่ถูกถ่ายทอดจาก G allele ที่ประกอบด้วย exon 5N ไวต่อการตอบสนองต่อการใช้ยาลาโมทริจินทั้งการเพิ่มขึ้นของ tonic block และ use dependent block

จากการศึกษาของ Krikova และคณะ(2009) ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ของความผันแปรทางพันธุกรรมของ IVS5N+5 G>A ในยีน *SCN1A* และขนาดยาลาโมทริจินในเลือดของผู้ป่วยโรคลมชักชาวคอเคเชียน พบว่าผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ GG มีความสัมพันธ์กับขนาดยาที่ใช้เป็นมก./วัน และระดับยาในเลือดที่ต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ AA ชี้ให้เห็นว่าความผันแปรทางพันธุกรรมของ IVS5N+5 G>A ในยีน *SCN1A* อาจมีผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

2.3.1.2 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน *UGT1A4*

เอนไซม์ UDP-glucuronosyl transferase (UGTs) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ในกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาใน phase II โดยเป็นเอนไซม์ในการเมแทบอลิซึมทั้ง xenobiotics และ endobiotics ด้วยการเติมกลุ่ม glucuronide (uridine 5’ diphosphoglucuronic acid; UDPGA) ทำให้เกิดสารประกอบที่ละลายน้ำ ซึ่งสามารถถูกขับออกทางน้ำดี และ/หรือ ปัสสาวะ ตามภาพที่ 6

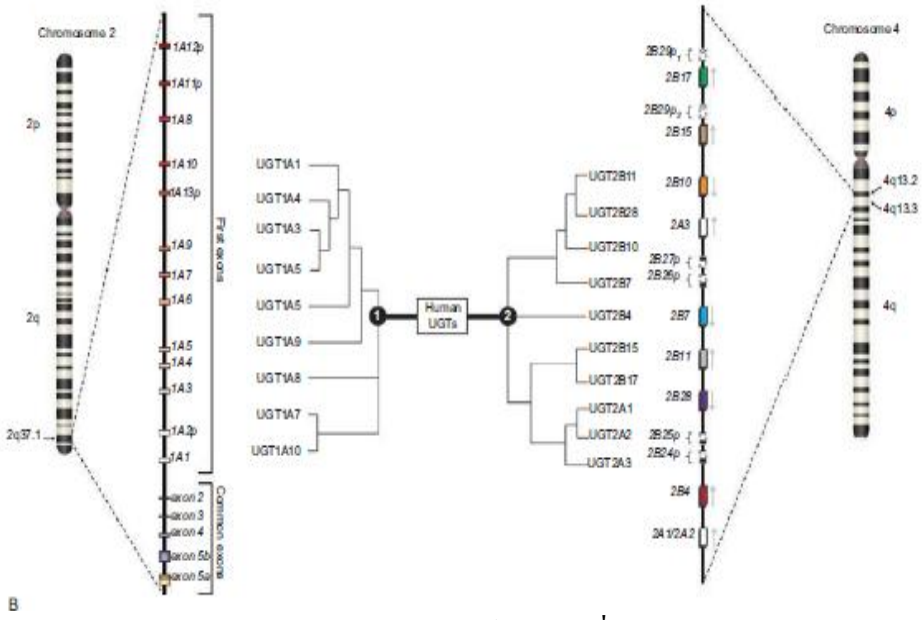


ภาพที่ 6 แสดงกลไกของกระบวนการ glucuronidation (ที่มา; Wildt และคณะ, 1999)

ในคน UGTs เอนไซม์ ถูกแบ่งเป็น 2 families (UGT1 และ UGT2) ตามลำดับของกรดอะมิโน ดังแสดงตามภาพที่ 7

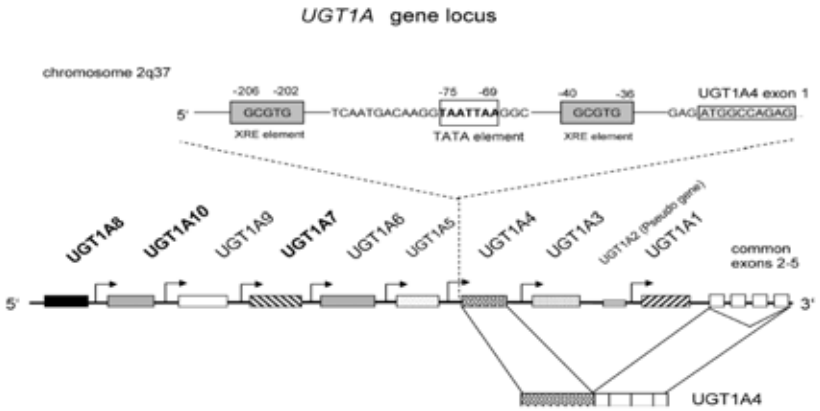
1. UGT1 subfamily ถูกถ่ายทอดโดยยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 ตำแหน่ง 2q37 โดยมีความแตกต่างกันที่ exon 1 และเหมือนกันในส่วน exon ที่ 2 ถึง 5 มีทั้งหมด 13 isoforms โดยที่ 9 isoform (UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A5, 1A6, 1A7, 1A8, 1A9 และ 1A10) ถ่ายทอดได้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ ส่วนที่เหลือเป็น pseudogenes

2. UGT2 subfamily ถูกแบ่งเป็น UGT2A และ UGT2B ถูกถ่ายทอดโดยยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 4 (ตำแหน่งที่ 4q13 และ 4q28) ทุกยีนของ UGT2 subfamily ประกอบด้วย 6 exon โดย UGT2A มี 1 isoform คือ UGT2A1 ส่วน UGT2B มี 7 isoforms คือ 2B4, 2B7, 2B10, 2B11, 2B15, 2B17 และ 2B28



ภาพที่ 7 แสดงตำแหน่งบนโครโมโซมของเอนไซม์ UGTs (ที่มา; Guillemette และคณะ, 2010)

กระบวนการ glucuronidation มีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ UGTs มากกว่า 1 isoform โดยแต่ละ isoform มีหน้าที่ที่เกี่ยวเนื่องกัน และทำหน้าที่แตกต่างกันไปในแต่ละ substrates ความผันแปรทางพันธุกรรมในยีนที่ถ่ายทอด UGT1A4 ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักในการเปลี่ยนแปลงยาลาโมทริจินอาจเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาและเป็นสาเหตุของความแตกต่างในการตอบสนองต่อยาระหว่างบุคคล แต่ยังมีข้อมูลยืนยันที่จำกัด เนื่องจากปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการผันแปรในยีนของ UGT1A4 เพียงเล็กน้อย



ภาพที่ 8 แสดงตำแหน่งของ *UGT1A4* (ที่มา; Guillemette และคณะ, 2010)

โดยเอนไซม์ UGT1A4 เป็น UGTs isoforms ที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลง primary, secondary, tertiary amines สารก่อมะเร็งที่มีลักษณะเป็น aromatic amines (β-napthylamine, 4-aminobiphenyl และ benzidine), androgens, progestins ยาที่ใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ที่เป็น substrates ของเอนไซม์ UGT1A4 แสดงในตารางที่ 3 โดยเอนไซม์ UGT1A4 พบได้ที่ตับเป็นส่วนใหญ่ และยังพบได้ใน ลำไส้ใหญ่ ลำไส้เล็ก และท่อน้ำดีด้วย

ตารางที่ 3 ตัวอย่างยาที่เป็น substrates ของเอนไซม์ UGT1A4

Therapeutic agent	**Drug Substrates**
Tricyclic antidepressants	amitriptyline, imipramine, doxepin
Antipsychotic agents	chlorpromazine, clozapine, olanzapine, trifluoperazine
Anticonvulsants	lamotrigine, retigabine
Antihistaminics	cyproheptadine, diphenhydramine
Anticancer agents	tamoxifen

ปัจจุบันพบความผันแปรในยีน *UGT1A4* ทั้งหมด 21 variants แยกได้เป็น 19 SNPs และ 2 framshift mutation โดยมีพหุสัณฐานของยีน *UGT1A4* ที่มีการศึกษาเกี่ยวกับหน้าที่การทำงานของเอนไซม์อยู่ 2 SNPs

- *UGT1A4* c.142 T>G (L48V) มีการเปลี่ยนแปลงเบส T เป็น G ที่นิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 142 ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจาก valine เป็น leucine ที่ codon 48

- *UGT1A4* c.70 C>A (P24T) มีการเปลี่ยนแปลงเบส C เป็น A ที่นิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 70 ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจาก proline เป็น threonine ที่ codon 24

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบความถี่ของอัลลีล *UGT1A4* c.142 T>G มีความแตกต่างกันไปในประชากรเชื้อชาติต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *UGT1A4* c.142 T>G ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

Ethnicity	T allele	G allele	เอกสารอ้างอิง
Japanese, n = 512	446 (87.1)	66 (12.9)	Saeki และคณะ, 2005
Japanese, n = 200	167 (83.5)	33 (16.5)	Mori และคณะ, 2005
German, n = 632	575 (91)	57 (9)	Ehmer และคณะ, 2004
Turkish, n = 258	198 (76.7)	60 (23.3)	Gulcebi และคณะ, 2011
Swedish, n = 224	195 (87.1)	29 (12.9)	Ghotbi และคณะ, 2010
Korean, n = 80	68 (85)	12 (15)	Yea และคณะ, 2008

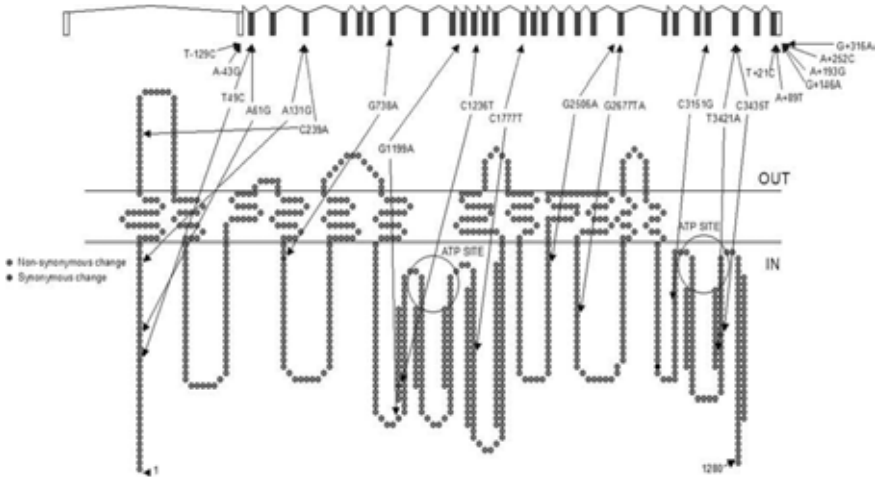
แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ), n = จำนวนอัลลีล

การศึกษาของ Saeki และคณะ (2005) เป็นการศึกษาในชาวญี่ปุ่นจำนวน 256 คน พบความผันแปรทางพันธุกรรมทั้งหมด 19 SNPs ที่ exon 1 ของยีน *UGT1A4* โดยพบความถี่ haplotype ของ *UGT1A4* c.142 T>G (L48V) polymorphism ร้อยละ 12 ซึ่งเป็น SNP ที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของเอนไซม์

การศึกษาของ Glucebi และคณะ(2011) เป็นการศึกษาที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความผันแปรทางพันธุกรรมในยีน *UGT1A4* กับระดับของยาในเลือดของผู้ป่วยโรคลมชักชาวตุรกี พบว่า *UGT1A4* c.142 T>G (L48V) ในยีน *UGT1A4* มีความสัมพันธ์กับระดับยาในเลือดของยาลาโมทริจิน โดยผู้ป่วยที่มี *UGT1A4* c.142 T>G (L48V) polymorphism มีระดับยาในเลือดที่ต่ำกว่าผู้ป่วยลักษณะแบบ wild type และการศึกษาของ Zhou และคณะ(2011) ที่ศึกษาผลของ SNPs ได้แก่ *UGT1A4* c.70 C>A (P24T) และ *UGT1A4* c.142 T>G (L48V) กับหน้าที่ของเอนไซม์ UGT1A4 ใน cell lines พบว่า P24T และ L48V polymorphism มีผลทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์ลดลง ทำให้การทำหน้าที่ของเอนไซม์ลดลง ซึ่งผลการศึกษาชี้ถึงความสำคัญของความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *UGT1A4* กับความผันแปรของยาลาโมทริจินใน *in vivo*

2.3.1.3 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน *ABCB1*

นอกจากคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของยาที่เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึมยาเข้าสู่กระแสเลือด ยังพบว่ามี drug efflux transporter เป็นตัวจำกัดการดูดซึม การกระจายยา หรือการขับออกของยา โดยปกติร่างกายมี drug efflux transporter หลายชนิด พบว่าตัวหนึ่งที่สำคัญและมีความเกี่ยวข้องกับการดื้อยาหลายชนิดคือ P-glycoprotein (P-gp) (Fromm, 2004) ซึ่งพบว่ามีการแสดงออกที่เนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการขับออก ได้แก่ ลำไส้เล็ก ตับ ไต และเนื้อเยื่อบริเวณที่เป็น blood-tissue barriers ได้แก่ blood-brain barrier, blood-testis barrier และ placenta (Fromm, 2004; Gottesman และคณะ, 1995) โปรตีนชนิดนี้ถูกถ่ายทอดโดยยีน ATP-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) หรือ multidrug-resistance-1 gene (MDR-1) *ABCB1* เป็นยีนที่มีรายงานการเกิดพหุสัณฐานมากมายกว่า 50 SNPs ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 แสดงพหุสัณฐานของยีน *ABCB1* (ที่มา; Leschziner และคณะ, 2007)

โดยพบว่า *ABCB1* c.3435 C>T เป็น variant ตัวแรกที่มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกและการทำหน้าที่ของ P-gp ในลำไส้ของมนุษย์ (Hoffmeyer และคณะ, 2000) โดยในการศึกษาพบว่ากลุ่มที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็น CC จะมีการแสดงออกของ P-gp ในลำไส้ส่วน duodenum สูงกว่ากลุ่มที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็น TT ถึง 2 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของระดับยาในเลือดของ digoxin ซึ่งเป็น substrate ของ P-gp

มีรายงานการศึกษาของ Potschka และคณะ(2002) ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ *in vivo* microdialysis แสดงให้เห็นว่ายาลาโมทริจินเป็น substrate ของ P-gp ดังนั้น ความผันแปรทาง

พันธุกรรมในยีนที่ถ่ายทอด drug efflux transporter ของยาลาโมทริจินจึงอาจส่งผลต่อคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา และเป็นสาเหตุหนึ่งที่อาจส่งผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินของผู้ป่วยได้

มีการศึกษาหลากหลายพหุสัณฐานของยีนที่เกี่ยวกับ drug transporters โดยเฉพาะ c.3435 C>T ที่อยู่บน exon 25 ของยีน *ABCB1* ที่ถ่ายทอด P-gp โดยพบว่าจีโนไทป์ CC มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของโปรตีน เนื่องจากหลักฐานดังกล่าวจึงเป็นที่มาของการศึกษาของ Siddiqui และคณะ(2003) ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ population-based association study มีการตั้งสมมติฐานว่าความผันแปรของ c.3435 C>T มีความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก พบว่าผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยากันชักมีจีโนไทป์ CC มากกว่าผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ TT [OR 2.66, 95% CI 1.32-5.28, p = 0.006] แต่ผลการศึกษาต่อมายังมีความขัดแย้งกัน ตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *ABCB1* c.3435 C>T กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก

Ethnicity	**ผลการศึกษา**	**เอกสารอ้างอิง**
British, n = 315	CC สัมพันธ์กับ PR	Siddiqui และคณะ, 2003
Australian, n = 210	ไม่พบความสัมพันธ์	Tan และคณะ, 2004
Austrian, n = 210	CC สัมพันธ์กับ PR	Zimprich และคณะ, 2004
Han Chinese, n = 331	CC สัมพันธ์กับ PR	Hung และคณะ, 2005
Scottish, n = 400	ไม่พบความสัมพันธ์	Sills และคณะ, 2005
Korean, n = 170	ไม่พบความสัมพันธ์	Kim และคณะ, 2006
Japanese, n = 210	TT สัมพันธ์กับ PR	Seo และคณะ, 2006
British, n = 503	ไม่พบความสัมพันธ์	Leschziner และคณะ, 2006
Han Chinese, n = 746	TT สัมพันธ์กับ PR	Kwan และคณะ, 2007
Irish, n = 355	ไม่พบความสัมพันธ์	Shahwan และคณะ, 2007
Han Chinese, n = 327	CC สัมพันธ์กับ PR	Hung และคณะ, 2007
Turkish, n = 89	ไม่พบความสัมพันธ์	Dericioglu และคณะ, 2008
Indian, n = 325	ไม่พบความสัมพันธ์	Lakhan และคณะ, 2008

PR = การไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก (Pharmacoresistance)

ซึ่งผลการศึกษาที่ยังไม่สามารถสรุปได้จึงทำให้เป็นที่น่าสนใจในการศึกษาซ้ำกับยาลาโมทริจินซึ่งเป็น substrate ตัวหนึ่งของ P-gp

2.3.2 ปัจจัยทางคลินิก

ความแตกต่างของกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาลาโมทริจินระหว่างบุคคล ซึ่งอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของยานั้นขึ้นกับหลายปัจจัย ได้แก่ อายุ เพศ การใช้ยาร่วมกับยาอื่นๆ และปัจจัยทางพันธุกรรม สำหรับปัจจัยทางคลินิกนั้นมีหลายปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับเกี่ยวกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก ได้แก่ สาเหตุของการชัก (etiology), อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก ประเภทของอาการชัก จำนวนการชักก่อนเริ่มรักษา ประวัติโรคลมชักในครอบครัว ประวัติการเกิด febrile convulsions การได้รับการบาดเจ็บทางสมองซึ่งเป็นสาเหตุของโรคลมชัก (Kwan และ Brodie, 2000; Sisodiya และ Marini, 2009)

อายุ

อายุมีผลต่อการทำงานของอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย ที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเภสัชจลนศาสตร์ของยาได้ เนื่องจากยาลาโมทริจินถูกกำจัดด้วยการ conjugation ซึ่งเมื่อแรกเกิดกระบวนการนี้ยังทำงานไม่สมบูรณ์ ทำให้อัตราการกำจัดยาออกลดลงประมาณร้อยละ 50 ในทารกแรกเกิดอายุน้อยกว่า 2 เดือน เมื่อเทียบกับทารกอายุ 2-12 เดือน (0.12±0.002 และ 0.22±0.09 ลิตร/ชม./กก.; P<0.001) (Mikati และคณะ, 2002) อัตราการกำจัดยาลาโมทริจินในเด็กเร็วกว่าในผู้ใหญ่ โดยอัตราการกำจัดยาในเด็กเพิ่มขึ้นร้อยละ 35-125 ส่วนในผู้สูงอายุกระบวนการ glucuronidation ของยาลาโมทริจินจะลดลง (Perucca และคณะ, 2006) พบว่าอายุเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการเภสัชจลนศาสตร์ของยาลาโมทริจิน (Reimer และคณะ, 2007)

เพศ

มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของเพศกับการเมแทบอลิซึมของยา เนื่องจากความแตกต่างทางสรีรวิทยา โดยพบว่าปริมาตรการกระจายของยาลาโมทริจินในเพศหญิงต่ำกว่าในเพศชายประมาณร้อยละ 27 (Grasela และคณะ, 1999) และยังมีรายงานว่าการทำงานของ

เอนไซม์ UGTs ในกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาในเพศหญิงต่ำกว่าในเพศชายอีกด้วย แต่ผลขึ้นอยู่กับชนิดของยาที่เป็น substrate และชนิดของ UGTs isozyme (Meibohm และคณะ, 2002) แต่ในการศึกษาความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักกับปัจจัยต่างๆ นั้น ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยด้านเพศกับการตอบสนองต่อยากันชัก (Sánchez และคณะ, 2012)

อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก และประเภทของอาการชัก

ผู้ป่วยที่เพิ่งได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคลมชักและได้รับการรักษาด้วยยากันชักในครั้งแรก พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่เริ่มเป็นโรคลมชักตั้งแต่อายุน้อย และมีอาการชักแบบ partial seizure มี seizure free น้อยกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่เริ่มเป็นโรคลมชักตอนอายุมากกว่าและมีอาการชักแบบ generalized seizure (Cockerell และคณะ, 1997) สอดคล้องกับผลการศึกษาต่อมาที่พบว่าประมาณร้อยละ 60 ของผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก มีอาการชักแบบ partial seizure และผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการชักร่วมกันหลายชนิดทำให้การควบคุมอาการชักได้ไม่ดี (Mohanraj และ Brodie, 2006; Sánchez และคณะ, 2012)

การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

โรคลมชักเป็นโรคเรื้อรังที่มีความผิดปกติทางระบบประสาทที่ต้องได้รับการรักษาด้วยยากันชักอย่างต่อเนื่อง ผู้ป่วยส่วนหนึ่งไม่สามารถควบคุมอาการชักได้ด้วยยาเพียงชนิดเดียว ทำให้จำเป็นต้องได้รับยากันชักร่วมกันหลายชนิด นอกจากนั้นผู้ป่วยบางส่วนอาจมีโรคประจำตัวอื่นๆ ที่ต้องได้รับยาเพื่อรักษาโรคอื่นๆ ร่วมด้วย จึงมีโอกาสที่เกิดอันตรกิริยาระหว่างยาลาโมทริจินกับยาอื่นๆ ได้ ซึ่งอาจส่งผลเพิ่มหรือลดประสิทธิภาพของการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน หรือทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยาได้

ยาลาโมทริจินถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับด้วยกระบวนการ glucuronidation โดย UGT1A4 เป็นเอนไซม์หลัก และยังมีเอนไซม์ UGT1A3 และ UGT2B7 ที่มีส่วนร่วมในกระบวนการ glucuronidation ยาลาโมทริจินสามารถเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงตัวเอง (autoinduction) โดยขึ้นกับขนาดยาที่ให้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีหลักฐานที่แสดงว่ายาลาโมทริจินมีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยากันชักอื่นๆ และไม่มีการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกันของยาลาโมทริจินกับยาที่ถูกเมแทบบอไลต์โดยเอนไซม์ cytochrome P450 แต่การให้ยาที่มีฤทธิ์ในการเหนี่ยวนำเอนไซม์หรือมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์จะทำให้ค่าครึ่งชีวิตเฉลี่ยของยาลาโมทริจินลดลงหรือเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลต่อฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ

ยา ดังตารางที่ 6 ซึ่งแสดงตัวอย่างยาที่เกิดอันตรกิริยากับยาลาโมทริจินโดยเพิ่มการเปลี่ยนแปลงยามีผลให้ลดฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และการลดการเปลี่ยนแปลงยามีผลเพิ่มฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ตารางที่ 6 แสดงตัวอย่างยาที่เกิดอันตรกิริยากับยาลาโมทริจิน และระดับความมีนัยสำคัญทางคลินิก*

ยาที่ส่งผลเพิ่มฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาลาโมทริจิน
Valproic acid [2]
ยาที่ส่งผลลดฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาลาโมทริจิน
Acetaminophen [4]
Carbamazepine [2]
Oxcarbazepine [4]
Rifampin [2]
Ethosuximide [2]
Phenytoin [2]
Phenobabital [2]

*ความหมายและการกำหนดระดับนัยสำคัญทางคลินิกได้แสดงไว้ในภาคผนวก (ที่มา Tatro, 2010)

ด้วยหลักฐานดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* ซึ่งถ่ายทอดโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการทางเภสัชพลศาสตร์และเภสัชจลนศาสตร์ของยาลาโมทริจิน อาจมีอิทธิพลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วย ดังนั้นการศึกษาเภสัชพันธุศาสตร์ครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* กับการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทยซึ่งสามารถใช้อธิบายความแตกต่างและทำนายการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยชาวไทย ซึ่งอาจมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 ลักษณะตัวอย่างหรือประชากรที่ทำการศึกษา

3.1.1 ประชากรเป้าหมาย คือ ผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทยที่ได้รับการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ณ แผนกผู้ป่วยนอก คลินิกประสาทวิทยา ของโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และสถาบันประสาทวิทยา ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร

3.1.2 การเลือกตัวอย่าง

คัดเลือกผู้ป่วยอาสาสมัครเข้าร่วมงานวิจัยตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria) ดังนี้คือ

- เป็นผู้ป่วยโรคลมชักที่มีสัญชาติไทยและมีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป
- เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ทั้งที่ใช้เป็นยาเดี่ยวและใช้ร่วมกับยาอื่นๆ โดยผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในขนาดเดิมติดต่อกันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือนก่อนเข้าร่วมการวิจัย

ผู้ป่วยจะถูกคัดออกจากการวิจัยหากมีลักษณะตามเกณฑ์การคัดเลือกออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria) ดังนี้คือ

- ผู้ป่วยที่ไม่ให้ความร่วมมือในการรับประทานยา (non compliance)
- ผู้ป่วยที่มีบันทึกข้อมูลการรักษาและความถี่ของอาการชักไม่ชัดเจน
- ผู้ป่วยที่มีโรคทางจิตเวชร่วมที่ยังควบคุมอาการไม่ได้
- ผู้ป่วยที่ติดแอลกอฮอล์หรือสารเสพติด

การประเมินความร่วมมือในการรับประทานยากันชัก (compliance) โดยการสัมภาษณ์ผู้ป่วยหรือญาติผู้ดูแล การพิจารณาว่าผู้ป่วยไม่ให้ความร่วมมือในการรับประทานยา คือ มีการลืมรับประทานทานยาตั้งแต่ 2 ครั้งขึ้นไปภายในระยะเวลา 1 เดือน ก่อนการประเมินการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินของผู้ป่วยในการควบคุมอาการชัก

3.1.3 ขนาดตัวอย่าง

การคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย logistic regression ใช้

หลัก minimum number of events per variable (EPV) (Peduzzi และคณะ, 1996) ดังนี้

$$N = 10\ k / p$$

โดย p คือ สัดส่วนของ case ในประชากร

k คือ จำนวนตัวแปรอิสระในการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนตัวแปรอิสระที่จะศึกษาจำนวน 4 ตัวแปร ได้แก่ SNPs ในยีน *SCN1A* คือ IVS5N+5 G>A, ในยีน *UGT1A4* คือ c.142T>G และในยีน *ABCB1* คือ c.3435C>T และตัวแปรซึ่งเป็น non-genetic factor อย่างน้อย 1 ตัวแปร และจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าสัดส่วนของผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินมีประมาณ 0.40 (Kwan และ Brodie, 2001)

ดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ต้องใช้ในการศึกษานี้ เท่ากับ (10 x 4)/ 0.40 = 100 คน

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี

Erythrocyte lysis buffer (QIAGEN, Germany), QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Germany), Phosphate Buffer Saline (PBS, เตรียมขึ้นเอง), Taqman Genotyping assay (rs3812718, rs2011425 และ rs1045642, Applied Biosystem, USA), Taqman Universal PCR Master Mix without UNG (Applied Biosystem, USA) และ DNAse free water (AppliChem, Germany)

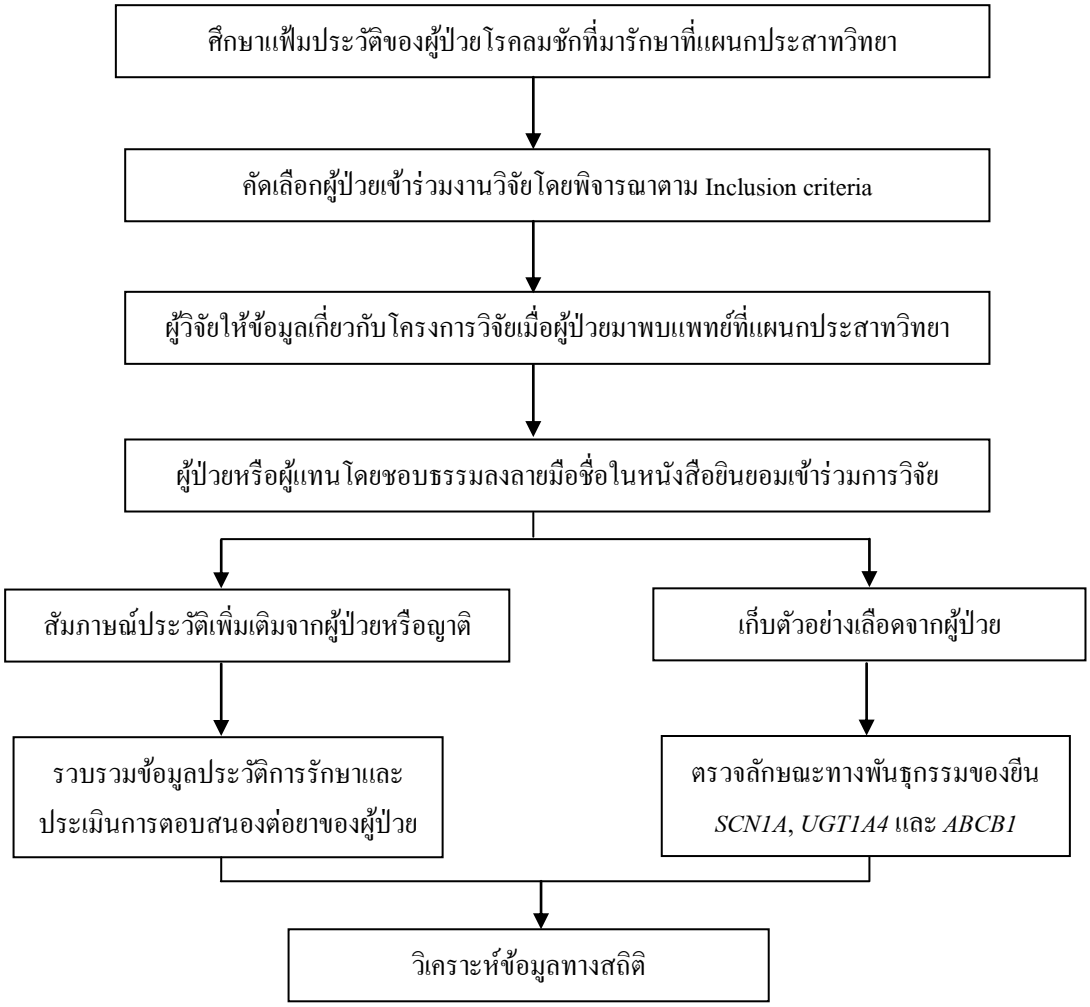
อุปกรณ์และเครื่องมือ

K3EDTA tube (BD vacutainer, USA), เครื่อง centrifuge Hermle Z383K (Hermle Labortechnik Gmbh, Germany), เครื่อง centrifuge Mikro 120 (Hettich Zentrifugen, USA), เครื่อง Vortex mixer (Labnet International Inc., USA), เครื่อง NanoDropTM 1000 spectrophotometer (Thermo Scientific, USA), MicroAmp Optical 96-well reaction plate (Applied Biosystems, USA), MicroAmp Optical Adhesive Film kit (Applied Biosystems, USA) และ StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, USA)

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นรูปแบบการวิจัยโดยการสังเกต (Observational research) แบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study)

3.3.1 แผนภูมิการดำเนินงาน



ภาพที่ 10 แผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินงานในการทำวิจัย

3.3.2 การดำเนินการวิจัย

1. การเก็บข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

รวบรวมข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย ได้แก่ อายุ เพศ น้ำหนักตัว ประวัติการรักษา ประวัติการชัก และประวัติครอบครัวที่เกี่ยวข้องจากแฟ้มประวัติของผู้ป่วย ร่วมกับการสัมภาษณ์ผู้ป่วยหรือญาติ หลังจากผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัยด้วยความสมัครใจ และลงลายมือชื่อในแบบฟอร์มยินยอมการเข้าร่วมโครงการวิจัย

2. การประเมินการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินของผู้ป่วย

ประเมินการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินของผู้ป่วยในการควบคุมอาการชักจากผลการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน โดยแบ่งผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน (lamotrigine-responsive epilepsy) และ กลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน (lamotrigine-resistant epilepsy) ตามนิยามของ International League Against Epilepsy ดังนี้ (Kwan และคณะ, 2010)

Lamotrigine-responsive epilepsy คือ การที่ผู้ป่วยไม่มีอาการชักใดๆ รวมถึงอาการเตือนก่อนชัก (aura) เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เท่าของระยะห่างของอาการชัก (interseizure interval) หรือ 12 เดือนแล้วแต่ช่วงเวลาใดนานกว่าหลังจากได้รับยาลาโมทริจินในขนาดที่เหมาะสมแล้ว

Lamotrigine-resistant epilepsy คือ การที่ผู้ป่วยยังมีอาการชักอยู่หลังจากได้รับยาลาโมทริจินในขนาดที่เหมาะสมแล้ว

3. การเก็บตัวอย่างเลือด

หลังจากผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมลงลายมือชื่อยินยอมเข้าร่วมการวิจัย จะทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณแขนของผู้ป่วยแต่ละราย โดยเก็บเลือดประมาณ 10 มิลลิลิตรใส่ใน EDTA tube เพื่อนำมาใช้ในการสกัด DNA

4. การเตรียมตัวอย่าง DNA

4.1 การแยก Buffy coat

นำตัวอย่างเลือดที่อยู่ใน EDTA tube มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ ความเร็วรอบ 2500 rpm เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วดูดเอาชั้น Buffy coat ซึ่งจะเห็นลักษณะเป็นชั้นบางๆ สีขาวตรงรอยต่อระหว่างพลาสมาและเซลล์เม็ดเลือดแดง จากนั้นเก็บตัวอย่างชั้น Buffy coat ที่ได้ในตู้แช่ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปสกัด DNA

4.2 การแยกเอาเม็ดเลือดแดงออกจากชั้น Buffy coat

ใช้ Erythrocyte lysis buffer (QIAGEN, German) ล้างเอาเม็ดเลือดแดงออก ก่อนที่จะนำไปสกัด DNA โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ ผสม Erythrocyte lysis buffer เข้ากับ Buffy coat ที่แยกได้ทั้งหมด แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็ง (4 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ ความเร็วรอบ 400 g เวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วเทน้ำด้านบนทิ้ง เหลือส่วนตะกอนไว้ จากนั้นจึงเติม Erythrocyte lysis buffer ลงไปผสมให้เข้ากันอีกครั้ง จากนั้นนำไปแช่น้ำแข็ง (4 องศาเซลเซียส) ไว้เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 400 g เวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วเทส่วนน้ำออก แล้วล้างตะกอน Buffy coat ที่เหลือด้วยสารละลาย PBS จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ดูดเอาส่วนน้ำทิ้งไป แล้วจึงเก็บส่วน Buffy coat ที่ได้ไว้ในตู้แช่ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปสกัด DNA

4.3 การสกัด DNA จาก buffy coat

ทำการสกัด DNA โดยใช้ชุดสกัด QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, German) ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้คือ เติมตัวอย่าง buffy coat ที่ผสมกับ PBS 200 ไมโครลิตร ลงใน QIAGEN protease 20 ไมโครลิตร ตามด้วยการเติม Buffer AL (lysis buffer) 200 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่าง แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำตัวอย่างไป incubate ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม absolute ethanol 200 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดตัวอย่างทั้งหมดใส่ลงใน spin column จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง filtrate ไป จากนั้นเติม Buffer AW1 500 ไมโครลิตรลงไปใน column แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง filtrate ไป จากนั้นเติม Buffer AW2 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที ทิ้ง filtrate ไป

แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการชะ DNA ออกมาโดยการเติม Buffer AE 100 ไมโครลิตร แล้ว incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จะได้ filtrate คือ DNA ที่ต้องการ จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไปวัดความเข้มข้นโดยใช้เครื่อง Nanodrop แล้วเก็บ DNA ที่สกัดได้ไว้ในตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาตรวจลักษณะจีโนไทป์ต่อไป

5. การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G และ*ABCB1* c.3435 C>T

ทำการตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ 3 SNPs คือ *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>Gและ*ABCB1* c.3435 C>T โดยใช้ชุดทดสอบ TaqMan® Genotyping Assays (Applied Biosystem, USA) ซึ่งมีวิธีการดังนี้คือ

5.1 การเตรียมตัวอย่าง DNA

ทำการเจือจางตัวอย่าง DNA ด้วย DNAse free water ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย ประมาณ 10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร

5.2 การเตรียม reaction mixture

เตรียม reaction mixtures สำหรับปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ 3 candidate SNPs ให้มีปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยาเท่ากับ 20 ไมโครลิตร โดยมีส่วนประกอบในปฏิกิริยาดังแสดงตารางที่ 7 และใช้ DNase free water เป็น negative control

ตารางที่ 7 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A

ส่วนประกอบในปฏิกิริยา	**ปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยา (มคล.)**
2X TaqMan Genotyping Master Mix	10
40X TaqMan SNP Genotyping Assay	0.5
Dnase free Water	7.5
ตัวอย่าง DNA (10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร)	2
ปริมาตรรวมต่อหนึ่งปฏิกิริยา	20

สำหรับส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR เพื่อตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *UGT1A4* c.142 T>G ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *UGT1A4* c.142 T>G

ส่วนประกอบในปฏิกิริยา	**ปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยา (มคล.)**
2X TaqMan Genotyping Master Mix	10
40X TaqMan Drug Metabolism Genotyping Assay	0.5
Dnase free Water	7.5
ตัวอย่าง DNA (10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร)	2
ปริมาตรรวมต่อหนึ่งปฏิกิริยา	20

สำหรับส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR เพื่อตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T

ส่วนประกอบในปฏิกิริยา	**ปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยา (มคล.)**
2X TaqMan Genotyping Master Mix	10
20X TaqMan SNP Genotyping Assay	1
Dnase free Water	7
ตัวอย่าง DNA (10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร)	2
ปริมาตรรวมต่อหนึ่งปฏิกิริยา	20

ทำการเตรียม reaction mixture ของแต่ละ SNPs โดยคำนวณปริมาตรรวมที่ต้องใช้ของ 2x TaqMan Genotyping Mastermix, 40X หรือ 20X TaqMan SNP Genotyping Assay หรือ 40X TaqMan Drug Metabolism Genotyping Assay และ DNase free Water ในแต่ละ reaction mixture โดยเตรียมเกินไว้ 2 ปฏิกิริยา

ทำการเตรียม reaction mixture ของแต่ละ SNPs โดยการปิเปตส่วนประกอบต่างๆ

ดังตารางที่ 7-9 ตามปริมาตรที่ได้คำนวณไว้ ใส่ลงใน microcentrifuge tube แล้วนำไปผสมให้เข้ากัน โดยเตรียมทีละ SNPs จนครบทั้ง 3 SNPs ทั้งนี้ reaction mixture ที่เตรียมเสร็จแล้วต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสตลอดเวลา

5.3 การเตรียม reaction plate

เติม reaction mixture ของแต่ละ SNPs ปริมาตร 18 ไมโครลิตรใส่ลงในแต่ละช่องของ PCR plate ให้ครบตามจำนวนตัวอย่าง DNA ที่ต้องการตรวจ และอีก 1 ช่องสำหรับ negative control จากนั้นเติมตัวอย่าง DNA จำนวน 2 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละช่องของ reaction plate ที่ได้เติม reaction mixture ไว้แล้วจนครบทุกตัวอย่าง และเติม DNAse free Water ในช่อง negative control ของแต่ละ SNPs โดยทำแบบเดียวกันทั้ง 3 SNPs จากนั้นนำแผ่นฟิล์มมาปิดบน reaction plate ให้สนิท แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อขจัดฟองอากาศ จากนั้นจึงนำ reaction plate ที่เตรียมเสร็จแล้วไปทำ PCR ต่อไป

5.4 การทำ Polymerease Chain Reaction (PCR)

ทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้เครื่อง StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, USA) โดยทำการตั้งค่าอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR ไว้ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงการตั้งค่าอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR

ระยะเวลาและอุณหภูมิ		
Initial Steps	**Denature**	**Anneal/Extension**
HOLD	50 Cycles	
10 นาที 95 องศาเซลเซียส	15 วินาที 92 องศาเซลเซียส	90 วินาที 60 องศาเซลเซียส

หลังจากการทำ PCR เสร็จสมบูรณ์แล้ว ลักษณะจีโนไทป์ของทั้ง 3 SNPs จะถูกวิเคราะห์ต่อด้วยโปรแกรม StepOnePlus software เวอร์ชั่น 2.1

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย แสดงผลในรูปความถี่และร้อยละ หรือในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

3.4.2 ความถี่ของ SNPs ในยีน *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G และ *ABCB1* c.3435 C>T (allele frequencies และ genotype frequencies) แสดงในรูปร้อยละ และทดสอบ Hardy – Weinberg Equilibrium โดยใช้ Chi-square test

3.4.3 เปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน กับกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน โดยใช้ Chi-square test, Student's t-test หรือ Mann-Whitney test ตามความเหมาะสม

3.4.4 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรม ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินโดยใช้ Multiple Logistic Regression analysis และแสดงผลในรูปของ odds ratios (OR) พร้อมกับ 95% confidence interval (95% CI)

ข้อมูลทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 16.0 ซึ่งจะพิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยอาสาสมัครได้รับคัดเลือกเข้าร่วมงานวิจัยและลงลายมือชื่อยินยอมเข้าร่วมงานวิจัยทั้งสิ้น 104 คน ซึ่งสามารถนำข้อมูลของผู้ป่วยอาสาสมัครทั้ง 104 คนมาวิเคราะห์ข้อมูลได้ครบ

ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยอาสาสมัครได้แสดงไว้ในตารางที่ 11 โดยผู้ป่วยอาสาสมัคร 104 คนมีอายุอยู่ในช่วง 15-71 ปี และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 57 กิโลกรัม โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่ร้อยละ 78 เป็นโรคลมชักชนิด focal epilepsy อายุเฉลี่ยที่ผู้ป่วยเริ่มมีอาการชัก 22 ปี ระยะเวลาเฉลี่ยที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยากันชัก 16 ปี ระยะเวลาเฉลี่ยที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน 2 ปี ขนาดของยาลาโมทริจินเฉลี่ยที่ผู้ป่วยได้รับต่อวันต่อน้ำหนักตัวเท่ากับ 2.21 ± 1.32 มก. /วัน/กก.

ในการศึกษานี้เมื่อพิจารณาถึงลักษณะการได้รับยากันชัก มีผู้ป่วยร้อยละ 57 ได้รับยากันชักชนิดอื่นๆ ควบคู่ไปกับยาลาโทริจินด้วย พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 45 คนที่ได้รับยาลาโมทริจินเพื่อควบคุมอาการชักเพียงตัวเดียว (monotherapy) คิดเป็นร้อยละ 43

ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

ข้อมูลทั่วไป/ข้อมูลทางคลินิก	ความถี่ (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ร้อยละ, (พิสัย)
จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด (คน)	104	
เพศ		
เพศชาย	37	35.6
เพศหญิง	67	64.4
อายุ (ปี)	39.61 ± 12.41	(15-71)
ช่วงอายุ		
< 20 ปี	3	3.8
20-29 ปี	21	19.3

ข้อมูลทั่วไป/ข้อมูลทางคลินิก	ความถี่ (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ร้อยละ, (พิสัย)
ช่วงอายุ		
30-39 ปี	28	26.9
40-49 ปี	27	26
50-59 ปี	20	19.2
60-69 ปี	4	3.8
≥70 ปี	1	1
น้ำหนักตัว (กก.)	57.59 ± 12.63	(32-95)
ประวัติโรคลมชักในครอบครัว		
มี	13	12.5
ไม่มี	91	87.5
ประวัติการผ่าตัดรักษาโรคลมชัก		
มี	16	15.4
ไม่มี	88	84.6
ประเภทของโรคลมชัก		
Focal epilepsy	81	77.9
Generalized epilepsy	22	21.2
Undetermined epilepsy	1	1.0
อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก (ปี)	21.84 ± 15.16	(1-70)
ระยะเวลาที่รักษาด้วยยากันชัก (ปี)	16.06 ± 10.72	(1-47)
ระยะเวลาที่รักษาด้วยยาลาโมทริจิน (ปี)	2.51 ± 1.64	(1-8)
รูปแบบการได้รับยากันชัก		
ใช้ยากันชักตัวเดียว (Monotherapy)	45	43.27
ใช้ยากันชักร่วมกันหลายตัว (Polytherapy)	59	56.73
ขนาดยาลาโมทริจินที่ได้รับต่อวันต่อน้ำหนักตัว (มก./วัน/กก.)	2.21 ± 1.32	(0.38-7.14)
ประวัติการมีโรคร่วมอื่นๆ		
ไม่มี	75	72.1
มี	29	27.9

ในการศึกษานี้พบว่า ผู้ป่วยอาสาสมัครประมาณร้อยละ 28 มีโรคอื่นๆ ร่วมด้วย โดยโรคร่วมที่พบมากที่สุด คือ โรคความดันโลหิตสูง (20%) รองลงมาคือ ภาวะไขมันในเลือดสูง

และโรคทางจิตเวชที่อาการคงที่ (13.33%) นอกจากนี้ยังมีโรคอื่นๆ ที่พบร่วมอีก ดังที่แสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงรายการโรคร่วมอื่นๆ ของผู้ป่วย*

โรคร่วม	**จำนวน**	**ร้อยละ**
Hypertension	6	20
Dyslipidemia	4	13.33
Psychosis (clinical improve)	4	13.33
Diabetes mellitus	3	10
Asthma	3	10
Hyperthyroid	2	6.67
Cardiovascular disease (CVD)	2	6.67
Migraine	1	3.33
Mental retardation	1	3.33
Parkinson	1	3.33
Hepatitis B	1	3.33
Prostate cancer	1	3.33
Gastroesophageal reflux disease	1	3.33
รวม	30	

*ผู้ป่วยบางรายมีโรคร่วมมากกว่า 1 โรค

ตารางที่ 13 ได้แสดงรายการยากันชักอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับร่วมกับยาลาโมทริจิน โดยชนิดยากันชักที่มีการใช้ร่วมกับยาลาโมทริจินมากที่สุดคือ sodium valproate รองลงมาคือ carbamazepine, clonazepam และ topiramate

ตารางที่ 13 แสดงรายการยากันชักอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับร่วมกับยาลาโมทริจินและระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา*

รายการยากันชักที่ใช้ร่วม	**จำนวนผู้ป่วย (คน)**
Phenytoin [sig.2]	12
Phenobarbital [sig.2]	12
Sodium valproate [sig.2]	30
Carbamazepine [sig.2]	29

รายการยากันชักที่ใช้ร่วม	จำนวนผู้ป่วย (คน)
Topiramate	16
Clonazepam	17
Levetiracetam	13
Gabapentin	2
Pregabalin	3
Clobazam	6
Zonisamide	4

*ความหมายและการกำหนดระดับนัยสำคัญทางคลินิกได้แสดงไว้ในภาคผนวก

4.2 ความถี่ของ SNPs ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1*

ผลการตรวจ candidate SNPs ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* จากตัวอย่าง DNA ของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวนทั้งหมด 104 ราย ได้แสดงไว้ในตารางที่ 14 โดยพบว่าความถี่อัลลีล (allele ferquencies) ของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G และ*ABCB1* c.3435 C>T ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย มีค่าเท่ากับ 0.61, 0.25 และ 0.48 ตามลำดับ

ตารางที่ 14 แสดงความถี่อัลลีลของ SNPs ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ*ABCB1*

SNPs	จำนวนอัลลีล	ความถี่อัลลีล (allele frequencies)
SCN1A c.IVS5N+5 G>A		
G allele	81	0.39
A allele	127	0.61
รวม	208	
UGT1A4 c.142 T>G		
T allele	157	0.75
G allele	51	0.25
รวม	208	
ABCB1 c.3435 C>T		
C allele	108	0.52
T allele	100	0.48
รวม	208	

ผลการตรวจลักษณะจีโนไทป์และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของแต่ละ SNPs ในยีน *SCN1A*, *ABCB1* และ *UGT1A4* พบว่าทุกจีโนไทป์นั้นอยู่ในสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium) (Chi-square test, *P*-value >0.05) ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงความถี่จีโนไทป์ของ SNPs ในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1*

SNPs	**จีโนไทป์**	**จำนวน**	**ความถี่จีโนไทป์**	**P-value***
SCN1A c.IVS5N+5 G>A	GG	14	13.46	0.4650
	AG	53	50.96	
	AA	37	35.58	
	รวม	104		
UGT1A4 c.142T>G	TT	59	56.73	0.8936
	TG	39	37.50	
	GG	6	5.77	
	รวม	104		
ABCB1 c.3435 C>T	CC	30	22.85	0.4410
	CT	48	46.15	
	TT	26	25.0	
	รวม	104		

*ทดสอบด้วย Chi-square test

เมื่อศึกษาเปรียบเทียบความถี่อัลลีลของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A ที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักครั้งนี้กับประชากรเชื้อชาติต่างๆ ในการศึกษาอื่นๆ ก่อนหน้านี้นั้น พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผู้ป่วยโรคลมชักชาวญี่ปุ่น (Abe และคณะ, 2008) และชาวจีนฮั่น (Kwan และคณะ, 2008) แต่มีความแตกต่างกับชาวอังกฤษ (Tate และคณะ, 2005) ชาวออสเตรีย (Zimprich และคณะ, 2008) ชาวอินเดีย (Grover และคณะ, 2010) และชาวอิตาลี (Manna และคณะ, 2011) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *SCN1A* IVS5N+5 G>A ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

Ethnicity	G allele	A allele	เอกสารอ้างอิง
Thai, n = 208	81 (38.9)	127 (61.1)	การศึกษานี้
British, n = 850	406 (47.8)	444 (52.2)*	Tate และคณะ, 2005
Japanese, n = 456	158 (34.6)	298 (65.4)	Abe และคณะ, 2008
Austrian, n= 738	304 (41.2)	434 (58.8)*	Zimprich และคณะ, 2008
Han Chinese, n = 934	373 (39.9)	561 (60.1)	Kwan และคณะ, 2008
Indian, n = 724	336 (46.4)	388 (53.6)*	Grover และคณะ, 2010
Italian, n = 1766	855 (48.4)	911 (51.6)*	Manna และคณะ, 2011

แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ), n = จำนวนอัลลีล

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากประชากรไทยในการศึกษานี้ (*P*-value <0.05, Chi-square test)

สำหรับการศึกษาเปรียบเทียบความถี่อัลลีลของ *UGT1A4* c.142T>G ที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักครั้งนี้กับประชากรเชื้อชาติต่างๆ ในการศึกษาอื่นๆ ก่อนหน้านี้นั้น พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผู้ป่วยโรคลมชักชาวตุรกี (Gulcebi และคณะ, 2010) แต่มีความแตกต่างกับชาวญี่ปุ่น (Saeki และคณะ, 2005 และ Mori และคณะ, 2005) ชาวเยอรมัน (Ehmer และคณะ, 2004) ชาวสวีเดน (Ghotbi และคณะ, 2010) และชาวเกาหลี (Yea และคณะ, 2008) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งบางการศึกษาไม่ได้ศึกษาในผู้ป่วยโรคลมชัก ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *UGT1A4* c.142T>G ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

Ethnicity	T allele	G allele	เอกสารอ้างอิง
Thai, n = 208	157 (75.5)	51 (24.5)	**การศึกษานี้**
Japanese, n = 512	446 (87.1)	66 (12.9)*	Saeki และคณะ, 2005
Japanese, n = 200	167 (83.5)	33 (16.5)*	Mori และคณะ, 2005
German, n = 632	575 (91)	57 (9)*	Ehmer และคณะ, 2004
Turkish, n = 258	198 (76.7)	60 (23.3)	Gulcebi และคณะ, 2011
Swedish, n = 224	195 (87.1)	29 (12.9)*	Ghotbi และคณะ, 2010
Korean, n = 80	68 (85)	12 (15)*	Yea และคณะ, 2008

แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ), n = จำนวนอัลลีล

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากประชากรไทยในการศึกษานี้ (*P*-value <0.05, Chi-square test)

เมื่อทำการเปรียบเทียบความถี่อัลลีลของ *ABCB1* c.3435C>T ที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักครั้งนี้กับประชากรเชื้อชาติต่างๆ ในการศึกษาอื่นๆ ก่อนหน้านี้นั้น พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผู้ป่วยโรคลมชักชาวอังกฤษ (Siddiqui และคณะ, 2003) แต่มีความแตกต่างกับชาวสก็อต (Sills และคณะ, 2005) ชาวเกาหลี (Kim และคณะ, 2006) และชาวไอริช (Shahwan และคณะ, 2007) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังที่แสดงไว้ในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 แสดงการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล *ABCB1* c.3435C>T ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

Ethnicity	**C allele**	**T allele**	**เอกสารอ้างอิง**
Thai, n = 208	108 (51.9)	100 (48.1)	**การศึกษานี้**
British, n = 315	315 (50.0)	444 (50.0)	Siddiqui และคณะ, 2003
Scottish, n = 400	340 (42.5)	460 (57.5)*	Sills และคณะ, 2005
Korean, n = 170	191 (56.2)	129 (43.8)*	Kim และคณะ, 2006
Irish, n = 355	297 (41.8)	413 (58.2)*	Shahwan และคณะ, 2007

แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ), n = จำนวนอัลลีล

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากประชากรไทยในการศึกษานี้ (*P*-value <0.05, Chi-square test)

4.3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

ผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวนทั้งสิ้น 104 คน เมื่อประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ในการควบคุมอาการชักของผู้ป่วยแต่ละรายตามนิยามของ International League Against Epilepsy หรือ ILAE (Kwan และคณะ, 2010) โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม คือผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน (lamotrigine – responsive epilepsy) และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน (lamotrigine – resistant epilepsy)

4.3.1 ความสัมพันธ์ของปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

การเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน แสดงดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

ข้อมูลทั่วไป/ข้อมูลทางคลินิก	**LTG-responsive epilepsy (n = 36)**	**LTG-resistant epilepsy (n = 68)**	***P*-value**
เพศ			
ชาย	11 (30.6)	26 (38.2)	0.436*
หญิง	25 (69.4)	42 (81.8)	
อายุ (ปี)	39.61 ± 14.33	39.60 ± 11.39	0.997†
น้ำหนักตัว (กก.)	56.35 ± 13.62	58.25 ± 12.13	0.470†
อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก (ปี)	26.42 ± 16.59	19.42 ± 13.87	0.050‡
ระยะเวลาที่รักษาด้วยยากันชัก (ปี)	12.94 ± 9.71	17.71 ± 10.93	0.030†
ระยะเวลาที่รักษาด้วยยาลาโมทริจิน (ปี)	2.58 ± 1.81	2.47 ± 1.55	0.765‡
ประวัติโรคลมชักในครอบครัว			
มี	4 (11.1)	9 (13.2)	0.755*
ไม่มี	32 (88.9)	59 (86.8)	
ประวัติการผ่าตัดรักษาโรคลมชัก			
มี	0	16 (23.5)	0.002*
ไม่มี	36 (100)	88 (84.6)	
ประเภทของโรคลมชัก			
Localization related (focal) epilepsy	29 (80.6)	52 (76.5)	0.720*
Generalized epilepsy	7 (19.4)	15 (22.1)	
Special syndrome	0	1 (1.5)	
รูปแบบการได้รับยากันชัก			
ใช้ยากันชักตัวเดียว (Monotherapy)	27 (75.0)	18 (26.5)	<0.001*
ใช้ยากันชักร่วมกันหลายตัว (Polytherapy)	9 (25.0)	50 (73.5)	
ขนาดยาลาโมทริจินที่ได้รับต่อวัน (มก./วัน)	112.08 ± 63.24	128.68 ± 70.57	0.323‡
ขนาดยาลาโมทริจินที่ได้รับต่อวันต่อน้ำหนักตัว (มก./วัน/กก.)	2.06 ± 1.22	2.29 ± 1.37	0.557‡

แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ) หรือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

* วิเคราะห์ด้วย Chi-square test, † วิเคราะห์ด้วย Student t-test, ‡ วิเคราะห์ด้วย Mann Whitney test

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินกับข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย ได้แก่ อายุ เพศ และน้ำหนักตัวนั้น พบว่าผู้ป่วยโรคลมชักทั้งสองกลุ่มมีปัจจัยเรื่องอายุ เพศ และน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*-value = 0.436, 0.997 และ 0.470 ตามลำดับ)

สำหรับความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อยาลาโมทริจิน กับข้อมูลทางคลินิกต่างๆ นั้นพบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินมีอายุที่เริ่มเป็นโรคลมชักน้อยกว่า และมีระยะเวลาที่รักษาด้วยยากันชักมากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*-value = 0.05 และ 0.03 ตามลำดับ) นอกจากนี้ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มยังมีความแตกต่างกันในเรื่องของประวัติการผ่าตัดรักษาโรคลมชัก (*P*-value = 0.002) และรูปแบบการได้รับยากันชัก (*P*-value < 0.001) โดยผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินมีประวัติได้รับการผ่าตัดรักษาโรคลมชักและได้รับยากันชักร่วมกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปมากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

เมื่อพิจารณาขนาดยาลาโมทริจินที่ผู้ป่วยได้รับ พบว่าขนาดยาลาโมทริจินที่ได้รับต่อวัน และขนาดยาลาโมทริจินที่ได้รับต่อวันต่อน้ำหนักตัว ของผู้ป่วยโรคลมชักทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*-value = 0.323, และ 0.557 ตามลำดับ)

4..3.2 ความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรมคือ ลักษณะจีโนไทป์ของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G และ *ABCB1* c.3435 C>T และปัจจัยทางคลินิกต่างๆ กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินด้วย multiple logistic regression พบว่าปัจจัยทางพันธุกรรมคือ *ABCB1* c.3435 C>T ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกคือ รูปแบบการได้รับยากันชัก มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินนั้นสัมพันธ์กับการมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ CC และ CT มากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน (adjusted OR = 4.38 [95% CI: 1.10-17.45], *P*-value = 0.036 และ adjusted OR = 11.15 [95% CI: 2.74-45.44], *P*-value = 0.001 ตามลำดับ) และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อยา

ลาโมทริจินมีความสัมพันธ์กับรูปแบบการใช้ยากันชักร่วมกันหลายตัว (adjusted OR = 10.09 [95% CI: 3.10-32.84], *P*-value = <0.001) ส่วนอายุที่ที่เริ่มเป็นโรคลมชักไม่สัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มจีโนไทป์ของความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ*ABCB1* และปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

SNPs/ ข้อมูลทางคลินิก	**LTG-responsive epilepsy (n = 36)**	**LTG-resistant epilepsy (n = 68)**	**Adjusted OR* (95% CI)**	***P*-value**
SCN1A IVS5N+5 G>A				
GG	6 (16.7)	8 (11.8)	Reference	
AG	19 (52.8)	34 (50.0)	1.54 (0.35-6.80)	0.570
AA	11 (32.6)	26 (38.2)	1.87 (0.38-9.21)	0.439
ABCB1 c.3435 C>T				
CC	11 (30.6)	19 (27.9)	3.40 (0.97-11.93)	0.056
CT	10 (27.8)	38 (55.9)	6.68 (2.04-21.75)	0.002
TT	15 (41.7)	11 (16.2)	Reference	
UGT1A4 c.142 T>G				
TT	23 (63.9)	36 (52.9)	Reference	
TG	12 (33.3)	27 (39.7)	1.67 (0.61-4.53)	0.318
GG	1 (2.8)	5 (7.4)	3.47 (0.31-38.93)	0.313
อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก (ปี)	26.42 ± 16.59	19.42 ± 13.87	0.97 (0.94-1.00)	0.089
รูปแบบการได้รับยากันชัก				
ใช้ยากันชักตัวเดียว (Monotherapy)	27 (75.0)	18 (26.5)	Reference	
ใช้ยากันชักร่วมกันหลายตัว (Polytherapy)	9 (25.0)	50 (73.5)	10.09 (3.10-32.84)	<0.001

แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ) หรือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*OR วิเคราะห์ด้วย multiple logistic regression หลังจากปรับอิทธิพลของอายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก รูปแบบการได้รับยากันชัก และ SNPs

OR = Odds ratio, CI = Confidence interval

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปัจจัยทั้งทางพันธุกรรมและไม่ใช่พันธุกรรม กับการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินด้วยวิธี Multiple logistic regression ได้โมเดลที่อธิบายความสัมพันธ์ของตัวแปรทางพันธุกรรมและไม่ใช่พันธุกรรม กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน แสดงเป็นแบบ non genetic และ Pharmacogenetics โดยค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอย (β) ค่า odds ratio และนัยสำคัญของตัวแปรต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 21

ตารางที่ 21 แสดงโมเดล Non genetic และ Phamacogenetics สำหรับอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรมและไม่ใช่พันธุกรรม กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน

ตัวแปร	Non genetic model			Pharmacogenetic model		
	β	**Adjusted OR (95% CI)**	***P*-value**	**β**	**Adjusted OR (95% CI)**	***P*-value**
อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก	-0.020	0.98 (0.95-1.01)	0.202	-0.029	0.97 (0.94-1.01)	0.095
ใช้ยากันชักร่วมกันหลายตัว (Polytherapy)	2.015	7.50 (2.93-19.21)	<0.001	2.157	8.65 (3.03-24.72)	<0.001
ABCB1 c.3435 C>T						
CC genotype	-	-	-	1.374	3.95 (1.05-14.88)	0.042
CT genotype	-	-	-	2.088	8.07 (2.26-28.80)	0.001

ในการศึกษานี้พบว่าโมเดล non genetic ที่ประกอบด้วยตัวแปรคือ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก และการใช้ยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วย สามารถอธิบายการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 29.3 (r^2 = 0.293) ในขณะที่โมเดล pharmacogenetics ที่ประกอบด้วยตัวแปรคือ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก การใช้ยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วย และการมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็น CC หรือ CT จะสามารถอธิบายการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 40.9 (r^2 = 0.409)

เพื่อศึกษาผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน โดยทำการวิเคราะห์เฉพาะผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาลาโมทริจินเพียงชนิดเดียว เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน กับการมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็น

CC หรือ CT แสดงดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินกับความผันแปรในยีน *ABCB1* ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาลาโมทริจินเพียงชนิดเดียวจำนวน 45 ราย

	LTG-responsive epilepsy (n = 27)	**LTG-resistant epilepsy (n = 18)**	**Odds ratio* (95%CI)**	***P*-value**
ABCB1 c.3435 C>T				
TT	11 (40.7%)	1 (5.6%)	-	-
CC	8 (29.6%)	10 (55.6%)	12.26 (1.17-128.54)	0.037
CT	8 (29.6%)	7 (38.9%)	16.15 (1.62-160.53)	0.018

*OR วิเคราะห์ด้วย multiple logistic regression หลังจากปรับอิทธิพลของอายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก

ความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินกับการมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็น CC หรือ CT จะสามารถอธิบายการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 27.5 ($r^2 = 0.275$)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

การรักษาผู้ป่วยโรคลมชักนั้นมีเป้าหมายเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอาการชักและไม่เกิดอาการอันไม่พึงประสงค์จากยา เพื่อลดผลเสียจากอาการชักทั้งในด้านร่างกาย จิตใจ และสังคมต่อตัวผู้ป่วย (Lowenstein, 2008) แต่ปัญหาคือผู้ป่วยถึงร้อยละ 30 ไม่สามารถควบคุมอาการชักได้ถึงแม้ว่าจะได้รับการรักษาด้วยยากันชักอย่างเหมาะสมแล้วก็ตาม (Kwan และ Brodie, 2000) นอกจากนั้นการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักที่มีความแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละรายนั้นอันเนื่องมาจากปัจจัยหลายอย่าง ทั้งปัจจัยทางคลินิกต่างๆ และปัจจัยด้านพันธุกรรมของผู้ป่วย ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาระหว่างบุคคล

ยาลาโมทริจินเป็นยากันชักกลุ่มใหม่ที่มีฤทธิ์ในการรักษาที่กว้าง ใช้ในการรักษาโรคลมชักชนิด partial seizures ที่มีหรือไม่มี secondary generalization ร่วม และได้ผลดีกับ absence seizure ด้วย สามารถใช้ในรูปแบบยาเดี่ยวหรือให้ร่วมกับยากันชักชนิดอื่นๆ ได้ โดยมีรายงานการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยากันชักที่ใช้ร่วมกันต่ำ จึงเป็นยาที่มีประสิทธิภาพและค่อนข้างปลอดภัย แต่พบว่าประมาณร้อยละ 40 ของผู้ป่วยโรคลมชักที่ได้รับการรักษาด้วยยาลาโมทริจินอย่างเหมาะสมแล้วนั้นไม่สามารถควบคุมอาการชักได้ (Kwan and Brodie, 2001) ในการศึกษาเภสัชพันธุศาสตร์ครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจศึกษาความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทยกับปัจจัยด้านพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยา และปัจจัยทางคลินิกต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลใช้อธิบายความแตกต่างและทำนายการตอบสนองต่อยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย ซึ่งอาจมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาที่แผนกประสาทวิทยาของโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และสถาบันประสาทวิทยา ซึ่งเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ ผู้ป่วยอาสาสมัครส่วนใหญ่จึงมีสภาวะของโรคที่ซับซ้อน โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 78 เป็นโรคลมชักชนิด focal epilepsy ซึ่งมีหลักฐานว่าสัมพันธ์กับโรคลมชักที่ดื้อต่อการรักษาด้วยยา (Kwan และ Brodie, 2000)

ทำให้ในการศึกษานี้พบสัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยากันชักร่วมกันหลายตัว (polytherapy) สูงถึงร้อยละ 57 ของจำนวนผู้ป่วยอาสามัครทั้งหมด

ผลจากการศึกษานี้พบว่าความถี่อัลลีลของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A นั้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการศึกษาในผู้ป่วยโรคลมชักชาวเอเชียอื่นๆอย่างชาวญี่ปุ่นและจีนฮั่น แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผู้ป่วยโรคลมชักชาวอินเดีย ซึ่งอาจเนื่องมากจากการศึกษาในผู้ป่วยชาวอินเดียนั้น ประชากรที่ศึกษาเป็นชาว Indo-Europeans ที่อยู่ทางตอนเหนือของอินเดีย ซึ่งมีลักษณะที่คล้ายคลึงกับชาวคอเคเชียนมากกว่าชาวเอเชียทั่วไป (Majumder, 1998) ส่วนความถี่อัลลีล *UGT1A4* c.142T>G ที่ได้พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผู้ป่วยโรคลมชักชาวตุรกี แต่มีความแตกต่างกับเอเชียอื่นๆอย่างชาวญี่ปุ่น ชาวเกาหลี ซึ่งอาจเนื่องมาจากวิธีการสุ่มเลือกตัวอย่างในการศึกษา เช่น บางการศึกษากลุ่มตัวอย่างอาจเป็นกลุ่มโรคอื่นๆ ที่ไม่ใช่โรคลมชัก หรือบางศึกษาที่เป็นการศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดี ส่วนความถี่อัลลีลของ *ABCB1* c.3435C>T ที่ได้จากกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักครั้งนี้กับผู้ป่วยโรคลมชักเชื้อชาติต่างๆ พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผู้ป่วยโรคลมชักชาวอังกฤษ แต่มีความแตกต่างกับชาวสก็อต ชาวเกาหลี และชาวไอริช แต่พบว่าการกระจายของอัลลีลมีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน โดยมีการกระจายทั้งอัลลีล C และ T ที่ใกล้เคียงกัน

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางคลินิกกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยลาโมทริจิน ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน กับปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุ เพศ และน้ำหนักตัวของผู้ป่วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hitiris และคณะ(2007) ที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อยากันชักกับปัจจัยด้านเพศของผู้ป่วย และผลการศึกษาของ Sánchez และคณะ(2010) ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก กับปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุ เพศ และน้ำหนักตัวของผู้ป่วย

การศึกษานี้พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก ระยะเวลาที่รักษาด้วยยากันชัก ประวัติการผ่าตัดและรักษาโรคลมชัก ที่สัมพันธ์ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกันกับการศึกษาของ Cockerell และคณะ (1997) ในผู้ป่วยที่เพิ่งได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคลมชักและรับการรักษาด้วยยากันชัก พบว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคลมชักตั้งแต่อายุยังน้อยมีความสัมพันธ์กับการเกิด seizure free น้อยกว่าผู้ป่วยที่เริ่มเป็นโรคลมชักตอนอายุมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาต่างๆ ก่อนหน้านี้

ที่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก กับอายุที่เริ่มเป็นโรคลมชักและประเภทของอาการชักเช่นกัน (Perucca, 1998; Mohanraj และ Brodie , 2006; Sánchez และคณะ, 2010) สำหรับระยะเวลาที่รักษาด้วยยากันชัก ซึ่งพบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินพบความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่รักษาด้วยยากันชัก มากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกับที่พบความสัมพันธ์กับอายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก ส่วนประวัติการผ่าตัดรักษาโรคลมชักของผู้ป่วยนั้น เป็นหนึ่งในเกณฑ์ที่ประเมินว่าผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อยาลาโมทริจิน จึงเป็นปัจจัยที่แตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

สำหรับรูปแบบการได้รับยากันชักแบบใช้ยากันชักตัวเดียว หรือใช้ยากันชักร่วมกันหลายตัว ซึ่งแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม เป็นสิ่งที่สามารถคาดการณ์ได้ เนื่องจากในแนวทางการรักษาผู้ป่วยโรคลมชักนั้น เริ่มต้นจากการใช้ยากันชักเพียงชนิดเดียวที่เหมาะสมกับอาการชักด้วยขนาดการรักษาขั้นต่ำ แล้วเพิ่มขนาดยากันชักจนกระทั่งควบคุมอาการชักได้ในขนาดยาที่ผู้ป่วยทนอาการข้างเคียงได้ และประเมินผลการควบคุมอาการชักของยาเพื่อเปลี่ยนหรือเพิ่มชนิดยากันชัก เมื่อผู้ป่วยได้รับยากันชักชนิดนั้นในขนาดที่เหมาะสม เป็นระยะเวลาที่นานเพียงพอ (สมาคมโรคลมชักแห่งประเทศไทย และสถาบันประสาทวิทยา กรมการแพทย์, 2552) ดังนั้น ผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินจึงมีแนวโน้มที่จะได้รับการรักษาด้วยยากันชักหลายตัว ซึ่งรูปแบบการได้รับยากันชักอาจเป็นตัวแปรตามที่ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยต่างๆ เช่นเดียวกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ซึ่งเป็นผลลัพธ์ที่สนใจในการศึกษา

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วย multiple logistic regression พบว่าปัจจัยทางพันธุกรรมคือ *ABCB1* c.3435 C>T ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกคือ รูปแบบการได้รับยากันชัก มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินนั้นสัมพันธ์กับการมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ CC และ CT มากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อยาลาโมทริจินมีความสัมพันธ์กับรูปแบบการใช้ยากันชักร่วมกันหลายตัว ส่วนอายุที่เริ่มเป็นโรคลมชักนั้นเมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วย multiple logistic regression ไม่พบสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการวิเคราะห์ในการศึกษานี้ ที่พบความสัมพันธ์ของการมีลักษณะจีโนไทป์ของยีน *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ CC และ CT กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินนั้น สามารถอธิบายตามกลไกที่ Kimchi-Sarfaty และคณะ(2007) ได้ตั้งสมมติฐานไว้ คือ การเกิดความผันแปรของยีน *ABCB1* c.3435 C>T นั้นส่งผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างตรงตำแหน่งที่มีการจับกับ substrate ของ P-gp จึงอาจส่งผลให้การจับกับ substrate ลดลง เมื่อพิจารณาถึงเซลล์บริเวณสมอง หาก P-gp มีการขนส่งยาออกจากเซลล์ลดลง ทำให้มีการสะสมของยาในบริเวณที่ออกฤทธิ์ได้มากขึ้น และทำให้ออกฤทธิ์ในการควบคุมอาการชักได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siddiqui และคณะ (2003) ที่พบความสัมพันธ์ของผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก มีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ CC มากกว่า TT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นไปทางเดียวกับการศึกษาอื่นๆ ที่ตามมา (Zimprich และคณะ, 2004; Hung และคณะ, 2005; Hung และคณะ, 2007) และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hoffmeyer และคณะ (2000) พบว่าผู้ป่วยอาสาสมัครกลุ่มที่มีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ TT มีการแสดงออกของ P-gp ในลำไส้เล็กส่วน duodenum ต่ำกว่ากลุ่มที่มีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ CC ซึ่งสอดคล้องไปกับผลระดับยา digoxin ในพลาสมา แต่อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายการศึกษาที่ให้ผลที่ขัดแย้งกับการศึกษานี้ (Seo และคณะ, 2006; Kwan และคณะ, 2007) หรือไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *ABCB1* c.3435 C>T) กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักอื่นๆ (Tan และคณะ, 2004; Sills และคณะ, 2005; Kim และคณะ, 2006; Leschziner และคณะ, 2006; Shahwan และคณะ, 2007; Dericioglu และคณะ, 2008; Lakhan และคณะ, 2008) ซึ่งผลการศึกษาที่แตกต่างกันอาจขึ้นอยู่กับชนิดของยากันชักที่ทำการศึกษาว่าเป็น substrate ของ P-gp หรือไม่ และลักษณะการกระจายของอัลลีลในแต่ละเชื้อชาติ

ในการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย ซึ่งสนับสนุนผลการศึกษาในผู้ป่วยโรคลมชักชาวจีนและผู้ป่วยโรคลมชักชาวอิตาเลียน (Kwan และคณะ, 2008; Manna และคณะ , 2011) แต่ตรงข้ามกับการศึกษาในผู้ป่วยโรคลมชักชาวญี่ปุ่นของ Abe และคณะ (2008) ซึ่งความขัดแย้งระหว่างผลการศึกษาต่างๆเหล่านี้ อาจเป็นผลสืบเนื่องจากความแตกต่างของเชื้อชาติ สาเหตุของการชัก (etiology) และนิยามของการตอบสนองต่อยากันชักในแต่ละการศึกษา นอกจากนี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ของ *UGT1A4* c.142 T>G กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลของความผันแปรทางพันธุกรรมในยีนเดี่ยว อาจถูกบดบังโดยอิทธิพลของยีน

อื่นๆ หรือปัจจัยแวดล้อม จนทำให้ไม่เห็นผลของความผันแปรทางพันธุกรรมนี้ได้ (Depondt และ Shorvon, 2006; Löscher และคณะ, 2009)

เมื่อพิจารณาโมเดล non genetic และโมเดล pharmacogenetics ที่อธิบายถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรมและไม่ใช่พันธุกรรม กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน พบว่าโมเดล pharmacogenetics ซึ่งประกอบด้วยตัวแปร คือ ปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ การมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ CC หรือ CT และปัจจัยที่ไม่ใช่พันธุกรรมได้แก่ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก การใช้ยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วย สามารถอธิบายการที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 40.9 ซึ่งมากกว่าโมเดล non genetic ที่สามารถอธิบายการที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 29.3

เนื่องจากการได้รับยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วย อาจเป็นตัวแปรตามที่ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยต่างๆ เช่นเดียวกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน ซึ่งเป็นผลลัพธ์ที่สนใจในการศึกษา ดังนั้นเพื่อศึกษาผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินเดี่ยวๆ โดยทำการวิเคราะห์เฉพาะผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาลาโมทริจินเพียงชนิดเดียว โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินกับการมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T พบว่าโมเดล pharmacogenetics ซึ่งประกอบด้วยตัวแปร คือ ปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ การมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T เป็นแบบ CC หรือ CT สามารถอธิบายการที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 27.5

สรุปผลการวิจัย

ผลการวิจัยพบความถี่ของอัลลีลของ *SCN1A* IVS5N+5 G>A, *UGT1A4* c.142 T>G และ *ABCB1* c.3435 C>T ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย เท่ากับ 0.61, 0.25 และ 0.48 ตามลำดับ และจากผลการวิเคราะห์พบว่า ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์การไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย ได้แก่ ความผันแปรทางพันธุกรรม *ABCB1* c.3435 C>T ร่วมกับปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก การใช้ยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วย ซึ่งตัวแปรดังกล่าวทั้งหมดนี้สามารถอธิบายการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้ร้อยละ 40.9

ผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบเบื้องต้นว่าการมีลักษณะจีโนไทป์เป็น CC และ CT ของ *ABCB1* c.3435 C>T นั้น และปัจจัยทางคลินิกของผู้ป่วย ได้แก่ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก และการใช้ยากันชักชนิดอื่นร่วมด้วยนั้นมีความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย การทราบถึงลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* c.3435 C>T ร่วมกับปัจจัยทางคลินิกของผู้ป่วย อาจจะมีประโยชน์ในการพิจารณาเลือกใช้ยาในการรักษาผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และเป็นแนวทางในการตัดสินใจเลือกใช้ยากันชักชนิดอื่นแทนในผู้ป่วยที่มีแนวโน้มที่จะไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน เพื่อให้บรรลุเป้าหมายของการรักษาโรคลมชักอย่างรวดเร็ว และเพิ่มคุณภาพชีวิตที่ดีให้กับผู้ป่วยได้ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ข้อจำกัดของการศึกษาและข้อเสนอแนะ

เนื่องจากผู้ป่วยอาสาสมัครในการศึกษานี้ สุ่มมาจากโรงพยาบาลเพียง 2 แห่ง ซึ่งอาจไม่สามารถใช้เป็นตัวแทนของประชากรชาวไทยทั้งหมดได้ นอกจากนี้แนวทางการปฏิบัติของแพทย์ที่ต่างโรงพยาบาล อาจทำให้ลักษณะฟีโนไทป์ของผู้ป่วยมีความแตกต่างกันได้ อีกทั้งอาจจะมีตัวแปรอื่นๆ อีกที่มีความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจิน เช่น ชนิดและความรุนแรงของโรคลมชัก จำนวนครั้งของการชักก่อนเริ่มได้รับการรักษา ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective) ในประชากรกลุ่มใหญ่กว่านี้ เพื่อยืนยันผลการศึกษานี้และพัฒนาโมเดล pharmacogenetics ที่สามารถอธิบายการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาลาโมทริจินได้มากขึ้นต่อไป

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

สมาคมโรคลมชักแห่งประเทศไทย และ กรมการแพทย์. สถาบันประสาทวิทยา. (2552). แนวทางการรักษาโรคลมชัก Epilepsy : Clinical Practice Guidelines (CD-ROM).

ภาษาอังกฤษ

Abe, T., Seo T., Ishitsu T., Nakagawa, T., Hori, M., and Nakagawa, K. (2008). Association between *SCN1A* polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. Br J Clin Pharmacol 66: 304-307.

Argikar, U.A. and Remmel, R.P. (2009). Variation in glucuronidation of lamotrigine in human liver microsomes. Xenobiotica 39(5): 355-363.

Balant, L.P., Gundert-Remy, U., Boobis, A.R., and von Bahr, C. (1989). Relevance of genetic polymorphism in drug metwabolism in the development of new drugs. Eur J Clin Pharmacol 36: 551-554.

Brodie, M. J. (1992). Lamotrigine. Lancet 339: 1397-1400.

Catterall, W.A., Goldin, A.L., and Waxman, S.G. (2005). International Union of Pharmacology XLVII Nomenclature and stucture-function relationships of voltage-gated sodium channels. Pharmacol Rev 57: 397-409.

Cockerell, O.C., et al. (1997). Prognosis of epilepsy: a review and further analysis of the first nine years of the British National General Practice Study of Epilepsy, a prospective population based study. Epilepsia 38: 31-46.

Commission on Classification and Terminology of the International League against Epilepsy. (1989). Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Epilepsia 30: 389-399.

Denac, H. Mevissen, M. and Scholtysik, G. (2000). Structure, function and pharmacology of voltage-gated sodium channels. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 362: 453-479.

Depondt, C. (2006). The potential of pharmacogenetics in the treatment of epilepsy. Eur J Paediatr Neurol 10: 57-65.

Dericioglu, N., Babaoglu, M.O., Yasar, U., Bal, I.B., Bozkurt, A., and Saygi, S. (2008). Multidrug resistance in patients undergoing respective epilepsy surgery is not associated with C3435T polymorphism in the ABCB1 (MDR1) gene. Epilepsy Res 80(1): 42-46.

Devinsky, O. (1999). Patients with refractory seizures. N Engl J Med 340(20): 1565-1570.

Ehmer, U., et al. (2004). Variation of hepatic glucuronidation: Novel functional polymorphisms of the UDP-glucuronosyltransferase UGT1A4. Hepatology 39(4): 970-977.

Fromm, M. F. (2004). Importance of P-glycoprotein at blood–tissue barriers. Trends Pharmacol Sci 25(8): 423-429.

Ghotbi, R., et al. (2010). Carriers of the UGT1A4 142T>G gene variant are disposed to reduced olanzapine exposure-an impact similar to male gender or smoking in schizophrenic patients. Eur J Clin Pharmacol 66(5): 465-474.

Gidal, B.E., and Garnet, W.R.. Epilepsy. In J.T. Dipiro, R.L. Talbert, G.C. Yee, G.R. Matzke, B.G. Well and L.M. Posey (eds.), PHARMACOTHERAPY: A Pathophysiologic Approach, pp. 1023-1048. USA: The McGraw-Hill, 2005.

Gottesman, M., Hrycyna, C., Schoenlein, P.V., Germann, U.A., and Pastan, I. (1995). Genetic analysis of the multidrug transporter. Annu Rev Genet 29: 607-647.

Grasela, T.H., et al. (1999). Population pharmacokinetics of lamotrigine adjunctive therapy in adults with epilepsy. J Clin Pharmacol 39(4): 373-384.

Grover, S., et al. (2010). Genetic profile of patients with epilepsy on first-line antiepileptic drugs and potential directions for personalized treatment. Pharmacogenomics 11(7), 927-941.

Guillemette, C., Lévesque, E., Harvey, M., Bellemare, J., and Menard, V. (2010). UGT genomic diversity: beyond gene duplication. Drugs Metab Rev 42(1): 24-44.

Gulcebi, M. I., et al. (2011). The relationship between UGT1A4 polymorphism and serum concentration of lamotrigine in patients with epilepsy. Epilepsy Res 95(12): 1-8.

Hirsch, L.J., and Pedly, T.A. Goals of therapy. In J.J. Engel and T.A. Pedly (eds.), Epilepsy: a comprehensive textbook, pp. 1125-1128. USA: Lippincott Williams & Wikins, A Wolters Kluwer Business, 2008.

Hitiris, N., Mohanraj, R., Norrie, J., Sills, G.J, and Brodie, M.J. (2007). Predictors of pharmacoresistant epilepsy. Epilepsy Res 75: 192-196.

Hoffmeyer, S., et al. (2000). Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 97(7): 3473-3478.

Hung, C.C., Tai, J.J., Kao, P.J., Lin, M.S., and Liou, H.H. (2007). Association of polymorphisms in *NR1I2* and *ABCB1* genes with epilepsy treatment responses. Pharmacogenomics 8(9): 1151-1158.

Kim, D.W., Kim, M. Lee, S.K., Kang, R., and Lee, S. (2006). Lack of association between C3435T nucleotide MDR1 genetic polymorphism and multidrug-resistant epilepsy. Seizure 15: 344-347.

Kimchi-Sarfaty, C. et al. (2007). A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. Science 315(5811): 525-528.

Krikova, E.V., et al. (2009). Association study of the *SCN1A* gene polymorphism and effective dose of lamotrigine. Zh Nevrol Psikhiatr 109(10): 57-62.

Kwan, P., and Brodie, M.J. (2000). Early identification of refractory epilepsy. N Engl J Med 342: 314-319.

Kwan, P., and Brodie, M.J. (2001). Effectiveness of first antiepileptic drug. Epilepsia 42: 1255-1260.

Kwan, P., and Brodie, M.J. (2005). Potential role of drug transporters in the pathogenesis of medically intractable epilepsy. Epilepsia 46: 224-235.

Kwan, P., and Sander, J.W. (2004). The natural history of epilepsy: an epidemiological view. J Neurol Neurosur Ps 75(10): 1376-1381.

Kwan, P., et al. (2007). Assocciation between ABCB1 C3435T polymorphism ans drug-resistant epilepsy in Han Chinese. Epilepsy Behav 11(1): 112-117.

Kwan, P., et al. (2008). Mutidruug resistance in epilepsy and polymorphisms in the voltage-gated sodium channel genes *SCN1A*, *SCN2A*, and *SCN3A*: correlation among phenotype, genotype, and mRNA expression. Pharmacogenet Genomics 18: 989-998.

Kwan, P., et al. (2010). Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc task force of the ILAE commission on therapeutic strategies. Epilepsia 51: 1069-1077.

Lakhan, R., et al. (2009). No association of ABCB1 polymorphisms with drug-refractory epileepsy in a north Indian population. Epilepsy Behav 14(1): 78-82.

Leschziner, G.D., et al. (2006). Clinical factors and ABCB1 polymorphisms in prediction of antiepileptic drug response: a prospective cohort study. Lancet Neurol 5: 668-676.

Leschziner, G.D., et al. (2007). Common ABCB1 polymorphisms are not associated with multidrug resistance in epilepsy using a gene-wide tagging approach. Pharmacogenet Genom 17(3): 217-220.

Lossin, C.A. (2009). Catalog of *SCN1A* variants. Brain Dev 31(2): 114-130.

Löscher, W., Klotz, U., Zimprich, F., and Schmidt, D. (2009). The clinical impact of pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. Epilepsia 50(1): 1-23.

Lowenstein, D.H. Seizures and Epilepsy. In D.L. Kasper, E. Braunwald, A.S. Fauci, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson, and J. Loscalzo (eds.) Harrison's principles of internal medicine, pp. 2498-2512. New York: McGraw-Hill, 2008.

Lu, W., and Uetrecht, J. P. (2007). Possible bioactivation pathways of lamotrigine. Drug Metab Dispos 35(7): 1050-1056.

Mac, T.L., Tran, D.S., Quet, F., Odermatt, P., Preux, P.M., and Tan, C.T. (2007). Epidemiology, aetiology, and clinical management of epilepsy in Asia: a systematic review. Lancet Neurol 6(6): 533-543.

Majumder, P.P. (1998). People of India: biological diversity and affinities. Evol Anthrop 6: 100-110.

Manna, I., et al. (2011). A functional polymorphism in the *SCN1A* gene does not influence antiepileptic drug responsiveness in Italian patients with focal epilepsy. Epilepsia 52: 40-44.

Mantegazza, M., Curia, G., Biagini, G., Ragsdale, D.S., and Avoli, M. (2010). Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders. Lancet Neurol 9: 413-424.

Meibohm, B., Beierle, I., and Derendorf, H. (2002). How important are gender differences in pharmacokinetics?. Clin Pharmacokinet 41(5): 329-342.

Mikati, M.A., et al. (2002). Efficacy, tolerability, and kinetics of lamotrigine in infants. J Pediatr 141(1): 31-35.

Mohanraj, R., and Brodie, M.J. (2006). Diagnosing refractory epilepsy: response to sequential treatment schedules. Eur J Neurol 13: 277-282.

Mori, A., Maruo, Y., Iwai, M., Sato, H., and Takeuchi, Y. (2005). UDP-glucuronosyltransferase 1A4 polymorphisms in a Japanese population and kinetics of clozapine glucuronidation. Drug Metab Dispos 33(5): 672-675.

Peduzzi, P., Concato, J., Kemper, E., Holford, T.R., and Feinstein, A.R. (1996). A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. J Clin Epidemiol 49: 1373-1379.

Perucca, E. (2006). Clinical pharmacokinetics of new-generation antiepileptic drugs at the extremes of age. Clin Pharmacokinet 45(4): 351-363.

Potschka, H., Fedrowitz M., and Löscher, W. (2002). P-Glycoprotein-mediated efflux of phenytoin, lamotrigine, felbamate at the blood-brain barrier: evidence from microdialysis experiments in rats. Neurosci Lett 327: 173-176.

Ragsdale, D.S., and Avoli, M. (1998). Sodium channels as molecular targets for antiepileptic drugs. Brain Res Rev 26: 16-28.

Reimers, A., Skogvoll, E., Sund, J.K., and Spigset, O. (2007). Lamotrigine in children and adolescents: the impact of age on its serum concentrations and on the extent of drug interactions. Eur J Clin Pharmacol 63(7): 687-692.

Remy, S., and Beck, H. (2006). Molecular and cellular mechanisms of pharmacoresistance in epilepsy. Brain 129: 18-35.

Saeki, M., et al. (2005). Genetic variations and haplotypes of UGT1A4 in a Japanese population. Drug Metab Pharmacokinet 20(2): 144-151.

Sánchez, M.B., et al. (2012). UGT2B7_-161C>T polymorphism is associated with lamotrigine concentration-to-dose ratio in a multivariate study. Ther Drug Monit 32(2): 177-184.

Seo, T., et al. (2006). *ABCB1* polymorphisms influence the response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. Pharmacogenomics 7(4), 551-561.

Shahwan, A., et al. (2007). The controversial association of *ABCB1* polymorphisms in refractory epilepsy; an analysis of multiple SNPs in an Irish population. Epilepsy Res 73: 192-198.

Siddiqui, A., et al. (2003). Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. N Engl J Med 348(15): 1422-1428.

Sills, G.J., et al. (2005). Lack of association between the C3435T polymorphism in the human multidrug resistance (*MDR1*) gene and response to antiepileptic drug treatment. Epilepsia 46(5): 643-647.

Sisodiya, S.M. and Marini, C (2009). Genetics of antiepileptic drug resistance. Curr Opin Neurol 22: 150-156.

Tan, N.C.K., et al. (2004). Failure to confirm association of a polymorphism in *ABCB1* with multidrug-resistant epilepsy. Neurology 63(6): 1090-1092.

Tate, S.K., et al. (2005). Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the anti-epileptic drugs carbamazepine and phenytoin. Proc Natt Acad Sci USA 102: 5507-5521

Tatro, S.D. (2010). Drug interaction fact. USA: Wolters Kluwer Health.

Thomson, C.H., Kahlig, K.M., and George Jr., A.L. (2011). *SCN1A* splice variants exhibit divergent sensitivity to commonly used antiepileptic drugs. Epilepsia 52: 1000-1009.

Vickrey, B.G., Hays, R.D., Rausch, R., Sutherling, W.W., Engel, J.Jr., and Brook, R.H. (1994). Quality of life of epilepsy surgery patients as compared with outpatients with hypertension, diabetes, heart disease, and/or depressive symptoms. Epilepsia 35: 597-607.

Wang, S.J., Huang, C.C., Hsu, K.S., Tsai, J.J., and Gean, P.W. (1996). Inhibition of N-type calcium currents by lamotrigine in rat amygdalar neurons. Neuroreport 7(18): 3037-3040.

Wildt, S.N., Kearns, G.L., Leeder, J.S., and Ankeer, J.N. (1999). Glucuronidation in humans. Pharmacogenetic and developmental aspects. Clin Pharmacokinet 36(6): 439-52.

World Health Organization (2009). Epilepsy [Factsheet] number 999.[Online]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/index.html [2011, December 1]

Yea, S.S., et al. (2008). Genetic variations and haplotypes of UDP-glucuronosyltransferase 1A locus in a Korean population. Ther Drug Monit 30(1): 23-34.

Yu, F.H., and Catterall, W.A. (2003). Overview of the voltage-gated sodium channel family. Genome Biol 4: 207

Zhou , J., Akrika, U.A., and Remmel R.P. (2011). Functional analysis of UGT1A4^{P24T} and UGT1A4^{L48V} variant enzymes. Pharmacogenomics 12(12): 1671-1679.

Zimprich, F., et al. (2004). Association of an ABCB1 gene haplotype with pharmacoresistance in temporal lobe epilepsy. Neurology 63(6): 1087-1089.

Zimprich, F., et al. (2008). A functional polymorphism in the *SCN1A* gene is not associated with carbamazepine dosages in Austrian patients with epilepsy. Epilepsia 49: 1108-1109.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
เอกสารรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

คณะอนุกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย กรมแพทย์ทหารบก
317 ถนนราชวิถี เขต ราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

รหัสโครงการ Q002h/55

ชื่อโครงการวิจัย : ความสัมพันธ์ของความผันแปรในยีน *SCN1A*, *UGT1A4* และ *ABCB1* กับการตอบสนองต่อยา lamotrigine ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย
[ASSOCIATION OF VARIANTS IN *SCN1A*, *UGT1A4* AND *ABCB1* GENES WITH LAMOTRIGINE RESPONSIVENESS IN THAI EPILEPTIC PATIENTS.]

เลขที่โครงการวิจัย : -

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย : น.ส.กรกฎ บัวเทศ

สังกัดหน่วยงาน : คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารรับรอง :
1. แบบรายงานการส่งโครงร่างการวิจัยครั้งแรก
2. โครงร่างการวิจัยฉบับภาษาไทย
3. แบบบันทึกข้อมูล
4. ประวัติผู้วิจัย
5. เอกสารชี้แจงข้อมูลและหนังสือแสดงความยินยอม

วันที่รับรองให้ทำการวิจัย : 4 เมษายน 2555
วันสิ้นสุดการรับรอง : 3 เมษายน 2556

ขอรับรองว่าโครงการดังกล่าวข้างต้นได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบโดยสอดคล้องกับแนวปฏิญญา เฮลซิงกิ และ แนวปฏิบัติ ICH GCP จากคณะอนุกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย กรมแพทย์ทหารบก

พันเอกหญิง เยาวนา ธนะพัฒน์
ประธานคณะอนุกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย พบ.

พันเอกทวี ทรงพัฒนาศิลป์
ผช.เลขานุการคณะอนุกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย พบ.

เอกสารเลขที่ 33 /2555

คณะกรรมการวิจัยสถาบันประสาทวิทยา
สถาบันประสาทวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

โครงการวิจัย	ความสัมพันธ์ของความแปรผันในยีน SCN1A, UGT1A4 และ ABCB1 กับการตอบสนอง ต่อยาลาโมทริจีน ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย
เลขที่โครงการ	55040
ผู้วิจัยหลัก	ภญ.กรกฎ บัวเทศ
สถานที่ดำเนินการวิจัย	สถาบันประสาทวิทยา
เอกสารที่พิจารณาอนุมัติ	1. แบบเสนอโครงการวิจัย ฉบับวันที่ 14 มิถุนายน 2555 2. แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย ฉบับวันที่ 14 มิถุนายน 2555 3. เอกสารชี้แจงข้อมูลแก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ฉบับวันที่ 14 มิถุนายน 2555 4. หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย ฉบับวันที่ 14 มิถุนายน 2555
วันที่พิจารณาอนุมัติ	19 มิถุนายน 2555

คณะกรรมการวิจัยสถาบันประสาทวิทยา ได้พิจารณาโครงการวิจัยฉบับภาษาไทยและ/หรือฉบับภาษาอังกฤษแล้ว มีมติ อนุมัติให้ดำเนินการวิจัยดังกล่าวในสถาบันประสาทวิทยาได้ ทั้งนี้โดยใช้รายละเอียดตามเอกสารฉบับภาษาไทยเป็นหลัก

ประธานคณะกรรมการ
(นายสุชาติ หาญไชยพิบูลย์กุล)

กรรมการและเลขานุการ
(นางสาวพิมพ์ชนก พุฒชาว)

รับรองตั้งแต่วันที่ 19 มิถุนายน 2555 ถึงวันที่ 19 มิถุนายน 2556

ภาคผนวก ข
สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

รายการสารเคมีและบริษัทผู้ผลิต

สารเคมี	**บริษัทผู้ผลิต**
Erythrocyte lysis buffer	QIAGEN, Germany
QIAamp DNA Blood Mini Kit	QIAGEN, Germany
Phosphate Buffer Saline (PBS)	เตรียมขึ้นเอง
Taqman Genotyping assay (rs3812718, rs2011425, rs1045642)	Applied Biosystem, USA
Taqman Universal PCR Master Mix without UNG	Applied Biosystem, USA
DNAse free water	AppliChem, Germany

รายการอุปกรณ์และเครื่องมือและบริษัทผู้ผลิต

อุปกรณ์และเครื่องมือ	**บริษัทผู้ผลิต**
K_3EDTA tube	BD vacutainer, USA
เครื่อง centrifuge Hermle Z383K	Hermle Labortechnik Gmbh, Germany
เครื่อง centrifuge Mikro 120	Hettich Zentrifugen, USA
เครื่อง Vortex mixer	Labnet International Inc., USA
เครื่อง NanoDropTM 1000 Spectrophotometer	Thermo Scientific, USA
MicroAmp Optical 96-well reaction plate	Applied Biosystems, USA
MicroAmp Optical Adhesive Film kit	Applied Biosystems, USA
ABI 7500 Real-Time PCR	Applied Biosystems, USA

ภาคผนวก ค
ระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

ระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา (Significance)

การกำหนดระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาจะกำหนดเป็นตัวเลขเรียงลำดับตั้งแต่ 1-5 ตามระดับความรุนแรงของอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นและหลักฐานหรือเอกสารยืนยันประกอบ (Tatro, 2010) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 23

ตารางที่ 23 แสดงระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

ระดับนัยสำคัญ	ระดับความรุนแรง	ระดับของหลักฐานยืนยัน
1	Major	Suspected or >
2	Moderate	Suspected or >
3	Minor	Suspected or >
4	Major/Moderate	Possible
5	Minor	Possible
	Any	Unlikely

หมายเหตุ Suspected or > หมายถึง มีเอกสารยืนยันแบบ suspected หรือ probable หรือ established

- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 1 (sig.1) คือ มีความรุนแรงในระดับมาก (major) และมีเอกสารยืนยันแบบ suspected หรือ probable หรือ established
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 2 (sig.2) คือ มีความรุนแรงในระดับปานกลาง (moderate) และมีเอกสารยืนยันแบบ suspected หรือ probable หรือ established
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 3 (sig.3) คือ มีความรุนแรงในระดับน้อย (minor) และมีเอกสารยืนยันแบบ suspected หรือ probable หรือ established
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 4 (sig.4) คือ มีความรุนแรงในระดับ major หรือ moderate และมีเอกสารยืนยันแบบ probable
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 5 (sig.5) คือ มีความรุนแรงในระดับ minor และมีเอกสารยืนยันแบบ probable หรือ มีความรุนแรงระดับใดก็ได้ (any) และมีเอกสารยืนยันแบบ unlikely

Severity: การประเมินความรุนแรงอันตรกิริยาระหว่างยาที่เกิดขึ้นมีประโยชน์ในการพิจารณา risk และ benefit แบ่งความรุนแรงได้เป็น 3 ระดับ ดังนี้

- Major: ผลที่เกิดขึ้นจะก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิตหรือเป็นสาเหตุของการเสียหายอย่างถาวร
- Moderate: ผลที่เกิดขึ้นทำให้ผู้ป่วยมีอาการเลวลง ทำให้ต้องการการรักษาเพิ่มขึ้น ต้องนอนพักรักษาตัวในโรพยาบาล หรืออยู่ในโรงพยาบาลนานขึ้น
- Minor: ผลที่เกิดขึ้นน้อย เป็นเพียงก่อให้เกิดความรำคาญ หรือบางครั้งแทบสังเกตไม่ได้ แต่ทั้งนี้ต้องไม่รบกวนผลการรักษาที่ต้องการ ไม่จำเป็นต้องให้การรักษา

Documentation: หมายถึง หลักฐานหรือเอกสารยืนยันประกอบ ให้มีความมั่นใจยิ่งขึ้นว่ามีอันตรกิริยาระหว่างยาเกิดขึ้นจริง อย่างไรก็ตามหลักฐานประกอบนี้ไม่ได้บอกถึงอุบัติการณ์หรือความถี่ของอันตรกิริยาระหว่างยาที่เกิดขึ้นหรือแม้แต่ความรุนแรงขอการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา แนวทางการกำหนดระดับ documentation มีดังนี้

- Established หมายถึง พิสูจน์ได้ว่าเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาจริง โดยมี controlled studies แน่นอน หรือมีผลทำให้เภสัชจลนศาสตร์เปลี่ยนไป ซึ่งยืนยันจากผลการศึกษาในคน โดยผลจากอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเปลี่ยนแปลงไป มีลักษณะทางคลินิกสนับสนุนการเกิดอันตรกิริยา
- Probable หมายถึง น่าจะใช่อันตรกิริยาระหว่างยา แต่ยังไม่ได้มีการพิสูจน์ทางคลินิก เป็นอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ ซึ่งพิสูจน์ได้และมีผลมากพอ ทำให้ระดับยาในพลาสมาเปลี่ยนแปลง และอาจทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาเปลี่ยนแปลงไป หรือมีการทดลองยืนยันได้ในสัตว์ทดลอง ในกรณีที่ไม่อาจทำการทดลองแบบ controlled study
- Suspected หมายถึง อาจเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาได้ มีข้อมูลบ้างแต่ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีก เป็นอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ที่เกิดขึ้นจาก well controlled studies แม้คาดว่าจะทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเปลี่ยนแปลง แต่ไม่มีการสรุปแน่ชัด เนื่องจากไม่มีผลการเปลี่ยนแปลงระดับยาในพลาสมา หรือมีรายงานการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาหลาย case หรือจาก uncontrolled studies ที่ทำซ้ำๆหลายครั้ง

- Possible หมายถึง อาจเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาได้ แต่มีข้อมูลจำกัด แม้มีอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์แต่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่อาจทำนายได้ว่าจะเป็นผลจากการตอบสนองของยา หรือข้อมูลที่แสดงฤทธิ์การเปลี่ยนแปลงทางเภสัชวิทยามีจำกัด
- Unlikely หมายถึง ยังสงสัย อาการทางคลินิกเปลี่ยนไปไม่ชัดเจน มีอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ แต่ผลทางเภสัชวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไม่น่าจะใช่ หรือเอกสารที่ยืนยันได้ไม่มีคุณภาพหรือไม่อาจใช้พิสูจน์ได้ หรือแม้จะมีรายงานการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา แต่ผลของ well controlled studies ขัดแย้งกับอาการทางคลินิก

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกรกฎ บัวเทศ เกิดวันที่ 31 กรกฎาคม 2524 ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีเภสัชศาสตรบัณฑิต หลักสูตรบริบาลเภสัชกรรม เกียรตินิยมอันดับสอง จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อปีการศึกษา 2547 จากนั้นเข้ารับราชการตำแหน่งเภสัชกร ที่โรงพยาบาลศรีธัญญา จังหวัดนนทบุรี เป็นเวลา 5 ปี และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา ที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย