ความสัมพันธ์ระหว่างยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 กับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด

นายสมเกียรติ มลิลา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE ASSOSIATION BETWEEN MATRIX METALLOPROTEINASE-3 AND ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT RUPTURE

Mr. Somkait Malila

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medical Science
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2010

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 กับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด
โดย	นายสมเกียรติ มลิลา
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. สิทธิศักดิ์ หรรษาเวก

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อดิศร ภัทราดูลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร. วิไล ชินธเนศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. สิทธิศักดิ์ หรรษาเวก)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พงศ์ศักดิ์ ยุกตะนันทน์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. กอบธัม สถิรกุล)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมเกียรติ มลิลา : ความสัมพันธ์ระหว่างยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 กับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด. (The Association Between Matrix Metalloproteinase-3 and Anterior Cruciate Ligament Rupture) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. นพ. ดร. สิทธิศักดิ์ หรรษาเวก, 85หน้า.

เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดเป็นการบาดเจ็บที่พบได้บ่อยในกลุ่มนักกีฬา ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสาเหตุของการเกิดยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีปัจจัยภายในที่สำคัญและอาจมีส่วนเกี่ยวข้องคือ การเปลี่ยนแปลงของรหัสพันธุกรรมในตัวผู้ป่วยเอง ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ได้ให้ความสนใจในเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของยีน matrix metalloproteinase-3 (*MMP-3*) เอนไซม์ MMP-3 นี้ทำหน้าที่ในการสลาย extracellular matrix และอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดได้ การเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *MMP-3* นั้นมีผลต่อการแสดงออกของยีน *MMP-3* ดังนั้นจึงทำการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ของการเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *MMP-3* ร่วมกับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดอายุระหว่าง 20 - 40 ปีจำนวน 100 ราย และกลุ่มควบคุมที่ไม่เคยมีประวัติของการบาดเจ็บของข้อเข่ามาก่อน มีอายุอยู่ระหว่าง 18 - 28 ปีจำนวน 100 ราย ตัวอย่างทั้งหมดถูกนำมาศึกษาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *MMP-3* ที่ตำแหน่ง -1612 จากนั้นจึงนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Chi square test ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นว่ากลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดที่เกิดจากการกระแทกนั้นมีความสัมพันธ์กับการเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน คือ 5A+ (5A/5A, 5A/6A): ร้อยละ 37.5 ต่อ ร้อยละ 20 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีสาเหตุการขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่ไม่ได้เกิดจากการกระแทก (P=0.02) และในระดับอัลลีลพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของอัลลีล 6A และ 5A ระหว่างกลุ่มผู้ป่วย 2 กลุ่มที่มีสาเหตุของการขาดของเอ็นไขว้หน้าที่แตกต่างกัน (6A: ร้อยละ 81.2 ต่อ ร้อยละ 89.1 5A ร้อยละ18.8 ต่อ ร้อยละ 10.9 P=0.01) ซึ่งอัลลีล 5A พบได้มากในกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดที่มีสาเหตุมาจากการกระแทก ผลการศึกษาอาจสรุปได้ว่ายีน *MMP-3* น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์ ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2553 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

5174870330 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEYWORDS : Anterior cruciate ligament rupture/ Matrix metalloproteinase-3/ Single nucleotide polymorphism

SOMKAIT MALILA: THE ASSOSIATION BETWEEN MATRIX METALLOPROTEINASE-3 AND ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT RUPTURE. ADVISOR: ASSOC. PROF. SITTISAK HONSAWEK, Ph.D., M.D., 85 pp.

Anterior cruciate ligament (ACL) rupture is considered the most severe injury in sports. However, the precise aetiologies of ACL injuries are not fully understood. Recently, the gene encoding for the matrix metalloproteinase-3 (MMP-3, stromelysin-1) has been shown to be associated with anterior cruciate ligament rupture. The 5A/6A polymorphism in the promoter of MMP-3 gene affects the regulation of MMP-3 gene expression. The aim of this study was to determine the association between polymorphism within -1612 of MMP-3 gene and ACL rupture in an independent population. A total of 100 participants between 20 to 40 years of age with surgically diagnosed ACL ruptures and 100 healthy controls between 18 to 28 years of age without history of ligament or tendon injuries were recruited in the study. All participants were genotyped for the MMP-3 polymorphism (-1612 5A/6A). Statistical analyses of genotype frequencies between patients and healthy controls were performed by Chi-square test. The significant difference was found between ACL rupture subgroups in term of genotype association (5A+ (5A/5A, 5A/6A): 37.5% in contact sports vs. 20.0% in non-contact sports; P = 0.02). In allelic association, there was statistically significant (6A: 81.2% in contact sports vs. 89.1% in non-contact sports, 5A: 18.8% in contact sports vs. 10.9% in non-contact sports, P = 0.01). The 5A+ genotype of MMP-3 was represented in ACL ruptures with contact sport participants. We propose that this sequence variant is the specific genetic element to be included in multifactorial model to understand the aetiologies and risk factors for ACL rupture.

Field of Study : Medical science Student's Signature สมเกียรติ มลิลา

Academic Year : 2010 Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สามารถสำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ โดยได้รับความร่วมมือจากหลายฝ่าย ขอกราบขอบพระคุณ รศ. นพ. สิทธิศักดิ์ หรรษาเวก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสในการศึกษาต่อระดับปริญญาโท และให้คำแนะนำ คำสั่งสอน ตลอดช่วงระยะเวลาในการศึกษา และเป็นที่ปรึกษาที่ดีในการทำวิทยานิพนธ์ทั้งในเรื่องการรวบรวมข้อมูล การทดลอง การทำรูปเล่ม และการนำเสนอ จนสำเร็จอย่างสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ รศ. นพ.พงศ์ศักดิ์ ยุกตะนันทน์ อาจารย์ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความอนุเคราะห์ในการคัดกรองตัวอย่างผู้ป่วยที่ใช้ในการวิจัยเป็นอย่างดี ขอกราบขอบพระคุณ รศ. พญ.วิไล ชินธเนศ และ รศ. ดร. กอบธัม สถิรกุล ประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ต่าง ๆ ที่จะนำมาใช้ในการทำวิทยานิพนธ์และที่จะนำใช้ต่อในการประกอบอาชีพในอนาคต ขอกราบขอบพระคุณ นพ. สุริยพงษ์ เสาวพฤทธิ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการคัดกรองและให้ความช่วยเหลือเก็บตัวอย่างในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ทุกท่านทั้งฝ่ายผู้ป่วยนอกและห้องผ่าตัด แผนกออร์โธปิดิกส์ ตึกผู้ป่วยเจริญสมศรีชั้น 4 ที่ให้ความอนุเคราะห์และช่วยเหลือการเก็บตัวอย่าง ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายธุรการภาควิชาเคมี และฝ่ายบัณฑิตศึกษา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือรอบด้าน ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในศูนย์วิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ความรู้ คำแนะนำในการใช้อุปกรณ์วิจัยภายในศูนย์วิจัย ขอขอบพระคุณทุนการศึกษาระหว่างเรียนจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้แก่ ทุนผู้ช่วยสอนและทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภชน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่เป็นผู้อุปการะทุก ๆ ด้านของชีวิต ขอบคุณญาติพี่น้อง เพื่อน ๆ ระดับปริญญาตรี ปริญญาโท และเพื่อน ๆ ในห้องปฏิบัติการทุกคนที่ช่วยทำงานและคอยให้กำลังใจเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย…….…….…. ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ……..…… จ
กิตติกรรมประกาศ…… ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง…… ฌ
สารบัญภาพ…….. ญ
บทที่ 1 บทนำ……..…… 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา……..……..… 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย……..… 5
ขอบเขตของการวิจัย…….…….... 5
ข้อตกลงเบื้องต้น…….…… 5
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย……..... 6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……..…… 6
วิธีดำเนินการวิจัย…… 7
กรอบแนวคิดวิจัย…… 8
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……..…… 10
อาการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ……..... 10
ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยในการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า….. 14
รูปแบบของค่าพารามิเตอร์ในการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีภายหลัง
การบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ……..... 16
ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีลำดับเบสต่างกันตำแหน่งเดียว.....…….. 17
ปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีผลต่อการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นและกล้ามเนื้อ..... 18
โครงสร้างและการทำงานของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส …….. 20
รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส ……..... 24
รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3.....…….. 24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย…..... 27
ประชากร……..……..……..... 27
เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย……..……..…… 28

หน้า

การเก็บรวบรวมข้อมูล..... 31
การดำเนินการวิจัย..... 33
การวิเคราะห์ข้อมูล 40
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 41
ข้อมูลลักษณะทางกายภาพของผู้ป่วย..... 41
ผลการตรวจประเมินการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าผู้ป่วยภายหลังการผ่าตัด..... 43
ผลการตรวจจีโนไทป์ของ SNP MMP-3..... 47
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... 52
สรุปผลการวิจัย..... 52
อภิปรายผลการวิจัย..... 57
ข้อเสนอแนะ..... 60
รายการอ้างอิง..... 61
ภาคผนวก..... 66
ภาคผนวก ก..... 67
ภาคผนวก ข..... 73
ภาคผนวก ค..... 77
ภาคผนวก ง..... 81
ภาคผนวก จ..... 83
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 85

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ชนิดของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสที่พบในมนุษย์..... 22
ตารางที่ 2 ตำแหน่งของการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของยีน
เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสและโรคที่เกี่ยวข้อง..... 24
ตารางที่ 3 คุณสมบัติของ primer MMP-3 ที่ใช้ในการทำ PCR 38
ตารางที่ 4 ปริมาณสารต่าง ๆ สำหรับการทำ PCR 38
ตารางที่ 5 ขั้นตอนรายละเอียด สำหรับการทำ PCR 39
ตารางที่ 6 ปริมาณสารที่ใช้ในการทำ digestion 39
ตารางที่ 7 ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม 8% polyacrylamide gel ต่อ 1 gel 40
ตารางที่ 8 ข้อมูลลักษณะทั่วไปของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม..... 41
ตารางที่ 9 ข้อมูลลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าขาด แยกตามสาเหตุของ
การเกิดการบาดเจ็บ..... 41
ตารางที่ 10 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยน
เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทั้งสองกลุ่ม..... 43
ตารางที่ 11 ข้อมูลคะแนน IKDC Subjective score เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม BPTB graft
และ Hamstring graft 44
ตารางที่ 12 ข้อมูลจำนวนผู้ป่วยแบ่งตามระดับการฟื้นตัวของผู้ป่วยตามคะแนน
IKDC Objective score..... 44
ตารางที่ 13 ผลการประเมินการทดสอบกระโดดขาเดียว ในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม 45
ตารางที่ 14 ผลการตรวจค่าความหย่อนของข้อเข่าของผู้ป่วยสองกลุ่ม..... 46
ตารางที่ 15 รูปแบบการกระจายตัวของจีโนไทป์และอัลลีล
ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วย..... 49
ตารางที่ 16 รูปแบบการกระจายตัวของจีโนไทป์และอัลลีลในกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม..... 50
ตารางที่17 ปัจจัยที่มีผลต่อความเสี่ยงของการเกิดโรคข้อเข่าเสื่อมวิเคราะห์โดยใช้
Logistic regression..... 51
ตารางที่18 ผลการวิเคราะห์การศึกษาของการเปรียบเทียบผลลัพธ์ภายหลังการผ่าตัดซ่อม
เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทั้งสองรูปแบบ 53
ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์การศึกษาหาความเสี่ยงทางพันธุกรรมต่อการเกิด
อาการเอ็นไขว้หน้าฉีกขาด..... 55

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า..... 10
รูปที่ 2 ลักษณะการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า..... 12
รูปที่ 3 การผ่าตัดเพื่อทำการสร้างเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นจากบริเวณลูกสะบ้า..... 14
รูปที่ 4 แบบจำลองถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของนักกีฬา..... 15
รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า.....15
รูปที่ 6 การเกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสตำแหน่งเดียว..... 17
รูปที่ 7 โครงสร้างพื้นฐานของเส้นเอ็น..... 18
รูปที่ 8 โครงสร้างหลักของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส..... 21
รูปที่ 9 Lachman test โดยใช้เครื่อง Rolimeter 33
รูปที่ 10 รูปแบบต่าง ๆ ของ hop test..... 34
รูปที่ 11 Single Hop for Distance..... 35
รูปที่ 12 วิธีการเก็บตัวอย่าง..... 36
รูปที่ 13 กราฟแท่งแสดงร้อยละของผู้ป่วย โดยแบ่งตามระดับการฟื้นตัวของผู้ป่วย..... 45
รูปที่ 14 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนของผู้ป่วย
แบ่งตามผลต่างของความหย่อนของข้อเข่า..... 47
รูปที่ 15 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR ขนาด 120 bp..... 47
รูปที่ 16 ลักษณะของดีเอ็นเอในแบบจีโนไทป์ต่าง ๆ..... 48

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เอ็นไขว้หน้าข้อเข่า (anterior cruciate ligament; ACL) เป็นส่วนโครงสร้างที่สำคัญของข้อเข่า โดยมีความสำคัญในการยึดกระดูกต้นขาและกระดูกหน้าแข้งไว้ด้วยกัน โดยจะทำหน้าที่ร่วมกับเอ็นอีก 3 เส้น คือ เอ็นไขว้หลังข้อเข่า เอ็นด้านข้างข้อเข่าด้านใน และเอ็นด้านข้างข้อเข่าด้านนอก เอ็นไขว้หน้าข้อเข่านี้เป็นส่วนที่มีโอกาสเกิดการบาดเจ็บได้บ่อยที่สุดในระหว่างการเล่นกีฬา ซึ่งการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่านี้ร่างกายไม่สามารถที่จะฟื้นฟูเองได้ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องทำการรักษาโดยการผ่าตัดเพียงอย่างเดียว ซึ่งการผ่าตัดนั้นจะเป็นการผ่าตัดเพื่อซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าใหม่ โดยนำเอาเอ็นบริเวณอื่น เช่น เอ็นบริเวณลูกสะบ้าหัวเข่า (bone-patellar tendon bone) หรือเอ็นบริเวณต้นขาด้านใน (medial hamstrings) มาแทนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เสียไป หรือมีการใช้วัสดุอื่นเข้ามาทดแทนเอ็นที่ขาดไป[1] และหลังจากทำการผ่าตัดแล้วนั้นผู้ป่วยจำเป็นต้องทำกายภาพบำบัดเป็นเวลานาน และบางรายอาจจะไม่สามารถกลับไปเล่นกีฬาได้เหมือนอย่างเคย นอกจากนี้อาจจะทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนตามมาได้ เช่น กระดูกหัวเข่าติดกันได้ไม่สนิท มีการเจ็บบริเวณข้อเข่า หรือมีการเสื่อมของหมอนรองกระดูกข้อเข่า ทำให้อาจจะเกิดปัญหาในชีวิตประจำวันได้ ซึ่งอาการเหล่านี้สามารถนำไปสู่การเกิดโรคข้อเข่าเสื่อม (knee osteoarthritis)[2] ได้ในที่สุด

ถึงแม้ว่าสาเหตุส่วนใหญ่ของการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดนั้น ส่วนใหญ่จะเกิดจากสาเหตุภายนอก เช่น การกระแทกอย่างรุนแรงบริเวณหัวเข่าในระหว่างการเล่นกีฬาหรือเกิดจากการเคลื่อนไหวผิดจังหวะของตัวผู้ป่วยเอง[3] เช่น มีการบิดขาเพื่อเปลี่ยนทิศทางของร่างกายอย่างรวดเร็ว การใช้ขาเพื่อหยุดจังหวะการวิ่งอย่างกระทันหัน หรือการกระโดดแล้วลงมาผิดท่า ซึ่งลักษณะที่เสี่ยงต่อการบาดเจ็บเหล่านี้จะพบได้มากในกลุ่ม นักฟุตบอล นักสกี นักบาสเก็ตบอล และนักอเมริกันฟุตบอล แต่ก็ไม่จำเป็นว่านักกีฬาทุกคนที่เกิดอุบัติเหตุในระหว่างการเล่นกีฬา หรือได้รับการกระแทกอย่างรุนแรงบริเวณหัวเข่าจะเกิดการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทุกคน อีกทั้งอาการที่เกิดขึ้นในแต่ละรายยังมีความรุนแรงของอาการไม่เท่ากันอีกด้วย ดังนั้นปัจจัยภายในที่สำคัญอย่างเช่นลักษณะทางพันธุกรรมของผู้ป่วยเองจึงน่าจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการดังกล่าวควบคู่ไปกับปัจจัยภายนอกอย่าง เช่น พฤติกรรมและความถี่ในการเล่นกีฬา รวมทั้งอุบัติการณ์ของการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดนั้นพบได้มากในเพศหญิงมากกว่าเพศชายอีกด้วย[4]

ในปี พ.ศ. 2551 Alejandro J. และคณะ[5] ได้มีการศึกษาในระดับโมเลกุลของเนื้อเยื่อตรงบริเวณเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่มีอาการบาดเจ็บ พบว่ามีการแสดงออกของยีน collagen type 1 (*COL1*), collagen type 3 (*COL3*), matrix metalloproteinase-3 (*MMP-3*), matrix metalloproteinase-8 (*MMP-8*), tissue inhibitors of metalloproteinase-1 (*TIMP-1*), tissue inhibitors of metalloproteinase -3 (*TIMP-3*) ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับระดับของสารชีวเคมีในน้ำไขข้อที่มาจากงานวิจัยของ Higuchi H. และคณะ[6] ในปี พ.ศ. 2549 พบว่าระดับของสารชีวเคมีที่พบในน้ำไขข้อจากข้อเข่าที่มีอาการบาดเจ็บ เช่น interleukin-6 (IL-6), MMP-3, TIMP-1 เป็นต้น มีระดับสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน[8] และมีค่าคงที่อยู่ในช่วขณะหนึ่ง ซึ่งจากความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้ แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้อง และการเพิ่มขึ้นของสารชีวโมเลกุลดังกล่าวน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการดำเนินของโรคได้

ในปี พ.ศ. 2542 Takahashi M. และคณะ[7] รายงานว่าในกลุ่มผู้ป่วยสูงอายุ (อายุเฉลี่ย 74.3 ปี) ที่เป็นโรคหมอนรองกระดูกสันหลังเสื่อมที่มีการเกิดการเปลี่ยนแปลงบนตำแหน่งเบสเพียงตำแหน่งเดียวของยีน *MMP-3* ส่งผลให้เกิดความเสื่อมของหมอนรองกระดูกสันหลังที่รุนแรงกว่าผู้ที่ไม่มีความผิดปกติบนตำแหน่งเบสนั้นๆ แต่ในทางกลับกันไม่พบลักษณะความแตกต่างนี้ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุน้อย (อายุเฉลี่ย 21.4 ปี)

ในปี พ.ศ. 2548 Lita M.V. และคณะกลับไม่พบถึงความแตกต่างของการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสตำแหน่งเดียวกันบนยีน *MMP-3* ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหมอนรองกระดูกสันหลังเสื่อมในกลุ่มของผู้ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานที่มีการสั่นไหวของร่างกายอย่างต่อเนื่อง เช่นผู้ที่ทำงานบนรถไฟเป็นประจำ และมีอายุเฉลี่ย 21 ปี ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Takahashi M.

ในปี พ.ศ. 2552 Posthumus M. และคณะ[8] ได้ทำการศึกษาถึงการเกิดการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสเพียงตำแหน่งเดียวในยีน *COL1A1, COL12* และพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดความเสี่ยงที่ทำให้เกิดอาการของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ[9, 10]

ในปี พ.ศ. 2553 Han-Yan Yuan และคณะ[11] ได้มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับ การเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสตำแหน่งเดียวบนยีน *MMP-3* มีความสัมพันธ์กับการเกิดการเสื่อมของหมอนรองกระดูกสันหลัง และยังพบอีกว่าถ้านำความสัมพันธ์นี้ไปคิดรวมกับพฤติกรรมที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อหมอนรองกระดูกสันหลังเสื่อมยิ่งทำให้เกิดความเสี่ยงมากกว่าผู้ที่มีพฤติกรรมอย่างเดียวกันแต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสบนยีนเดียวกัน

จากการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า โดยดูจากผลกระทบของฮอร์โมนเพศต่อการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า โดย Slauterbeck J.R และ Hardy D.M ในปี พ.ศ. 2542 พบว่ามีตัวรับของฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเทอโรนอยู่บนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า [12] ซึ่งผลของฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้จะไปมีผลต่อ สารชีวเคมีในกลุ่ม MMPs และ TIMPs [13] ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุมสมดุลระหว่างการคงอยู่หรือการสลายไปของเนื้อพื้นภายนอกเซลล์ (extracellular matrix, ECM) [14] ซึ่งถ้ามีการแสดงออกของฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเทอโรนผิดปกติไป อาจจะทำให้เอ็นบริเวณข้อเข่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือฉีกขาดเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าปกติ ซึ่งสอดคล้องกับข้อเท็จจริงที่ว่ามีการพบอุบัติการณ์ของอาการเหล่านี้ในเพศหญิงมากกว่าในเพศชาย

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเกิดความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าเสื่อมได้มากขึ้น และยีนที่เกี่ยวข้องส่วนใหญ่มีการศึกษาไปทางยีนของคอลลาเจน เนื่องจากคอลลาเจนเป็นส่วนประกอบหลักของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า และมีงานวิจัยที่รับรองทางด้านนี้อย่างต่อเนื่อง เช่น งานวิจัยของ Posthumus M และคณะ [15] ในปี พ.ศ. 2550 ที่พบว่าการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสตำแหน่งเดียวของยีน collagen 5A1 (*COL5A1*) ส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ยีนในกลุ่มคอลลาเจนมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคที่เกี่ยวกับการบาดเจ็บของเอ็นต่างๆ อย่างเช่น การศึกษาของ Malcolm Collins และคณะรายงานว่าถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสตำแหน่งเดียวบนยีน *COL5A1* และ tenascinC (*TNC*) จะมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเอ็นร้อยหวายฉีกขาดอย่างมีนัยสำคัญ แต่ในทางกลับกันกลับไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน *COL1A1* กับการเกิดเอ็นร้อยหวายฉีกขาด แต่งานวิจัยของ Khoschnau S. และคณะ [16] ในปี พ.ศ. 2551 ที่พบว่าการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสตำแหน่งเดียวบนยีน COL1A1 ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดและการหลุดของข้อไหล่อย่างมีนัยสำคัญ

แต่ก็ยังมียีนในกลุ่มอื่นๆ อีกที่น่าสนใจ เช่น ยีนในกลุ่ม *MMPs* และ *TIMPs* เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับคอลลาเจนเป็นอย่างมาก กล่าวคือ ยีนในกลุ่ม *MMPs* บางชนิดมีคุณสมบัติเป็น collagenase และ *TIMPs* มีคุณสมบัติที่จะยับยั้งการทำงานของ MMPs ได้ นอกจากนี้ยีนในกลุ่ม *MMPs* โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีน *MMP-3* ที่พบว่ามีความสำคัญในการทำให้เกิดการบาดเจ็บของเอ็นต่างๆได้มากขึ้น และความสำคัญของยีนในกลุ่ม *MMPs* นั้นพบว่าถ้าเกิดมีการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสเกิดขึ้นนั้น จะมีความเกี่ยวข้องกับโรคต่างๆ เช่น หลอดเลือดหัวใจตีบตัน ในงานวิจัยของ Tamara Djuric และคณะ[17] ในปี พ.ศ. 2551 พบว่าถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสเกิดขึ้นอาจทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาด

เลือด (myocardial infarction) มากขึ้น จากงานวิจัยของ Samnegard A. และคณะ[18] ในปี พ.ศ. 2546 ที่พบว่ามีระดับของเอนไซม์ MMP-3 ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสบนยีน *MMP-3* และยังมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดอีกด้วย สำหรับโรคกระดูกสันหลังอักเสบชนิดยึดติด ในงานของ James Cheng-Chung Wei และคณะ[19] ที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสตำแหน่งเดียวมีความสัมพันธ์กับการดำเนินไปของโรคอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับโรคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน อย่างเช่นโรคปริทนต์อักเสบ ซึ่งมาจากงานวิจัยของ Astolfi CM. และคณะ[20] ว่าการเกิดการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสนั้นสัมพันธ์กับการเกิดโรคเช่นกัน

นอกจากนี้การฟื้นฟูของข้อเข่าภายหลังการผ่าตัดก็เป็น อีกปัจจัยหนึ่งที่น่ามีการศึกษาและติดตาม เนื่องจากว่าการผ่าตัดเพื่อซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าที่ขาดนั้น โดยหลักแล้วจะมีอยู่สองแบบ คือ การใช้เอ็นที่บริเวณลูกสะบ้าหัวเข่ามาแทนเอ็นไขว้หน้าที่ขาด (Bone tendon bone grafts) และการใช้เอ็นบริเวณต้นขามาแทนเอ็นไขว้หน้าที่ขาด (Semitendinosus-gracialis grafts) ซึ่งทางทฤษฎีแล้วการใช้เอ็นบริเวณลูกสะบ้าถือว่าเป็นมาตรฐานของการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า แต่มีหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการใช้เอ็นบริเวณต้นขา สามารถที่จะนำมาใช้แทนกันได้โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้านั้น พบได้ว่ามีรูปแบบการผ่าตัดทั้งสองรูปแบบ ซึ่งการศึกษาถึงผลการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มนั้นในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนจึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาศึกษา

จากความสำคัญดังที่ได้กล่าวมาของยีนในกลุ่ม *MMPs* และเนื่องจากว่าการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของการเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มีลำดับเบสต่างกันเพียงตำแหน่งเดียวของยีน *MMPs* ในผู้ที่มีภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดนั้นยังไม่มีการศึกษามากนัก ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจ ที่ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสบนยีน *MMP-3* เนื่องจากพบว่ามีการศึกษาของ Raleigh SM. และคณะในปี 2008 ถึงผลของการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสบนยีน MMP-3 นี้ในผู้ป่วยที่อาการบาดเจ็บบริเวณเอ็นร้อยหวาย (Achilles tendon) พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดและมีนัยสำคัญ[21] แต่การศึกษายีน *MMP-3* ตำแหน่ง -1612 5A/6A (rs3025058) ในผู้ป่วยที่มีอาการของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดนั้นยังไม่มีการศึกษามาก่อน ดังนั้น จึงเป็นประโยชน์ในการค้นหาสาเหตุและอันจะนำไปช่วยในการพยากรณ์การเกิดโรคหรือช่วยในการตรวจคัดกรองโอกาสที่จะเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาดหรือเป็นปัจจัยช่วยในการดำรงชีวิตของผู้ป่วยได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษารูปแบบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *MMP-3* ในผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดว่ามีความเหมือนหรือต่างจากปกติอย่างไร
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบยีน *MMP-3* และลักษณะอาการทางคลินิกในผู้ป่วยที่เอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด
3. เพื่อศึกษาถึงสาเหตุของการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมอย่างไร

ขอบเขตของการวิจัย

1. ผู้ป่วยโรคเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดที่ได้รับการรักษา แผนกออร์โธปิดิกส์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ซึ่งยินยอมเข้าร่วมโครงการด้วยความสมัครใจตลอดระยะเวลาของการศึกษาวิจัย
2. กลุ่มควบคุม (control) เป็นอาสาสมัครคนปกติที่ไม่มีประวัติการเกิดโรคเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด ที่มีอายุและเพศใกล้เคียงกับผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อม

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. เครื่องมือและชุดการทดสอบต่างๆ ที่ใช้ในการทดสอบเป็นเครื่องมือที่ผ่านการทดสอบความเที่ยงตรงและความแม่นยำของการทดสอบเครื่องมือและชุดการทดสอบนั้นๆ
2. ผู้เข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยเป็นผู้ป่วยที่เคยมารับการผ่าตัดซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าและผู้ป่วยที่มีอาการเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดแต่ยังไม่ได้รับการผ่าตัด ณ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
3. ผู้เข้าร่วมโครงการศึกษาวิจัยให้ความร่วมมือด้วยความเต็มใจตลอดการศึกษาวิจัย โดยมีการลงลายมือชื่อในใบยินยอม (informed consent) ด้วยความสมัครใจภายหลังได้รับการชี้แจงให้ทราบในทุกด้าน รวมถึงความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้น

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

Polymerase chain reaction (PCR) - ปฏิกิริยาการเพิ่มสายดีเอ็นเอ ในบริเวณที่จำเพาะเจาะจง โดยใช้การทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ทำให้สาย primer สามารถจับกับสายดีเอ็นเอต้นแบบได้ ซึ่งการทำงานทั้งหมดประกอบด้วย 3 รอบ คือ denature คือการแยกสายดีเอ็นเอออกจากกันโดยใช้ความร้อน จากนั้นจะเข้าสู่ annealing เพื่อให้สาย primer จับกับดีเอ็นเอต้นแบบ และสุดท้ายในช่วง extension เพื่อทำการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อไป

Gel electrophoresis - เทคนิคการแยกชิ้นส่วนของดีเอ็นเอด้วยสนามไฟฟ้า เนื่องจากดีเอ็นเอมีประจุลบจากหมู่ฟอสเฟต ถ้าดีเอ็นเอมีขนาดใหญ่ประจุก็จะมากตามไปด้วย ทำให้เกิดแรงเสียดทานของการเคลื่อนที่ต่อดีเอ็นเอขึ้น กล่าวคือชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่จะมีการเคลื่อนที่ช้ากว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดเล็ก ทั้งนี้การเคลื่อนที่ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเจลที่ใช้ทำการแยกอีกด้วย

Genotype - รูปแบบที่พบในอัลลีลที่มีความจำเพาะในแต่ละบุคคล

Promoter – ลำดับของดีเอ็นเอ ซึ่ง RNA polymerase ไปจับเพื่อเริ่มต้นกระบวนการสังเคราะห์แม่แบบของ RNA

Primer – Oligonucleotide หรือ ดีเอ็นเอสายสั้น ๆ ที่ใช้ในการเป็นแม่แบบของการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่

Restriction enzyme – เอนไซม์ที่ได้จากแบคทีเรียที่สามารถตัดสายดีเอ็นเอ ในตำแหน่งที่จำเพาะ

Buffy coat – ชั้นของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ได้จากการปั่นแยกพลาสมากับเซลล์เม็ดเลือดแดงออกจากกัน

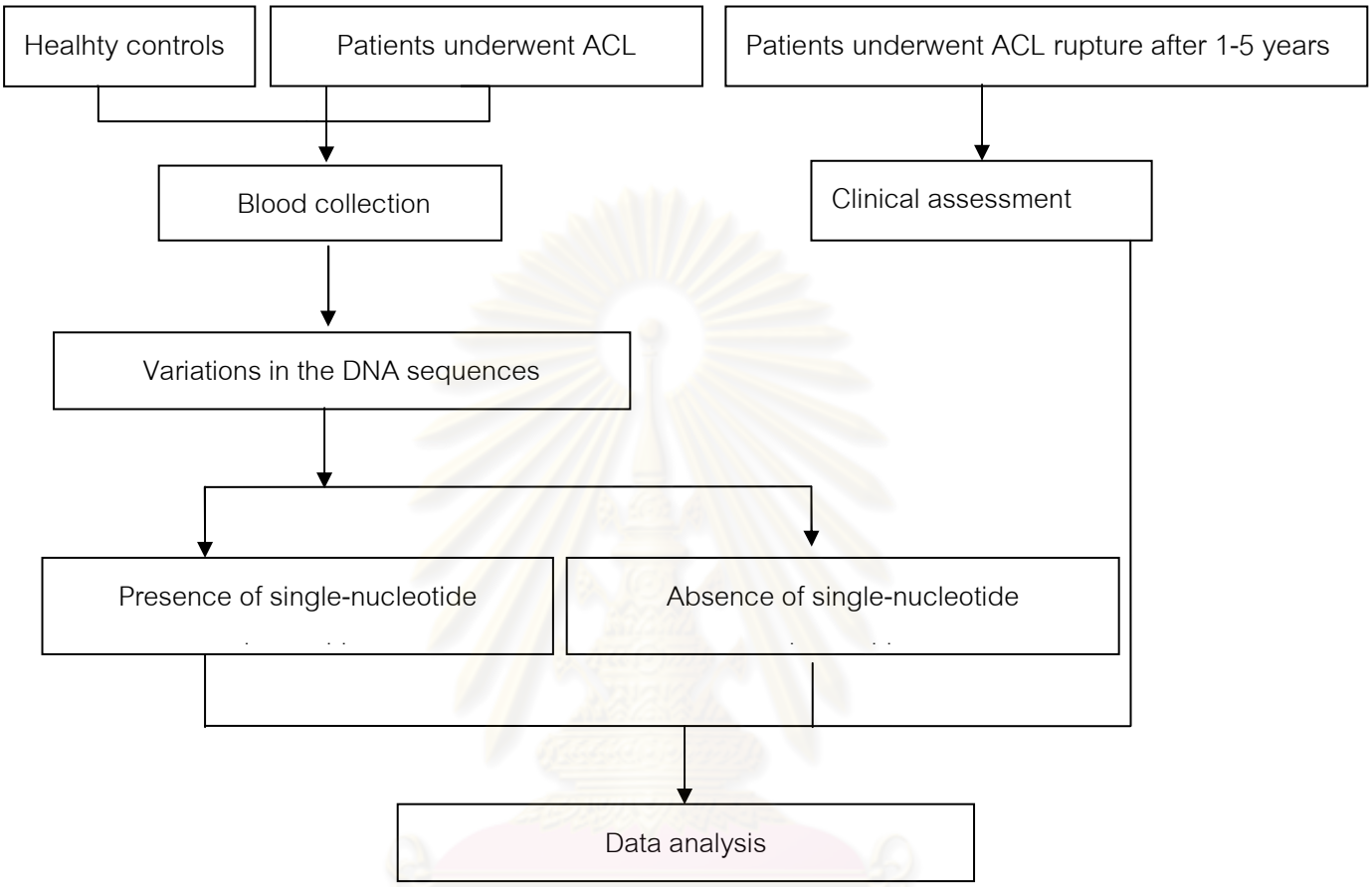
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาว่าเมื่อมีการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมขึ้นแล้วทำให้มีความเสี่ยงที่จะเกิดอาการของโรคมากขึ้นกว่าปกติหรือไม่

2. เพื่อทราบถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของผู้ป่วยโรคเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด โดยอาจใช้ในการประยุกต์ทางคลินิกให้ทราบถึงปัจจัยเสี่ยงทางพันธุกรรมต่อการเกิดโรค

3. เพื่อทราบถึงผลลัพธ์ภายหลังการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าของผู้ป่วย ที่มีการใช้รูปแบบการผ่าตัดที่แตกต่างกัน

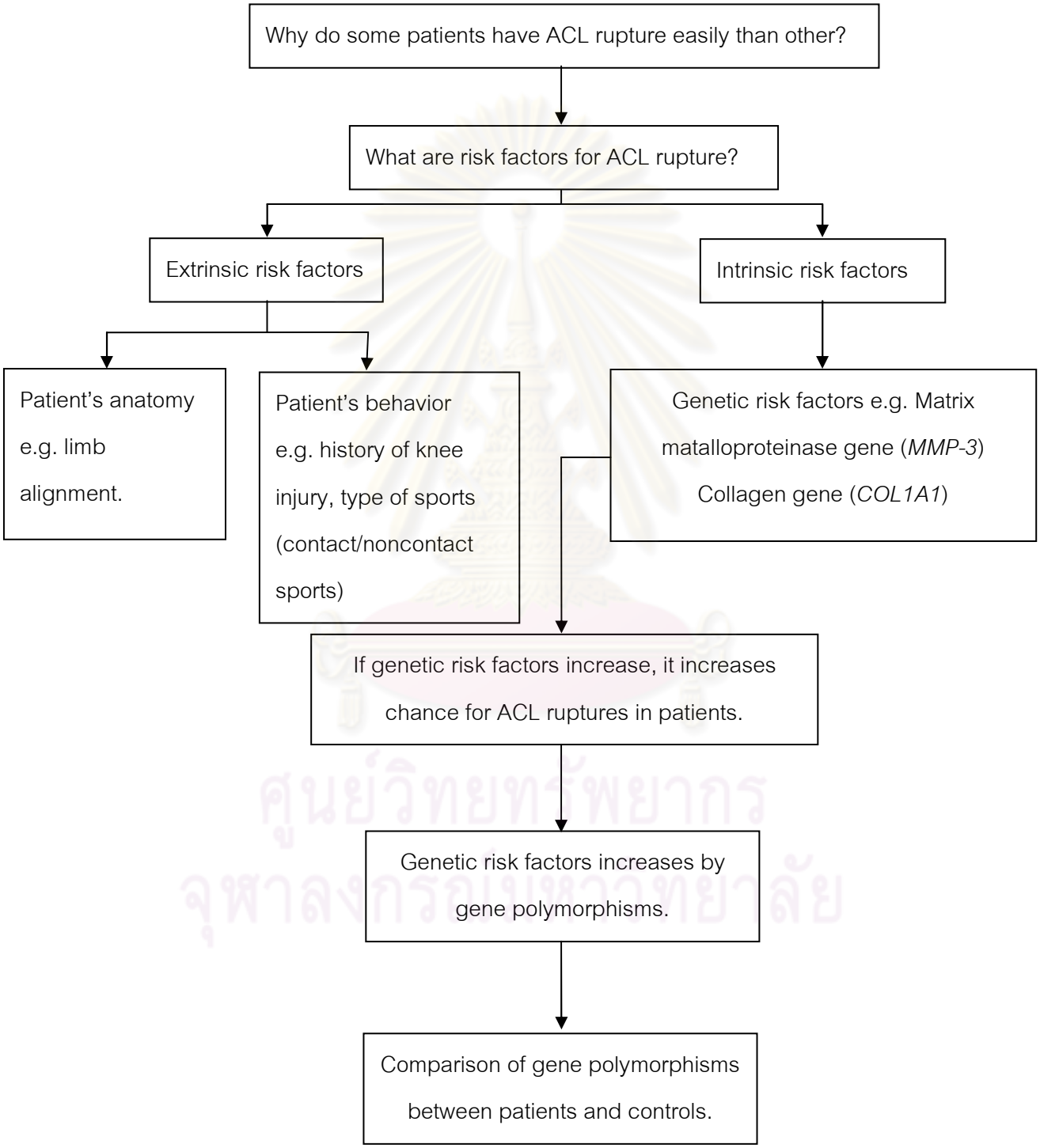
วิธีการดำเนินการวิจัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

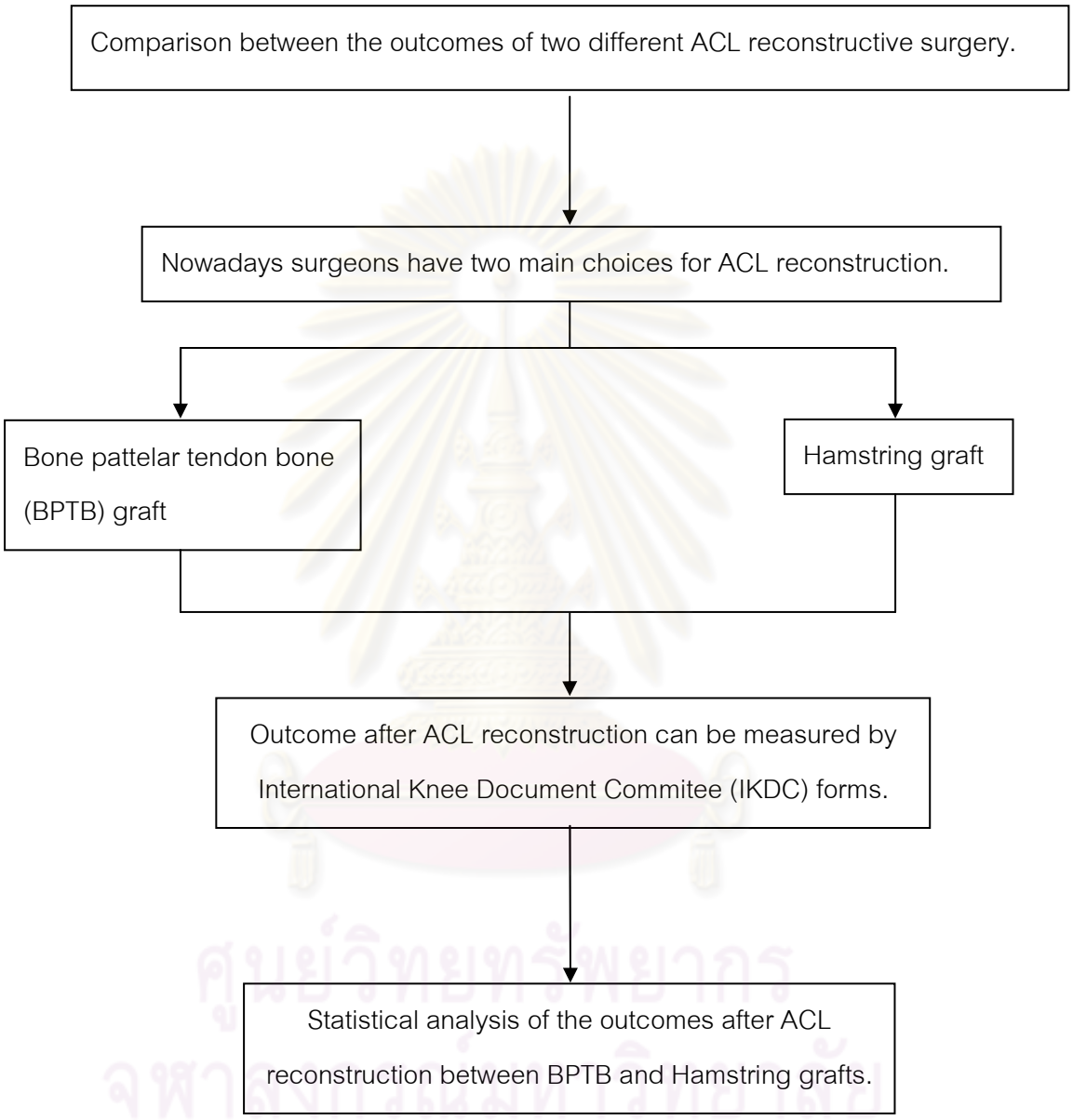
กรอบแนวคิดการวิจัย

กรอบแนวคิดย่อยเรื่องการวิจัยถึงความสัมพันธ์ระหว่างยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 กับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรอบแนวคิดย่อยเรื่องการวิจัยถึงการเปรียบเทียบผลลัพธ์ภายหลังการผ่าตัดซ่อมเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เสียหาย ระหว่างการผ่าตัดสองรูปแบบ



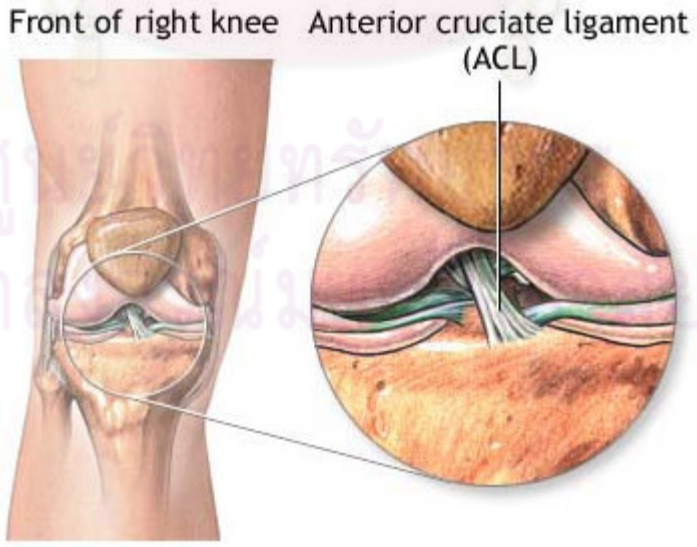
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อาการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า (Anterior Cruciate Ligament Injury; ACL Injury)

ภาวะเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าเสื่อมสภาพ (ACL insufficiency) เป็นภาวะที่พบได้บ่อยทางออร์โธปิดิกส์ ภายหลังการบาดเจ็บของข้อเข่า ซึ่งทำให้ผู้ป่วยบางส่วนที่มีการเสียสภาพของข้อเข่าไปอย่างถาวร ขณะที่บางส่วนยังไม่มีอาการและสามารถใช้ข้อเข่าได้ทั้งในชีวิตประจำวันและเล่นกีฬาได้ แต่ถ้าผู้ป่วยที่มีอาการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าแล้วไม่ได้เข้ารับการรักษาอย่างต่อเนื่อง จะทำให้เกิดผลเสียต่อข้อเข่า โดยจะเกิด การหย่อนของข้อเข่า ความไม่มั่นคงของข้อเข่า การบาดเจ็บของหมอนรองกระดูก การบาดเจ็บของกระดูกอ่อนบริเวณข้อเข่า และเกิดข้อเข่าเสื่อม ของเข่านั้นในที่สุด [4]

โครงสร้างของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าประกอบด้วย small anteromedial band และ larger anteromedial band, bulky posterolateral band โดย ACL มีความกว้างประมาณ 10 มิลลิเมตร และมีความยาวประมาณ 38-40 มิลลิเมตร มีที่เกาะตรงกระดูกต้นขาอยู่ทางด้านในของ lateral femoral condyle โดยอยู่หลังต่อ longitudinal axis ของลำกระดูกต้นขา ในลักษณะครึ่งวงกลมที่มีส่วนโค้งอยู่ทางด้านหลัง เพื่อที่จะมีส่วนช่วยในการเหยียดข้อเข่า ส่วนที่เกาะตรงกระดูกหน้าแข้ง นั้นเกาะอยู่ค่อนไปทาง anterolateral ต่อ anterior tibial spine



(http://www.youcanbefit.com/ACL.html)

รูปที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า

ซึ่งการเกิดอุบัติการณ์ของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดในประชาชนทั่วไปได้มีการศึกษาโดย Nielsen และ Yde [22] พบว่ามีอุบัติการณ์ของอาการดังกล่าวอยู่ที่อัตราส่วนสามต่อหนึ่งร้อยต่อปี และในสัดส่วน สองในสาม เป็น isolated ACL tears โดย หนึ่งในสาม เป็น sports related ส่วนการศึกษาของ Miyasaka พบว่าอุบัติการณ์การเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด เป็นอัตราส่วนสามจุดแปดต่อหนึ่งร้อยต่อปี และพบว่าเกี่ยวข้องกับกีฬาในสัดส่วนถึง สองในสามซึ่งเกิดจากการเล่น ฟุตบอล เบสบอล รักบี้ฟุตบอล สกี และบาสเก็ตบอล โดยการเกิดอุบัติการณ์ในนักกีฬาพบว่ามีค่าความเสี่ยงถึง 100 เท่าเมื่อเทียบกับประชากรทั่วไป

แต่เมื่อดูถึงการเกิดการบาดเจ็บของข้อเข่าโดยแบ่งตามเพศ พบว่าเพศหญิงมีอุบัติการณ์ของการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่ามากกว่าเพศชายถึง 2-4 เท่า มีหลายเหตุผลที่พยายามอธิบายถึงสาเหตุดังกล่าว ปัจจัยภายนอก ได้แก่ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ท่าทางไนการเคลื่อนไหวของร่างกาย และ ปัจจัยภายใน ได้แก่ ความหย่อนของข้อ ลักษณะของโครงสร้างของร่างกาย และฮอร์โมนเพศ เป็นต้น

ในปัจจุบันยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดเกี่ยวกับ ประวัติภายหลังการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า เนื่องจากส่วนหนึ่งของผู้ที่ได้รับบาดเจ็บโดยที่ไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัยและยังดำเนินกิจกรรมต่างๆอยู่ได้โดยไม่ต้องพบแพทย์ จึงไม่สามารถนำข้อมูลของผู้ที่บาดเจ็บเหล่านี้มาได้ ส่วนของผู้ป่วยที่นำมาศึกษาและรายงานเกี่ยวข้องกับการรักษาเกือบทั้งสิ้น แต่ในการศึกษาแต่ละงานนั้นไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ เนื่องจากตัววัด ตัวแปลผล กลุ่มอายุ และลักษณะของกิจกรรมในแต่ละกลุ่มอาจมีความแตกต่างกันมาก นอกจากนี้ยังไม่สามารถติดตามผลการรักษาของผู้บาดเจ็บได้อย่างครบถ้วน ทำให้การศึกษาถึง ประวัติภายหลังการบาดเจ็บทำได้ยากลำบาก

ระดับความรุนแรงในการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่านั้นจะแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. การฉีกขาดเพียงบางส่วน (partial Tear) ผู้ป่วยสามารถใช้เข่าได้อย่างเกือบเป็นปกติ มีเพียงอาการติดขัดของข้อเข่าในบางเวลา ซึ่งการเกิดการฉีกขาดเพียงบางส่วนนั้นสามาถที่จะพัฒนาไปเป็นการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าได้อย่างสมบูรณ์
2. การฉีกขาดอย่างสมบูรณ์ (complete Tear) ผู้ป่วยรู้สึกเหมือนว่ากระดูกหน้าแข้งหลุดออกจากกระดูกต้นขา และไม่สามารถขยับขาได้ มีอาการปวด บวมบริเวณข้อเข่าเป็นอย่างมาก ซึ่งการรักษาต้องทำโดยการผ่าตัดเพียงอย่างเดียว

(http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/18002.htm)

รูปที่ 2 ลักษณะการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า

การวินิจฉัยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาด โดยมากผู้ป่วยมักมีประวัติของการบิดของข้อเข่า รู้สึกว่ามีเสียงดัง “ป๊อป” ที่ข้อเข่า ไม่สามารถที่จะทำกิจกรรมต่อไปได้ และมีอาการบวมภายหลังจากเวลาผ่านไป สองถึงสามชั่วโมง หรือผู้ที่มีการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่านั้นมักจะมีการเคลื่อนของข้อเข่า กล่าวคือรู้สึกเหมือนกับว่าขาและต้นขาเคลื่อนที่หลุดจากกัน เปรียบได้กับการเอากำปั้นวางซ้อนกันแล้วทำลักษณะเลื่อนไปมา ซึ่งกลไกที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บมากที่สุดคือ การบิดของข้อเข่าโดยไม่มีการปะทะร่วมด้วย ซึ่งพบมากในกีฬาฟุตบอล และบาสเก็ตบอล

นอกจากนี้ประวัติบาดเจ็บของข้อเข่าในอดีตก็มีความสำคัญเนื่องจากผู้ป่วยที่มีอาการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าเรื้อรัง มักมาพบแพทย์ด้วยปัญหาของ ปวดบริเวณข้อเข่า มีความรู้สึกว่าข้อเข่าไม่มั่นคง หรือ เข่าบวมน้ำ แต่ถ้าถามประวัติย้อนไปก็อาจได้ประวัติที่เข้ากับการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า แต่ได้รับการรักษาแบบการรักษาเอ็นเข่าอักเสบ แล้วอาการดีขึ้นหลังจากนั้นจึงมามีปัญหากับเข่าในครั้งที่มาพบแพทย์

การตรวจร่างกาย ในรายที่มีอาการเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดอย่างเฉียบพลัน ข้อเข่ามักมีการปวดบวม เจ็บมากและโดยมากเกิดจาก กลไกของการบาดเจ็บแบบที่ไม่ได้เกิดการปะทะกันโดยตรง จึงมักจะไม่พบ รอยถลอก และรอยฟกช้ำ จากนั้นจึงเริ่มทำการตรวจข้อเข่าโดยเริ่มจากข้างที่ไม่ได้รับบาดเจ็บก่อนเพื่อให้ผู้ป่วยทราบขั้นตอนเพื่อที่เวลาตรวจข้างที่บาดเจ็บจะได้ให้ความร่วมมือและใช้เป็นจุดอ้างอิงเพื่อใช้เปรียบเทียบกับข้างที่บาดเจ็บ การตรวจควรทำให้ผู้ป่วยรู้สึกผ่อนคลายและควรทำอย่างช้าๆ และนิ่มนวล จากนั้นจึงทำการการซักประวัติ ถ้าจะดูพิสัยของการเคลื่อนไหว

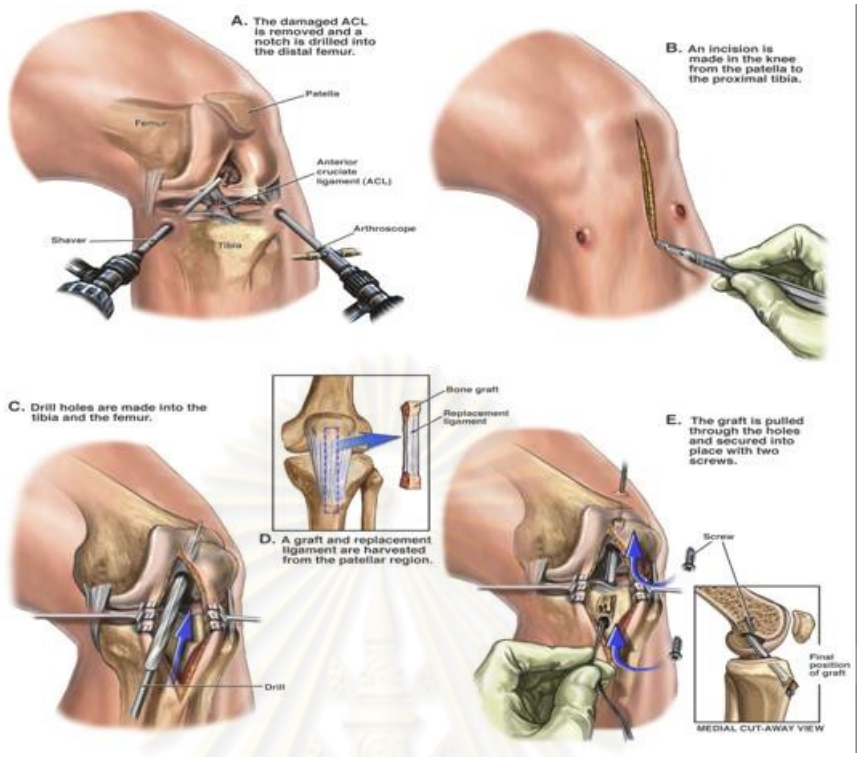
(range of motion, ROM) ควรให้ผู้ป่วยขยับเข่าเองเพื่อหลีกเลี่ยงความเจ็บปวดต่อผู้ป่วย ส่วนการตรวจ Lachman test ซึ่งเป็นการตรวจที่ให้ผลไวที่สุด varus/valgus stress test, anterior drawer test ซึ่งเป็นการตรวจขั้นพื้นฐาน ส่วนการตรวจที่มีการเคลื่อนไหวที่รุนแรงเช่น pivot shift test และ Mc Murray test ยังไม่ควรกระทำเพราะตรวจยาก และทำให้ผู้ป่วยเจ็บมาก

ส่วนในรายที่มีอาการบาดเจ็บเรื้อรัง นอกจากการใช้วิธีตรวจ Lachman test และ anterior drawer test แล้ว การดูข้อเข่าที่มีอาการติดหรือขัดและการตรวจ pivot shift test ก็มีความสำคัญด้วยเช่นกัน นอกจากนี้การถ่ายภาพรังสีของข้อเข่าก็ควรทำควบคู่กับไปด้วยทั้งในรายที่มีอาการเฉียบพลันและเรื้อรังเพื่อจะได้ช่วยในการติดตามอาการบาดเจ็บและการตัดสินใจเลือกวิธีรักษาต่อไป

การรักษาผู้ที่มีอาการบาดเจ็บของเอ็นข้อเข่านั้น ต้องทำการประเมินประวัติของผู้ป่วย การตรวจร่างกาย รวมถึงการใช้ชีวิตประจำวันเพื่อวางแผนการรักษาในอนาคต ซึ่งการรักษาแบ่งออกเป็น 2 ชนิดได้แก่

การรักษาโดยไม่ต้องผ่าตัด วิธีนี้เหมาะสำหรับผู้ป่วยที่ไม่ต้องการผ่าตัด แต่ต้องเข้ารับการทำกายภาพบำบัดแทน เหมาะกับผู้ที่ไม่ได้ใช้งานของข้อเข่าอย่างรุนแรง เช่น ผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นนักกีฬาหรือเป็นนักกีฬาที่คาดว่าจะไม่กลับไปเล่นกีฬาเหมือนเดิม แต่สามารถที่จะกลับไปใช้ชีวิตประจำวันได้ตามปกติ

การรักษาโดยการผ่าตัด เป็นการผ่าตัดเพื่อเพิ่มเติมส่วนของเอ็นที่เสียหายไป โดยใช้เอ็นจากส่วนอื่นของร่างกายใส่เข้าไปแทน หรืออาจมีการใช้เอ็นเทียมมาทดแทนได้เช่นกัน แต่เนื่องจากเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าเป็นเอ็นที่มีลักษณะพิเศษที่ยังไม่สามารถหาวัสดุมาทดแทนให้มีคุณสมบัติเหมือนเดิมได้ ดังนั้นการผ่าตัดเพื่อซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าจึงเป็นเพียงการหาสิ่งที่มาทดแทนตัวเอ็นที่บาดเจ็บเพื่อเลียนแบบให้มีคุณสมบัติคล้ายกับตัวเอ็นไขว้หน้าของผู้ป่วยเอง ซึ่งการใช้เอ็นทดแทนนั้นปัจจุบันนิยมใช้ bone-patellar tendon bone และ medial hamstrings ในการทำการซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าที่ชำรุดไป แต่ภายหลังการผ่าตัดมีรายงานปัญหาที่ตามมามากขึ้นที่พบบ่อยๆ เช่น การปวดของบริเวณส่วนหน้าของข้อเข่า ซึ่งพบได้ถึงร้อยละ 50-60 และที่พบได้น้อย เช่น การขาดของเอ็นยึดลูกสะบ้า

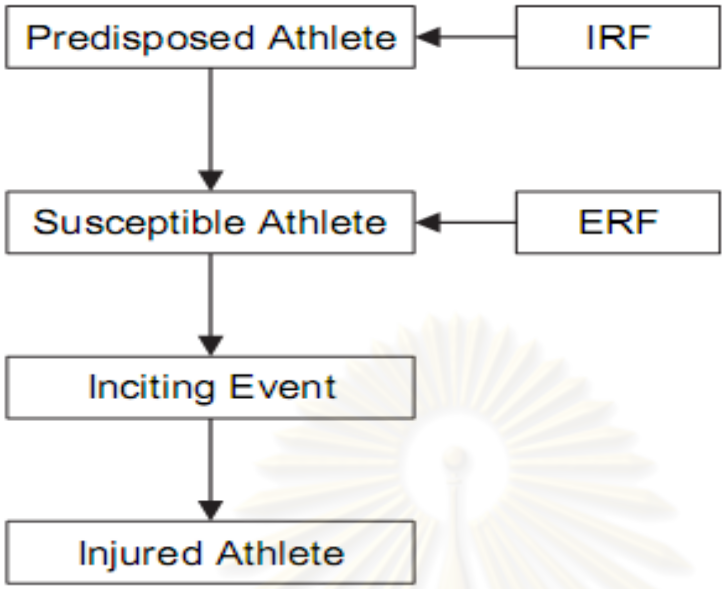


(Fares Haddad, Consultant Orthopaedic Surgeon, 2006)

รูปที่ 3 การผ่าตัดเพื่อทำการสร้างเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นจากบริเวณลูกสะบ้า (Bone tendon bone grafts)

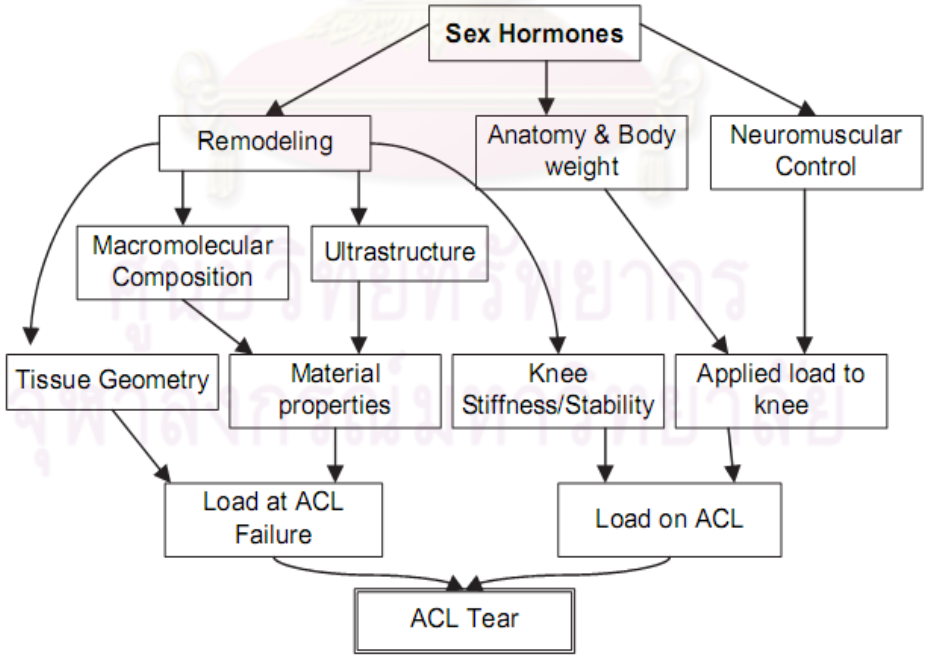
ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยในการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า

ปัจจัยของความสัมพันธ์ของการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่ามีได้หลายปัจจัยด้วยกัน ปัจจัยภายนอก เช่น รองเท้าที่สวมใส่ การอบอุ่นร่างกายก่อนลงเล่นกีฬา หรือปัจจัยภายในอย่าง เช่น ลักษณะทางกายภาพของเอ็น การควบคุมของระบบประสาทส่วนล่าง ระบบการเคลื่อนไหวของเอ็น ความยืดหยุ่นของเอ็น และผลจากฮอร์โมน เป็นต้น[23] ซึ่งปัจจัยทั้งภายนอกและภายในอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกัน เช่น การเลือกใส่รองเท้าที่ไม่เหมาะสมอาจจะทำให้ลักษณะทางกายภาพของเอ็นเปลี่ยนไป หรือการฝึกซ้อมที่ไม่ถูกต้องอาจทำให้การควบคุมของระบบประสาทส่วนล่างเปลี่ยนไปจากเดิมได้ ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 แบบจำลองถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บของนักกีฬา [23]

ปัจจัยร่วมระหว่างปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน ส่งผลกระทบต่อการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นข้อเข่าได้มากที่สุด โดยรูปแบบจำลองที่แสดงถึงผลกระทบของปัจจัยร่วมที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บ[24] ดังที่แสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีผลต่อการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า [24]

การเปลี่ยนแปลงตัวชี้วัดทางเคมีภายหลังการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า
(Changes in biochemical parameter after anterior cruciate ligament injury) [6]

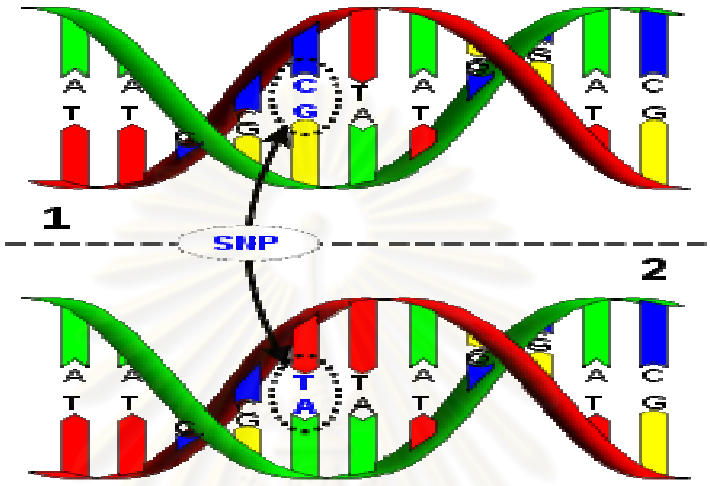
จากการศึกษาในน้ำไขข้อของผู้ป่วยที่มีการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า พบว่ามีระดับของเอนไซม์และไซโตไคน์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการสลายเส้นใยคอลลาเจนและกระดูกอ่อนเพิ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่มีการกล่าวว่า การเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่านั้นนำไปสู่การเกิดโรคข้อเข่าเสื่อมได้ เนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์และไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้อง

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ ระดับของเอนไซม์ MMP-3และ TIMP-1 ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน ซึ่งการเพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์ MMP-3 ในน้ำไขข้อนั้นมีส่วนในการกระตุ้นให้เกิดการสลายคอลลาเจนและองค์ประกอบต่างๆ ของกระดูกอ่อนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ระดับของ MMP-3 ที่เพิ่มขึ้นมีส่วนในการกระตุ้นการทำงานของไซโตไคน์อีกหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น interleukin-1 และ Tumor necrosis factor-α ซึ่งจะคล้ายกับรูปแบบที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยข้ออักเสบ ซึ่งจากการศึกษาของ Lohmander และคณะ[25] ในปี พ.ศ. 2549 ในทางกลับกันพบว่าระดับของ TIMP-1 ที่เพิ่มขึ้นในน้ำไขข้อของผู้ป่วยเป็นไปในทางเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของ MMP-3 เนื่องจาก TIMP-1 มีหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของ MMP-3 และป้องกันไม่ให้เกิดการสลายของคอลลาเจนและเมทริกซ์ต่าง ๆ ดังนั้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของ MMP-3 ร่างกายจึงมีการปรับให้มีการสร้าง TIMP-1 สูงขึ้นเพื่อพยายามที่จะคงสภาวะสมดุลภายใน แต่พบว่าความสัมพันธ์ของอัตราส่วนของระดับของเอมไซม์ MMP-3 ต่อ TIMP-1 ในน้ำไขข้อของผู้ที่มีอาการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้านั้นมีอัตราส่วนที่มากกว่าหนึ่ง โดยปกติพบว่าควรมีอัตราส่วนเท่ากับหรือน้อยกว่าหนึ่ง อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นและไม่สมดุลนี้ ทำให้เกิดการสลายของกระดูกอ่อนมากขึ้นกว่าปกติ

ระดับของไซโตไคน์ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่มีการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า พบว่ามีเพียง interleukin-6 (IL-6) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ IL-6 มีส่วนในการกระตุ้นการทำงานของ MMPs มากขึ้นและมีส่วนสำคัญในการเกิดการอักเสบ อีกทั้งยังพบว่ามีส่วนให้เกิดการดำเนินไปของโรคข้ออักเสบเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการคงอยู่ของสารไซโตไคน์และเอนไซม์ มีการคงอยู่เป็นเวลาอย่างน้อย 50 สัปดาห์ ซึ่งผลของการคงอยู่ของสารชีวเคมีทั้งสองตัวดังกล่าวนี้ จะมีผลในการทำลายเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะนำไปสู่โรคข้อเข่าเสื่อมได้ในที่สุด [6]

ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีลำดับเบสต่างกันตำแหน่งเดียว
(Single Nucleotide Polymorphism, SNP) [26]

เป็นความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบได้บ่อย โดยประมาณว่าพบในทุก ๆ 1,000 เบส โดย 2 ใน 3 ของที่พบทั้งหมดเป็นการเปลี่ยนตำแหน่งจากเบสไซโตซีน (C) ไปเป็นเบสไทมีน (T)



(http://en.wikipedia.org/wiki/Single-nucleotide_polymorphism)

รูปที่ 6 การเกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสตำแหน่งเดียว

ความเปลี่ยนแปลงนี้อาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีน และปริมาณหรือการทำงานของโปรตีน หรืออาจไม่ส่งผลใด ๆ ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงบนสายดีเอ็นเอ ซึ่งสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. สนิปที่เกิดขึ้นในส่วนที่ไม่มีการถอดรหัส

1.1 Regulatory SNP ซึ่งเป็นสนิปที่มีผลในการควบคุมการแสดงออกของยีน เกิดขึ้นบ่อยตรงบริเวณโปรโมเตอร์ มีความสำคัญในการควบคุมให้ยีนมีการแสดงออกของการสร้างโปรตีนให้มากขึ้นหรือน้อยลงได้

1.2 สนิปที่เกิดขึ้นบริเวณรอยต่อระหว่างเอ็กซอนกับอินทรอน ที่เรียกว่า splicing site ซึ่งมีผลทำให้การตัดต่ออาร์เอ็นเอผิดไปจากเดิม ส่งผลให้จำนวนกรดอะมิโนในสายโพลีเพปไทด์ผิดไป

1.3 Intronic SNP เป็นสนิปที่เกิดขึ้นบริเวณอินทรอน ซึ่งส่วนใหญ่ไม่มีความสำคัญมากนัก

2. สนิปที่เกิดขึ้นในส่วนที่มีการถอดรหัส

2.1 Non-synonymous SNP คือ สนิปที่เกิดขึ้นในลำดับเบสที่ใช้ในการถอดรหัส ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของชนิดของกรดอะมิโน

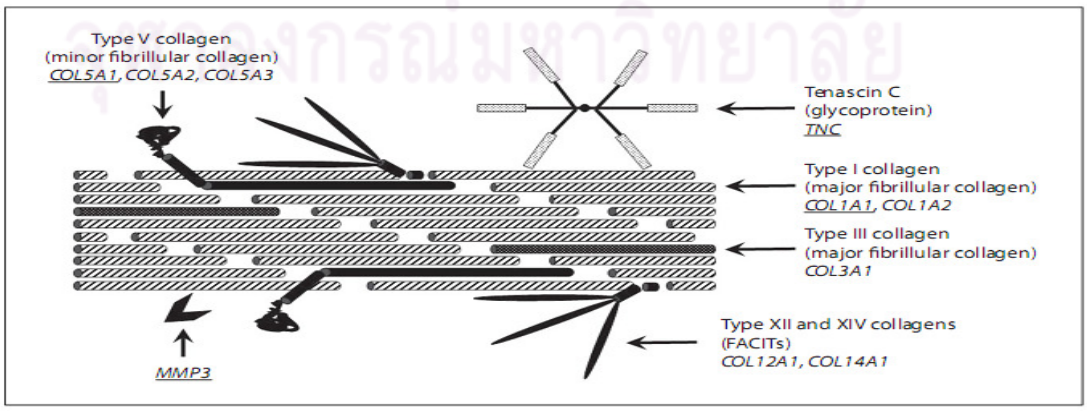
2.2 Synomymous SNP เป็นสนิปที่เกิดในลำดับเบสที่ใช้ในการถอดรหัส แต่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน

ปัจจุบันมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสนิปกับลักษณะทางคลินิคมากมาย การศึกษาลักษณะนี้จำเป็นต้องตรวจสอบสนิปหลายตำแหน่งที่อยู่ใกล้กัน นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้สนิปทางการแพทย์อย่างหลากหลาย เช่น การใช้สนิปเพื่อการวินิจฉัยโรคทางพันธุกรรม หรือการวินิจฉัยโรคซึ่งใช้วิธีการตรวจอื่นตรวจวินิจฉัยได้ไม่สมบูรณ์ เช่น โรคทางจิตประสาท ตลอดจนการทำนายปัจจัยเสี่ยง หรือยีนชักนำภาวะการก่อโรค การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมต่อการตอบสนองต่อยาในแต่ละบุคคล รวมถึงการใช้สนิปในงานวิจัยระดับโมเลกุล นอกจากนี้สนิปยังสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดของการเกิดโรคได้อีกด้วย

ปัจจัยเสี่ยงทางพันธุกรรมที่มีผลต่อการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นและกล้ามเนื้อ
(Genetic risk factor for musculoskeletal soft tissue injuries) [27]

การบาดเจ็บของเอ็นและกล้ามเนื้อเป็นการบาดเจ็บที่พบได้บ่อยในการเล่นกีฬาต่างๆ และการทำงานในวิถีชีวิตประจำวันทั่วไป ซึ่งการบาดเจ็บมีรูปแบบที่พบได้บ่อยคือ การเกิดการบาดเจ็บรุนแรงอย่างเฉียบพลันซึ่งอาจเกิดจากอุบัติเหตุหรือการใช้งานที่หนักเกินกำลัง ตำแหน่งของเอ็นที่พบการบาดเจ็บได้บ่อยได้แก่ เอ็นร้อยหวาย เอ็นบริเวณหัวไหล่ และเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ซึ่งการบาดเจ็บของเอ็นร้อยหวายและเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าส่วนใหญ่เกิดจากอุบัติเหตุในการเล่นกีฬาและเกิดอย่างเฉียบพลัน ในขณะที่การเกิดการบาดเจ็บของเอ็นบริเวณหัวไหล่มักเกิดจากการใช้งานของเอ็นที่หนักเกินกำลัง

ลักษณะโครงสร้างของเส้นเอ็นประกอบไปด้วยน้ำมากกว่าสองในสามส่วน นอกจากนั้นประกอบด้วยสายคอลลาเจนชนิดที่ 1 และยังมีส่วนประกอบรองที่ประกอบด้วย คอลลาเจนประเภทต่าง ๆ เช่น คอลลาเจนชนิดที่ 3, 4, 12 และ 14 ซึ่งจะอยู่ล้อมรอบเนื้อพื้นภายนอกเซลล์ ดังรูปที่ 7 และยังมีส่วนของโปรตีโอไกลแคนต่าง ๆ เช่น เดอคอริน ลูมิแคน ไกลโคโปรตีนอย่างเช่น อีลาสติน และเทนนิซิน ซี เป็นส่วนประกอบที่สำคัญเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามส่วนประกอบที่มีความสำคัญที่สุดคือ คอลลาเจนชนิดที่ 1



รูปที่ 7 โครงสร้างพื้นฐานของเส้นเอ็น [27]

การสร้างสารโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเส้นเอ็นและกล้ามเนื้อนั้น จะถูกควบคุมโดยลักษณะทางพันธุกรรมของบุคคล ดังนั้นการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจึงนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของการสร้างโปรตีนที่ผิดปกติไป ซึ่งเป็นส่วนให้มีการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นและกล้ามเนื้อได้มากขึ้น

ลักษณะกลไกของการเกิดการบาดเจ็บยังไม่มีการศึกษาและเข้าใจมากนัก เนื่องจากการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นและกล้ามเนื้อ ประกอบด้วยหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายในเอง แต่ปัจจัยที่จำเพาะกับตัวบุคคลมาจากปัจจัยภายในของตัวบุคคลนั้น ซึ่งปัจจัยภายในเหล่านี้ได้มีการศึกษาแล้วว่าเกี่ยวข้องกับการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นหลายส่วนในร่างกาย ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง ดังนั้นจึงมีสมุติฐานว่าการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมที่ตำแหน่งเฉพาะมีส่วนต่อความเสี่ยงในการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นและกล้ามเนื้อเพิ่มได้มากขึ้น

ยีนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นที่สำคัญได้แก่

1. ยีนคอลลาเจนชนิดที่ 1 เนื่องจากคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบหลักของเอ็นต่าง ๆ และคอลลาเจนประกอบด้วยโปรตีน 3 สาย ได้แก่สายอัลฟาหนึ่ง 2 สาย และสายอัลฟาสอง 1 สาย ซึ่งถูกควบคุมโดยยีน *COL1A1* และ ยีน *COL1A2* ความผิดปกติของยีน *COL1A1* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการสร้างกระดูกที่ไม่สมบูรณ์ และโรค Ehlers-Danlos

ส่วนการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสตำแหน่งเดียวบนยีน *COL1A1* โดยเฉพาะที่ตำแหน่ง intronic Sp1 binding site (rs1800012) ที่มีการเปลี่ยนของเบสกัวนีน (G) ไปเป็นไทโรซีน (T) ทำให้เกิดการจับของโปรตีน Sp1 มากขึ้น จึงมีการแสดงออกของยีน *COL1A1* เพิ่มมากขึ้น

ในขณะที่รูปแบบของจีโนไทป์ที่เป็น TT จีโนไทป์ นั้นจากการศึกษาในกลุ่มประชากรผิวขาวชาวแอฟริกาใต้พบว่ามีส่วนช่วยป้องกันการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นร้อยหวายได้มากขึ้น ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวยังสอดคล้องกับงานวิจัยในกลุ่มประชากรชาวสวีเดนที่พบว่าจีโนไทป์ TT มีส่วนป้องกับการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าและเอ็นบริเวณหัวไหล่เพิ่มขึ้น โดยพบจีโนไทป์ TT ในสัดส่วนศูนย์จุดสี่ต่อหนึ่งร้อยในกลุ่มผู้ป่วย และพบในสัดส่วนสี่จุดหนึ่งต่อหนึ่งร้อยในกลุ่มประชากรปกติ

2. ยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส

กลุ่มของยีนที่ทำหน้าที่ในการสร้างส่วนประกอบต่างๆของเอ็น และทำการควบคุมการปรับตัว การรักษาตัวเอง และการสร้างขึ้นใหม่ต่าง ๆ เหล่านี้ ประกอบด้วยยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนในกลุ่มเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส (MMPs) ADAMTSs (a distntegrin like and metalloproteinase-thrombospondin with type 1 motif) TIMPs (tissue inhibitor of metalloproteinases) เป็นต้น

มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน MMPs มีส่วนในการสลายของเส้นเอ็น และมีส่วนในการเปลี่ยนแปลงการรับน้ำหนักเชิงกลของเอ็นร้อยหวายลงได้ และจากการตรวจในซีรั่มของ

ผู้ป่วยที่มีอาการบาดเจ็บของเอ็นร้อยหวายพบว่ามีระดับของโปรตีน MMP 2 และ MMP 7 เพิ่มสูงขึ้น ส่วนของการตรวจในน้ำไขข้อของผู้ป่วยที่มีการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าพบว่ามีระดับของเอนไซม์ MMP 3 สูงขึ้นเช่นเดียวกัน

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *MMP-3* มีหลายตำแหน่ง (rs 6796220, rs591058 และ rs650108) ที่เกี่ยวข้องกับความเสี่ยงในการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นร้อยหวายในกลุ่มประชากรชนผิวขาวชาวแอฟริกาใต้ ซึ่งอัลลีลที่น่าสนใจคือ อัลลีล G ในตำแหน่ง rs6796220 ซึ่งพบว่าถ้าพบ อัลลีล G บนโครโมโซมทั้งสองเส้นจะทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการบาดเจ็บของเอ็นร้อยหวายเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า

โดยสรุปแล้วยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการบาดเจ็บของเอ็น จะประกอบด้วยยีนในกลุ่ม COLs และ MMPs นอกจากนี้ยังพบ TNC ร่วมด้วย เนื่องจากยีนที่กล่าวมาทั้งหมดนี้มีส่วนในการสร้างโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเส้นเอ็น ซึ่งการเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนดังกล่าวอาจจะนำไปสู่การเกิดการบาดเจ็บของเอ็นได้มากขึ้น

แต่ทั้งหมดที่กล่าวมานี้ยังต้องการการพิสูจน์ที่มีหลักฐานมากกว่านี้ในด้านความสัมพันธ์ของยีนชนิดต่างๆ กับอาการบาดเจ็บที่เกิดขึ้น ต้องมีการเก็บตัวอย่างในจำนวนประชากรที่สูงขึ้น และมีเทคนิคในการหาลำดับของสารพันธุกรรมที่ดี การทำการวิจัยแบบติดตามผลอย่างต่อเนื่องควรนำมาใช้เพื่อทำการยืนยันสมุติฐานที่ตั้งขึ้น การหาปัจจัยเสี่ยงทางพันธุกรรมนี้เป็นเพียงรูปแบบหนึ่งที่ใช้ทำความเข้าใจในกลไกการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นและกล้ามเนื้อ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันการเกิดการบาดเจ็บ การรักษา และการฟื้นฟูสภาพร่างกายของผู้ป่วย

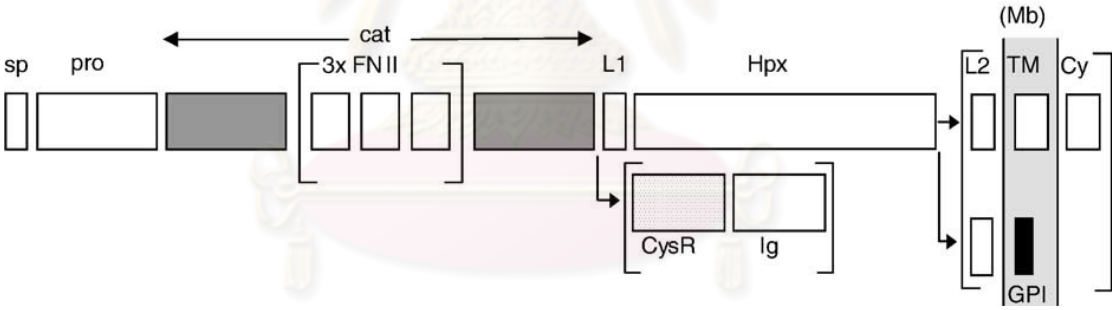
โครงสร้างและการทำงานของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส
(Structure and function of Matrix Metalloproteinases) [28]

การสลายของเนื้อพื้นภายนอกเซลล์ (extracellular matrix) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของการพัฒนารูปร่างของเนื้อเยื่อซึ่งถ้าการทำงานตรงส่วนนี้ผิดปกติไปจะทำให้เกิดโรคต่างๆ มากมาย เช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว การตีบแคบของช่องประสาทไขสันหลัง ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้ายหนาตัว ภาวะเส้นโลหิตแดงโป่งพอง ภาวะข้ออักเสบ ภาวะไตอักเสบ มะเร็ง การเกิดพังพืดในบริเวณต่าง ๆ [29] เป็นต้น ซึ่งเอมไซม์ที่สำคัญในการทำให้เกิดการสลายตัวของ เนื้อพื้นภายนอกเซลล์คือ เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส (matrix metalloproteinases; MMPs) ซึ่งในมนุษย์นั้นพบว่ามียีนที่สร้างเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสอยู่ 24 ยีน แต่มีการแสดงออกมาได้ 23 รูปแบบ ในขณะที่ร่างกายอยู่ในสภาวะปกตินั้นการทำงานของเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสนั้นจะต่ำมากจนถูกละเลยไป แต่จะมีการแสดงออกถึงการทำงานของเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส เพิ่มขึ้นอย่างมาก ถ้าเกิดการกระตุ้นโดย สารประเภท ไซโตไคน์ growth factor ฮอร์โมน หรือปฏิกริยาระหว่างเซลล์ ซึ่งสมดุลของ

การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวจำเป็นต่อการสร้างและสลาย เนื้อพื้นภายนอกเซลล์เป็นอย่างยิ่ง

โครงสร้างหลักของเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสประกอบไปด้วย catalytic domain ซึ่งมีกรดอะมิโนอยู่ประมาณ 170 หน่วย a linker peptide of variable lengths, specificity determinants, MMP prodomain ซึ่งมีกรดอะมิโนอยู่ประมาณ 80 หน่วย และ heropexin-like domainซึ่งมีกรดอะมิโนอยู่ประมาณ 200 หน่วย นอกจากนี้ในบริเวณ catalytic domain จะมี zinc binding motif HEXXHXXGXXH ซึ่งมีกรดอะมิโน histidines ร่วมอยู่ด้วยและมี “cysteine switch” motif PRCGXPD อยู่ในบริเวณ propeptide ซึ่งมีกรดอะมิโน cysteine ที่ทำหน้าที่จับกับ Zn เพื่อให้ ProMMPs อยู่ในรูปที่ยังไม่มีการกระตุ้นซึ่งถือว่าเป็นสัญลักษณ์ของเอนไซม์ประเภทนี้

หน่วยย่อยทั้งหมดนี้อาจแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส ในตอนแรกนั้นเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสจะถูกสร้างขึ้นมาในรูปของโปรเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส ซึ่งยังไม่สามารถทำงานได้จนกว่าจะมีการกำจัดส่วนของโปรตีนเนสที่เรียกว่า “bait” ออกไปทำให้โปรเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส สามารถอยู่ในรูปที่สามารถทำงานได้ ซึ่งการทำงานของเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสนั้น



รูปที่ 8 โครงสร้างหลักของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส [28]

เอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสเป็นเอนไซม์ประเภท เอนโดโปรตีนเนส (endoproteinase)ที่จำเป็นต้องใช้ Zn ช่วยในการทำงาน โดยแบ่งออกเป็น 5 ประเภทหลัก คือ

1. collagenases ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ MMP-1, MMP-8, MMP-13 มีหน้าที่สำคัญในการย่อยสายคอลลาเจนออกเป็นส่วนๆ นอกจากนี้ยังย่อยสาร ECM ต่างๆได้อีกหลายชนิด ความสำคัญของเอนไซม์ชนิดนี้อยู่ที่การแสดงออกในหน้าที่ของการตัดสายคอลาเจน

2. gelatinases ประกอบด้วยเอนไซม์ MMP-2, MMP-9 ซึ่งมีส่วนของไฟโบรเนกตินแทรกอยู่ใน catalytic domain ซึ่งหน้าที่ของการทำงานในเอนไซม์กลุ่มนี้ คือ การย่อยคอลลาเจน, เจลาติน, ลามินิน และ aggrecan แต่จะมีความสามารถที่ด้อยกว่าเอนไซม์ในกลุ่ม collagenases

3. stromelysins ประกอบด้วยเอนไซม์ MMP-3, MMP-10, MMP-11 มีส่วนประกอบของโดเมนโปรตีนคล้ายกับ collagenases แต่ไม่สามารถทำการย่อยสายคอลาเจนได้ MMP-3 และ MMP-10 จะเป็นเอนไซม์ที่มีควาสามารถในการย่อยสารประเภท ECM ได้หลากหลายชนิดและพบว่ามีความสำคัญในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเนื้อเยื่ออีกด้วย

4. matrilysins มีสมาชิกคือ MMP-7, และ MMP-26 เอนไซม์ในกลุ่มนี้จะไม่มี hemopexin domain แต่มีความสำคัญในการตัดส่วนของ ligand, syndecan, และ cadherin ได้

5. membrane-bound MMPs จะแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ type 1 transmembrane proteins และ glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins ซึ่งทั้งหมดทำหน้าที่เป็น intracellular enzyme ทำหน้าที่กระตุ้นเอนไซม์ในกลุ่ม MMPs ตัวอื่นให้อยู่ในสภาพทำงาน โดยมากพบอยู่บริเวณพื้นผิวของเซลล์

กลุ่ม	สัญลักษณ์	ชื่อเรียก	ตำแหน่งบนสายพันธุกรรม
Collagenases	MMP-1	Collagenase 1	11q22.3
	MMP-8	Collagenase 2	1q22.3
	MMP-13	Collagenase 3	11q22.3
Stromelysins	MMP-3	Stromelysin 1	11q22.3
	MMP-10	Stromelysin 1	11q22.3
	MMP-11	Stromelysin 1	22q11
Gelatinases	MMP-2	Gelatinase A	16q21
	MMP-9	Gelatinase B	20q11-q13
Membrane-type MMPs	MMP-14	MT1-MMP	14q11-q12
	MMP-15	MT2-MMP	16q12-21
	MMP-16	MT3-MMP	8q21
	MMP-17	MT4-MMP	12q24.33
	MMP-24	MT5-MMP	20q11.2
	MMP-25	MT6-MMP	16p13.3
Other	MMP-7	Matrilysin	11q22.3
	MMP-12	Macrophagemetalloelastase	11q22.3
	MMP-19	-	12q14
	MMP-20	Enamelysin	11q22
	MMP-23	-	1p36
	MMP-26	Endometase	

ตารางที่ 1 ชนิดของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสที่พบในมนุษย์

การทำงานของเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสจะถูกควบคุมโดย การกระตุ้นของ precursor zymogen และถูกยับยั้งโดย endogenous inhibitor เช่น α_2-macroglobin ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนในพลาสมา มีขนาด 725 kDa ประกอบด้วยหน่วยย่อย 4 หน่วย ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการจับเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสเข้ามายังmacroglobulinและจะถูกสลายโดยreceptor mediated endocytosis ซึ่งเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสจะถูกควบคุมโดย α_2-macroglobin เป็นแห่งแรก และ tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs)ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 184-194 ชนิด ซึ่งจะทำหน้าที่จับกับส่วนโดเมนของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสโดย TIMPs จะมีรูปร่างเหมือนกับลิ่มและมีส่วนของ N-terminal ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนได้แก่ Cys1-Thr-Cys-Val4 และ Glu67-Ser-Val-Cys70 ที่จับกันด้วยพันธะไดซัลไฟต์ทำให้ TIMPs มีรูปร่างที่คงที่และสามารถแรกเข้าไปกับกับบริเวณ active site ของ MMPs ทำให้สูญเสียหน้าที่ และสลายไปในที่สุด ดังนั้นสมดุลระหว่างการทำงานของ MMPs และ TIMPs จะมีบทบาทในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ extracellular matrix

นอกจากนี้ยังพบว่ามีโปรตีนอีกหลายชนิดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสได้ เช่น โปรตีนที่หลั่งออกมาจาก β-amyloid สามารถยับยั้งการทำงานของ MMP-2 ได้ เป็นต้น ซึ่งขั้นตอนหลักในการควบคุมการแสดงออกและการทำงานของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส ได้แก่ การควบคุมในขั้นตอนของการถอดรหัสของยีน การกระตุ้นให้มีการทำงานของเอนไซม์ และการยับยั้งโดย TIMPs ซึ่งขั้นตอนที่สำคัญที่สุดคือ ขั้นตอนในการถอดรหัสของยีน เนื่องจากการแสดงออกของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส จะแสดงออกก็ต่อเมื่อร่างกายมีความต้องการในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเนื้อเยื่อเฉพาะจุดเท่านั้น แต่มีข้อยกเว้นใน เอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-2 ซึ่งมีการแสดงออกในเนื้อเยื่อหลายชนิดและในระดับที่มีผลต่อเนื้อเยื่ออย่างมีนัยสำคัญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส
(Polymorphism in matrix metalloproteinase)

จากการศึกษาพบว่าการเปลี่ยนรูปแบบของสารพันธุกรรมของเอนไซม์เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส ตรงตำแหน่งของโปรโมเตอร์เป็นส่วนที่มีความสำคัญในการเกิดโรคต่างๆ และมีผลกับการแสดงออกของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส[30] นั้น ดังตารางที่ 2

ยีน	รูปแบบของการเปลี่ยนแปลง	ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลง	ลักษณะของการเปลี่ยนแปลง	โรคที่เกี่ยวข้อง
MMP-1	-1607del/ins	-1607	+ / - G	Ovarian cancer
MMP-3	-1612del/ins (5A/6A polymorphism)	-1612	+ / - A	Coronary atherosclerosis Myocardial infarction
MMP-9	C-1562T	-1562	C to G	Coronary atherosclerosis
	Microsatellite	-90	$(CA)_n$	Abdominal aortic aneurysm Multiple sclerosis
MMP-12	A-82G	-82	A to G	Coronary atherosclerosis

ตารางที่ 2 ตำแหน่งของการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสและโรคที่เกี่ยวข้อง

รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส 3
(Polymorphism in matrix metalloproteinase-3)

เมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม stromelysins ที่มีความสำคัญคือความสามารถในการสลายเนื้อพื้นภายนอกเซลล์ที่สำคัญได้หลายชนิด เช่น aglycan, collagen type 4, fibronectin และยังสามารถทำหน้าที่ในการกระตุ้นในเอนไซม์ MMPs ตัวอื่นทำงานได้[31] ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงในส่วนของโปรโมเตอร์บนยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 นั้นจึงมีความสำคัญและ

มีการศึกษากันมากโดยเริ่มตั้งแต่การเปลี่ยนแปลงของเบสเพียงตำแหน่งเดียวของเอนไซม์ MMP-3 ถูกค้นพบครั้งแรกปี พ.ศ. 2536 โดย Ye และคณะ ซึ่งบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงจะอยู่ตรงตำแหน่ง –1612 จากโปรโมเตอร์ ซึ่งมีสายหนึ่งของอัลลีลมีเบสอะดีโนซีน 5 ตัว (5A) และอีกสายหนึ่งมีเบสอะดีโนซีน 6 ตัว (6A)

ในขณะที่สายที่มี เบสอะดีโนซีน 5 ตัว มีการทำงานและการแสดงออกที่ดีกว่าสายที่มีเบสอะดีโนซีน 6 ตัว แต่ถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมที่ตำแหน่งดังกล่าว อาจส่งผลถึงการทำงานของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 เนื่องจากบริเวณดังกล่าวเป็นบริเวณที่มีการจับของ transcription factor แต่ถ้าการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมเกิดขึ้น ทำให้มีความถี่ของ 5A ในอัลลีลมากขึ้นอย่างชัดเจน ซึ่งการเพิ่มขึ้นของตำแหน่ง 5A บนสายอัลลีลเป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรค เช่น โรคหัวใจขาดเลือดอย่างงเฉียบพลัน [14] นอกจากนี้การเกิดการเปลี่ยนแปลงของสายอัลลีลที่มีตำแหน่ง 6A ที่ทำให้มีสายอัลลีล 6A เพิ่มขึ้น ก็พบว่ามีความสำคัญต่อการเกิดภาวะการสะสมคอเลสเตอรอลที่ผนังหลอดเลือด และภาวะการหนาตัวขึ้นของหลอดเลือดแดง ซึ่งสาเหตุในที่นี้น่าจะมาจาก การบดบังการแสดงออกของอัลลีลที่มีตำแหน่งเบส 5A ทำให้มีการแสดงออกของยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนสออกมาไม่มากเท่าที่ควร และการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสในตำแหน่ง -1612 5A/6A ยังมีความสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของระดับของเอมไซม์ MMP-3 ในกระแสเลือดของผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด[32,33]

ในการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรรมของยีน *MMP-3* ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหมอนรองกระดูกสันหลังเสื่อมจากการศึกษาของ Takahashi M. และคณะในปี พ.ศ. 2545 พบว่าการเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *MMP-3* ในกลุ่มผู้ป่วยโรคกระดูกสันหลังเสื่อมที่มีอายุมากกว่า 64 ปีขึ้นไปจำนวน 49 ราย พบว่าการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของสารพันธุกรรมมีความเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรคที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยสูงอายุที่มีลักษณะพันธุกรรมแบบ 5A จะมีค่าคะแนนการสลายของหมอนรองกระดูกสันหลังที่สูงกว่ากลุ่มของผู้ป่วยสูงอายุที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ 6A แต่ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุที่น้อยกว่า 28 ปี กลับไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมดังกล่าวกับการดำเนินไปของโรค

อีกการศึกษาหนึ่งที่สนับสนุนกันคือ การศึกษาของ Han-Yan Yuan และคณะ [34] ในปี พ.ศ. 2553 ซึ่งได้ทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยที่มารับการรักษาอาการปวดหลังที่มีสาเหตุมาจากหมอนรองกระดูกสันหลังเสื่อมจำนวน 178 ราย ซึ่งผู้ป่วยถูกวัดการเสื่อมของหมอนรองกระดูกและทำการตรวจหารูปแบบของสารพันธุกรรม ร่วมกับการซักประวัติเพื่อศึกษาปัจจัยร่วมในการเกิดโรค พบว่าการเกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน MMP-3 ในรูปแบบ 5A ทำให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคสูงขึ้น 1.96 เท่า แต่ถ้ามีลักษณะการใช้ชีวิตประจำวันที่เกี่ยวข้องกับงานที่ต้องมีการนั่งเป็นระยะ

เวลานาน หรือต้องก้มหลังอย่างต่อเนื่องจะทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหมอนรองกระดูกสันหลังเสื่อมเพิ่มขึ้นเป็น 2.91 เท่า

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งเบสต่าง ๆ บนยีน *MMP-3* ได้เริ่มมีการศึกษากันมากขึ้นในโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง [35] โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน [36] โรคข้อรูมาตอยด์ [37] ซึ่งผลของการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสในตำแหน่งต่าง ๆ ดังกล่าวจะมีความคล้ายกับการเปลี่ยนแปลงในตำแหน่ง -1612 หรือไม่ยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดว่าการเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งใดจะส่งผลต่อการแสดงออกของยีน MMP-3 มากที่สุด ดังนั้นตำแหน่งของการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสของยีน MMP-3 ที่มีผลกระทบต่อการแสดงออกของยีนมากที่สุดจึงต้องมีการศึกษาต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร

1. กลุ่มประชากรเป้าหมาย (Target Population)

1.1 inclusion criteria ผู้ป่วยที่มารับการรักษาอาการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า จากแผนกออร์โธปิดิกส์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

1.2 exclusion criteria ผู้ป่วยที่มารับการรักษาอาการบาดเจ็บในส่วนที่ไม่ใช่อาการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า จากแผนกออร์โธปิดิกส์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

2. ขนาดของประชากรตัวอย่าง (Sample Size)

การศึกษาในครั้งนี้เป็นแบบ case-control study ในผู้ป่วยที่มีอาการของเอ็นไขว้หน้าข้อฉีกเข่าขาด ที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นกลุ่มคนที่ไม่มีประวัติของการบาดเจ็บที่เอ็นไขว้หน้าข้อเข่ามาก่อน เป็นจำนวน 100 คน ที่มีความสัมพันธ์กันในอายุและเพศที่ใกล้เคียงกัน (age and sex-match)

เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้กลุ่มประชาการแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มและเป็นอิสระต่อกัน และจากการศึกษา pilot test ในการกระจายตัวของยีนที่สนใจ จึงนำมาสู่การคำนวนหาจำนวนของกลุ่มตัวอย่างจาการประมาณค่าเฉลี่ย โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{โดย } n = \frac{(Z_{\alpha/2})^2}{4\Delta^2}$$

ที่ $\alpha = 0.05$; $Z_{\alpha/2} = 1.96$

n = ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

Z = ค่า Z score ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Δ = relative acceptable error ซึ่งยอมรับที่ค่าความผิดพลาดไม่เกิน 10%

$$\text{ดังนั้น } n = \frac{(1.96)^2}{4 \times (0.1)^2} = 96.04$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ดังนั้นขนาดตัวอย่างในกลุ่มเท่ากับอย่างน้อย 96 ราย จึงจะประมาณค่าร้อยละโดยมีความผิดพลาดไม่เกิน 10% แต่เพื่อความแน่นอนและถูกต้องของข้อมูล และป้องกันการสูญหายของตัวอย่าง เนื่องจากจากเก็บตัวอย่างจะทำได้ก็ต่อเมื่อผู้ป่วยมาเข้ารับการตรวจรักษาเท่านั้น จึงต้องทำการเก็บตัวอย่างให้มากที่สุดเท่าที่สามารถเก็บได้ คือประมาณ 100 ราย และตัวอย่างจากกลุ่มควบคุมจำนวน 100 ราย โดยที่เพศใกล้เคียงกัน (gender-match)

และมีการทำการวิจัยแบบ pilot study เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการวิจัย โดยใช้จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 30 ราย เพื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์รูปแบบการกระจายตัวของยีน ก่อนการทำการศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มใหญ่ต่อไป

นอกจากนี้ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเพื่อซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ที่ผ่านมาเป็นระยะเวลา 1-3 ปี ได้ทำการประเมินสมรรถภาพของข้อเข่าโดยใช้แบบสอบถามที่อ้างอิงมาจาก International Knee Documentation Committee (IKDC) [38] และทำการประเมินความแข็งแรงและความมั่นคงของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าภายหลังการผ่าตัด

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องมือ
   - 1.1 Autoclave (Hydroclave Harvey, USA)
   - 1.2 Automatic adjustable micropipette (Eppendorf, Germany)
   - 1.3 Balance (Sartorius)
   - 1.4 Beaker: 50 ml, 100 ml, 200 ml, 500 ml, 1,000 ml (Pyrex, USA)
   - 1.5 Centrifuge, refrigerated centrifuge (Eppendorf, USA)
   - 1.6 Centrifuge, microcentrifuge high speed (Eppendorf, USA)
   - 1.7 Combs (BIO-RAD, Hercules, California, USA)
   - 1.8 Cuvette 80-100 µl
   - 1.9 Cylinder : 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1,000 ml (Pyrex, USA)
   - 1.10 Digital Timer
   - 1.11 DNA Thermal cycler (Thermo Hybaid, USA)
   - 1.12 Electrophoresis chamber set (BIO-RAD, USA)
   - 1.13 Flask : 250 ml, 500 ml, 1,000 ml (Pyrex, USA)
   - 1.14 Freezer -80 ^{o}C (Forma Scientific, USA)
   - 1.15 Gel Doc 1000 (BIO-RAD, USA)
   - 1.16 Multi-block heater (Techne DRI Block, USA)
   - 1.17 pH meter (Eutech Cybernataics)

1.18 Pipette aid (Tecnomara, Switzerland)

1.19 Pipette rack (Autopack, USA)

1.20 Reagent bottle: 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1,000 ml (Duran, USA)

1.21 Refrigerator (Sanyo, Japan)

1.22 Spectrophotometer (BIO-RAD, USA)

1.23 Stirring-magnetic bar

1.24 Mixing Block (BIOER,USA)

1.25 Test tube racks

1.26 Thermometer (IR Thermometer, USA)

1.27 Vortex mixer (Scientific Industry, USA)

1.28 Water purification equipment (Water pro Ps, Labconco USA)

1.29 Water bath, Thermostat shaking (Memmert, Germany)

1.30 Rolimeter™ (Aircast, USA)

2. วัสดุอุปกรณ์

2.1 Clotted blood and EDTA tube (vacuettee, Austria)

2.2 Disposable gloves

2.3 Glass pipette : 1 ml, 5 ml, 10 ml (Witeg, Germany)

2.4 Microcentrifuge tube : 0.2 ml, 0.5 ml, 1.5 ml (BIO-RAD, USA)

2.5 Needle, sterile (Nipro)

2.6 Parafilm (American National Can, USA)

2.7 Pipette tip : 10 µl, 200 µl, 1,000 µl (AxyGen, USA)

2.8 Plastic wrap

2.9 Polypropylene conical tube,sterile : 15 ml, 50 ml (Elkay, USA)

2.10 PCR marker (Bio-Rad, USA)

2.11 Sanitary tissue paper (Celox, Thailand)

2.12 Kimwipe

2.13 Syringe disposable (Nipro, Japan)

2.14 Foil

3. สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

3.1 สารเคมีทั่วไป

3.1.1 70% ethanol

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 สารเคมีสำหรับการสกัด ดีเอ็นเอ

3.2.1 RBC lysis buffer

3.2.2 1X PBS buffer pH 7.2

3.2.3 Proteinase K

3.2.4 Lysis solution

3.2.5 Wash buffer

3.2.6 Absolute ethanol

3.2.7 Elution buffer

3.3 สารเคมีสำหรับการทำ PCR

3.3.1 10X PCR buffer

3.3.2 25 mM $MgCl_2$

3.3.3 2 mM Deoxynucleotide triphosphates (dNTPs)

3.3.4 10 µM primer forward

3.3.5 10 µM primer reverse

3.3.6 Taq polymerase enzyme

3.3.7 Agarose molecular biology grade (Sigma, USA)

3.3.8 PCR marker (Bio-Rad, USA)

3.3.9 Loading dye

3.3.10 1X TAE buffer

3.3.11 Ethidium bromide (Sigma, USA)

3.4 สารเคมีสำหรับการทำการตัดสาย DNA ด้วยเอมไซม์

3.4.1 XmnI

3.4.2 10x Buffer Tango

3.4.3 nuclease-free water

3.5 สารเคมีสำหรับการเตรียม polyacrylamide gel

3.5.1 30% polyacrylamide

3.5.2 5X TBE buffer

3.5.3 1X TBE buffer

3.5.4 10% Ammoniumpersulfate

3.5.5 TEMED

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้วิจัยทำการบันทึกค่าความเข้มข้น ความบริสุทธิ์ของสารพันธุกรรม และลักษณะความแตกต่างกันของสารพันธุกรรม ในช่วงเวลาที่ทำการวิจัยโดยการบันทึกลง record form และบันทึกข้อมูลลงในคอมพิวเตอร์

Record Form 1: สำหรับบันทึกค่าความเข้มข้น ความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ และจีโนไทป์ของ SNP MMP-3

ชื่อ-นามสกุล	HN	**อายุ**	**ความเข้มข้น ดีเอ็นเอ** (µg/200µl)	**จีโนไทป์**

Record Form 2: สำหรับทำการประเมินสภาวะความแข็งแรงของข้อเข่าของผู้ป่วย ในรายที่เคยผ่านการผ่าตัดผ่านมาแล้ว 1-3 ปี

No.	**ชื่อ-สกุล**	**เพศ**	**อายุ**	**น้ำหนัก**	**ส่วนสูง**	BMI.	**การกลับมาเล่นกีฬา**	Subject Score	Object Grade

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Record Form 3: สำหรับรูปแบบการใช้เอ็นทดแทนเอ็นที่เสียไปของผู้ป่วย และช่วงเวลาที่ได้รับบาดเจ็บ ถึงช่วงเวลาที่ได้รับการผ่าตัด จนถึงช่วงเวลาที่มาประเมินผลเพื่อทำการเปรียบเทียบ

No.	ชื่อ-สกุล	เข่าข้างที่ได้รับบาดเจ็บ	ช่วงเวลาที่ได้รับบาดเจ็บ	ช่วงเวลาที่เข้ารับการผ่าตัด	ช่วงเวลาที่มารับการประเมิน	ช่วงเวลาที่พักในโรงพยาบาล	ระยะห่างระหว่างช่วงเวลาบาดเจ็บจนถึงการผ่าตัด	ระยะห่างระหว่างช่วงเวลาที่ผ่าตัดจนถึงการประเมิน	แหล่งที่มาของเอ็นทดแทน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การดำเนินการวิจัย

<u>การประเมินสภาพความแข็งแรงของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า</u>

การประเมินสภาพความแข็งแรงของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าของผู้ป่วยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

1. Subject Form คือการประเมินสมรรถภาพของข้อเข่าโดยใช้แบบสอบถามที่ให้ผู้รับการประเมินเป็นผู้กรอกแบบสอบถามด้วยตนเอง เพื่อให้ได้ทราบถึงภาวะข้อเข่าตามความรู้สึกของผู้ตอบแบบสอบถามเอง ซึ่งแบบสอบถามได้นำรูปแบบมาจากแบบสอบถามของ IKDC และนำมาทำการแปลเป็นภาษาไทยโดยคณะผู้วิจัย (ภาคผนวก ข)

ในแต่ละข้อของแบบสอบถามมีคะแนนกำกับอยู่ การนำคะแนนที่ได้ในแต่ละข้อมาคิดรวมกันเพื่อประเมินออกมาในรูปของร้อยละของคะแนนเต็ม

2. Object Form คือการทำประเมินความสมบูรณ์ของข้อเข่าทางกายภาพ (ภาคผนวก ข)

2.1 Lachman test เพื่อทำการประเมินความแข็งแรงของเอ็นไขว้หน้า

ในการตรวจ ทำโดยให้ผู้ป่วยนอนลงบนเตียง และงอเข่าเป็นมุมประมาณ 20-30 องศา จากนั้นผู้ตรวจวางมือข้างหนึ่งลงบนต้นขาของผู้ป่วย ส่วนอีกข้างจับที่บริเวณส่วนต้นของหน้าแข้ง จากนั้นทำการออกแรงดึงส่วนต้นของหน้าแข้งขึ้นในทางตรงเพื่อดูการเคลื่อนไหวของข้อเข่า โดยให้ส่วนของต้นขาอยู่นิ่ง ในรายที่มีการขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า สามารถดึงได้ระยะที่มากกว่าปกติ โดยทั่วไปแล้วไม่สามารถทำการดึงได้มากกว่า 2 มิลลิเมตร แต่ในผู้ป่วยอาจถูกดึงได้ระยะที่มากกว่า 2 มิลลิเมตรขึ้นไป โดยใช้ Rolimeter™ ในการวัดค่าออกมาเป็นตัวเลข

รูปที่ 9 Lachman test โดยใช้เครื่อง Rolimeter

2.2 Anterior drawer test เพื่อทำการประเมินความแข็งแรงของเอ็นไขว้หน้า

การตรวจทำโดยให้ผู้ป่วยนอนลงและตั้งต้นขาขึ้นเป็นมุม 45 องศากับสะโพก และงอเข่าให้ส่วนของต้นขาทำมุมกับหน้าแข้งเป็นมุม 90 องศา ผู้ตรวจนั่งอยู่หน้าเข่าของผู้ป่วย และทำการจับบริเวณส่วนต้นของหน้าแข้ง วางนิ้วหัวแม่มือลงบริเวณลูกสะบ้า นิ้วที่เหลืออยู่ด้านหลังของหน้าแข้งผู้ป่วย จากนั้นทำการออกแรงดึงออกในแนวตรง เปรียบเทียบความแน่นของข้อเข่าผู้ป่วยกับเข่าอีกข้างที่ไม่ได้รับบาดเจ็บ

2.3 Effusion test เพื่อทำการประเมินการบวมน้ำของข้อเข่า

โดยทำการดู และสัมผัสบริเวณข้อเข่าของผู้ป่วยว่ามีการบวมขึ้นหรือไม่โดยอาจจะเปรียบเทียบกับข้างที่ไม่ได้รับการผ่าตัด

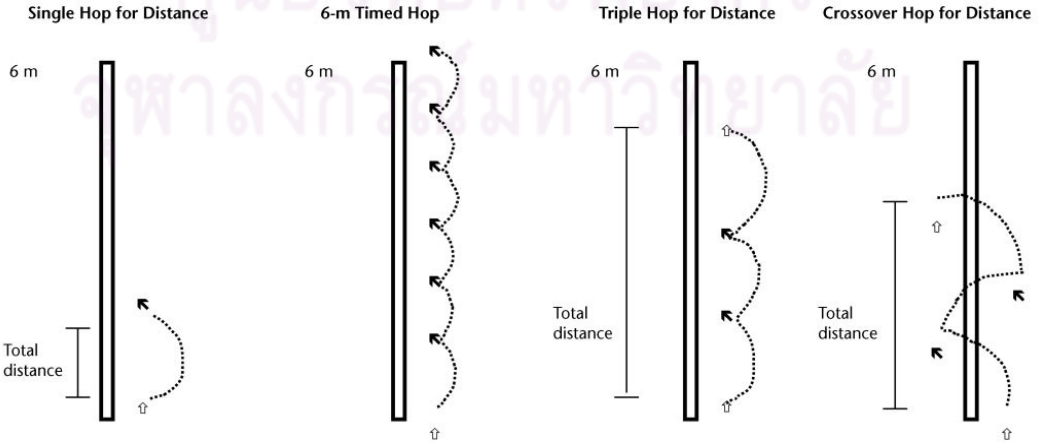
2.4 Crepitus compartment เพื่อประเมินการคั่งของน้ำในข้อเข่า

โดยตรวจจากการสัมผัสข้อเข่าของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัด และทำการขยับมือไปมารวมถึงให้ผู้ป่วยขยับเข่าร่วมด้วย เพื่อฟังเสียงที่เกิดขึ้นของข้อเข่าผู้ป่วย

2.5 Single leg hop test เพื่อประเมินการทำงานโดยรวมของข้อเข่า ซึ่งเป็นการประเมินถึงผลลัพธ์ภายหลังการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ที่นิยมใช้กันมาก เนื่องจากการทำ hop test สามารถประเมินถึง การควบคุมกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ และความมั่นใจในการใช้งานของข้อเข่าได้ อีกทั้งยังไม่ต้องใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือแต่อย่างใด และยังสามารถอธิบายให้ผู้ป่วยเข้าใจถึงการทดสอบได้ง่าย

ซึ่งการทำ hop test จะมีทั้งหมด 4 รูปแบบ[39] คือ

1. Single Hop for Distance
2. 6-m Timed Hop
3. Triple Hop for Distance
4. Crossover Hop for Distance



รูปที่ 10 รูปแบบต่างๆ ของ hop test [39]

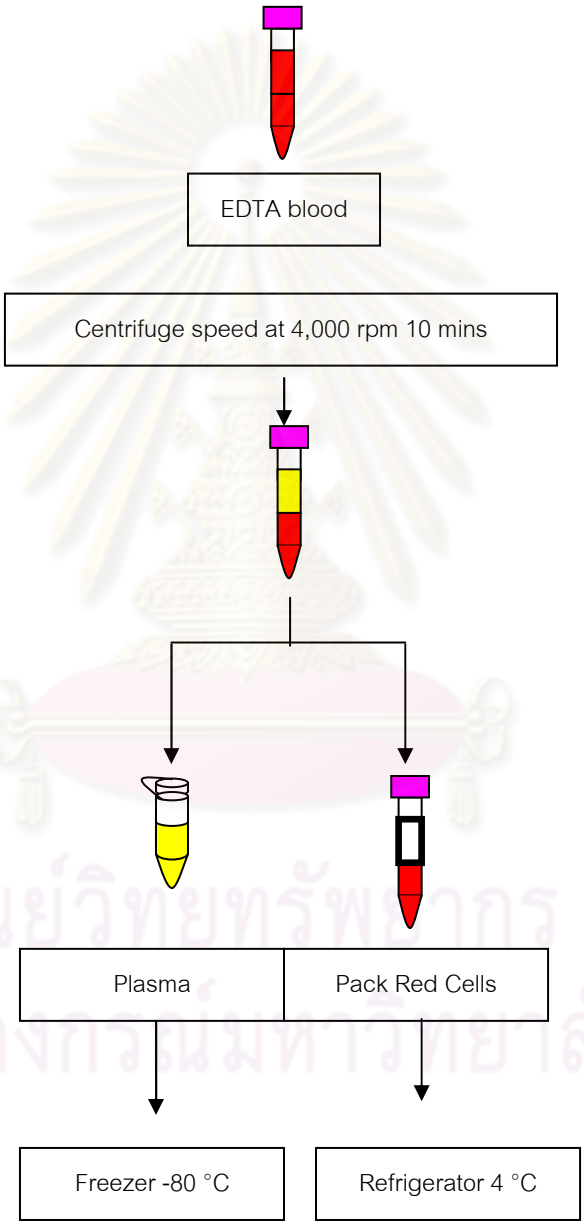
ซึ่งจาก IKDC Object form ได้กำหนดให้ใช้ Single Hop for Distance ในการทดสอบกับผู้ป่วย ซึ่งการทดสอบโดยให้ผู้ป่วยเริ่มยืนขาเดียวและเอามือไขว้หลังตรงจุดที่กำหนด จากนั้นจึงทำการกระโดดโดยที่ไม่ให้มือที่ไขว้หลังอยู่หลุดออกจากกัน ดูระยะที่ผู้ป่วยกระโดดได้ จากนั้นจึงทำการประเมิน โดยเทียบระยะจากการกระโดดโดยใช้ขาข้างที่ไม่ได้รับบาดเจ็บเป็นค่าอ้างอิง

รูปที่ 11 Single Hop for Distance

จากนั้นนำค่าการทดสอบที่ได้กระทำทั้งหมดทำการแบ่งระดับออกเป็น 4 ระดับ คือ normal (A), nearly normal (B), abnormal (C), severely abnormal (D) ซึ่งการประเมินนั้น ให้ทำการประเมินว่าผู้เข้ารับการประเมินได้ค่าใดค่าหนึ่งที่น้อยที่สุด จะถือว่าค่านั้นเป็นตัวจัดระดับของผู้เข้ารับการประเมิน

การเก็บตัวอย่าง (Specimen Collection)

การเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เคยมีประวัติของการบาดเจ็บเอ็นข้อเข่า จะทำการเจาะเลือดเพื่อเก็บ whole blood ด้วยหลอดมีสารกันเลือดแข็งตัว EDTA เป็นปริมาณ 3 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปั่นแยกพลาสมาออก และทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำมาทำการสกัดดีเอ็นเอต่อไป



รูปที่ 12 วิธีการเก็บตัวอย่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>การแยกสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์เม็ดเลือด</u>

การสกัดสารพันธุกรรมใช้ชุดสกัด illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit (GE Healthcare, USA) โดย

1. นำส่วนของ whole blood ที่ทำการแยกพลาสมาออกไปแล้ว

2. ทำการเติม lysis buffer ลงไปประมาณ 3 ml. จากนั้นผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงนำไปปั่นที่ความเร็ว 4000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง ทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าได้กำจัดเม็ดเลือดแดงออกไปจนหมด

3. เติม PBS ลงไป 200 µl ผสมให้เข้ากันแล้วจึงนำไปใส่ใน micro tube ที่มี proteinase K อยู่ 20 µl และเติม lysis Buffer ลงไปอีก 400µl นำไป Vortex เป็นเวลา 15 วินาที จึงตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ระหว่างนั้นให้ทำการ Vortex เป็นครั้งคราว เมื่อครบเวลาจะเห็นสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล

4. นำสารละลายใส่ลงใน column ปั่น column ที่ความเร็ว 10,000 g นาน 1 นาที เทของเหลวในส่วนของ collection tube ทิ้งไป

5. เติม lysis buffer 500 µl ปั่น column ที่ความเร็ว 10,000 g นาน 1 นาที เทส่วนของเหลวทิ้งไป

6. เติม wash buffer 500µl ปั่นที่ความเร็ว 10,000 g เทส่วนของเหลวทิ้งไป จากนั้นนำไปปั่นอีก 3 นาทีเพื่อให้ column แห้งสนิท

7. ย้าย column ไปสู่ micro tube อันใหม่ จึงทำการเติม elution buffer ที่ได้ทำการอุ่นที่อุณหภูมิ 70 °C ลงไป 200 µl ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที

8. นำไปปั่นที่ความเร็ว 10,000g เป็นเวลา 1 นาที ทำการเก็บส่วนของสารละลายที่ได้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรักษาสภาพของดีเอ็นเอเอาไว้ จากนั้นจึงแบ่งสารละลายบางส่วนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 และ 280 nm เพื่อหาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอที่สกัดได้

ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ (µg /200µl) = ค่า OD ที่ 260 nm x 50 x dilution factor

ความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ = ค่า OD ที่ 260 nm / ค่า OD ที่ 280 nm

<u>การเพิ่มจำนวนของสารพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค PCR</u>

การทำ PCR จาก ดีเอ็นเอที่แยกสกัดจากเซลล์เม็ดเลือด

ทำการผสม master mix ดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 4 แล้วนำลงเครื่อง PCR ตั้ง condition ตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 5

ชนิด MMP-3 primer	Sequence	Length (bp)	Tm (°C)	Size product (bp)
Primer forward[40]	5' –GAT TAC AGA CAT GGG TCA CG– 3'	20	52	120
Primer reverse [40]	5' – TTT CAA TCA GGA CAA GAC GAA GTT T – 3'	25	53	

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของ primer MMP-3 ที่ใช้ในการทำ PCR

สารที่ใช้	**ปริมาณที่ใช้ต่อ** 1 reaction (µl)
10X PCR buffer	2.0
25 mM $MgCl_2$	2.0
2 mM dNTP	2.0
10 µM primer forward	1.0
10 µM primer reverse	1.0
Taq polymerase enzyme	0.2
Deionized water	8.8
Template (DNA solution)	3.0
Final volume	20

ตารางที่ 4 ปริมาณสารต่าง ๆ สำหรับการทำ PCR

Step	Temperature (°C)	Time (min)
Initial PCR activation step	95	5
3-step cycling		
Denaturing	95	0.45
Annealing	53	0.45
Extension	72	0.30
Number of cycles: 35 cycles		
Final extension	72	5

ตารางที่ 5 Condition สำหรับการทำ PCR

หลังจากทำ PCR แล้วทำการตรวจสอบ PCR product โดยการทำ gel electrophoresis ซึ่งจะผสม PCR product 5 µl กับ 6X loading dye 1 µl หยอดลงในหลุมของ 1.2% agarose gel และใช้ marker ขนาด 100 bp มี 1X TAE buffer เป็นตัวกลางและจ่ายกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำ gel ไปย้อมด้วย 0.1% ethidium bromide เป็นเวลานาน 10-15 นาที ล้าง gel ด้วยน้ำเปล่า 2-3 ครั้ง แล้วนำ gel ไปผ่านเครื่องฉายรังสีอัลตร้าไวโอเลตเพื่อถ่ายรูปแถบดีเอ็นเอ

<u>การตรวจหาจีโนไทป์ ของ SNP MMP-3</u>

การทำ Digestion

เมื่อได้ PCR product แล้ว ใช้เอนไซม์ *XmnI* (PdmI) เป็น restriction enzyme ในการทำ digestion เพื่อหา จีโนไทป์ ของ SNP MMP-3 ซึ่งจะเตรียมสารดังตารางที่ 6

สารที่ใช้	**ปริมาณที่ใช้ต่อ 1 reaction (µl)**
TANGO buffer	1
SfaNI enzyme (1 unit)	0.25
Deionized water	2.75
PCR product	6
Final volume	10

ตารางที่ 6 ปริมาณสารที่ใช้ในการทำ digestion

จากนั้นให้นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปให้ความร้อนที่ 65 °C เป็นเวลา 20 นาทีเพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์

หลังจากการทำ digestion แล้วนำไปทำการตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ ที่ได้ด้วยวิธี gel electrophoresis โดยหยอด sample 10 µl ที่ผสมกับ loading dye 2 µl และ marker ขนาด 100 bp ลงในหลุมของ 12% polyacrylamide gel แบบแนวตั้งซึ่งจะใช้สารในการเตรียมตามตารางที่ 7 โดยมี 0.5X TBE buffer เป็นตัวกลางจ่ายกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที แล้วนำ gel ไปย้อมด้วย 0.1% ethidium bromide เป็นเวลา 10 นาที ล้างออกด้วยน้ำเปล่าประมาณ 2-3 ครั้ง จากนั้นนำไปผ่านเครื่องฉายรังสีอัลตร้าไวโอเลตเพื่อถ่ายรูปแถบดีเอ็นเอ ที่ได้ต่อไป

สารที่ใช้	**ปริมาณที่ใช้**
30% polyacrylamide	4 ml
5X TBE buffer	2 ml
Deionized water	3.93 ml
10% ammoniumpersulfate	70 µl
TEMED	3.5 µl

ตารางที่ 7 ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม 12% polyacrylamide gel ต่อ 1 gel

การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic) ซึ่งนำเสนอในรูปของ ค่าเฉลี่ย (mean) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) จากนั้นนำเสนอโดยใช้กราฟและตาราง ในการนำเสนอได้ทำการสรุปรวมจากจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด โดยใช้สถิติเชิงอนุมาน (inferential statistic) เพื่อสรุปผลของประชากร โดยใช้ Chi square เพื่อหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุมและความแตกต่างในลักษณะของจีโนไทป์และความถี่ของอัลลีล โดยใช้โปรแกรม SPSS16.0 สำหรับความหลากหลายทางพันธุกรรม ได้ทำการนำเสนอจำนวนผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมในแต่ละจีโนไทป์ และความถี่ของอัลลีลเปรียบเทียบโดยใช้ Chi square test คำนวณ Odd ratio โดยใช้ 95% confident interval และคำนวณ logistic regression analysis โดยมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ข้อมูลลักษณะทางกายภาพของผู้ป่วย

	กลุ่มควบคุม	ผู้ป่วย	P-value
จำนวน (ราย)	100	100	
อายุ (ปี)	23.2±5.3	31.6±4.4	< 0.001
ส่วนสูง (ซม.)	167.6±7.9	171.6±9.9	< 0.001
น้ำหนัก (กก.)	63.8±11.5	69.7±9.8	< 0.001
ดัชนีมวลกาย (กก./ม.^{2})	22.2±4.7	23.5±2.4	0.003

ตารางที่ 8 ข้อมูลลักษณะทั่วไปของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

จากตารางพบว่าในกลุ่มควบคุมจำนวน 100 ราย มีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 23.2±5.3 ปี มีส่วนสูง 167.6±7.9 เซ็นติเมตร น้ำหนัก 63.8±11.5 กิโลกรัม และดัชนีมวลกายเท่ากับ 22.2±4.7 กิโลกรัมต่อเมตรกำลังสอง ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยมีค่าอายุ 31.6±4.4 ปี ส่วนสูง 171.6±9.9 เซ็นติเมตร น้ำหนัก 69.7±9.8 กิโลกรัมและดัชนีมวลกายอยู่ที่ 23.5±2.4 กิโลกรัมต่อเมตรกำลังสอง ตามลำดับ

	กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บจากการเล่นกีฬาที่มีการปะทะกันโดยตรง	กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บจากการเล่นกีฬาที่ไม่มีการปะทะกันโดยตรง	P-value
จำนวน (ราย)	40*	46*	
อายุ (ปี)	29.2±6.9	31.9±9.5	0.07
ส่วนสูง (ซม.)	172.6±6.9	170.9±7.0	0.24
น้ำหนัก (กก.)	70.5±11.5	70.8±8.5	0.90
ดัชนีมวลกาย (กก./ม.^{2})	23.6±3.3	24.2±2.4	0.32

ตารางที่ 9 ข้อมูลลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าขาด แยกตามสาเหตุของการเกิดการบาดเจ็บ (*เนื่องจากผู้ป่วยบางส่วนไม่สามารถระบุสาเหตุของการบาดเจ็บได้จึงไม่นำมารวมในการคำนวน)

เมื่อทำการศึกษารวบรวมข้อมูลถึงสาเหตุการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าในกลุ่มผู้ป่วย พบว่าสามารถแยกได้ถึงสาเหตุของการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดได้เป็น สองรูปแบบ คือ การบาดเจ็บที่เกิดจากการปะทะกันโดยตรงในบริเวณข้อเข่าของผู้ป่วยเอง และอีกรูปแบบหนึ่งคือการบาดเจ็บที่ไม่ได้เกิดการปะทะกันโดยตรงในบริเวณข้อเข่าของผู้ป่วย แต่เกิดจากการบิดออกจากกันของกระดูกต้นขากับกระดูกหน้าแข้งของผู้ป่วยทำให้เกิดการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าของตัวผู้ป่วยเอง

จากข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มที่มีอาการบาดเจ็บจากการเล่นกีฬาที่มีการปะทะกันโดยตรงพบว่ามี อายุ 29.2±6.9 ปี ส่วนสูง 172.6±6.9 เซนติเมตร น้ำหนัก 70.5±11.5 กิโลกรัม และดัชนีมวลกาย 23.6±3.3 กิโลกรัมต่อเมตรกำลังสอง ตามลำดับ ในขณะที่ผู้ป่วยในกลุ่มที่มีอาการบาดเจ็บจากการเล่นกีฬาที่ไม่มีการปะทะกันโดยตรงพบว่ามี อายุ 31.9±9.5 ปี ส่วนสูง 170.9±7.0 เซนติเมตร น้ำหนัก 70.8±8.5 กิโลกรัม และดัชนีมวลกาย เท่ากับ 24.2±2.4 กิโลกรัมต่อเมตรกำลังสอง ตามลำดับ

จากข้อมูลลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยจากกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มนั้นมีลักษณะใกล้เคียงกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ผลการตรวจประเมินการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าผู้ป่วยภายหลังการผ่าตัด

	เอ็นทดแทนชนิด BPTB (N=16)	**เอ็นทดแทนชนิด** Hamstring (N=33)	P-value
อายุ (ปี)	32.1±10.4	31.3±8.2	0.78
น้ำหนัก (กก.)	74.0±9.9	70.4±8.8	0.20
ส่วนสูง (ซม.)	173.6±5.5	172.1±6.9	0.45
ดัชนีมวลกาย (กก./ม.^{2})	24.6±3.3	23.7±2.5	0.29
ระยะเวลาตั้งแต่บาดเจ็บจนได้รับการผ่าตัด (เดือน)	26.7±12.1	23.7±6.0	0.80
ระยะเวลาหลังผ่าตัดจนถึงการประเมิน (เดือน)	39.1±4.8	23.6±2.6	0.003

ตารางที่ 10 ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทั้งสองกลุ่ม

จากตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่าค่า อายุ ส่วนสูง น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มได้รับบาดเจ็บจนถึงช่วงเวลาที่ได้รับการผ่าตัดและช่วงเวลาหลังผ่าตัดจนถึงการเข้ารับการประเมินผล ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณลูกสะบ้ามาแทนเอ็นไขว้หน้าที่ขาดคือ 32.1±10.4 ปี 74.0±9.9 กิโลกรัม 173.6±5.5 เซนติเมตร 24.6±3.3 กิโลกรัมต่อเมตรกำลังสอง 26.7±12.1 เดือน และ 39.1±4.8 เดือนตามลำดับ ส่วนในผู้ป่วยที่รับการผ่าตัดโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามีผลคือ 31.3±8.2 ปี 70.4±8.8 กิโลกรัม 172.1±6.9 เซนติเมตร 23.7±2.5 กิโลกรัมต่อเมตรกำลังสอง 23.7±6.0 เดือน และ 23.6±2.6 เดือนตามลำดับ ซึ่งเมื่อทำการคำนวนทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม ยกเว้นในหัวข้อระยะเวลาหลังการผ่าตัดจนถึงการประเมินที่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยจากกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มมีลักษณะใกล้เคียงกัน

คะแนน IKDC Subjective score	BPTB graft (n=16)	Hamstring graft (n=33)	P-value
	73.7±10.5	72.8±14.9	0.82

ตารางที่ 11 ข้อมูลคะแนนIKDC Subjective score เปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม BPTB graft และ Hamstring graft

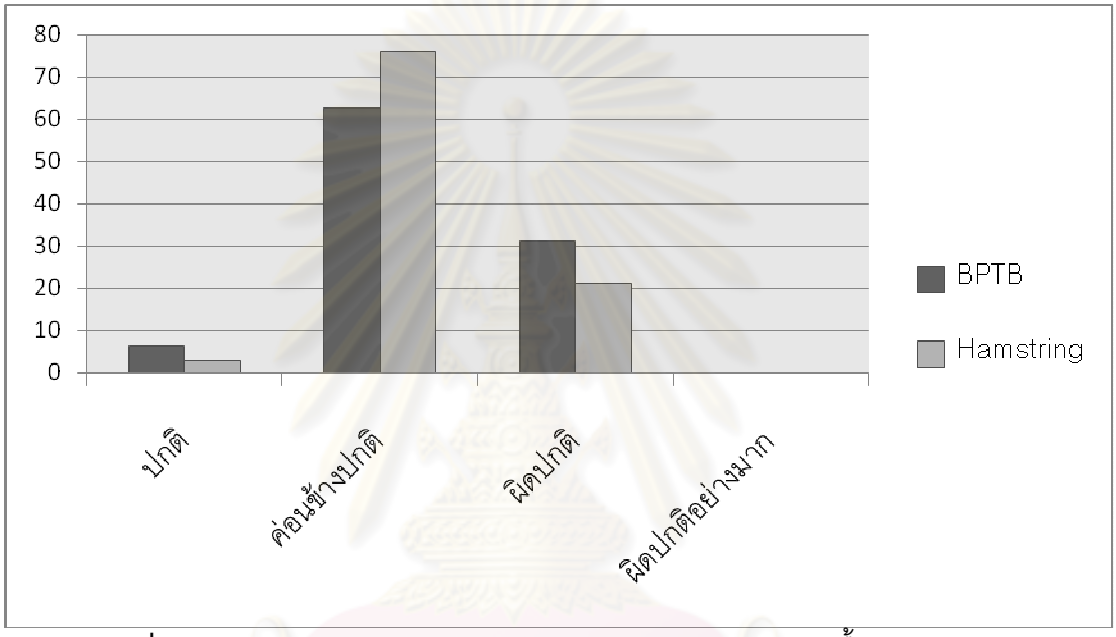
จากการตอบแบบสอบถามของผู้ป่วยที่เข้ารับการทดสอบ โดยใช้แบบทดสอบ IKDC Subjective form พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณลูกสะบ้าได้คะแนนเฉลี่ย 73.7±10.5 คะแนน และผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขา (Hamstring grafts) ได้คะแนนเฉลี่ย 72.8±14.9 คะแนน ซึ่งจากการคำนวนพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.82)

คะแนน IKDC Object score	BPTB (N=16)		Hamstring graft (N=33)	
	N	%	N	%
ระดับปกติ (A)	1	6.25	1	3.0
ระดับค่อนข้างปกติ (B)	10	62.5	25	75.8
ระดับผิดปกติ (C)	5	31.25	7	21.2
ระดับผิดปกติอย่างมาก (D)	0	0	0	0

ตารางที่ 12 ข้อมูลจำนวนผู้ป่วยแบ่งตามระดับการฟื้นตัวของผู้ป่วยตามคะแนน IKDC Objective score

ผลการตรวจประเมินสภาพข้อเข่าของผู้ป่วยตามแบบประเมินของ IKDC Objective form ทำให้สามารถแบ่งระดับข้อเข่าของผู้ป่วยได้ออกเป็น 4 ระดับ คือ ระดับปกติ (A) ระดับค่อนข้างปกติ (B) ระดับผิดปกติ (C) และระดับผิดปกติอย่างมาก (D) ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ

การผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณลูกสะบ้ามาทดแทนนั้น ได้ผลปกติ หนึ่งราย คิดเป็นร้อยละ 6.25 ค่อนข้างปกติ 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 62.5 ผิดปกติ 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 31.25 และไม่มีรายที่ผิดปกติอย่างมาก ในขณะที่ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทนนั้น ได้ผลปกติหนึ่งราย คิดเป็นร้อยละ 3 ผลค่อนข้างปกติ 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 75.8 ผิดปกติ 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 21.3 และไม่พบรายที่ผิดปกติเช่นเดียวกัน



รูปที่ 13 กราฟแท่งแสดงร้อยละของผู้ป่วย โดยแบ่งตามระดับการฟื้นตัวของผู้ป่วย

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P=0.2) ในระดับต่างๆ ที่แบ่งตามแบบประเมิน ของ IKDC objective form

Hop index value	BPTB (N=13)		Hamstring graft (N=20)		P-value
	N	%	N	%	0.01
90-100%	9	60	12	42.9	
75-89%	3	20	14	50	
50-74%	3	20	2	7.1	
<50%	0	0	0	0	

ตารางที่ 13 ผลการประเมินการทดสอบกระโดดขาเดียว ในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม

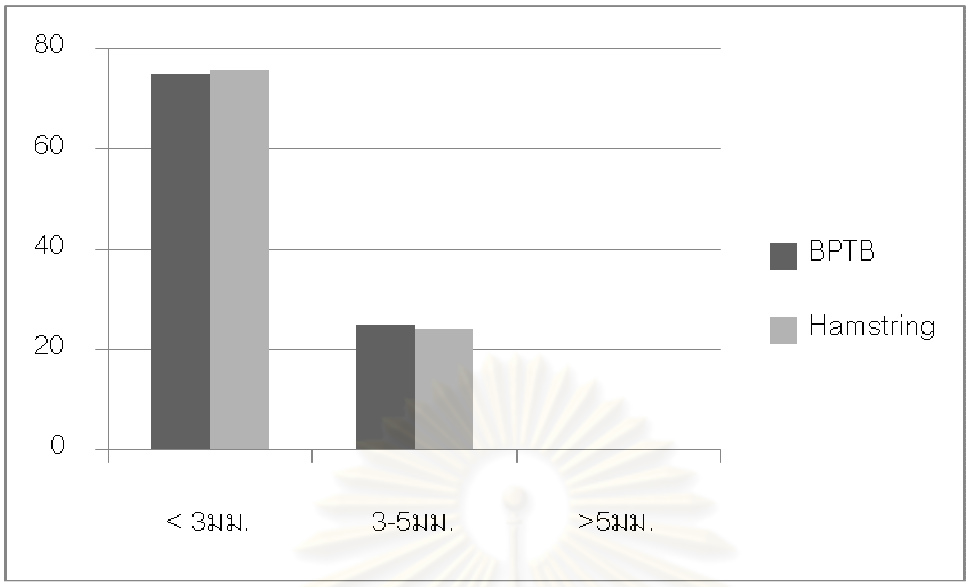
ผลการประเมินพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณลูกสะบ้ามาทดแทนมี 9 รายหรือร้อยละ 60 ที่พบว่าอัตราส่วนของการกระโดดขาเดียวโดยใช้ขาข้างที่ไม่ได้รับบาดเจ็บเป็นเกณฑ์ อยู่ระหว่างร้อยละ 90-100 ส่วน 3 รายหรือร้อยละ 20 พบว่าอัตราส่วนอยู่ที่ร้อยละ 75-89 และอยู่ที่ร้อยละ 50-74 เป็นจำนวน 3 รายหรือร้อยละ 20 ส่วนกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทน มี 12 รายหรือร้อยละ 42.9 ที่อัตราส่วนของการกระโดดอยู่ที่ร้อยละ 90-100 มี 14 รายหรือร้อยละ 50 ที่มีอัตราส่วนของการกระโดดอยู่ที่ร้อยละ 75-89 และ 2 รายหรือร้อยละ 7.1 ที่มีอัตราส่วนอยู่ที่ร้อยละ 50-74 และไม่พบว่ามีผู้ป่วยกลุ่มใดอยู่ในช่วงอัตราส่วนที่น้อยกว่าร้อยละ 50

ผลที่ได้พบว่าระหว่างอัตราส่วนของการกระโดดขาเดียวในลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างที่นัยสำคัญทางสถิติที่มีค่าความแตกต่างอยู่ที่ 0.01

	BPTB (n=16)	Hamstring (n=33)	P-value
< 3 มม.	12 (75%)	25 (75.8%)	0.85
3-5 มม.	4 (25%)	8 (24.2%)	
> 5 มม.	0	0	

ตารางที่ 14 ผลการตรวจค่าความหย่อนของข้อเข่าของผู้ป่วยสองกลุ่ม

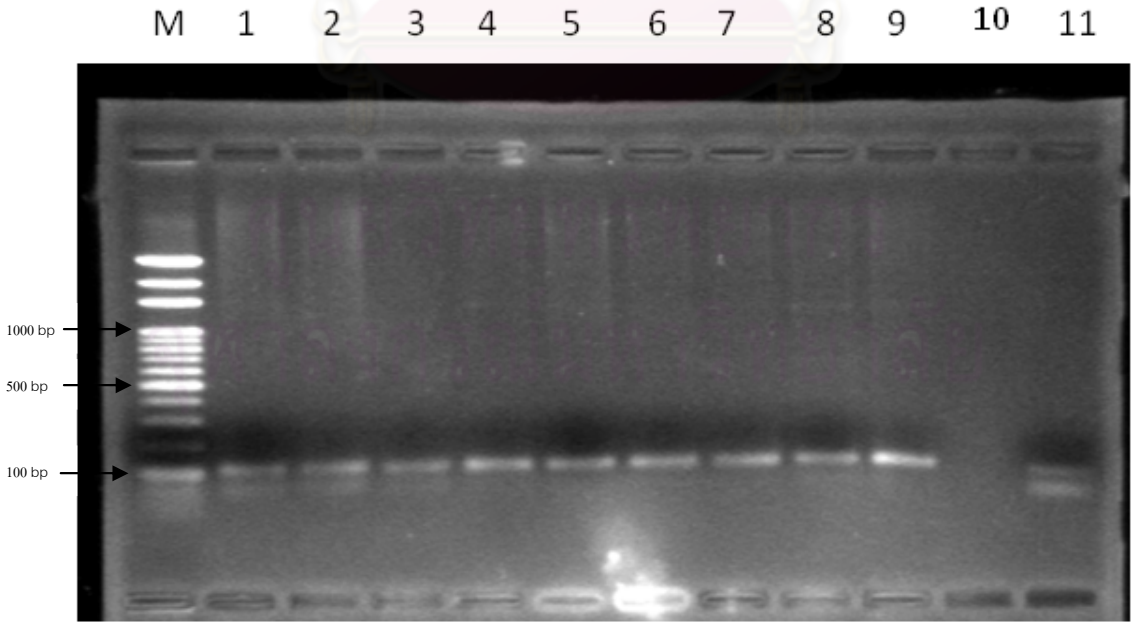
ผลการตรวจค่าความหย่อนของข้อเข่าของผู้ป่วย โดยใช้เข่าข้างไม่ได้รับบาดเจ็บเป็นเกณฑ์อ้างอิง พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณลูกสะบ้ามาทดแทน มีค่าผลต่างของความหย่อนของข้อเข่าที่น้อยกว่าสามมิลลิเมตรอยู่ 12 ราย คิดเป็นร้อยละ 75 ผลต่างที่มีค่าอยู่ระหว่างสามถึงห้ามิลลิเมตรอยู่ 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 25 ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทน พบว่ามีค่าผลต่างที่น้อยกว่าสามมิลลิเมตรอยู่ 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 75.5 และผลต่างที่มีค่าอยู่ระหว่างสามถึงห้ามิลลิเมตรอยู่ 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 24.2 และกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่พบว่ามีค่าผลต่างของความหย่อนของข้อเข่าที่มากกว่าห้ามิลลิเมตร และไม่พบว่ามีความต่างกันทางสถิติ (P=0.85)



รูปที่ 14 กราฟแสดงร้อยละของจำนวนของผู้ป่วย แบ่งตามผลต่างของความหย่อนของข้อเข่า

3. ผลการตรวจจีโนไทป์ของ SNP MMP-3

จากการทำ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ SNP MMP-3 ที่ตำแหน่ง -1612 จะได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 120 bp



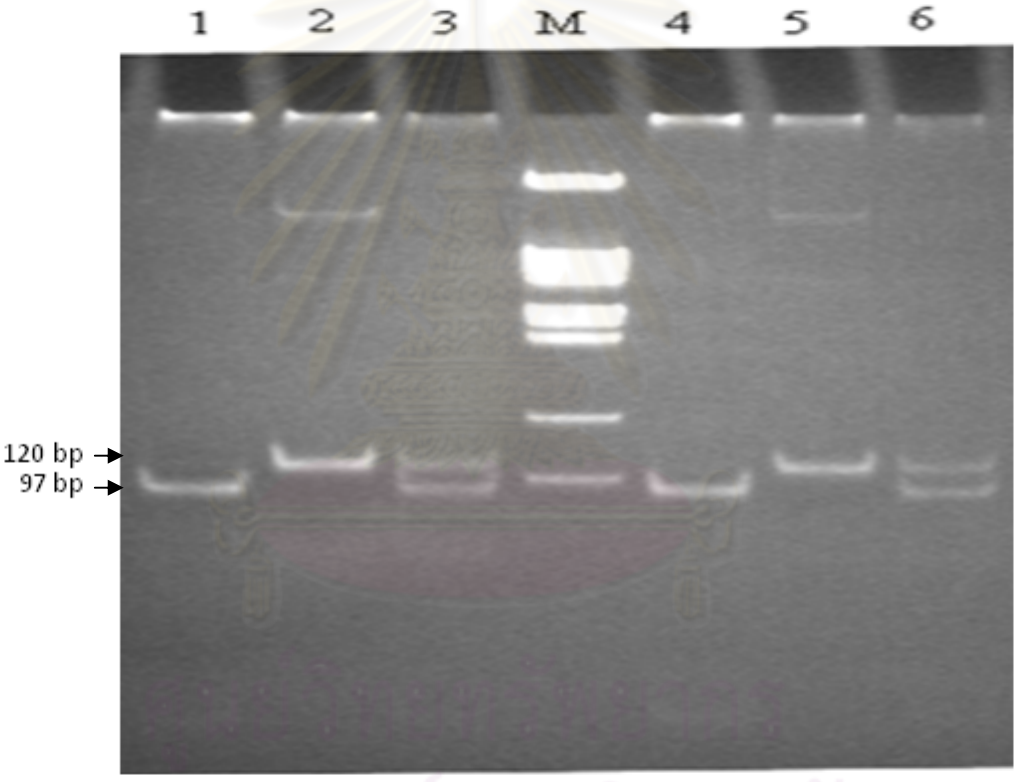
รูปที่ 15 รูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR ขนาด 120 bp

แถวที่ M ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp

แถวที่ 10 ดีเอ็นเอควบคุมที่ให้ผลลบ

แถวที่ 1-9, 11 ดีเอ็นเอที่ผ่านการเพิ่มจำนวน

เมื่อนำไปตัดด้วยเอนไซม์ XmnI พบว่าจีโนไทป์ของ SNP MMP-3 ที่ตำแหน่ง -1612 มี 3 รูปแบบ คือ 5A/5A มีชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ 2 ชิ้น คือ 97 และ 23 bp , 5A/6A มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอ 3 ชิ้น ขนาด 120, 97 และ 23 bp และ 6A/6A ซึ่งเอนไซม์ไม่สามารถตัดได้ด้วยเอนไซม์ XmnI จะมีชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ 1 ชิ้นขนาด 120 bp



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 16 ลักษณะของดีเอ็นเอในแบบจีโนไทป์ต่าง ๆ

แถวที่ M ดีเอ็นเอมาตราฐาน 100 bp

แถวที่ 1, 4 5A/5A (homozygous)

แถวที่ 2, 5 6A/6A (homozygous)

แถวที่ 3, 6 5A/6A (heterozygous)

จากการศึกษาพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดมีการกระจายตัวของจีโนไทป์ 5A+ และ 5A- เป็นร้อยละ 26.0 และ 74.0 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุมมีความถี่ของจีโนไทป์ 5A+ และ 5A- เป็นร้อยละ 21.0 และ 79.0 ตามลำดับ อัลลีล 5A และ 6A ในกลุ่มผู้ป่วยมีการกระจายตัวเป็นร้อยละ 13.5 และ 86.5 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ 11.0 และ 89.0 ตามลำดับ ดังที่แสดงในตารางที่ 15

	กลุ่มควบคุม (n=100)	**ผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด (n=100)**	P-value
5A+ จีโนไทป์ (5A/5A+5A/6A)	1+20 (21.0%)	1+25 (26.0%)	0.47
5A- จีโนไทป์ (6A/6A)	79 (79.0%)	74 (74.0%)	0.69
5A อัลลีล %	11.0	13.5	0.46
6A อัลลีล %	89.0	86.5	

ตารางที่ 15 รูปแบบการกระจายตัวของจีโนไทป์และอัลลีลในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาด

รูปแบบของจีโนไทป์ที่พบในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยทั้งหมดมีการกระจายตัวที่เป็นไปตามรูปแบบของสมการ Hardy-Weinberg โดยในกลุ่มควบคุมพบจีโนไทป์ 5A+ จำนวน 21 ราย คิดเป็นร้อยละ 21 จีโนไทป์ 5A- 79 ราย คิดเป็นร้อยละ 79 ส่วนอัลลีล 5A พบร้อยละ 11 อัลลีล 6A พบร้อยละ 89 ในกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาดพบจีโนไทป์ 5A+ 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 26 จีโนไทป์ 5A- 71 ราย คิดเป็นร้อยละ 74 อัลลีล 5A ร้อยละ 13.5 อัลลีล 6A ร้อยละ 86.5 และไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของรูปแบบการกระจายตัวของจีโนไทป์ในระหว่างสองกลุ่มประชากร

	กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บจากการปะทะกันโดยตรง	**กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บที่ไม่มีการปะทะกันโดยตรง**	P-value
5A+ จีโนไทป์ (5A/5A+5A/6A)	13 (32.5%)	1+8 (19.6%)	0.04*
5A- จีโนไทป์ (6A/6A)	27 (67.5%)	38 (80.4%)	0.2
5A อัลลีล %	16.25	11	0.01*
6A อัลลีล %	83.25	89	

ตารางที่ 16 รูปแบบการกระจายตัวของจีโนไทป์และอัลลีลในกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาดทั้งสองกลุ่ม

ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการแบ่งกลุ่มโดยใช้สาเหตุของการเกิดการบาดเจ็บเป็นหลัก พบว่าในกลุ่มกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บจากการปะทะกันโดยตรงบริเวณข้อเข่ามีรูปแบบการกระจายตัวของจีโนไทป์ 5A+ 11 ราย คิดเป็นร้อยละ 32.5 จีโนไทป์ 5A- 22 รายคิดเป็นร้อยละ 67.5 อัลลีล 5A ร้อยละ 19.6 อัลลีล 6A ร้อยละ 80.4 กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับบาดเจ็บที่ไม่มีการปะทะกันโดยตรงของข้อเข่าพบจีโนไทป์ 5A+ 9 ราย คิดเป็นร้อยละ 16.25 จีโนไทป์ 5A- 41 รายคิดเป็นร้อยละ 83.25 อัลลีล 5A ร้อยละ 11 อัลลีล 6A ร้อยละ 89

เมื่อนำมาคิดความต่างทางสถิติโดยใช้การทดสอบไคน์กำลังสองพบว่ารูปแบบการกระจายตัวของจีโนไทป์ 5A+ ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มที่ค่าความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า P-value ที่ 0.02 และเมื่อเปรียบเทียบค่าความต่างของอัตราส่วนของอัลลีลทั้งสองระหว่างกลุ่มผู้ป่วยพบว่ามีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.01

จากการวิเคราะห์โดยใช้สถิติ logistic regression พบว่าจีโนไทป์ 5A+ ร่วมกับการเล่นกีฬาที่มีการปะทะกันโดยตรง มีอัตราการเสี่ยงต่อการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด โดยมี odds ratio อยู่ที่ 2.27 P-value อยู่ที่ 0.02 และ 95% CI พบที่ 1.18-4.39

จีโนไทป์	Odds Ratio	95% CI	P-value
5A+	1.32	0.68 - 2.50	0.5
5A-	0.75	0.39 - 1.45	0.5
5A+ ร่วมกับการบาดเจ็บจากการเล่นกีฬาที่มีการปะทะกันโดยตรง	2.27	1.18 - 4.39	0.02*

ตารางที่ 17 ปัจจัยที่มีผลต่อความเสี่ยงต่อการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดวิเคราะห์โดยใช้ logistic regression

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

อาการเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีดขาดเป็นอาการที่พบได้บ่อยในกลุ่มนักกีฬาที่เล่นกีฬาที่มีการปะทะกันอย่างรุนแรงหรือในกีฬาที่ต้องใช้ข้อเข่าเป็นหลักเช่น ฟุตบอล บาสเก็ตบอล ซึ่งเมื่อเกิดการฉีกขาดขึ้น การรักษาที่นิยมในปัจจุบันคือการผ่าตัดเพื่อซ่อมแซมเอ็นไขว้หน้าที่เสียหายโดยใช้เอ็นจากบริเวณกระดูกลูกสะบ้า หรือเอ็นบริเวณต้นขามาทดแทนซึ่งภายหลังการผ่าตัดพบว่ามีผู้ป่วยบางส่วนที่ไม่สามารถกลับมาเล่นกีฬาได้เหมือนเดิมในขณะที่ผู้ป่วยบางส่วนสามารถกลับมาเล่นกีฬาได้เหมือนเดิม ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ส่วนแรกคือการศึกษาการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าของผู้ป่วย โดยเปรียบเทียบระหว่างการผ่าตัดสองรูปแบบว่าการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าของผู้ป่วยมีความแตกต่างกันหรือไม่

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ใช้ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เคยได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าในช่วงระยะเวลา 1-3 ปี จำนวน 49 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทน จำนวน 16 ราย ผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทนจำนวน 33 ราย ผลการวิจัยพบว่าค่าคะแนน IKDC subject, IKDC objective, และค่าความหย่อนของข้อเข่า (knee laxity) ระหว่างผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P=0.5)

ในขณะที่ค่าคะแนนการทดสอบกร ะโดดขาเดียว ในกลุ่มผู้ป่วยเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทน มีค่าคะแนนการทดสอบกระโดดขาเดียวที่สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทน และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P=0.01) แต่ค่าคะแนนการทดสอบกระโดดขาเดียว นี้ไม่มีความสัมพันธ์กับการตรวจข้อเข่าโดยใช้ คะแนน IKDC objective และค่าความหย่อนของข้อเข่าแต่อย่างใด

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการศึกษาในครั้งนี้เทียบกับผลการศึกษาที่เคยมีการวิเคราะห์มาแล้วผลเป็นดังตารางที่ 18

การศึกษา	ระยะเวลาเฉลี่ยของการประเมินภายหลังการผ่าตัด	รูปแบบของการทดสอบที่ใช้	จำนวนของกลุ่ม BPTB/Hamstring	ผลการศึกษา
A. Heijne [41] (2552)	3, 5, 7, 9เดือน, 1 ปี และ 2 ปี ตามลำดับ	Knee laxity, Pivot shift test, Thigh muscle torques, One-leg hop test, Postural sway, Anterior knee pain, Knee injury osteoarthritis outcome score, Tegner activity scale	34/34	BPTB grafts ทำให้ข้อเข่ามีความมั่นคงมากกว่า Hamstring grafts
A. Matsumoto [42] (2549)	5 ปี	International Knee Documentation Committee (IKDC) knee ligament standard evaluation form, IKDC subjective knee form, A side-to-side difference laxity by KT-1000, Isokinetic muscle strength testing, anterior knee pain	37/35	BPTB grafts ทำให้เกิดการเจ็บของข้อเข่าบริเวณผ่าตัดมากกว่า Hamstring grafts ส่วนการศึกษาที่เหลือไม่มีความแตกต่างกัน
P. Volpi[43] (2553)	2 ปี	Lysholm score, Tegner scale, IKDC score, , A side-to-side difference laxity by KT-1000	20/20	ผลของรูปแบบการผ่าตัดทั้งสองแบบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
G. Laxdal [44] (2549)	2 ปี	Lysholm score, Tegner scale, IKDC score, , A side-to-side difference laxity by KT-1000, hop-test,	45/78	มีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในค่าของ Tegner scale นอกนั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A. Gobbi[45] (2547)	3 ปี	Tegner score, SANE score, Lysholm score, Noyes score, IKDC score,	40/40	การใช้ hamstrimg grafts ทำให้เกิดความหย่อนของข้อเข่ามากกว่า BTB grafts แต่ไม่เกี่ยวข้องกับเพศของผู้ป่วย
D.C. Taylor[46] (2552)	3 ปี	SANE score, Lysholm score, IKDC score, KOOS score, Tegner score	32/32	มีความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในค่าของ Tegner scale นอกนั้นไม่พบความแตกต่าง
B. Barenius[47] (2553)	8 ปี	Knee laxity, Knee-walking test, Lysholm score, IKDC score, KOOS score, Tegner score, patella femoral pain score, short form-36	78/75	พบว่าในระยะยาวแล้ว Hamstring grafts จะมีการเจ็บของข้อเข่าบริเวณที่ผ่าตัดน้อยกว่า BPTB grafts ส่วนการศึกษาที่เหลือไม่มีความแตกต่างกัน
P. Sadoghi[48] (2553)	2 ปี	IKDC score, WOMAC score, Tegner score, A side-to-side difference laxity by KT-1000, pivot shift test, anterior knee pain	41/51	Hamstring grafts ทำให้เกิดความหย่อนของข้อเข่าเมื่อทำการตรวจด้วย pivot shift มากกว่า BPTB grafts
สมเกียรติ มลิลา	1-3 ปี	IKDC Subjective score, IKDC objective score, Hop test	16/33	BPTB grafts จะให้ผลการทำ Hop test ที่ดีกว่า Hamstring grafts นอกนั้นไม่พบความแตกต่าง

ตารางที่ 18 ผลการวิเคราะห์การศึกษาของการเปรียบเทียบผลลัพธ์ภายหลังการผ่าตัดซ่อมเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทั้งสองรูปแบบ

อีกส่วนหนึ่งของการศึกษาในครั้งนี้คือการศึกษาหาปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด โดยปัจจัยเสี่ยงที่ทำการศึกษาคือปัจจัยภายในจากตัวผู้ป่วย คือการมีความหลากหลายทางพันธุกรรม จากการศึกษาที่ผ่านมาจีโนไทป์ของ SNP ของยีน *COL* มีผลต่อความเสี่ยงของการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด ดังนั้นการวิจัยนี้จึงศึกษาถึงลักษณะของจีโนไทป์ของ SNP ของยีน *MMP-3* เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคข้อเข่าเสื่อมได้ ซึ่งผลของสารพันธุกรรมต่อการเกิดความเสี่ยงของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด ได้มีการทำการศึกษาเป็นจำนวนพอสมควรถึง

ตารางที่ 19 ผลการวิเคราะห์การศึกษาหาความเสี่ยงทางพันธุกรรมต่อการเกิดอาการเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด (* คิดค่าเฉพาะผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาดเพศหญิงเท่านั้น)

การศึกษา	ประเทศ	ยีนที่เกี่ยวข้อง	เทคนิคที่ใช้ในการศึกษา	SNPs	จำนวนของกลุ่มทดลอง/กลุ่มควบคุม	Odd Ratio	P-value
S. Khoschnau (2551)	สวีเดน	*COL 1A1*	Solid-phase minisequencing	rs 1800012 (G/T)	233/235	1.19	0.02
M. Posthumus (2552)	แอฟริกาใต้	*COL 1A1*	PCR-RFLP	rs 1800012 (G/T)	117/130	0.08	0.03
M. Posthumus (2552)	แอฟริกาใต้	*COL5A1*	PCR-RFLP	rs 13946 (T/C)	38/84*	-	1.31
				rs 12722 (T/C)		6.6	0.006
M. Posthumus (2552)	แอฟริกาใต้	*COL12A1*	PCR-RFLP	rs 240736 (C/T)	38/83*	-	0.35
				rs 970547 (G/A)		2.4	0.048
สมเกียรติ มลิลา	ไทย	*MMP-3*	PCR-RFLP	rs 3025058 (5A/6A)	100/100	2.27	0.02

การศึกษาในครั้งนี้ได้แบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดจำนวน 100 รายซึ่งแบ่งกลุ่มย่อยตามสาเหตุการเกิดการบาดเจ็บเป็น การบาดเจ็บที่เกิดจากการปะทะกันโดยตรงของข้อเข่าจำนวน 33 ราย การบาดเจ็บที่ไม่ได้เกิดจากการปะทะกันโดยตรง 50 ราย ส่วนที่เหลือไม่สามารถระบุถึงสาเหตุของการเกิดการบาดเจ็บได้ และกลุ่มควบคุม 100 ราย พบว่า SNP ของยีน MMP-3 ตำแหน่ง -1612 มีลักษณะจีโนไทป์ 3 แบบ คือ 5A/5A, 5A/6A และ 6A/6A โดยพบจีโนไทป์ 6A/6A มากที่สุดทั้งในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมคือ 71 ราย (ร้อยละ 74) และ 79 ราย (ร้อยละ 79) ตามลำดับ จีโนไทป์ 5A/6A พบในกลุ่มผู้ป่วย 24 ราย (ร้อยละ 25) กลุ่มควบคุม 20 ราย (ร้อยละ 20) ส่วนจีโนไทป์ 5A/5A พบในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมอย่างละหนึ่งราย ซึ่งความต่างของจีโนไทป์ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยกับกลุ่มควบคุม เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้ Chi square test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P=0.6) นอกจากนี้อัตราส่วนของอัลลีล 5A ในกลุ่มผู้ป่วยร้อยละ 13.5 อัลลีล 6A ร้อยละ 86.5 ส่วนในกลุ่มควบคุมพบอัตราส่วนอัลลีล 5A ร้อยละ 11 อัลลีล 6A ร้อยละ 89 เมื่อทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างระหว่างอัตราส่วนของอัลลีล 5A และ 6A ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมนั้นไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P=0.4) เช่นเดียวกัน

ในกลุ่มผู้ป่วยเมื่อทำการแยกถึงสาเหตุของการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดนั้น พบว่ากลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดที่มีสาเหตุมาจากการปะทะกันโดยตรง พบว่ามีรูปแบบจีโนไทป์ 5A/6A 11 ราย (ร้อยละ 33.3) จีโนไทป์ 6A/6A 22 ราย (ร้อยละ 66.7) และไม่พบรูปแบบจีโนไทป์ 5A/5A ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีสาเหตุมาจากการบิดของข้อเข่าหรือไม่ได้เกิดการปะทะกันโดยตรงมีรูปแบบจีโนไทป์ 5A/5A 1 ราย (ร้อยละ 2) จีโนไทป์ 5A/6A 8 ราย (ร้อยละ 16) และจีโนไทป์ 6A/6A จำนวน 41 ราย (ร้อยละ 82) เมื่อทำการวิเคราะห์โดยใช้วิธีไคน์กำลังสองพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.04)

ในขณะที่อัตราส่วนของอัลลีล 5A ในกลุ่มผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดที่มีสาเหตุมาจากการปะทะกันโดยตรงพบ ร้อยละ 16.6 อัลลีล 6A ร้อยละ 83.4 ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการบาดเจ็บแต่ไม่ได้เกิดจากการปะทะกันโดยตรงพบอัตราส่วนอัลลีล 5A ร้อยละ 10 อัลลีล 6A ร้อยละ 90 เมื่อทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างระหว่างอัตราส่วนของอัลลีล 5A และ 6A ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมนั้นพบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.01) เช่นเดียวกัน และจากการใช้ logistic regression เพื่อวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด สรุปได้ว่า จีโนไทป์ 5A+ (5A/5A, 5A/6A) ร่วมกับการเล่นกีฬาที่มีการปะทะกันโดยตรง มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดอยู่ที่ 2.27 เท่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.02)

อภิปรายผลการวิจัย

การฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่านั้นเกิดจากปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายในร่วมกัน โดยปัจจัยภายนอก เช่น ลักษณะการใช้ชีวิตและการทำกิจกรรมต่างๆของตัวผู้ป่วยเอง หรือลักษณะทางกายภาพของผู้ป่วย ส่วนปัจจัยภายในคือลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมของผู้ป่วยเอง ซึ่งเมื่อเกิดการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าเกิดขึ้นแล้ว ร่างกายไม่สามารถที่จะฟื้นฟูได้เอง ดังนั้นการรักษาเพื่อให้ผู้ป่วยสามารถกลับมาใช้ข้อเข่าได้เหมือนเดิมนั้น จึงมีเพียงการผ่าตัดเพื่อเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เสียหายเพียงอย่างเดียว ซึ่งในปัจจุบันรูปแบบของการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่นิยมได้แก่ การใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทนเอ็นไขว้หน้าที่เสียหายหรือการใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เสียหาย ซึ่งที่ผ่านมารูปแบบการผ่าตัดที่ถือเป็นมาตรฐานคือการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เสียหาย แต่ในปัจจุบันพบว่ามีการผ่าตัดอีกหลายรูปแบบที่น่าจะให้ผลที่ไม่แตกต่างกันในการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าของผู้ป่วย และไม่มีผลต่อการกลับมาใช้ชีวิตประจำวันหรือเล่นกีฬาของผู้ป่วย

จากการศึกษาที่มีการเปรียบเทียบผลลัพธ์ของการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าระหว่างการใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทนกับการใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทน มีหลายงานวิจัยทีพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่เคยได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทั้งสองรูปแบบที่ผ่านมาพบว่าไม่มีความต่างกันของค่าคะแนน IKDC subjective, IKDC objective, Tegner activity level, Lysholm knee และ Kujala patellofemoral แต่พบความแตกต่างกันในค่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ค่าความมั่นคงของข้อเข่า และค่าคะแนนจากการทดสอบกระโดดขาเดียว ซึ่งในที่นี้การผ่าตัดโดยใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทนจะให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่า แต่ในทางกลับกันจะพบว่ามีการเจ็บบริเวณส่วนหน้าของข้อเข่ามากกว่าเมื่อเทียบกับการผ่าตัดโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทนในระยะยาว ซึ่งผลจากการศึกษาในครั้งนี้ใช้กลุ่มผู้ป่วยที่เคยได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าระหว่างกลุ่มที่ใช้เอ็นจากกระดูกลูกสะบ้าและกลุ่มที่ใช้เอ็นจากต้นขามาทดแทน ที่ผ่านมาแล้ว 1-3 ปี ซึ่งพบว่าในรายที่ได้รับการผ่าตัดมาไม่นานจะทำให้มีเวลาฟื้นฟูสภาพของข้อเข่าน้อยกว่ากลุ่มที่เคยได้รับการผ่าตัดมานานแล้วทำให้ผลลัพธ์ที่ได้อาจไม่สมบูรณ์ และเนื่องจากข้อจำกัดในการติดตามผู้ป่วยจึงไม่สามารถทราบได้ว่าผู้ป่วยมีการทำกายภาพบำบัดที่ถูกต้องและสม่ำเสมอหรือไม่ ซึ่งการทำกายภาพบำบัดที่ถูกต้องและสม่ำเสมอเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้ผู้ป่วยสามารถกลับมาใช้งานข้อเข่าได้อย่างเป็นปกติ

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าค่าคะแนน IKDC และค่าความหย่อนของข้อเข่าในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทั้งสองรูปแบบ มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งค่าดังกล่าวเป็นการตรวจข้อเข่าของผู้ป่วยทางคลีนิค จึงใช้เป็นรูปแบบอ้างอิงว่าไม่มีความผิดปกติของข้อเข่าของผู้ป่วยในทางคลีนิคแต่อย่างใด ในขณะที่ค่าคะแนนการทดสอบกระโดดขาเดียว ที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มนั้นกลับไม่มีความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิคของผู้ป่วยแต่อย่างใด เนื่องจากการทำการทดสอบกระโดดขาเดียว จะไม่มีความเที่ยงตรงและแม่นยำเท่ากับการวัดความแข็งแรงของกล้ามเนื้อโดยใช้เครื่องมือช่วย แต่การทำการทดสอบกระโดดขาเดียวสามารถทำได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือช่วย และการทดสอบกระโดดขาเดียวจะช่วยบอกถึงความมั่นคงของข้อเข่าของผู้ป่วยในขณะมีการทำกิจกรรมต่างๆได้เป็นอย่างดี

การศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างรูปแบบของการผ่าตัดทั้งสองรูปแบบ ต่อผลของการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าของผู้ป่วยที่เคยได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าทั้งสองกลุ่มที่ผ่านมาแล้ว 1-3 ปี ดังนั้นรูปแบบการผ่าตัดโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เสียหายสามารถนำมาใช้ทดแทนรูปแบบการผ่าตัดโดยใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทนเอ็นไขว้หน้าที่เสียหายได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้การผ่าตัดโดยใช้เอ็นบริเวณต้นขามาทดแทนเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เสียหายจะมีอาการเจ็บของบริเวณที่ผ่าตัดน้อยกว่าการผ่าตัดโดยใช้เอ็นบริเวณกระดูกลูกสะบ้ามาทดแทน

การเกิดการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่ามีสาเหตุหลักอยู่สองประการคือ การเกิดการกระแทกโดยตรงบริเวณข้อเข่าทำให้เกิดความเสียหายต่อเอ็นไขว้หน้าโดยตรง กับการเกิดการบิดของกระดูกต้นขาและกระดูกหน้าแข้งในทิศทางตรงข้ามกันทำให้เอ็นไขว้หน้าเกิดการบิดตัวอย่างรุนแรงและเกิดความเสียหายขึ้น ซึ่งสาเหตุที่พบได้บ่อยในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการเอ็นไขว้หน้าฉีกขาดคือเกิดจากการบิดของกระดูกต้นขาและกระดูกหน้าแข้งในทิศทางตรงข้ามกันโดยไม่มีการปะทะหรือกระแทกบริเวณข้อเข่า แต่ไม่ใช่ว่าผู้ที่มีการบิดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าหรือผู้ได้รับการกระแทกโดยตรงบริเวณข้อเข่าจะมีอาการเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด และมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าในผู้ที่มีการฉีกขาดของอ็นไขว้หน้านั้นจะมีขนาดของเอ็นไขว้หน้าที่เล็กกว่าปกติ และมีปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าในอัตราส่วนที่น้อยกว่าปกติเช่นเดียวกัน จึงเป็นเหตุให้มีสมมุติฐานว่าการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่านั้น ส่วนหนึ่งน่าจะมาจากปัจจัยภายในของผู้ป่วยที่มีการสร้างโปรตีนที่เป็นโครงสร้างของเอ็นไขว้หน้าได้น้อยกว่าปกติ หรือมีการสลายของโปรตีนที่เป็นโครงสร้างของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าในอัตราที่สูงกว่าปกติเป็นต้น ดังนั้นในการศึกษาหาปัจจัยภายในที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ควรจะ

มุ่งประเด็นไปที่การศึกษาถึงยีนที่ควบคุมการสร้างหรือการสลายของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า เช่น ยีนที่ควบคุมการสร้างสายคอลลาเจนหรือยีนที่ควบคุมการสลายสายคอลลาเจน หรือการสร้างของโปรตีนไกลโคซามิโนไกลแคนที่ลดลง โดยจากการศึกษาของ Kate Y. และคณะ[49] พบว่าเอ็นไขว้หน้าของผู้ที่มีอาการบาดเจ็บมีการลดลงของปริมาณโปรตีนที่สำคัญ เช่น aggrecan, versican, decorin and biglycan, glycosaminoglycan อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการลดลงของโปรตีนดังกล่าวจะทำให้ความสามารถในการรับแรงกระแทกของเอ็นไขว้หน้าลดลง ดังนั้นอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีการขาดของเอ็นไขว้หน้าได้ง่ายขึ้น อีกทั้งการเกิดการบาดเจ็บอย่างต่อเนื่องและเป็นระยะเวลานานของผู้ป่วยเองมีการกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของเอนไซม์บางชนิดที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบอย่างเช่น IL-6 ซึ่งจะนำไปสู่การกระตุ้นให้มีการแสดงออกของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอ็นไขว้หน้าได้

จากการศึกษาผลของการหาปัจจัยเสี่ยงในการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดโดยดูจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของผู้ป่วยพบว่า SNP ที่ตำแหน่ง -1612 ของยีน *MMP-3* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ MMP-3 ซึ่งมีหน้าที่ในการสลายสายคอลลาเจนซึ่งสายคอลลาเจนเป็นองค์ประกอบของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ที่มีลักษณะจีโนไทป์ 5A+ (5A/5A, 5A/6A) ร่วมกับการเล่นกีฬาที่มีการปะทะกันของข้อเข่าโดยตรงมีความเสี่ยงต่อการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจทำให้ตั้งสมุติฐานได้ว่าการเกิดการฉีกขาดหรือบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าน่าจะเกิดจากปัจจัยภายนอก คือ ประเภทกีฬาที่เล่น และปัจจัยภายใน เช่นลักษณะของพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ซึ่งมีความแตกต่างจากจีโนไทป์ที่พบในกลุ่มผู้ป่วยที่มีสาเหตุของการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าที่เกิดจากการบิดของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า ลักษณะจีโนไทป์ที่พบในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควมคุมมีลักษณะการกระจายตัวที่ตรงตามกฎของ Hardy-weinberg และมีลักษณะการกระจายคล้ายกับการกระจายตัวของยีน *MMP-3* ที่พบได้ในกลุ่มประชากรเอเชีย ซึ่งแตกต่างจากการกระจายตัวในกลุ่มประชากรชาวยุโรป

ท้ายที่สุดการเกิดการบาดเจ็บของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าเป็นการบาดเจ็บที่มีสาเหตุมาจากหลายปัจจัยและอุบัติการณ์ของการบาดเจ็บยังไม่สามารถที่จะคาดคะเนได้ การศึกษานี้เป็นเพียงการพยากรณ์ถึงความเสี่ยงที่อาจส่งผลต่อการเกิดการบาดเจ็บของผู้ป่วยโดยใช้ปัจจัยภายในของผู้ป่วยเป็นองค์ประกอบ เพื่อที่จะทำความเข้าใจและศึกษาสาเหตุของการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดในอีกรูปแบบหนึ่ง

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาถึงผลลัพธ์ของการฟื้นฟูสภาพข้อเข่าของผู้ป่วยภายหลังการผ่าตัดในแต่ละรูปแบบนั้น ควรมีการควบคุมปัจจัย เช่น การกายภาพบำบัดของผู้ป่วยให้เท่าเทียมกัน ควรมีการกำหนดช่วยระยะเวลาให้ชัดเจนกว่านี้ และควรจะมีการติดตามผลเป็นระยะจะทำให้ได้ผลลัพธ์ที่แม่นยำกว่าการกำหนดช่วงเวลาที่กว้างเกินไป แต่เนื่องจากข้อจำกัดของเวลาที่ใช้ในการศึกษาและการติดตามผู้ป่วยจึงต้องใช้เกณฑ์ดังที่กล่าวมา

2. ควรมีการควบคุมถึงลักษณะทางกายภาพและกิจกรรมทางด้านกีฬาของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม เนื่องจากการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาดนั้นพบว่ามีความเกี่ยวของกับการเล่นกีฬาและดัชนีมวลกาย ดังนั้นควรมีการควบคุมไม่ให้มีความแตกต่างกันมากนัก

3. จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมควรเก็บจำนวนตัวอย่างของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นและควรตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากหลายพื้นที่เพื่อสามารถเพิ่มความหลากหลายและการกระจายตัวของจีโนไทป์มากขึ้นและอาจพบปัจจัยเสี่ยงที่สามารถทำให้เกิดโรคได้

4. การศึกษาที่ควรทำเพิ่มเติม คือ การติดตามการแสดงออกของเอนไซม์ MMP-3 ในซีรั่มของกลุ่มผู้ป่วยเทียบกับกลุ่มควบคุมและเปรียบเทียบการแสดงออกในซีรั่มเทียบกับรูปแบบของสารพันธุกรรมเพื่อพิสูจน์ว่าระดับของการแสดงออกของเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจริงหรือไม่และในกลุ่มของผู้ที่มีการฉีกขาดของเอ็นไขว้หน้ามีระดับของเอนไซม์ในซีรั่มที่สูงกว่าปกติหรือไม่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

[1] Duthon, V.B. et al. *Anatomy of the anterior cruciate ligament.* Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2006; 14:204-213

[2] Yohei, S. Sandra, J.S. *Mechanisms of noncontact anterior cruciate ligament injury*. Journal of Athletic Training. 2008; 43:396-408

[3] James, R.S. John, R.H. Bruce, B. Daniel, M.H. *Anterior cruciate ligament biology and Its relationship to injury forces*. Orthop Clin N AM. 2006; 37:585-591

[4] สมศักดิ์ ปัตยะกร. *ACL Injury*. The Yearbook of Orthopaedic Review 2000:140-153

[5] Jasmine, A.B. David, A.H. Robert, C.B. *Injury-Induced changes in mRNA levels differ widely between anterior cruciate ligament and medial collateral ligament*. Am J Sports Med 2008; 36:1337

[6] Higuchi, H. et al. *Changes in biochemical parameters after anterior cruciate ligament injury*. International Orthopaedics. 2006; 30:43-47

[7] Takahashi, M. Haro, H. Wakabayashi, Y. Kawa-uchi, T. Komori, H. Shinomiya, K. *The association of degeneration of the intervertebral disc with 5a/6a polymorphism in the promoter of the human matrix metalloproteinase-3 gene*. J Bone Joint Surg Br. 2001; 83:491-495

[8] Collins M, Posthumus M, Schwellnus MP. *The COL1A1 gene and acute soft tissue ruptures*. Br J Sports Med. 2010; 44:1063-1064

[9] Posthumus, M. et al. *The association between the COL12A1 gene and anterior cruciate ligament ruptures*. Br J Sports Med. 2010; 44:1160-1165

[10] Posthumus, M. et al. *Genetic risk factors for anterior cruciate ligament ruptures: COL1A1 gene variant.* Br J Sports Med. 2009; 43:352-356

[11] Yuan, H.Y. et al. *Matrix metalloproteinase-3 and vitamin d receptor genetic polymorphisms, and their interactions with occupational exposure in lumbar disc degeneration*. J Occup Health. 2010; 52:23-30

[12]Slauterbeck, J.R. Hardy, D.M. *Sex hormones and knee ligament injuries in female athletes*. Am J Med Sci. 2001; 322:196-199

[13] Slauterbeck, J.R. et al. *The Menstrual Cycle, Sex Hormones, and Anterior Cruciate Ligament Injury*. J Athl Train. 2002; 37:275-278

[14] Murphy, G. Nagase, H. *Progress in matrix metalloproteinase research*. Mol Aspects Med. 2008; 29:290-308

[15] Posthumus, M. et al. *The COL5A1 gene is associated with increased risk of anterior cruciate ligament ruptures in female participants*. Am J Sports Med. 2009; 37:2234-2240

[16] Khoschnau, S. et al. *Type I collagen alpha1 Sp1 polymorphism and the risk of cruciate ligament ruptures or shoulder dislocations*. Am J Sports Med. 2008; 36:2432-2436

[17] Djuri, T. et al. *Association of MMP-3 5A/6A gene polymorphism with susceptibility to carotid atherosclerosis*. Clin Biochem. 2008; 41:1326-1329

[18] Samnegård, A. Silveira, A. Tornval,I P. Hamsten, A. Ericsson, C.G. Eriksson, P. *Lower serum concentration of matrix metalloproteinase-3 in the acute stage of myocardial infarction.* J Intern Med. 2006; 259:530-536

[19] Romero-Sanchez, C. et al. *Serum Monocyte Chemotactic Protein-1 Concentrations Distinguish Patients With Ankylosing Spondylitis From Patients With Mechanical Low Back Pain*. J Spinal Disord Tech. 2010 (Epub ahead of print)

[20] Astolfi, C.M. Shinohara, A.L. da Silva, R.A. Santos, M.C. Line, S.R. de Souza, A.P. *Genetic polymorphisms in the MMP-1 and MMP-3 gene may contribute to chronic periodontitis in a Brazilian population*. J Clin Periodontol. 2006; 33:699-703

[21] Raleigh, S.M. et al. *Variants within the MMP3 gene are associated with Achilles tendinopathy: possible interaction with the COL5A1 gene*. Br J Sports Med. 2009; 43:514-520.

[22] Nielsen, S. Ovesen, J. Rasmussen, O. *The anterior cruciate ligament of the knee: an experimental study of its importance in rotatory knee instability.* Arch Orthop Trauma Surg. 1984; 103:170-174

[23] Slauterbeck, J.R. Hickox, J.R. Beynnon, B. Hardy, D.M. *Anterior cruciate ligament biology and its relationship to injury forces.* Orthop Clin North Am. 2006; 37:585-591

[24] Stevens, K.J. Dragoo, J.L. *Anterior cruciate ligament tears and associated injuries.* Top Magn Reson Imaging. 2006; 17:347-362

[25] Lohmander, L.S. et al. *Use of the plasma stromelysin (matrix metalloproteinase 3) concentration to predict joint space narrowing in knee osteoarthritis*. Arthritis Rheum. 2005; 52:3160-3167

[26] กนกวรรณ จารุกำจร, วรัญญา จตุพรประเสริฐ. สนิป:ความรู้พื้นฐานสู่การประยุกต์ใช้. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*. 2007; 2:166-174

[27] Collins, M. Raleigh, S.M. *Genetic risk factors for musculoskeletal soft tissue injuries*. Med Sport Sci. 2009; 54:136-149

[28] Nagase, H. Visse, R. Murphy, G. *Structure and function of matrix metallo proteinases and TIMPs.* Cardiovasc Res. 2006; 69: 562-573

[29] Chaudhary, A.K. Singhet al. *Synergistic effect of stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) promoter (-1171 5A->6A) polymorphism in oral submucous fibrosis and head and neck lesions*. BMC Cancer. 2010; 10: 369

[30] Ye, S. *Polymorphism in matrix metalloproteinase gene promoters: implication in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases.* Matrix Biology. 2000; 19: 623-629

[31] Lipka, D. Boratyski, J. *Metalloproteinases. Structure and function*. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2008; 62: 328-336

[32] Nojiri, T. et al. *Genetic variations of matrix metalloproteinase-1 and -3 promoter regions and their associations with susceptibility to myocardial infarction in Japanese.* Int J Cardiol. 2003; 92:181-186

[33] Liu, P.Y. Chen, J.H. Li, Y.H. Wu, H.L. Shi, G.Y. *Synergistic effect of stromelysin-1 (matrix metallo-proteinase-3) promoter 5A/6A polymorphism with smoking on the onset of young acute myocardial infarction*. Thromb Haemost. 2003; 90:132-139

[34] Yuan, H.Y. et al. *Synergistic interaction between MMP-3, VDR gene polymorphisms and occupational risk factors on lumbar disc degeneration*. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi. 2010; 28: 334-338

[35] Zhou, P. et al. *Current evidence on the relationship between four polymorphisms in the matrix metalloproteinases (MMP) gene and breast cancer risk: a meta-analysis*. Breast Cancer Res Treat. 2010 (Epub ahead of print)

[36] Velho, F.M. et al. *Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis*. J Card Fail. 2011; 17: 115-121

[37] Mamehara, A. et al. *Serum matrix metalloproteinase-3 as predictor of joint destruction in rheumatoid arthritis, treated with non-biological disease modifying anti-rheumatic drugs*. Kobe J Med Sci. 2010; 56: 98-107

[38] Wang, D. Jones, M.H. Khair, M.M. Miniaci, A. *Patient-reported outcome measures for the knee*. J Knee Surg. 2010; 23: 137-151

[39] Reid, A. Birmingham, T.B. Stratford, P.W. Alcock, G.K. Giffin, J.R. *Hop testing provides a reliable and valid outcome measure during rehabilitation after anterior cruciate ligament reconstruction*. Phys Ther. 2007; 87: 337-349

[40] Dunleavey, L. Beyzade, S. Ye, S. *Rapid genotype analysis of the stromelysin gene 5A/6A polymorphism*. Atherosclerosis. 2000; 151: 587-589

[41] Heijne, A. Werner, S. *A 2-year follow-up of rehabilitation after ACL reconstruction using patellar tendon or hamstring tendon grafts: a prospective randomised outcome study*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2010; 18: 805-813

[42] Matsumoto, A. Howell, S.M. Liu-Barba, D. *Time-related changes in the cross-sectional area of the tibial tunnel after compaction of an autograft bone dowel alongside a hamstring graft*. Arthroscopy. 2006; 22: 855-860

[43] Volpi, P. et al. *ACL reconstruction in sports active people: transtibial DB technique with ST/G vs. transtibial SB technique with BPTB: preliminary results*. Injury. 2010; 41: 1168-1171

[44] Laxdal, G. Sernert, N. Ejerhed, L. Karlsson, J. Kartus, J.T. *A prospective comparison of bone-patellar tendon-bone and hamstring tendon grafts for anterior cruciate ligament reconstruction in male patients*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2007; 15: 115-125

[45] Gobbi, A. *Single versus double hamstring tendon harvest for ACL reconstruction*. Sports Med Arthrosc. 2010; 18: 15-19

[46] Taylor, D.C. et al. *Patellar tendon versus hamstring tendon autografts for anterior cruciate ligament reconstruction: a randomized controlled trial using similar femoral and tibial fixation methods*. Am J Sports Med. 2009; 37: 1946-1957

[47] Barenius, B. Nordlander, M. Ponzer, S. Tidermark, J. Eriksson, K. *Quality of life and clinical outcome after anterior cruciate ligament reconstruction using patellar tendon graft or quadrupled semitendinosus graft: an 8-year follow-up of a randomized controlled trial*. Am J Sports Med. 2010; 38: 1533-1541

[48] Sadoghi, P. Müller, P.E. Jansson, V. van Griensven, M. Kröpfl, A. Fischmeister, M.F. *Reconstruction of the anterior cruciate ligament: a clinical comparison of bone-patellar tendon-bone single bundle versus semitendinosus and gracilis double bundle technique*. Int Orthop. 2011; 35: 127-133

[49] Kate, Y. Tom, S. Julian, F. Jill, C. *Extracellular matrix content of ruptured anterior cruciate ligament tissue.* The Knee. 2010 (Epub ahead of print)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
หนังสือแสดงความยินยอมการเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 กับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....ได้อ่านรายละเอียดพร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด จนมีความเข้าใจอย่างเดียว

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้นบุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยหรือผู้ได้รับอำนาจมอบหมาย ให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์ตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่าข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถเลิกการให้สิทธิ์ในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อจะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลลงในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิทยาศาสตร์ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้ายินดีลงนามในใบยินยอมนี้เพื่อเข้าร่วมการวิจัยด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ยินยอม

(.....)ชื่อผู้ยินยอม ตัวบรรจง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....)ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....)ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย ความสัมพันธ์ระหว่างยีนเมทริกซ์เมตาโลโปรตีนเนส-3 กับการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ นพ.สิทธิศักดิ์ หรรษาเวก

ที่อยู่ ภาควิชา ชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-256-4482, 085-042-5466

(ที่ทำงานและมือถือ)

แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ นพ.พงศ์ศักดิ์ ยุกตะนันทน์

ที่อยู่ ภาควิชาออร์โธปิดิคส์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-256-4510

(ที่ทำงาน)

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่แสดงข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจของท่านในการเข้าร่วมการศึกษาวิจัย อย่างไรก็ตามก่อนที่ท่านตกลงเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างละเอียดเพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านเซ็นต์ชื่อยินยอมในเอกสารฉบับนี้

I. วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อศึกษาเพื่อศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรรมในผู้ป่วยที่เอ็นไข้วหน้าข้อเข่าขาดเพื่อการประเมินความเสี่ยงในการเกิดโรคของผู้ที่มีภาวะเสี่ยง ในการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด โดยประมาณจำนวนผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยรวม 100 คน

ถ้าท่านสนใจที่จะเข้าร่วมในโครงการ ท่านจะได้รับการตรวจร่างกายทางคลินิค และเจาะเลือดเพื่อตรวจนับเม็ดเลือด ในการศึกษานี้จะมีการเจาะเลือดในปริมาณ 5 ซี.ซี. โดยใช้เข็มปลอด

เชื้อเพื่อนำมาตรวจอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นหลังจากการเจาะเลือด พบได้น้อยมาก เช่น อาจมีรอยช้ำบริเวณเจาะเลือดเพียงเล็กน้อย ซึ่งหายได้เองภายใน 7 วัน

II. ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องได้รับความร่วมมือจากท่าน โดยท่านจะต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์ผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

III. ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากแพทย์ผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

IV. การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน หากอาการต่าง ๆ ดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาทางการแพทย์ที่เหมาะสม โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

V. ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษาทำให้สามารถนำข้อมูลมาอธิบายถึงความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมในร่างกายกับความเสี่ยงในการเกิดเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าขาด ซึ่งอาจจะนำไปสู่การป้องกันหรือการประเมินความเสี่ยงได้ แต่ไม่ได้รับรองว่าสุขภาพของท่านจะต้องดีขึ้นหรือความรุนแรงของโรคจะลดลงอย่างแน่นอน

VI. วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับการรักษาโรคของท่าน ดังนั้นจึงควรปรึกษากับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนการตัดสินใจ

VII. ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมโครงการวิจัย

สิ่งที่ท่านควรปฏิบัติ คือ

- ท่านต้องให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีตและปัจจุบันแก่แพทย์ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ท่านต้องแจ้งให้แพทย์ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย

VIII. <u>อันตรายที่อาจเกิดขึ้นในโครงการวิจัย</u>

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย และพิสูจน์ได้ว่าท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้สนับสนุนโครงการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน การเซ็นต์ชื่อในเอกสารฉบับนี้ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใดๆหรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อผู้ทำวิจัยคือ นพ.สิทธิศักดิ์ หรรษาเวก โทรศัพท์ 02-256-4482 หรือ นพ. พงศ์ศักดิ์ ยุกตะนันทน์ โทรศัพท์ 02-256-4510 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

IX. <u>การเข้าร่วมโครงการและการสิ้นสุดโครงการวิจัย</u>

การเข้าร่วมโครงการนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

แพทย์ผู้ทำการวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีที่ท่านไม่ให้ความร่วมมือและไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำของแพทย์ผู้ทำการวิจัย

X. <u>การปกป้องรักษาข้อมูลของอาสาสมัคร</u>

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิดและไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้วิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยมีสิทธิ์สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้ตลอดเวลา แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถเขียนบันทึกยกเลิกการให้คำยินยอมได้

(หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับเข้ามาร่วมโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลที่จำเป็นสำหรับเพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

หากท่านต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำการวิจัยคือ นพ.สิทธิศักดิ์ หรรษาเวก โทรศัพท์ 02-256-4482 หรือ นพ.พงศ์ศักดิ์ ยุกตะนันทน์ โทรศัพท์ 02-256-4510

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

แบบประเมินความสามารถของข้อเข่า IKDC Subject Form

(2000 IKDC SUBJECTIVE KNEE EVALUATION FORM)

ชื่อ-สกุล*_____*อายุ*_____*เพศ*_____*น้ำหนัก*_____*กก. ส่วนสูง*_____*ซม.

อาชีพ_____

วัน/เดือน/ปี: _____/_____/_____ **วัน/เดือน/ปี ที่ได้รับบาดเจ็บ**: _____/_____/_____

สาเหตุของการบาดเจ็บของข้อเข่า_____

ทำเครื่องหมาย ✓ ลงใน ❑

คุณเป็นนักกีฬาหรือเล่นกีฬาเป็นประจำหรือไม่ ❑ใช่ ❑ไม่ใช่

<u>อาการของข้อเข่า</u>*:

*การประเมิณระดับกิจกรรม ควรให้ในระดับที่สูงที่สุดที่คิดว่าคุณสามารถทำได้โดยไม่เกิดความผิดปกติ เช่น ปวด บวม หรือติดขัดของข้อเข่า ถึงแม้ว่าคุณจะไม่ได้ทำกิจกรรมนั้นเป็นประจำก็ตาม

1. ระดับกิจกรรมที่สูงที่สุดที่คุณสามารถทำได้โดยไม่มีอาการเจ็บของข้อเข่าภายหลังการผ่าตัด
   - 4❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังมากและต้องมีการกระโดดหรือบิดของข้อเข่า เช่น บาสเก็ตบอล ฟุตบอล
   - 3❑ กิจกรรมที่ต้องใช้กำลังมากแต่ไม่มีการบิดของข้อเข่า เช่น เทนนิส
   - 2❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังปานกลาง เช่น วิ่งหรือวิ่งเหยาะๆ
   - 1❑ กิจกรรมที่ไม่ต้องใช้กำลังมาก เช่น เดิน ทำงานบ้านหรือจัดสวน
   - 0❑ ไม่สามารถทำกิจกรรมใดๆ ข้างต้นได้ เนื่องจากมีการเจ็บของข้อเข่าตลอดเวลา
2. ในช่วง 4สัปดาห์ที่ผ่านมา คุณรู้สึกเจ็บบริเวณข้อเข่าบ่อยเพียงใด

	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	
ไม่เคย	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	**ตลอดเวลา**

3. ถ้าเจ็บ คุณรู้สึกว่ามีความรุนแรงเพียงใด

	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	
ไม่มีความเจ็บปวด	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	**เจ็บมาก**

4. ในช่วง 4สัปดาห์ที่ผ่านมา ข้อเข่าของคุณมีอาการแข็งหรือบวม เพียงใด
   - 4❑ไม่มีอาการแข็งหรือบวม
   - 3❑มีอาการแข็งหรือบวมเล็กน้อย
   - 2❑มีอาการแข็งหรือบวมปานกลาง
   - 1❑มีอาการแข็งหรือบวมมาก
   - 0❑มีอาการแข็งหรือบวมมากที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ระดับกิจกรรมที่สูงที่สุดที่คุณสามารถทำได้โดยไม่มีอาการบวมของข้อเข่า

4❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังมากและต้องมีการกระโดดหรือบิดของข้อเข่า เช่น บาสเก็ตบอล ฟุตบอล

3❑ กิจกรรมที่ต้องใช้กำลังมากแต่ไม่มีการบิดของข้อเข่า เช่น เทนนิส

2❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังปานกลาง เช่น วิ่งหรือวิ่งเหยาะๆ

1❑ กิจกรรมที่ไม่ต้องใช้กำลังมาก เช่น เดิน ทำงานบ้านหรือจัดสวน

0❑ ไม่สามารถทำกิจกรรมใดๆ ข้างต้นได้ เนื่องจากมีการบวมของข้อเข่าตลอดเวลา

6. ในช่วง 4สัปดาห์ที่ผ่านมา คุณรู้สึกว่าเข่าของคุณติดหรือขัด หรือไม่

0❑ใช่ 1❑ไม่ใช่

7. ระดับกิจกรรมที่สูงที่สุดที่คุณสามารถทำได้โดยไม่มีอาการใดๆเลยของข้อเข่า

4❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังมากและต้องมีการกระโดดหรือบิดของข้อเข่า เช่น บาสเก็ตบอล ฟุตบอล

3❑ กิจกรรมที่ต้องใช้กำลังมากแต่ไม่มีการบิดของข้อเข่า เช่น เทนนิส

2❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังปานกลาง เช่น วิ่งหรือวิ่งเหยาะๆ

1❑ กิจกรรมที่ไม่ต้องใช้กำลังมาก เช่น เดิน ทำงานบ้านหรือจัดสวน

0❑ ไม่สามารถทำกิจกรรมใดๆ ข้างต้นได้ เนื่องจากมีการบวมของข้อเข่าตลอดเวลา

<u>กิจกรรม</u>:

8. ระดับกิจกรรมที่สูงที่สุดที่คุณสามารถทำได้อย่างเป็นปกติที่สุด

4❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังมากและต้องมีการกระโดดหรือบิดของข้อเข่า เช่น บาสเก็ตบอล ฟุตบอล

3❑ กิจกรรมที่ต้องใช้กำลังมากแต่ไม่มีการบิดของข้อเข่า เช่น เทนนิส

2❑ กิจกรรมที่ใช้กำลังปานกลาง เช่น วิ่งหรือวิ่งเหยาะๆ

1❑ กิจกรรมที่ไม่ต้องใช้กำลังมาก เช่น เดิน ทำงานบ้านหรือจัดสวน

0❑ ไม่สามารถทำกิจกรรมใดๆ ข้างต้นได้ เนื่องจากมีการบวมของข้อเข่าตลอดเวลา

9. กิจกรรมใดบ้างที่มีผลกระทบต่อหัวเข่าของคุณ ภายหลังการผ่าตัด:

		ไม่มีปัญหาใดๆ	มีปัญหาเล็กน้อย	มีปัญหาปานกลาง	มีปัญหามาก	ไม่สามารถทำได้
a.	ขึ้นบันได	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
b.	ลงบันได	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
c.	นั่งคุกเข่า	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
d.	นั่งยอง	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
e.	นั่งขัดสมาธิ	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
f.	ลุกขึ้นจากเก้าอี้	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
g.	วิ่งเป็นแนวตรง	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
h.	กระโดดและลงพื้นโดยใช้ขาข้างที่รับการผ่าตัด	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑
i.	หยุดแล้วเริ่มทำกิจกรรมใหม่อย่างรวดเร็ว	4❑	3❑	2❑	1❑	0❑

<u>การทำงานของข้อเข่า:</u>

10. ประเมิณการทำงานของข้อเข่าในอัตราส่วน 0 ถึง 10 โดยที่ 10 แสดงถึงการทำงานที่ปกติของข้อเข่า และ 0 แสดงถึงการที่ไม่สามารถกระทำ กิจกรรมในชีวิตประจำวันได้อย่างปกติ หรืออาจรวมถึงการเล่นกีฬาด้วย

การทำงานของข้อเข่าก่อนหน้าที่จะมีการบาดเจ็บของข้อเข่า:

ไม่สามารถทำกิจกรรม	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	**ไม่มีข้อจำกัดใน**
ในชีวิตประจำวันได้	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	**การทำกิจกรรม**

การทำงานของข้อเข่าในปัจจุบัน:

ไม่สามารถทำกิจกรรม	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	**ไม่มีข้อจำกัดใน**
ในชีวิตประจำวันได้	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	❑	**การทำกิจกรรม**

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

IKDC Objective form

2000
IKDC KNEE EXAMINATION FORM

Patient Name:_____ **Date of Birth:**____/____/____ (Day Month Year)

Gender: F M **Age:**_____ **Date of Examination:**____/____/____ (Day Month Year)

Generalized Laxity:	tight	normal	lax	
Alignment:	obvious varus	normal	obvious valgus	
Patella Position:	obvious baja	normal	obvious alta	
PatellaSubluxation/Dislocation:	centered	subluxable	subluxed	dislocated
Range of Motion (Ext/Flex):	Index Side:	passive____/____/____		active____/____/____
	Opposite Side:	passive____/____/____		active____/____/____

SEVEN GROUPS	FOUR GRADES A Normal	B Nearly Normal	C Abnormal	D Severely Abnormal	*Group Grade A B C D
1. Effusion	None	Mild	Moderate	Severe	
2. Passive Motion Deficit					
ΔLack of extension	<3°	3 to 5°	6 to 10°	>10°	
ΔLack of flexion	0 to 5°	6 to 15°	16 to 25°	>25°	
3. Ligament Examination (manual, instrumented, x-ray)					
ΔLachman (25° flex) (134N)	-1 to 2mm	3 to 5mm(1*) <-1 to -3	6 to 10mm(2*) <-3 stiff	>10mm(3*)	
ΔLachman (25° flex) manual max	-1 to 2mm	3 to 5mm	6 to 10mm	>10mm	
Anterior endpoint:	firm		soft		
ΔTotal AP Translation (25° flex)	0 to 2mm	3 to 5mm	6 to 10mm	>10mm	
ΔTotal AP Translation (70° flex)	0 to 2mm	3 to 5mm	6 to 10mm	>10mm	
ΔPosterior Drawer Test (70° flex)	0 to 2mm	3 to 5mm	6 to 10mm	>10mm	
ΔMed Joint Opening (20° flex/valgus rot)	0 to 2mm	3 to 5mm	6 to 10mm	>10mm	
ΔLatJoint Opening (20° flex/varus rot)	0 to 2mm	3 to 5mm	6 to 10mm	>10mm	
ΔExternal Rotation Test (30° flex prone)	<5°	6 to 10°	11 to 19°	>20°	
ΔExternal Rotation Test (90° flex prone)	<5°	6 to 10°	11 to 19°	>20°	
ΔPivot Shift	equal	+glide	++(clunk)	+++(gross)	
ΔReverse Pivot Shift	equal	glide	gross	marked	
4. Compartment Findings			crepitation with		
ΔCrepitus Ant. Compartment	none	moderate	mild pain	>mild pain	
ΔCrepitus Med. Compartment	none	moderate	mild pain	>mild pain	
ΔCrepitus Lat. Compartment	none	moderate	mild pain	>mild pain	
5. Harvest Site Pathology	none	mild	moderate	severe	
6. X-ray Findings					
Med. Joint Space	none	mild	moderate	severe	
Lat. Joint Space	none	mild	moderate	severe	
Patellofemoral	none	mild	moderate	severe	
Ant. Joint Space (sagittal)	none	mild	moderate	severe	
Post. Joint Space (sagittal)	none	mild	moderate	severe	
7. Functional Test					
One Leg Hop (% of opposite side)	≥90%	89 to 76%	75 to 50%	<50%	
****Final Evaluation**					

ภาคผนวก ค

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าฉีกขาด (บางส่วน)

No.	เพศ	อายุ	น้ำหนัก	ส่วนสูง	ดัชนีมวลกาย	การกลับมาเล่นกีฬา	Subjective Score	Objective Grade	ค่าผลต่างของความหย่อนของข้อเข่า	ค่าร้อยละของการกระโดดขาเดียว	ยีนไทป์
1.	ชาย	24	75	183	22.4	ได้	58.62	B	2	88.46	6A/6A
2.	ชาย	18	71	177	22.66	ได้	91.95	B	1	86.21	6A/6A
3.	ชาย	27	103	180	31.79	ไม่ได้	77.01	B	1	86.21	6A/6A
4.	ชาย	33	62	169	21.71	ได้	43.68	B	1	-	5A/6A
5.	หญิง	48	71	167	25.46	ไม่ได้	68.97	A	0	-	6A/6A
6.	ชาย	31	65	172	21.97	ไม่ได้	77.01	B	1	-	6A/6A
7.	ชาย	25	70	173	23.39	ไม่ได้	81.61	C	3	90.32	6A/6A
8.	ชาย	25	58	162	22.10	ได้	91.95	C	3	84.21	6A/6A
9.	ชาย	29	88	178	27.77	ได้	80.46	B	3	92.31	6A/6A
10.	ชาย	19	60	170	20.76	ไม่ได้	58.62	B	1	86.84	6A/6A
11.	ชาย	31	72	176	23.24	ไม่ได้	55.17	C	5	-	6A/6A
12.	ชาย	29	70	173	23.39	ได้	70.11	B	3	100	6A/6A

A=ปกติ B=ค่อนข้างปกติ C=ผิดปกติ D=ผิดปกติอย่างมาก

ข้อมูลพื้นฐานบางส่วนของผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาด (บางส่วน) (ต่อ)

No.	เพศ	อายุ	น้ำหนัก	ส่วนสูง	ดัชนีมวลกาย	การกลับมาเล่นกีฬา	Subjective Score	Objective Grade	ค่าผลต่างของความหย่อนของข้อเข่า	ค่าร้อยละของการกระโดดขาเดียว	จีโนไทป์
13.	ชาย	27	70	168	24.80	ได้	86.21	B	3	82.14	6A/6A
14.	ชาย	24	70	175	22.86	ได้	75.86	B	2	75.86	6A/6A
15.	ชาย	26	65	169	22.76	ได้	57.47	B	2	98.15	6A/6A
16.	ชาย	40	63	165	23.14	ได้	62.07	B	2	92.00	6A/6A
17.	หญิง	21	51	155	21.23	ได้	70.11	C	4	80.00	5A/6A
18.	หญิง	19	54	162	20.58	ได้	71.26	B	1	100	6A/6A
19.	ชาย	47	74	168	26.22	ไม่ได้	57.47	B	2	85.00	6A/6A
20.	ชาย	32	65	175	21.22	ได้	64.37	B	2	96.30	6A/6A
21.	ชาย	36	84	184	24.81	ได้	77.01	B	3	-	6A/6A
22.	ชาย	42	74	171	25.31	ได้	68.97	B	1	91.67	5A/6A
23.	ชาย	34	58	167	20.80	ได้	97.70	B	1	88.00	5A/6A
24.	ชาย	35	74	170	25.61	ได้	74.71	B	1	80.00	6A/6A

A=ปกติ B=ค่อนข้างปกติ C=ผิดปกติ D=ผิดปกติอย่างมาก

ข้อมูลพื้นฐานบางส่วนของผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาด (บางส่วน) (ต่อ)

No.	เพศ	อายุ	น้ำหนัก	ส่วนสูง	ดัชนีมวลกาย	การกลับมาเล่นกีฬา	Subjective Score	Objective Grade	ค่าผลต่างของความหย่อนของข้อเข่า	ค่าร้อยละของการกระโดดขาเดียว	ซีโนไทป์
25.	ชาย	28	75	182	22.64	ไม่ได้	39.08	B	0	100	5A/6A
26.	ชาย	28	71	181	21.67	ได้	81.61	B	2	100	6A/6A
27.	ชาย	45	78	172	26.36	ได้	56.32	C	2	92.85	6A/6A
28.	ชาย	37	75	171	25.65	ได้	89.66	B	1	70.90	6A/6A
29.	ชาย	40	61	169	21.3	ได้	88.51	C	2	78.00	6A/6A
30.	ชาย	27	93	181	28.39	ได้	80.46	B	0	66.67	6A/6A
31.	ชาย	26	70	172	23.66	ไม่ได้	60.92	C	1	85.50	5A/6A
32.	ชาย	38	72	180	22.22	ได้	87.36	B	1	100	6A/6A
33.	ชาย	42	60	161	23.15	ได้	998.85	B	1	100	6A/6A
34.	ชาย	24	83	180	25.62	ได้	97.70	B	2	100	5A/6A
35.	ชาย	39	69	171	23.60	ได้	87.36	C	1	-	6A/6A
36.	ชาย	23	60	170	20.76	ได้	71.26	A	0	92.00	5A/6A

A=ปกติ B=ค่อนข้างปกติ C=ผิดปกติ D=ผิดปกติอย่างมาก

ข้อมูลพื้นฐานบางส่วนของผู้ป่วยเอ็นไขว้หน้าฉีกขาด (บางส่วน) (ต่อ)

No.	เพศ	อายุ	น้ำหนัก	ส่วนสูง	ดัชนีมวลกาย	การกลับมาเล่นกีฬา	Subjective Score	Objective Grade	ค่าเฉลี่ยของความหย่อนของข้อเข่า	ค่าร้อยละของการกระโดดขาเดียว	จีโนไทป์
37.	ชาย	46	71	175	26.45	ได้	57.47	C	0	90.32	6A/6A
38.	ชาย	59	65	164	24.17	ได้	66.67	B	3	50.00	6A/6A
39.	ชาย	28	103	176	34.02	ได้	71.26	B	1	100	6A/6A
40.	ชาย	28	69	169	24.16	ได้	87.36	C	1	77.27	6A/6A
41.	ชาย	29	67	178	21.15	ได้	77.01	C	2	95.00	6A/6A
42.	ชาย	31	68	173	22.75	ไม่ได้	65.52	B	2	82.76	6A/6A
43.	ชาย	41	70	1668	24.80	ได้	62.07	B	4	96.15	6A/6A
44.	ชาย	24	76	185	22.21	ไม่ได้	63.22	C	1	73.68	5A/6A
45.	ชาย	21	74	170	25.61	ได้	74.71	B	2	70.00	6A/6A
46.	ชาย	20	70	180	21.61	ได้	77.01	B	3	100	6A/6A
47.	ชาย	32	72	178	22.72	ได้	77.01	B	0	100	6A/6A
48.	ชาย	30	75	175	24.82	ได้	74.71	B	3	97.90	6A/6A
49.	ชาย	38	81	168	28.70	ไม่ได้	68.97	B	2	80.00	5A/6A

A=ปกติ B=ค่อนข้างปกติ C=ผิดปกติ D=ผิดปกติอย่างมาก

ภาคผนวก ง
การเตรียมสารเคมีในการตรวจความหลากหลายทางพันธุกรรม

1. การเตรียม red blood cell lysis buffer
   1.1 ชั่ง $KHCO_3$ 0.5 g, NH_4Cl 4.15 g และ EDTA 0.019 g ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 100 ml
   1.2 เติมน้ำกลั่นจนครบ 500 ml
   1.3 นำไปกรองผ่าน filter ขนาด 0.2 µm

2. การเตรียม 1X Phosphate buffer saline (PBS)
   2.1 ชั่ง NaCl 8.0 g, Na_2HPO_4 1.16 g, KH_2PO_4 0.2 g และ KCl 0.2 g
   2.2 ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 800 ml
   2.3 ปรับ pH ให้ได้ 7.2 แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ 1000 ml
   2.4 นำไปเข้าเครื่อง autoclave

3. การเตรียม Proteinase K
   3.1 เติม DNase-free water 3 ml
   3.2 นำไปผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง vortex

4. การเตรียม 10X Tris-acetic EDTA buffer (TAE buffer)
   4.1 ชั่ง Tris base 48.4 g ละลายด้วยน้ำกลั่น ประมาณ 50 ml
   4.2 เติม glacial acetic 17.0 ml คนให้เข้ากัน
   4.3 เติม 0.5 M EDTA, pH 8.0 7.44 ml คนให้เข้ากัน
   4.4 เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ml ปรับ pH 7.8

5. เตรียม 1 M Tris-hydrocholic acid, pH 8.0
   5.1 ชั่ง Tris (MW: 121.14 g/mol) 181.7 g ละลายใน deionized water 70 ml
   5.2 ปรับ pH ให้ได้ 8.0 โดยเติม concentrated HCl ประมาณ 5.0 ml
   5.3 เติม deionized water จนได้ 100 ml

6. การเตรียม 2.0% agarose gel
   6.1 ชั่งผง agarose 2.0 g เทลงใน flask ขนาด 250 ml
   6.2 เติม TAE buffer จนได้ปริมาตร 100-110 ml แล้วอุ่นด้วย microwave จนละลายเข้ากันดี
   6.3 เทลงแบบพิมพ์ (tray)

7. การเตรียม 10X Tris-boric EDTA buffer (TBE buffer)
   7.1 ชั่ง Tris base 121.1 g ละลายด้วยน้ำกลั่น ประมาณ 50 ml
   7.2 เติม Boric acid anhydrous 55.6 ml คนให้เข้ากัน
   7.3 เติม 0.5 M Na_2EDTA คนให้เข้ากัน
   7.4 เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ml ปรับ pH 8.3

8. การเตรียม 30% polyacrylamide 100 ml
   8.1 ชั่ง Bis acrylamide 0.8 g ละลายใน D.W. ให้ได้ 25 ml
   8.2 เติม 40% acrylamide 75 ml
   8.3 ผสมให้เข้ากัน

9. การเตรียม 10% Ammonium persulfate
   9.1 ชั่ง Ammonium persulfate 0.1 g
   9.2 เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ml

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ
รายงานการตีพิมพ์เนื้อหาบางส่วนของวิทยานิพนธ์

การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 20 ณ มหาวิทยาลัยมหิดลวันที่ นำเสนอ 2-3 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2554

และ

บทคัดย่อที่ได้ตอบรับให้สามารถนำเสนอผลงาน

ผลงานตีพิมพ์ในวรสารทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ในระดับนานาชาติ Genetics and Molecular Research 2011 (in press)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

P-MS014

Association of MMP-3 gene polymorphism with the risk of anterior cruciate ligament rupture

Somkait Malila

Advisors: Sittisak Honsawek/ Pongsak Yuktanandana

Faculty of Medicine/ Chulalongkorn University

Abstract

Anterior cruciate ligament (ACL) ruptures are considered the most severe injury in sports. However, the precise aetiologies of ACL injuries are not fully understood. Recently, the gene encoding for the matrix metalloproteinase-3 (MMP-3, stromelysin-1) has been shown to be associated with anterior cruciate ligament ruptures. The 5A/6A polymorphism in the promoter of MMP-3 gene affects the regulation of MMP-3 gene expression. The aim of this study was to determine the association between polymorphism within -1612 of MMP-3 gene and ACL rupture in an independent population. A total of 86 participants between 20 to 40 years of age with surgically diagnosed ACL ruptures and 100 healthy controls between 18 to 28 years of age without history of ligament or tendon injuries were recruited in the study. All participants were genotyped for the MMP-3 polymorphism (-1612 5A/6A). Statistical analyses of genotype frequencies between patients and healthy controls were performed by chi-square test. The significant difference was found between ACL ruptures subgroups in term of genotype association (5A+ (5A/5A, 5A/6A): 37.5% in contact sport vs. 20.0% in non-contact sports; P = 0.02). In allelic association, there was statistically significant (6A: 81.2% in contact sports vs. 89.1% in non-contact sports, 5A: 18.8% in contact sports vs. 10.9% in non-contact sports, P = 0.01). The 5A+ genotype of MMP-3 was represented in ACL ruptures with contact sport participants. We propose that this sequence variant is the specific genetic element to be included in multifactorial model to understand the aetiologies and risk factors for ACL ruptures.

Keywords: anterior cruciate ligament ruptures; matrix metalloproteinase-3; single nucleotide polymorphism

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ – นามสกุล	นายสมเกียรติ มลิลา
วัน เดือน ปีเกิด	12 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2528
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
การนำเสนอผลงาน	จัดทำบทความวิจัยและโปสเตอร์จากบางส่วนของวิทยานิพนธ์เพื่อตีพิมพ์และนำเสนอผลงานวิจัยในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 20 ณ มหาวิทยาลัยมหิดล ผลงานตีพิมพ์ในวรสารทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ในระดับนานาชาติ Genetics and Molecular Research 2011 (in press)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย