

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

#### 1. ศึกษาอาการทางคลินิกจากแฟ้มประวัติของผู้ป่วย

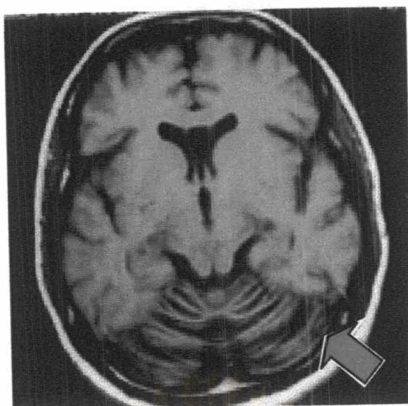
จากการศึกษาอาการทางคลินิกของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลต่าง ๆ มักพบในผู้ป่วยที่อายุประมาณ 30 กว่าปีขึ้นไป ( $34.45 \pm 14.10$ ) อายุที่พบจากการทดลองนี้มีช่วงที่คล้ายกับผลการทดลองของ Matilla และคณะ (1993) นอกจากนี้ยังพบว่าอาการส่วนมากที่ผู้ป่วย SCA1 แสดงออกมา คือ เริ่มมีอาการเดินเซ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยเริ่มมาพบแพทย์ เพื่อตรวจดูอาการว่าเป็นโรคใด และเมื่อแพทย์ได้ซักถามถึงประวัติครอบครัวของผู้ป่วย พบว่าผู้ป่วยบางรายมีญาติที่มีอาการคล้ายกันบ้างเสียชีวิต จึงมีความแน่ใจว่าโรคที่ผู้ป่วยเป็นจะต้องมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ประกอบด้วยการตรวจอาการต่าง ๆ จากแพทย์ เช่น การตรวจ cerebellar signs ทั้ง 3 แบบ คือ finger to nose heel to knee และ alternative of hand รวมทั้งการตรวจสมองโดยใช้วิธีการตรวจแบบ MRI พบการเสื่อมของ olivopontocerebellar pontocerebellar cerebellar หรือ spinocerebellar ซึ่งผลการทดลองคล้ายกับผลของ Robitaille และคณะ (1995) ที่พบว่าส่วนมากจะมีการสูญเสีย Purkinje cells และมีการสูญเสียกลไกการทำงานของ olivopontocerebellar รวมทั้งการทดลองของ Schols และคณะ (1997) ที่ได้แสดงให้เห็นถึงการห่อหุ้มหรือแฟบของ pontine และ cerebellar ในผู้ป่วย SCA1 ผู้ป่วยจะมีอาการต่าง ๆ อาทิเช่น มีการเดินเซ มี cerebellar signs ตาของผู้ป่วยมีการกระตุก มีการพูดตะกุกตะกัก พูดเหมือนคนเมา บางคนพูดลิ้นรัว จากอาการพูดตะกุกตะกักของผู้ป่วย SCA1 มีลักษณะอาการที่คล้ายกับการทดลองของ Illarioshkin และคณะ (1996) ที่พบว่าอาการนี้จะแสดงให้เห็นได้อย่างเด่นชัดในผู้ป่วย SCA1 และมีการกลืนหรือสำลักลำบากบางครั้ง เป็นต้น ซึ่งอาการต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น มักเป็นอาการที่พบมากในกลุ่มผู้ป่วย SCA1 แต่ในผู้ป่วยบางคนก็พบว่า มี tandem gait มีการเพิ่มของ deep tendon reflexes ซึ่งคล้ายกับการทดลองของ Pareyson และคณะ (1999) ที่พบว่าอาการทางคลินิกของผู้ป่วย SCA1 จะมีอาการเพิ่มของ deep tendon reflexes มากกว่าผู้ป่วย SCA2 แต่จากการทดลองนี้พบได้น้อยกว่าอาการหลัก ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น

จากอาการทางคลินิกที่ผู้ป่วยแสดงออกมาให้เห็น ในทางทฤษฎีไม่มีการแบ่งอาการทางคลินิกออกเป็นระดับ (grading or score of clinical signs) แต่ในทางปฏิบัติเพื่อดูความรุนแรงในการเกิดโรคของผู้ป่วย จึงได้มีการแบ่งระดับอาการทางคลินิกโดยใช้การพิจารณาจากแพทย์ โดยที่ Goldfarb

และคณะ (1996) ได้แบ่งระดับอาการทางคลินิกออกเป็น 0 = ปกติ (normal) 1 = ผู้ป่วยแสดงอาการออกมาเพียงเล็กน้อย (mildly abnormal) 2 = ผู้ป่วยแสดงอาการเริ่มปรากฏให้เห็นชัดมากขึ้น (moderately abnormal) และ 3 = ผู้ป่วยได้แสดงอาการที่หนักมากขึ้นจนกระทั่งช่วยเหลือตัวเองไม่ได้ (severely abnormal) แต่ในที่นี้งานวิจัยได้แบ่งระดับอาการทางคลินิก โดยใช้การพิจารณาจากแพทย์ เช่น อาการเดินเซ ในระดับ 0 คือผู้ป่วยยังไม่แสดงอาการออกมา ในระดับ 1 คือ ผู้ป่วยเริ่มมีอาการเดินเซเล็กน้อย ในระดับ 2 คือ อาการเดินเซที่ผู้ป่วยเริ่มต้องมีการใช้ไม้เท้าเข้ามาช่วยในการเดินของผู้ป่วย และในระดับ 3 คือ ผู้ป่วยมีอาการเดินไม่ได้ ต้องมีการใช้รถเข็นหรือผู้ป่วยนอนอยู่บนเตียงอย่างเดียว เป็นต้น แต่ในกลุ่มอาการที่ผู้ป่วยมีอาการลำลักหรือกลืนลำบาก แพทย์ได้แบ่งระดับการแสดงผลของอาการเป็น ระดับ 0 คือ ผู้ป่วยยังไม่แสดงอาการออกมา ระดับ 1 คือ ผู้ป่วยมีอาการลำลักบ้าง และในระดับ 2 คือ ผู้ป่วยจะมีอาการที่กลืนอาหาร หรือน้ำลำบาก จากการแบ่งกลุ่มอาการทางคลินิกเป็นระดับแบบนี้ จึงเป็นการพิจารณาจากแพทย์ที่ตรวจอาการของคนไข้ ซึ่งในแต่ละคนอาจมีความคิดเห็นแตกต่างกัน ดังนั้นในการแบ่งระดับของการทดลองครั้งนี้จึงได้ใช้การพิจารณาของแพทย์เพียงคนเดียว เพื่อจะได้แบ่งระดับได้อย่างแน่นอน

แต่ในการดูประวัติของผู้ป่วยบางรายที่เมื่อตรวจในระดับโมเลกุล เพื่อยืนยันว่าผู้ป่วยผู้นั้นเป็นโรค SCA1 และบางครั้งก็พบญาติของผู้ป่วยว่ามียีน ataxin - 1 หรือยีน SCA1 แสดงในจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ที่ผิดปกติ ในประวัติจะมีทั้งที่ทราบประวัติ และไม่ทราบประวัติของผู้ป่วย เช่น อายุ อาการที่แสดงออกมา จึงได้มีข้อมูลที่ไม่ทราบอายุที่เริ่มแสดงอาการของโรค รวมทั้งยังพบว่าญาติของผู้ป่วยบางรายยังไม่แสดงอาการออกมา ดังเช่น ครอบครัวที่ 19 20 28 และ 30

ลักษณะทางพยาธิสมอง (ดังรูปที่ 19.) เมื่อแพทย์ให้ผู้ป่วยตรวจด้วย magnetic resonance imaging (MRI) แพทย์มักพบการสูญเสียของส่วนที่เป็นเนื้อสมองของคนไข้ตรงบริเวณ olivopontocerebellar pontocerebellar cerebellar และ spinocerebellar จึงทำให้ผู้ป่วยมีความสูญเสียการควบคุมการทรงตัว ผู้ป่วยส่วนมากจึงมีอาการเดินเซ



รูปที่ 19. พยาธิสภาพของซีรีเบลลารีในผู้ป่วย SCA1  
(ที่มา : รศ.นายแพทย์ ถันยชัย สุระ, 2545)

## 2. การเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วยที่สามารถจะเก็บตัวอย่างเลือดได้

จากการเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย พบว่าสามารถเก็บเลือดได้เฉพาะบางครอบครัวเท่านั้น เช่น ครอบครัวที่ 1. แต่ก็มีบางครอบครัวที่สามารถเก็บเลือดได้เพียงแค่ 1 generation เช่น ครอบครัวที่ 12. แต่บางครอบครัวสามารถเก็บเลือดได้เฉพาะเพียงเลือดของผู้ป่วยเท่านั้น เช่น ครอบครัวที่ 7. เป็นต้น

## 3. การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย

จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย จำนวนทั้งสิ้น 200 ราย พบว่าสามารถสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอได้ทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ โดยใช้วิธี phenol – chloroform เป็นวิธีที่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ผลดี จีโนมิกดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมดเป็นจีโนมิกดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์ ไม่มีสารใดปนเปื้อน สามารถนำไปเพิ่มขยายส่วนในส่วนที่สนใจได้ โดยใช้วิธี PCR

#### 4. การเพิ่มขยายส่วนของลำดับเบส CAG ที่ซ้ำ จากจีโนมิกดีเอ็นเอของผู้ป่วย และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย โดยใช้วิธี PCR

จากการทดลองหาส่วนประกอบในการทำ PCR และ condition ต่าง ๆ จนกระทั่งได้เห็นแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะเจาะจงกับไพรเมอร์ Rep-1 และ Rep-2 ในผู้ป่วย SCA1 ปรากฏบนแผ่นเจลในขั้นตอนของการทำ gel electrophoresis พบว่าผู้ป่วยที่โรค SCA1 จะให้ผลที่แตกต่างกับคนปกติ นั่นคือ ผู้ป่วย SCA1 จะมีแถบ 2 แถบปรากฏให้เห็น ซึ่งตรงกับรายงานวิจัยของการทดลองของ Kameya และคณะ (1995) จากการที่พบแถบ 2 แถบในผู้ป่วย เนื่องมาจากการที่มีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ที่ซ้ำมากกว่าคนปกติ ในคนปกติจะมีแถบเพียงแถบเดียว ดังนั้นในผู้ป่วยโรค SCA1 จึงปรากฏให้เห็นแถบเพิ่มจากแถบของคนปกติ (ดังรูปที่ 8. และ รูปที่ 9.)

ในการทดลองทุกครั้งที่ทำ PCR จำเป็นต้องมี control ของผู้ป่วยโรค SCA1 และ H<sub>2</sub>O (มีส่วนประกอบ 10X Buffer MgCl<sub>2</sub> dNTP ไพรเมอร์ formamide น้ำ และ taq) เข้ามาในขั้นตอนของการทำ PCR ทุกครั้ง เนื่องจากการทำ PCR อาจมีการปนเปื้อน (contaminate) ในการทดลองได้ ทำให้ทุกครั้งที่ต้องทำการวิเคราะห์ ควรจะมีกลุ่ม control เหล่านี้ร่วมอยู่ด้วย เพื่อให้เกิดความแน่ใจว่าการวิเคราะห์ในแต่ละครั้งเป็นการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แน่นนอน ซึ่งจะให้ผลดีกับผู้ป่วย และการรักษาต่อไปในทางการแพทย์

#### 5. การวิเคราะห์หาจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ในดีเอ็นเอของผู้ป่วย และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย โดยใช้วิธี gene scan

จากการดูแถบที่ปรากฏ ไม่สามารถที่จะระบุได้อย่างแน่ชัดว่าแถบที่ปรากฏเกิดที่ลำดับเบสที่เท่าไร จึงได้ใช้วิธีการ gene scan นำมาหาลำดับเบสที่แน่นอน และคำนวณหาจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG โดยใช้สูตรในการคำนวณ คือ  $(n^* - 123) / 3$  โดยที่  $n^*$  = ความยาวของ base pairs (The European Molecular Genetics Quality Network) ทำให้สามารถคำนวณหาจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ได้ทั้งในคนไข้ และสมาชิกในครอบครัวของคนไข้ SCA1 พบว่าในคนไข้ SCA1 และสมาชิกในครอบครัวของคนไข้บางคน มีจำนวนของลำดับเบส CAG ที่ซ้ำ ตั้งแต่ 44 – 78 ซ้ำ ซึ่งมีจำนวนที่ใกล้เคียงกับการทดลองของ Dubourg และคณะ (1995) ซึ่งทดลองได้ว่ามีจำนวนลำดับเบส CAG ที่ซ้ำตั้งแต่ 42 – 67 ซ้ำ ในปี 1999 Strachan และ Read ได้กล่าวถึงการซ้ำกันของลำดับเบส CAG ว่าอาจเกิดจาก unequal crossingover หรือ unequal nonsister chromatid exchange ในกระบวนการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิส จากการทดลองในครั้งนี้ คนไข้ SCA1 และ

สมาชิกในครอบครัวของคนไข้บางคนที่มีความผิดปกติในจำนวนซ้ำของลำดับเบสที่มีมากเกินปกติ มักมีจำนวนลำดับเบส CAG ที่ซ้ำอยู่ในช่วง 61 – 70 ซ้ำ นอกจากนี้ครอบครัวที่สามารถเก็บเลือดได้ 2 generations เช่น ครอบครัวที่ 1 มักพบว่าแม่เป็นผู้ถ่ายทอดความผิดปกติมาให้กับลูก และยังพบว่าเพศหญิงจะมีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ที่ซ้ำเกินปกติ คือมีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG มากกว่า 40 ซ้ำมีจำนวนมากกว่าเพศชาย เนื่องมาจากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าเพศหญิงได้เข้ามารับการรักษามากกว่าเพศชาย ทำให้ได้จำนวนของเพศหญิงมากกว่าเพศชาย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเพศไม่ได้เข้ามามีความสัมพันธ์กับจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ดังเช่นผลการวิจัยของ Suzuki และคณะ (1995) ได้รายงานว่าขนาดจำนวนซ้ำของลำดับเบสไม่มีความสัมพันธ์กับเพศของพ่อแม่ที่ถ่ายทอดมาให้กับลูก และจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ในครอบครัวเดียวกันจะพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ดังเช่นผลการวิจัยของ Chung และคณะ (1993) ซึ่งได้รายงานว่าการถ่ายทอดทางแม่แสดงให้เห็นถึงการไม่เปลี่ยนแปลง หรือมีการลดจำนวนซ้ำของลำดับเบส ในรุ่นลูก แต่ในต่างครอบครัว จำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG พบว่ามีความแตกต่างกัน ดังเช่นผลการวิจัยของ Goldfarb และคณะ (1996) ที่พบว่า การเพิ่มของลำดับเบส CAG และอาการทางคลินิกในแต่ละรุ่นจะมีความแตกต่างกันในแต่ละครอบครัว จากการทดลองนี้พบว่า ครอบครัวที่ 1 มีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG 44 ซ้ำ ส่วนครอบครัวที่ 12 มีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG 65 ซ้ำ เป็นต้น

ส่วนในคนป่วยที่ไม่ป่วยด้วยโรค SCA1 และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย พบว่ามีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ตั้งแต่ 8 – 40 ซ้ำ มีจำนวนทั้งสิ้น 146 คน ในตัวผู้ป่วยที่ไม่ได้ป่วยด้วยโรค SCA1 และสมาชิกในครอบครัวของผู้ป่วย อาจจะเป็นไปได้ว่า อาจเป็นไปได้ เนื่องจากอาการทางคลินิกที่แสดงออกมาของผู้ป่วยในแต่ละแบบจะมีลักษณะอาการที่ใกล้เคียงกัน ดังรายงานของ Eng – kingTan และ Ashizawa (2001) ที่ได้จัดจำแนกชนิดของ SCA และอาการทางคลินิกที่แสดงออกมาของผู้ป่วย ดังนั้นจึงน่าจะทำการวิจัยวิเคราะห์รูปแบบของ spinocerebellar ataxia ในแบบอื่น ๆ นอกเหนือจาก SCA1 แต่เพียงอย่างเดียว

## 6. การศึกษาลำดับเบส โดยใช้วิธี sequence DNA

ในการทดลองครั้งนี้ ต้องการที่จะศึกษาดูว่าไพรเมอร์ Rep – 1 และ Rep – 2 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีการครอบคลุมจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ในจีโนมิกดีเอ็นเอของผู้ป่วยโรค SCA1 และคนทั่วไป ในขั้นตอนแรกต้องมีการตัดเจล โดยนำแถบ ที่สนใจมาศึกษา และมีความต้องการแถบที่ปรากฏประมาณ 300 กว่า base pairs หลังจากนั้นจึงทำการตัดเจล โดยในขณะที่ตัดเจลจะต้องมีการใช้ UV ร่วมส่องดูด้วย และต้องให้ได้เจลที่ต้องการออกมา พร้อมทั้งต้องมีความระมัดระวังในการ

ตัดเจล เมื่อได้เจลแล้วนำมา purified เพื่อให้ได้ดีเอ็นเอ แล้วนำมาตากตะกอนดีเอ็นเอ ในขั้นตอนนี้จะต้องทำด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากตะกอนของดีเอ็นเอเป็นลักษณะที่ใส มองไม่เห็น จึงต้องดูสัดส่วนประกอบต่าง ๆ ออกจากหลอดทดลองด้วยความระมัดระวัง เมื่อได้ตะกอนดีเอ็นเอแล้วนำมาละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย TSR จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง ABI 310 Genetic Analyzer User's Manual เพื่อดูลำดับเบสดีเอ็นเอ ในการทดลองครั้งนี้ได้ดูลำดับเบสของคนไข้ 1 ราย พบว่าในจีโนมิกดีเอ็นเอของผู้ป่วย SCA1 มีลำดับเบส CAG ที่ซ้ำอยู่จริง และยังมีลำดับเบสอื่นคั่นอยู่อีกด้วย เช่น ลำดับเบส CAT คั่นอยู่ด้วย ดังเช่นการรายงานของ Matsuyama และคณะ (1999) ที่พบว่าในจำนวนคนไข้ SCA1 จำนวน 17 ราย พบว่าหนึ่งในจำนวนของผู้ป่วยมีลำดับเบส CAT คั่น

## 7. เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับอาการทางคลินิกของผู้ป่วย SCA1

เมื่อได้ข้อมูลต่าง ๆ อาทิเช่น อายุที่เริ่มแสดงอาการ อาการทางคลินิกของผู้ป่วย SCA1 แล้วนำมาเปรียบเทียบดูความสัมพันธ์ระหว่างอายุที่เริ่มแสดงอาการ กับจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG พบว่ามีความสัมพันธ์แบบผกผัน ( $r = -0.043$ )  $P = 0.825$  ที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95% ( $\alpha = 0.05$ ) หมายความว่าไม่สามารถบอกความสัมพันธ์ระหว่างอายุที่เริ่มแสดงอาการ กับจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG ที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95% เนื่องจากข้อมูลที่ได้ไม่สามารถครอบคลุมอายุที่เริ่มแสดงอาการของโรคได้ครบถ้วน รวมทั้งตัวผู้ป่วยอาจบอกกล่าวถึงอายุที่เริ่มแสดงอาการคลาดเคลื่อน แต่ก็ยังมองเห็นแนวโน้มของความสัมพันธ์ที่ว่า ถ้าผู้ป่วยมีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG เพิ่มมากขึ้น อายุที่เริ่มแสดงอาการก็น่าจะแสดงให้เห็นเร็วกว่าในรุ่นก่อน ๆ

และจากการศึกษาโดยใช้ค่าสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) เปรียบเทียบดูความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับความรุนแรงในการแสดงอาการทางคลินิกของผู้ป่วย SCA1 พบว่ามีความสัมพันธ์แบบตรง ทั้งในอาการเดินเซ อาการตากระตุก ลักษณะการพูดเหมือนคนเมา และการสั่นหรืออกลิ้นลำบาก โดยดูจากกราฟที่แสดง ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับกราฟระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG และอายุที่เริ่มแสดงอาการ เพียงแต่ลักษณะของกราฟระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับความรุนแรงในการแสดงอาการทางคลินิกของผู้ป่วย จะมีลักษณะเฉียงขึ้นค่าทางสถิติที่ได้ พบว่าไม่สามารถบอกความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG กับความรุนแรงในการแสดงอาการทางคลินิกของผู้ป่วย ที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95% แต่จะแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่พบว่า ถ้าผู้ป่วยมีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG มาก การแสดงความรุนแรงของโรคก็น่าจะเพิ่มมากขึ้น แต่กราฟของ cerebellar signs แสดงให้เห็นรูปกราฟที่ลดลง อาจเนื่องมาจากการแบ่ง

อาการทางคลินิกในระดับประสาทวิทยาเป็นไปอย่างหายาบ ๆ จึงทำให้ยากต่อการจัดระดับของแพทย์ จึงทำให้กราฟแสดงให้เห็นในผลการทดลอง รวมทั้งช่วงระยะเวลาของผู้ป่วยที่มาพบแพทย์แต่ละคนมีความแตกต่างกัน อาทิเช่น นางสาว ก. พบว่ามีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG 65 ซ้ำ แต่เมื่อเริ่มแสดงอาการต่าง ๆ นางสาว ก. ก็รีบมาพบแพทย์ ดังนั้น แพทย์จึงได้แบ่งระดับอาการทางคลินิกอยู่ในระดับ 0-1 แต่ นางสาว ข. พบว่ามีจำนวนซ้ำของลำดับเบส CAG 65 ซ้ำ เหมือนนางสาว ก. แต่ นางสาว ข. มาพบแพทย์เมื่อได้แสดงอาการที่แย่ง เพราะฉะนั้นแพทย์จึงได้แบ่งระดับอาการทางคลินิกอยู่ในระดับ 1-3 ด้วยปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้จึงทำให้ข้อมูลที่ได้ อาจมีความคลาดเคลื่อนในการเก็บรวบรวมข้อมูล ทำให้เกิดการหาความสัมพันธ์ต่าง ๆ เป็นได้แค่มองเห็นแนวโน้ม แต่ยังไม่สามารถที่จะสรุปได้อย่างแน่ชัด



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย