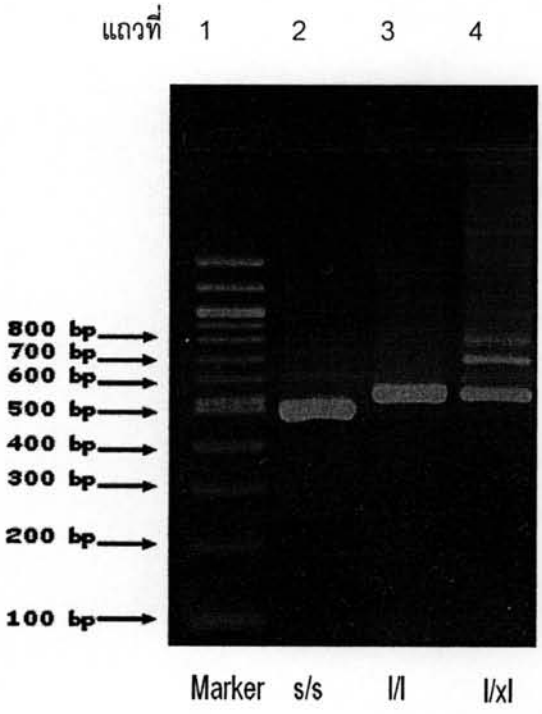
บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ promoter ของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ promoter ที่เรียกว่า "5HTTLPR" ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 แบบโดยในแต่ละชุดนั้นมีประมาณ 20-23 bp คือ ชุดดีเอ็นเอซ้ำกัน 14 ชุด เรียกว่า "short หรือ s allele" มีขนาด 484 bp ชุดดีเอ็นเอซ้ำกัน 16 ชุด เรียกว่า "long หรือ l allele" มีขนาด 528 bp และชุดดีเอ็นเอซ้ำกัน 18-20 ชุด เรียกว่า "extra long หรือ xl allele" มีขนาด 613 bp ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 Agarose gel electrophoresis แสดงผลการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโท-นินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ promoter ที่เรียกว่า "5HTTLPR" ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) แถวแรกเป็น DNA marker แสดงขนาดของคู่เบส (bp) กำกับไว้; แถวถัดไปเป็นลักษณะของ genotypes ประเภท s/s, l/l และ l/xl ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ promoter ที่เรียกว่า "5HTTLPR" ในกลุ่มคนปกติจำนวนทั้งหมด 69 ราย โดยเป็นเพศหญิง 35 ราย เพศชาย 34 ราย ซึ่งมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 36.27 ± 11.07 ปี (mean ± SD) พบว่ามีการแสดงออกของ genotypes ประเภท s/s จำนวน 34 ราย คิดเป็นร้อยละ 49.30 s/l จำนวน 27 ราย คิดเป็นร้อยละ 39.10 l/l จำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.30 s/xl จำนวน 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.4 และ l/xl จำนวน 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 2.90 เมื่อนำมามาวิเคราะห์หาความถี่ของ alleles พบว่า จากจำนวน alleles ทั้งหมด 138 alleles เป็น s 96 alleles คิดเป็นร้อยละ 69.50 l 39 alleles คิดเป็นร้อยละ 28.30 และ xl 3 alleles คิดเป็นร้อยละ 2.20 และในกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวนทั้งหมด 16 ราย โดยเป็นเพศหญิง 7 ราย เพศชาย 9 ราย ซึ่งมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 53.94 ± 15.56 ปี พบว่ามีการแสดงออกของ genotypes ประเภท s/s จำนวน 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 12.50 s/l จำนวน 9 ราย คิดเป็นร้อยละ 56.30 l/l จำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 18.60 s/xl จำนวน 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 6.30 และ l/xl จำนวน 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 6.30 เมื่อนำมามาวิเคราะห์หาความถี่ของ alleles พบว่า จากจำนวน alleles ทั้งหมด 32 alleles เป็น s 14 alleles คิดเป็นร้อยละ 43.70 l 16 alleles คิดเป็นร้อยละ 50 และ xl 2 อัลลีล คิดเป็นร้อยละ 6.30 ดังแสดงในตารางที่ 4.1

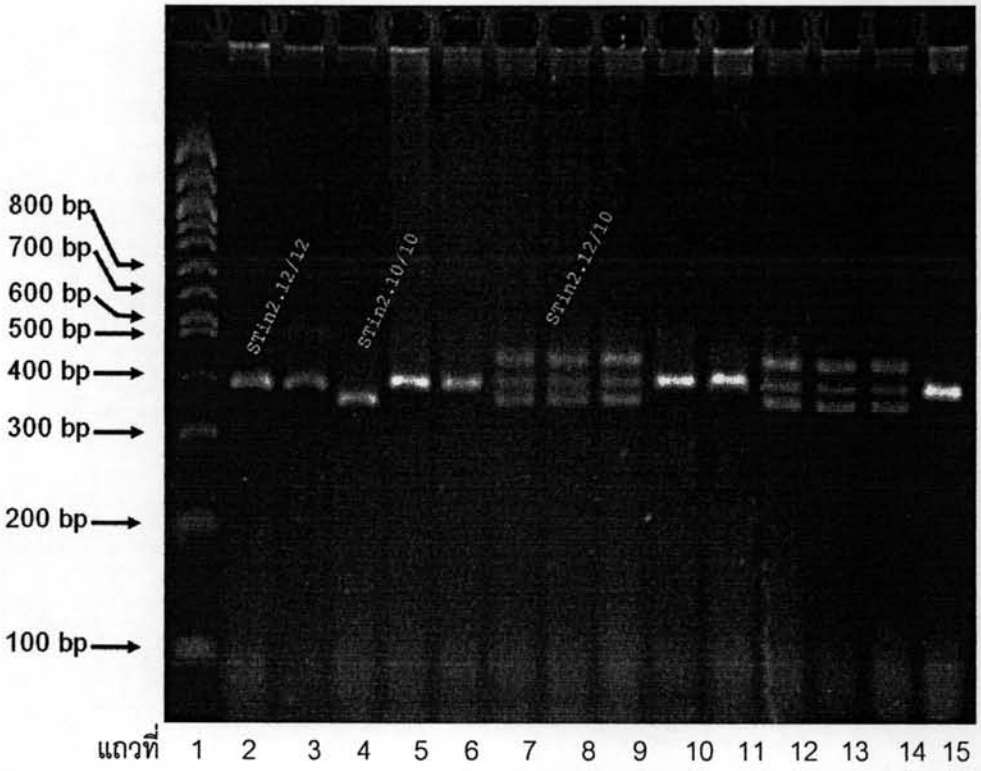
ตารางที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบผลการกระจายของ genotypes และความถี่ของ alleles ของ 5HTTLPR ในคนปกติกับผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

Groups	Genotypic distributions (frequency)					Allelic frequency		
(*n*)	s/s	s/l	l/l	s/xl	l/xl	s	l	xl
Normal controls	34	27	5	1	2	96	39	3
(69)	(49.30)	(39.10)	(7.30)	(1.40)	(2.90)	(65.50)	(28.30)	(2.20)
Psoriatic's patients	2	9	3	1	1	14	16	2
(16)	(12.50)	(56.30)	(18.60)	(6.30)	(6.30)	(43.70)	(50)	(6.30)

เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้มีข้อจำกัดในจำนวนประชากรซึ่งมีจำนวนน้อยทั้ง 2 กลุ่ม และการวิจัยครั้งนี้มิได้ทำเพื่อมุ่งเน้นการศึกษาเพื่อการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนิน-ทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ promoter คณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อหวังว่าจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาครั้งนี้ โดยหวังว่าจะนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ promoter กับปริมาณซีโรโทนิน เป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่งที่คณะผู้วิจัยมิอาจสามารถสรุปผลได้เนื่องจากข้อมูลที่น้อยเกินไปและไม่สามารถนำมาหาความสัมพันธ์ทางสถิติได้ คณะผู้วิจัยจึงทำการส่งผลการวิจัยครั้งนี้เข้าร่วมกับปริญญานิพนธ์ของนิสิตปริญญาตรีเพื่อหวังว่าจะเป็นประโยชน์ต่อไป และผลการวิจัยทราบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษาทั้งคนปกติที่มีสุขภาพดีและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ชนิด 5HTTLTR ส่วนใหญ่ของทั้งสองกลุ่มเป็นแบบ s allele และพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

2. ผลการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ intron 2 ของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ intron 2 ที่เรียกว่า "5HTTVNTR หรือ STin2" ความหลากหลายที่เกิดขึ้นในส่วน intron 2 นี้จะประกอบด้วย repetitive element 9 ชุด 10 ชุด และ 12 ชุดโดยในแต่ละชุดนั้นมีประมาณ 16-17 bp ซึ่งสามารถตรวจสอบหาประเภทของ genotypes โดยใช้เทคนิคพอลิเอคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟริสิส (polyacrylamide gel electrophoresis) ถ้าใช้เทคนิคเอกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟริสิสจะสามารถตรวจสอบประเภทของ genotypes ได้ 2 ประเภทคือ STin2.10 repeats มีขนาด 369 bp และ STin2.12 repeats มีขนาด 389 bp ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 Agarose gel electrophoresis แสดงผลการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ intron 2 ที่เรียกว่า ที่เรียกว่า "5HTTVNTR หรือ STin2" ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) แถวแรกเป็น DNA marker แสดงขนาดของคู่เบส (bp) กำกับไว้; แถวที่ 2, 3, 5, 6, 10, 11 และ 15 เป็นลักษณะของ genotypes ประเภท STin2.12/12 repeats แถวที่ 4 เป็นลักษณะของ genotypes ประเภท STin2.10/10 และแถวที่ 7, 8, 9, 12, 13, และ 14 เป็นลักษณะของ genotypes ประเภท STin2.10/12

ผลการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ intron 2 ที่เรียกว่า "5HTTVNTR หรือ STin2" ในกลุ่มคนปกติจำนวนทั้งหมด 69 ราย มีบางรายที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอต้นแบบได้ ทำให้เหลือกลุ่มคนปกติที่จะนำมาวิเคราะห์ 66 ราย โดยเป็นเพศหญิง 31 ราย เพศชาย 35 ราย ซึ่งมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 36.19 ± 11.32 ปี พบว่ามีการแสดงออกของ genotypes ประเภท STin2.10/10 repeats 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.52 STin2.10/12 repeats 15 ราย คิดเป็นร้อยละ 22.73 และ STin2.12/12 repeats 50 ราย คิดเป็นร้อยละ 75.75 เมื่อนำมามาวิเคราะห์หาความถี่ของ alleles พบว่า จากจำนวน alleles ทั้งหมด 149 alleles เป็น STin2.10 17 alleles คิดเป็นร้อยละ 12.88 และ STin2.12 132 alleles คิดเป็นร้อยละ 87.12 และในกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวนทั้งหมด 16 ราย มีบางรายที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอต้นแบบได้ ทำให้เหลือกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินที่จะนำมาวิเคราะห์ 14 ราย โดยเป็นเพศหญิง 6 ราย เพศชาย 8 ราย ซึ่งมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 53.17 ± 15.60 ปี พบว่ามีการแสดงออกของ genotypes ประเภท STin2.10/10 repeats 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 21.43 STin2.10/12 repeats 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 14.29 และ STin2.12/12 repeats 9 ราย คิดเป็นร้อยละ 64.28 เมื่อนำมามาวิเคราะห์หาความถี่ของ alleles พบว่า จากจำนวน alleles ทั้งหมด 28 alleles เป็น STin2.10 8 alleles คิดเป็นร้อยละ 28.57 และ STin2.12 20 alleles คิดเป็นร้อยละ 71.43 ดังแสดงในตารางที่ 4.2

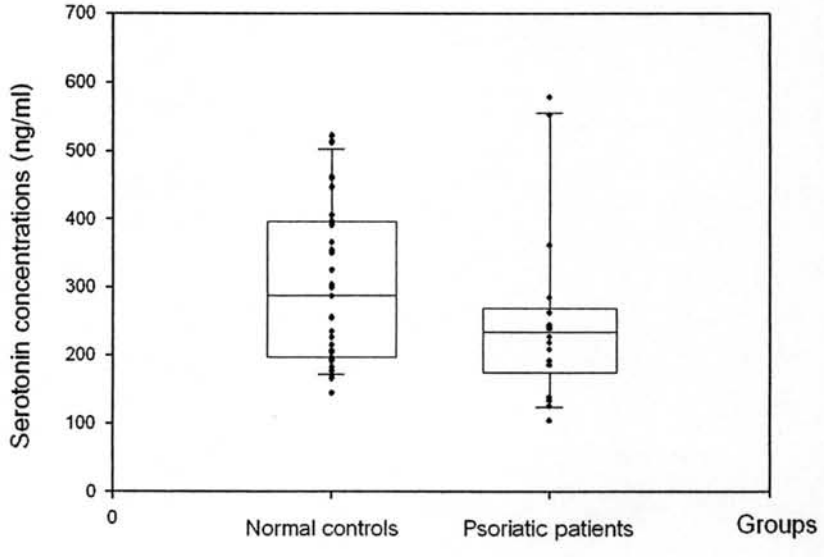
ตารางที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบผลการกระจายของ genotypes และความถี่ของ alleles ของ STin2 ในคนปกติกับผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

Groups (*n*)	Genotypic distributions (frequency)			Allelic frequency	
	STin2.10/10	STin2.10/12	STin2.12/12	STin2.10	STin2.12
Normal controls (66)	1 (1.52)	15 (22.73)	50 (75.75)	17 (12.88)	132 (87.12)
Psoriatic's patients (14)	3 (21.43)	2 (14.29)	9 (64.28)	8 (28.57)	20 (71.43)

จากผลการวิจัยของนิสิตปริญญาตรี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการวิเคราะห์หาความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในบริเวณ intron 2 โดยรวมผลการวิเคราะห์ของการศึกษาครั้งนี้ทราบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษาทั้งคนปกติที่มีสุขภาพดีและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ส่วนใหญ่เป็นชนิด STin2.12 และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับความหลากหลายของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ชนิด 5HTTLTR

3. ผลการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินโดยใช้เทคนิค ELISA

จากที่มาและความสำคัญดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นแล้วนั้น เห็นได้ว่าในผิวหนังของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีการแสดงออกของซีโรโทนิน แต่ไม่พบการแสดงออกดังกล่าวในคนปกติ คณะผู้ทำการวิจัยจึงได้ทำการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างปริมาณซีโรโทนินระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม โดยใช้หลักการ competitive ELISA ซึ่งใช้ชุดน้ำยาของ Diagnostic System Laboratories; DSL (cataloque number LDNBA 10090 serotonin EIA 96T) ที่มีค่าปกติของปริมาณซีโรโทนินสำหรับเพศหญิงอยู่ในช่วง 80-450 ng/ml และ 40-400 ng/ml สำหรับเพศชาย จากผลการตรวจวัดปริมาณซีโรโทนินทั้ง 2 กลุ่ม พบว่า กลุ่มคนปกติจำนวนทั้งหมด 31 ราย เพศหญิง 15 ราย เพศชาย 16 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.55 ± 11.32 ปี มีปริมาณซีโรโทนินต่ำสุดเท่ากับ 145.18 ng/ml ปริมาณซีโรโทนินสูงสุดเท่ากับ 523.03 ng/ml และเมื่อนำค่าของปริมาณซีโรโทนินที่ทำการตรวจวัดได้ มาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของปริมาณซีโรโทนินได้เท่ากับ 287.11 ng/ml ส่วนกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวนทั้งหมด 18 ราย เพศหญิง 7 ราย เพศชาย 11 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 49.44 ± 14.86 ปี มีปริมาณซีโรโทนินต่ำสุดเท่ากับ 104.57 ng/ml ปริมาณซีโรโทนินสูงสุดเท่ากับ 590 ng/ml และมีค่าเฉลี่ยของปริมาณซีโรโทนินเท่ากับ 233.73 ng/ml ผลการทดลองเปรียบเทียบระดับซีโรโทนินทั้งสองกลุ่มดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 Boxplot แสดงการเปรียบเทียบปริมาณซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณซีโรโทนินที่ได้จากตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีขนาดเล็ก ($n < 30$) โดยใช้การทดสอบทางสถิติ student t-test และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานทางสถิติ คือ

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

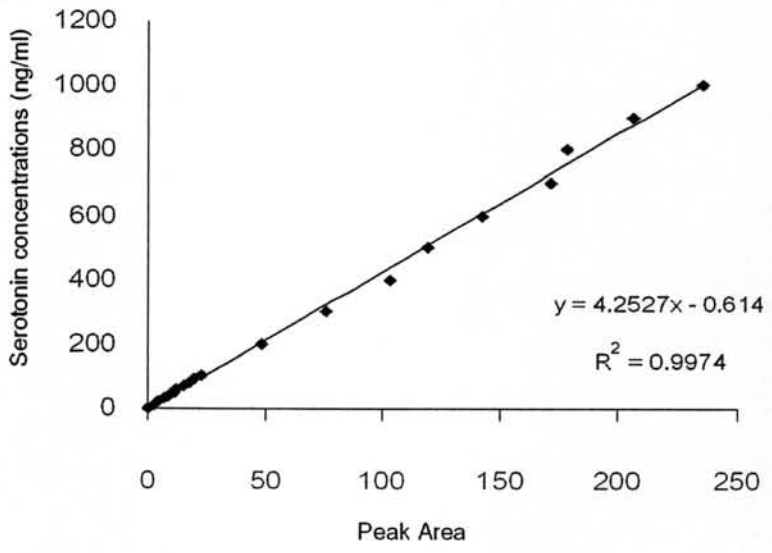
(เมื่อ μ_1, μ_2 เป็นปริมาณซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินตามลำดับ)

จากผลการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างของปริมาณซีโรโทนินในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

4. ผลการตรวจวัดปริมาณซีโรโทนินในซีรัม ในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง และในเกล็ดเลือดของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินโดยใช้เทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้นเอง

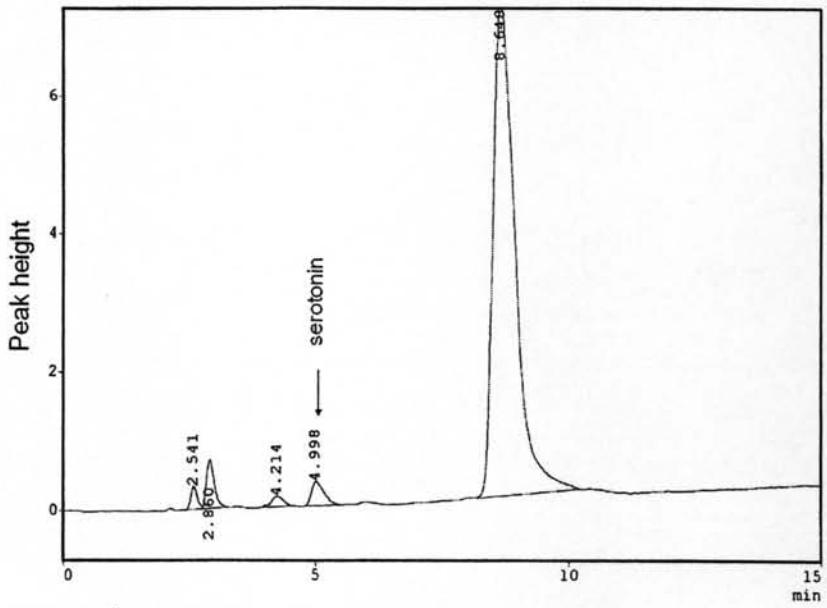
การตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน เพื่อเปรียบเทียบปริมาณซีโรโทนินของทั้ง 2 กลุ่ม โดยใช้เทคนิค HPLC ชนิดระบบ gradient ที่พัฒนาขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ เพื่อต้องการให้ผลการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินมีความแม่นยำมากขึ้น ขั้นตอนการทดสอบไม่ยุ่งยาก ราคาถูก และอ่านผลง่าย ซึ่งจะนำมาใช้ในตรวจทางห้องปฏิบัติการในอนาคต

การตรวจหาปริมาณซีโรโทนิน โดยเทคนิค HPLC จะต้องทำความเข้มข้นซีโรโทนินมาตรฐานสำหรับตรวจหาปริมาณซีโรโทนิน ซึ่งทำการเตรียมขึ้นเองภายในห้องปฏิบัติการโดยการใช้ 10% perchloric acid ($HClO_4$) ในการเจือจาง ดังนี้ ความเข้มข้นซีโรโทนินมาตรฐาน (n=20) 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, และ 1000 ng/ml ซึ่งมี correlation coefficient (R^2 = 0.9974) ดังแสดงในรูปที่ 4.4

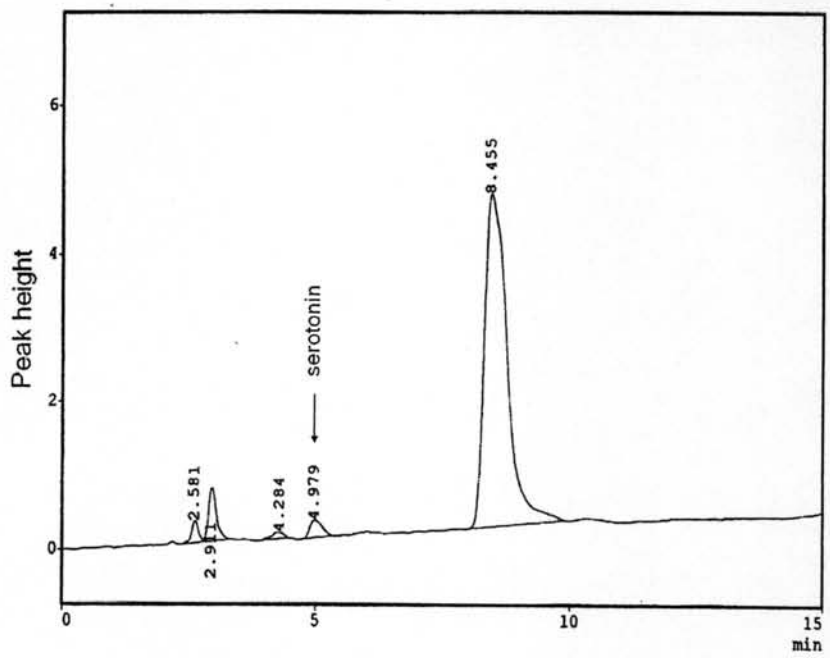


รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความเข้มข้นซีโรโทนินมาตรฐานสำหรับตรวจวัดปริมาณซีโรโทนินในซีรัม

ซีโรโทนินที่ถูกชะล้าง (elute) ออกมาจะมีการปรากฏของ peak ที่ retention time 4.9 นาที ดังแสดงในรูปที่ 4.5 และ 4.6 ซึ่งใช้เวลาในการชะล้างสารทุกชนิดที่มีอยู่ในซีรัม 15 นาที สำหรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการถือว่าใช้เวลาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

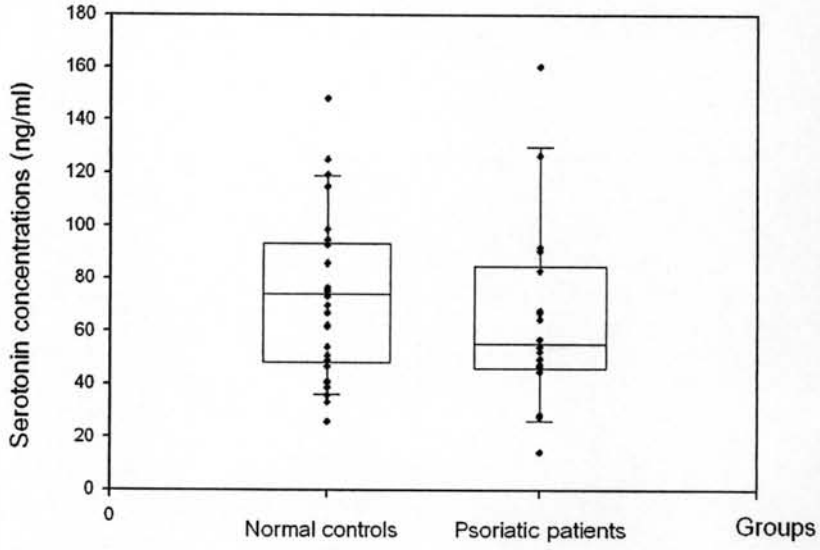


รูปที่ 4.5 แสดง peak ซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติ



รูปที่ 4.6 แสดง peak ซีโรโทนินในซีรัมผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

จากการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในซีรัมในกลุ่มคนปกติจำนวนทั้งหมด 31 ราย โดยเป็นเพศหญิง 15 ราย เพศชาย 16 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.55 ± 11.32 ปี มีปริมาณซีโรโทนินต่ำสุดเท่ากับ 25.87 ng/ml สูงสุดเท่ากับ 148.15 ng/ml และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของปริมาณซีโร-โทนินในกลุ่มคนปกติเท่ากับ 73.95 ng/ml และกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวนทั้งหมด 18 ราย โดยเป็นเพศหญิง 7 ราย เพศชาย 11 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 49.44 ± 14.86 ปี มีปริมาณซีโรโทนินต่ำสุดเท่ากับ 14.33 ng/ml สูงสุดเท่ากับ 160.33 ng/ml และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของปริมาณซีโรโทนินในกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเท่ากับ 65.19 ng/ml ดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 Boxplot แสดงการเปรียบเทียบปริมาณซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่าที่ได้จากตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีขนาดเล็ก ($n < 30$) โดยใช้การทดสอบทางสถิติ student t-test และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานทางสถิติ คือ

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

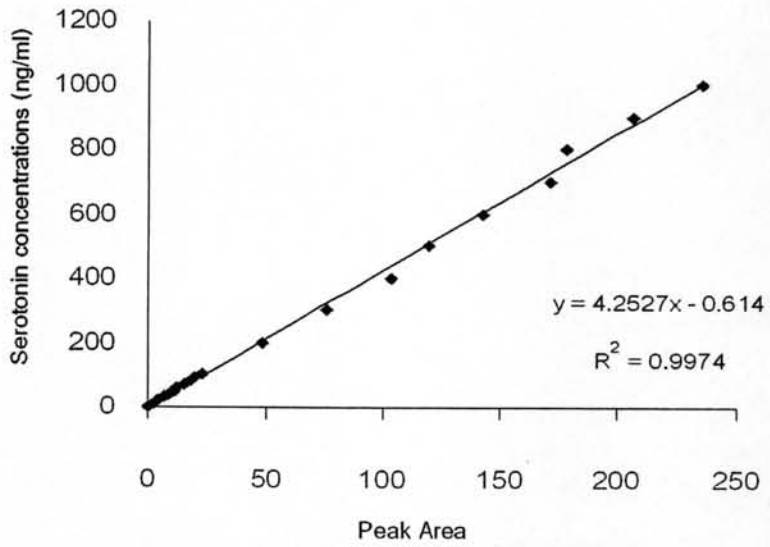
$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

(เมื่อ μ_1, μ_2 เป็นปริมาณซีโรโทนินในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินตามลำดับ)

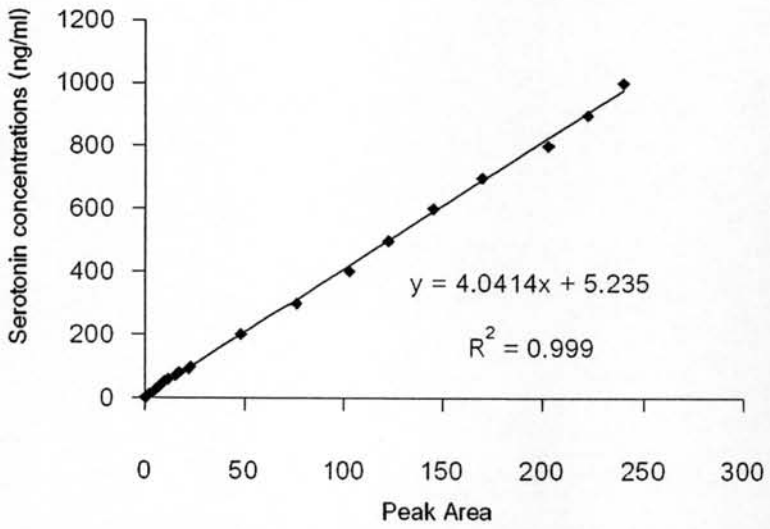
จากผลการตรวจวัดปริมาณซีโรโทนินทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างของปริมาณซีโรโทนินในซีรัมระหว่าง 2 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ซีโรโทนินในกระแสเลือดประมาณ 99% จะถูกเก็บสะสมที่เกล็ดเลือด การตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือดจะเป็นการบ่งบอกถึงความผิดปกติของซีโรโทนินได้ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงทำการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง และเกล็ดเลือด ควบคู่ไปด้วย เพื่อหาความสัมพันธ์ของปริมาณซีโรโทนิน และสามารถที่จะเลือกตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการได้ถูกต้อง และมีความสัมพันธ์กับโรค ซึ่งจะนำไปสู่การป้องกัน วินิจฉัยได้อย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต

การตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง และเกล็ดเลือดโดยเทคนิค HPLC จะต้องทำความเข้มข้นซีโรโทนินมาตรฐานสำหรับตรวจหาปริมาณซีโรโทนินเช่นเดียวกับที่เตรียมในซีรัม คือ โดยการใช้ 10% perchloric acid ($HClO_4$) ในการเจือจางซีโรโทนินให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, และ 1000 ng/ml (n=20) ซึ่งมี correlation coefficient (R^2 = 0.9974 และ 0.999) ดังแสดงในรูปที่ 4.8 และ 4.9 ตามลำดับ

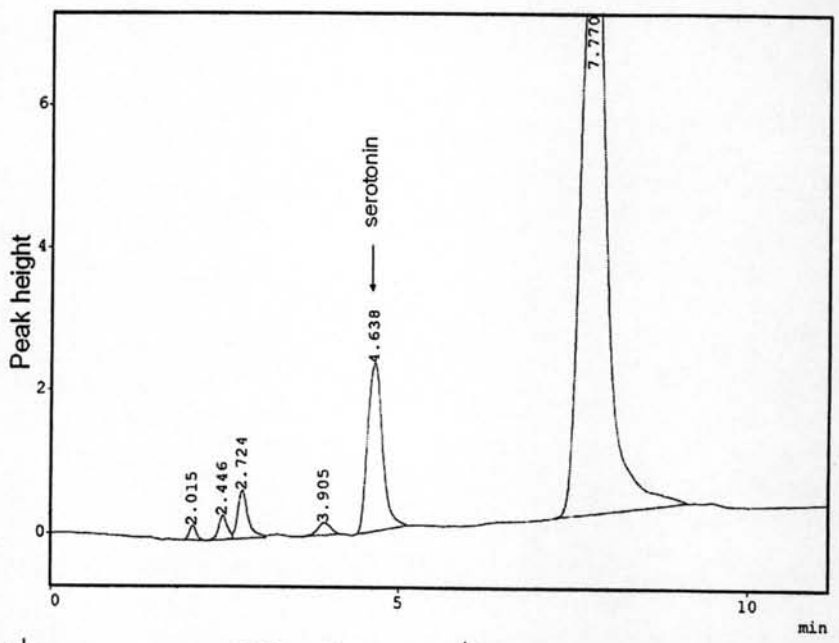


รูปที่ 4.8 แสดงความเข้มข้นซีโรโทนินมาตรฐานสำหรับตรวจวัดปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง

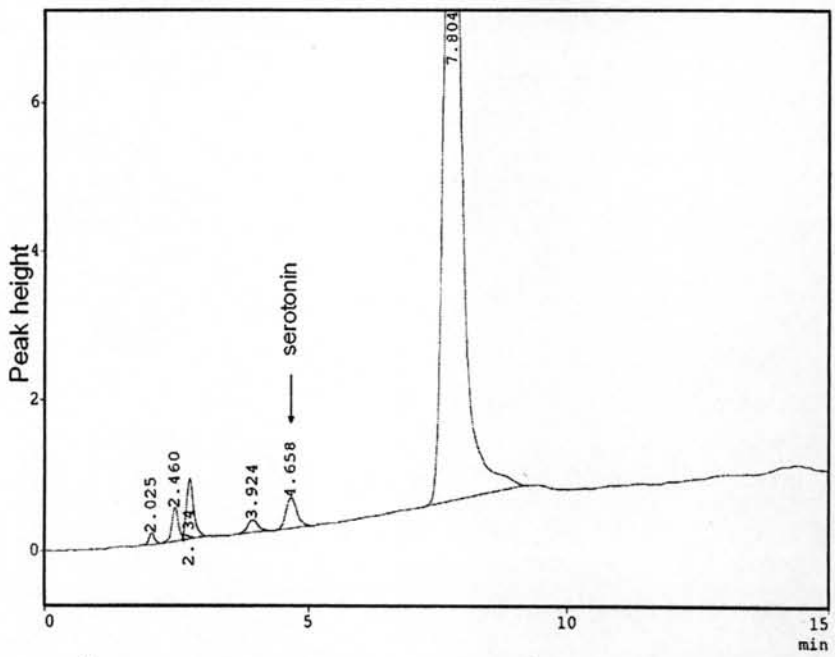


รูปที่ 4.9 แสดงความเข้มข้นซีโรโทนินมาตรฐานสำหรับตรวจวัดปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือด

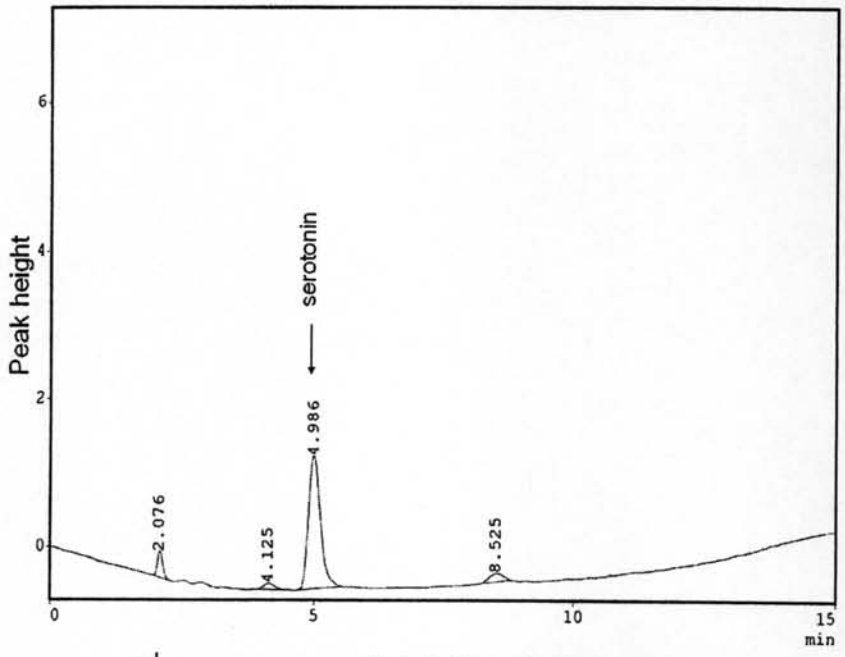
ซีโรโทนินที่ถูกชะล้างออกมาจะมีการปรากฏของ peak ที่เช่นเดียวกับที่ปรากฏในซีรัมทั้งในส่วนของพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง (ดังแสดงในรูปที่ 4.10 และ 4.11) และเกล็ดเลือด (ดังแสดงในรูปที่ 4.12 และ 4.13) แต่อาจมีการคลาดเคลื่อนเวลาเล็กน้อย (retention time shift) ซึ่งถือว่าเป็นปกติสำหรับการตรวจทาง HPLC



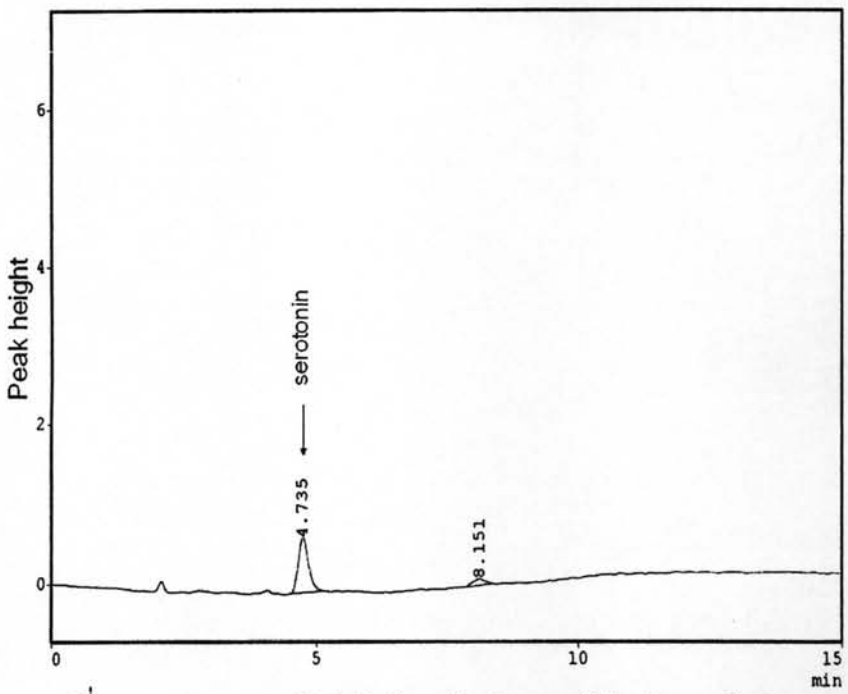
รูปที่ 4.10 แสดง peak ซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูงของคนปกติ



รูปที่ 4.11 แสดง peak ซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

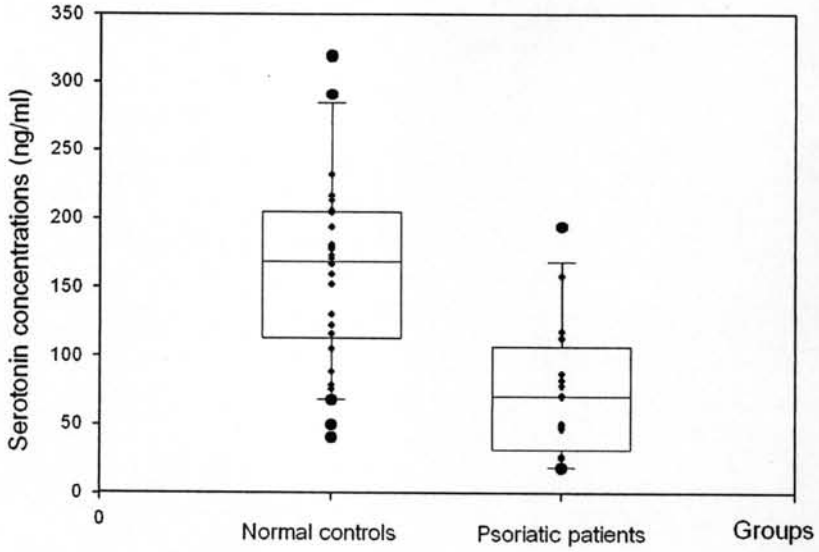


รูปที่ 4.12 แสดง peak ซีโรโทนินในเกล็ดเลือดของคนปกติ



รูปที่ 4.13 แสดง peak ซีโรโทนินในเกล็ดเลือดของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

จากการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูงในกลุ่มคนปกติ จำนวนทั้งหมด 31 ราย เพศหญิง 15 ราย เพศชาย 16 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.55 ± 11.32 ปี มีปริมาณซีโรโทนินต่ำสุดเท่ากับ 40.80 ng/ml สูงสุดเท่ากับ 319.63 ng/ml และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของปริมาณซีโรโทนินในกลุ่มคนปกติเท่ากับ 162.50 ng/ml และกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวนทั้งหมด 16 ราย เพศหญิง 7 ราย เพศชาย 9 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 53.94 ± 15.56 ปี มีปริมาณซีโรโทนินต่ำสุดเท่ากับ 18.87 ng/ml สูงสุดเท่ากับ 194.42 ng/ml และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของปริมาณซีโรโทนินในกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินเท่ากับ 76.10 ng/ml ดังแสดงในรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 Boxplot แสดงการเปรียบเทียบปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูงของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่าที่ได้จากตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีขนาดเล็ก ($n < 30$) โดยใช้การทดสอบทางสถิติ student t-test และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานทางสถิติ คือ

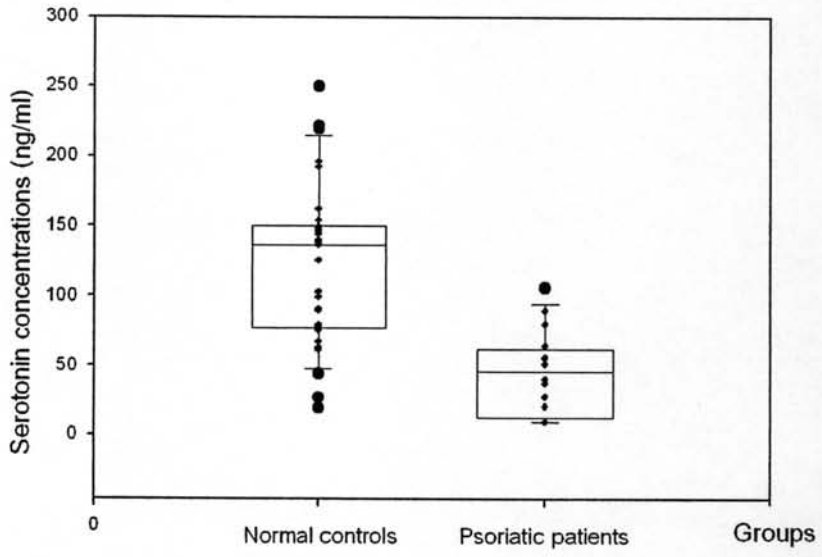
$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

(เมื่อ μ_1, μ_2 เป็นปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูงของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินตามลำดับ)

จากผลการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินทั้ง 2 กลุ่ม พบความแตกต่างของปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือดในกลุ่มคนปกติจำนวนทั้งหมด 31 ราย เพศหญิง 15 ราย เพศชาย 16 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.55 ± 11.32 ปี มีปริมาณซีโรโทนินต่ำสุดเท่ากับ 19.19 ng/ml สูงสุดเท่ากับ 249.59 ng/ml และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของปริมาณ ซีโรโทนินในกลุ่มคนปกติเท่ากับ 122.17 ng/ml และกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวนทั้งหมด 16 ราย เพศหญิง 7 ราย เพศชาย 9 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 53.94 ± 15.56 ปี มีปริมาณซีโรโทนิน ต่ำสุดท่ากับ 9.86 ng/ml สูงสุดเท่ากับ 106.25 ng/ml และเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของปริมาณซีโรโทนินในกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินเท่ากับ 45.39 ng/ml ดังแสดงในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 Boxplot แสดงการเปรียบเทียบปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือดของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่าที่ได้จากตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีขนาดเล็ก ($n < 30$) โดยใช้การทดสอบทางสถิติ student t-test และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานทางสถิติ คือ

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

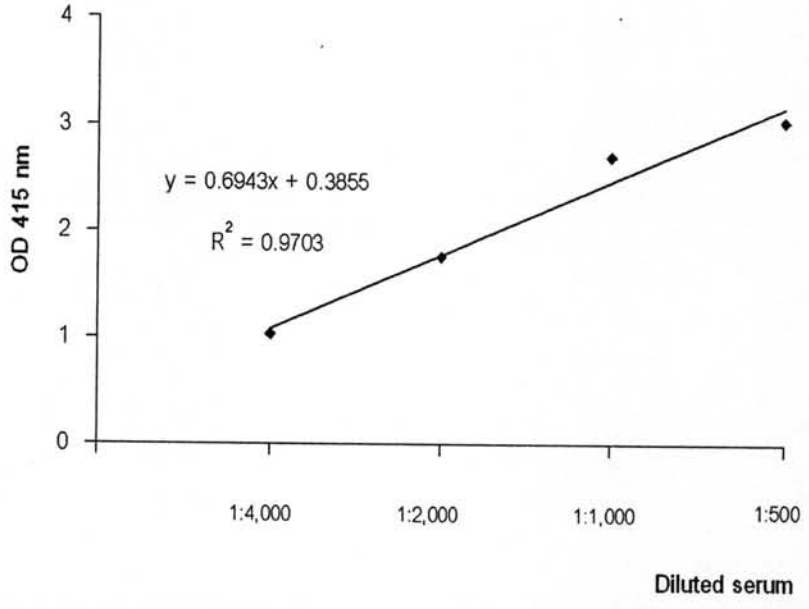
(เมื่อ μ_1, μ_2 เป็นปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือดของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินตามลำดับ)

จากผลการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินทั้ง 2 กลุ่ม พบว่ามีความแตกต่างของปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

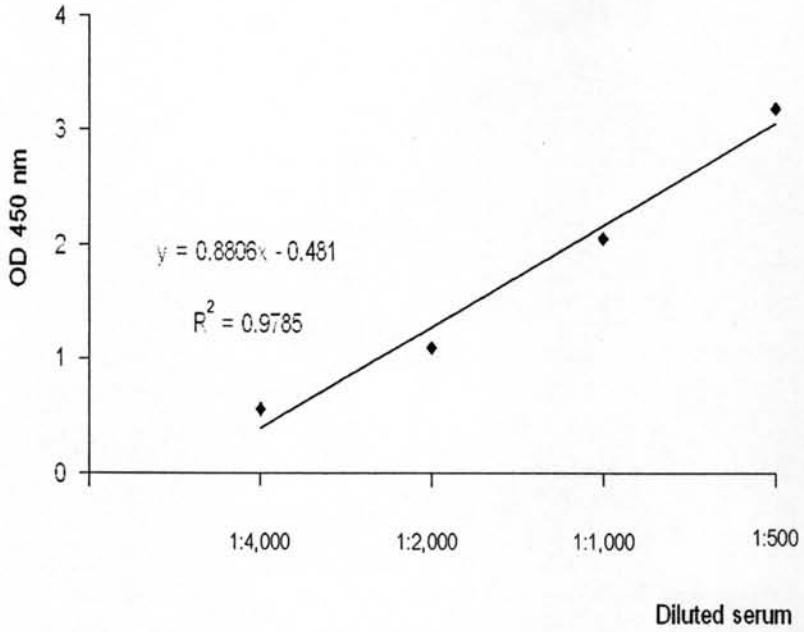
5. ผลการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG และ IgM ในซีรัมของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน โดยใช้เทคนิค ELISA

จากรายงานการศึกษาที่พบ antiserotonin ในผู้ป่วยโรคออโตอิมมูนอื่นๆ ที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 2 นั้น คณะผู้วิจัยจึงทำการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินทั้งชนิด IgG และ IgM ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ปริมาณซีโรโทนินลดน้อยลง โดยแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินจะไปจับกับซีโรโทนินในกระแสเลือด ทำให้ปริมาณซีโรโทนินน้อยลง ส่งผลให้มีซีโรโทนินไปจับกับตัวรับซีโรโทนินบนเซลล์ที่มีตัวรับซีโรโทนินน้อยลง และทำให้ระบบต่างๆ ทำงานผิดปกติไปและมีผลต่อความรุนแรงของโรค เช่น ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบผิวหนัง ระบบหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น ซึ่งความสำคัญในการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินได้กล่าวไปแล้วในบทที่ 2

การตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG และ IgM ในซีรัม จะต้องมีการทำซีรัมควบคุมทุกครั้ง โดยการเลือกซีรัมของคนปกติ 1 รายมาทำการทดสอบทุกครั้งในการทดสอบการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG และ IgM ในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน โดยค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในแต่ละครั้งจะต้องใกล้เคียงกันหรือไม่ห่างกันเกิน 0.002 และการเลือก dilution ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเจือจางซีรัมนั้นจะต้องมีค่าการดูดกลืนแสงไม่เกิน 2.0 ดังแสดงในรูป 4.16 และ 4.17

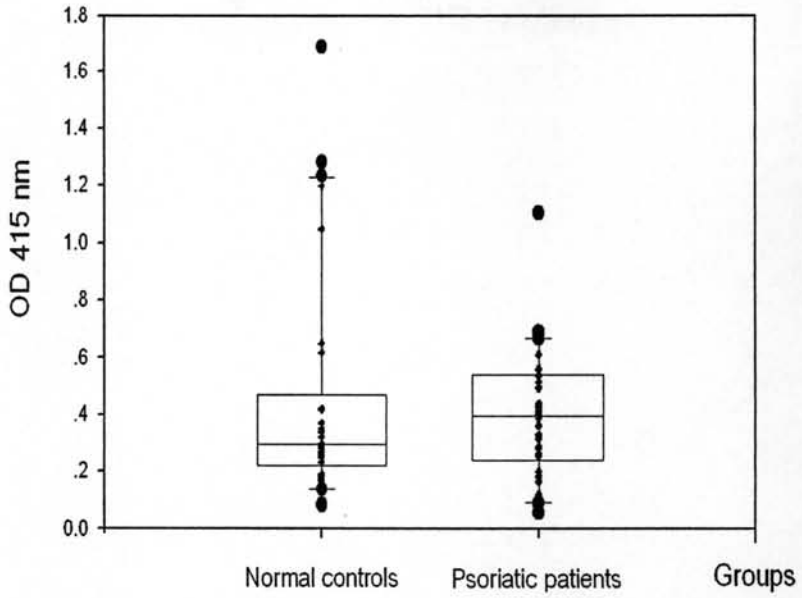


รูปที่ 4.16 แสดงซีรัมมาตรฐานที่ใช้ในการเลือก dilution ที่เหมาะสมในการนำมาเจือจางซีรัมเพื่อตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG ในซีรัม



รูปที่ 4.17 แสดงซีรัมมาตรฐานที่ใช้ในการเลือก dilution ที่เหมาะสมในการนำมามาเจือจางซีรัมเพื่อตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgM ในซีรัม

จากผลการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG ในซีรัมของคนปกติทั้งหมด 30 ราย เป็นเพศหญิง 11 ราย เพศชาย 19 ราย โดยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.87 ± 10.82 ปี และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินทั้งหมด 29 ราย เป็นเพศหญิง 14 ราย เพศชาย 15 ราย โดยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 43.86 ± 12.39 ปี ดังแสดงในรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.18 Boxplot แสดงการเปรียบเทียบแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG ในซีรัมของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่าที่ได้จากตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีขนาดเล็ก ($n < 30$) โดยใช้การทดสอบทางสถิติ student t-test และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานทางสถิติ คือ

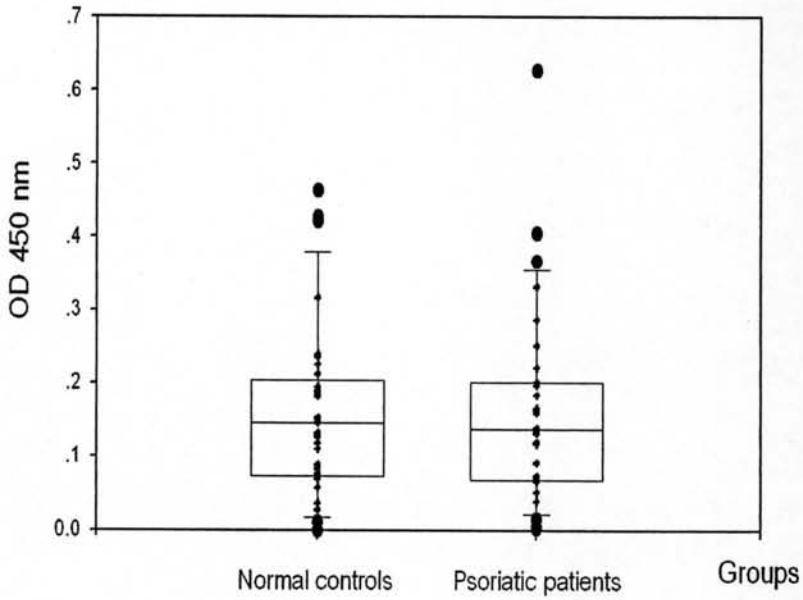
$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

(เมื่อ μ_1, μ_2 เป็นแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG ในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินตามลำดับ)

จากผลการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG ทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างของแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgG อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากผลการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgM ในซีรัมของคนปกติทั้งหมด 33 ราย เป็นเพศหญิง 13 ราย เพศชาย 20 ราย โดยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.00 ± 11.58 ปี และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินทั้งหมด 32 ราย เป็นเพศหญิง 16 ราย เพศชาย 16 ราย โดยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 43.19 ± 12.62 ปี ดังแสดงในรูปที่ 4.19



รูปที่ 4.19 Boxplot แสดงการเปรียบเทียบแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgM ในซีรัมของคนปกติ และผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่าที่ได้จากตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีขนาดเล็ก ($n < 30$) โดยใช้การทดสอบทางสถิติ student t-test และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานทางสถิติ คือ

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

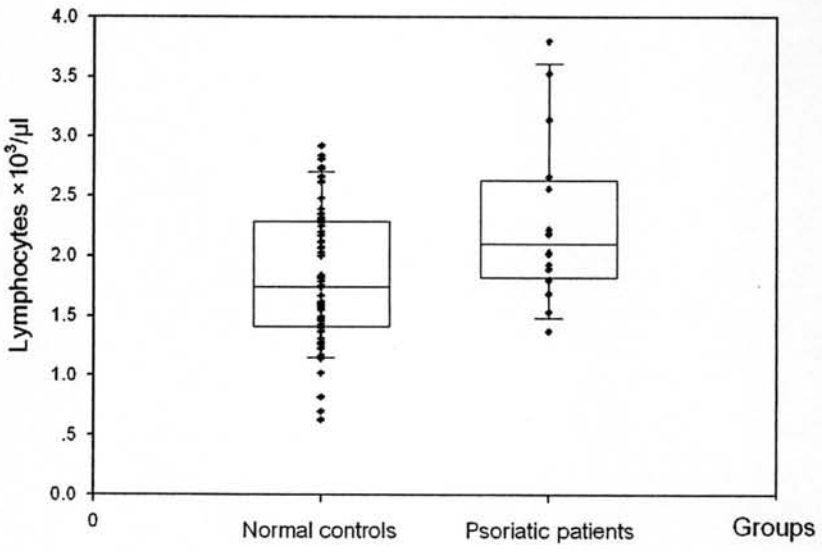
(เมื่อ μ_1, μ_2 เป็นแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgM ในซีรัมของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินตามลำดับ)

จากผลการตรวจหาแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgM ทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างของแอนติบอดีของตนเองต่อซีโรโทนินชนิด IgM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

6. ผลการตรวจวิเคราะห์ทางด้านโลหิตวิทยาของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

เนื่องจากคณะผู้วิจัยทำการตรวจทางด้านโลหิตวิทยาโดยการตรวจนับเม็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ (Complete Blood Count, CBC) เพื่อต้องการทราบจำนวนเกล็ดเลือดในการนำมาวิเคราะห์หาปริมาณซีโรโทนิน และข้อมูลที่นอกเหนือจากนี้คณะผู้วิจัยเล็งเห็นว่าน่าจะมีประโยชน์ต่อการสนับสนุนผลการวิจัยมากยิ่งขึ้น และจากรายงานที่ผ่านมา พบว่า ซีโรโทนินมีบทบาทสำคัญทางด้านระบบภูมิคุ้มกันและการพัฒนาเซลล์ต่างๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะพวก mononuclear cell ดังนั้นผลทั้งหมดที่ทำการตรวจวิเคราะห์ทางด้านโลหิตวิทยาของทั้ง 2 กลุ่ม จึงนำมาวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่าที่ได้จากตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีขนาดเล็ก ($n < 30$) ใช้การทดสอบทางสถิติแบบ student t-test และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดในกลุ่มคนปกติจำนวน 53 ราย และกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินจำนวน 16 ราย พบว่า จำนวน Red blood cells (RBCs) count, hematocrit, hemoglobin, total white blood cells (WBCs) count, neutrophils และ monocytes ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่ม ($p > 0.05$) แต่ พบว่า จำนวนลิมโฟไซท์ของกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินมีจำนวนมากกว่ากลุ่มคนปกติ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.20



รูปที่ 4.20 Boxplot แสดงการเปรียบเทียบจำนวนลิมโฟไซท์ของคนปกติและผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

7. ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่ปริมาณเกล็ดเลือดสูง เกล็ดเลือด และจำนวนลิมโฟไซท์กับระดับความรุนแรงของโรค (PASI score) ในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

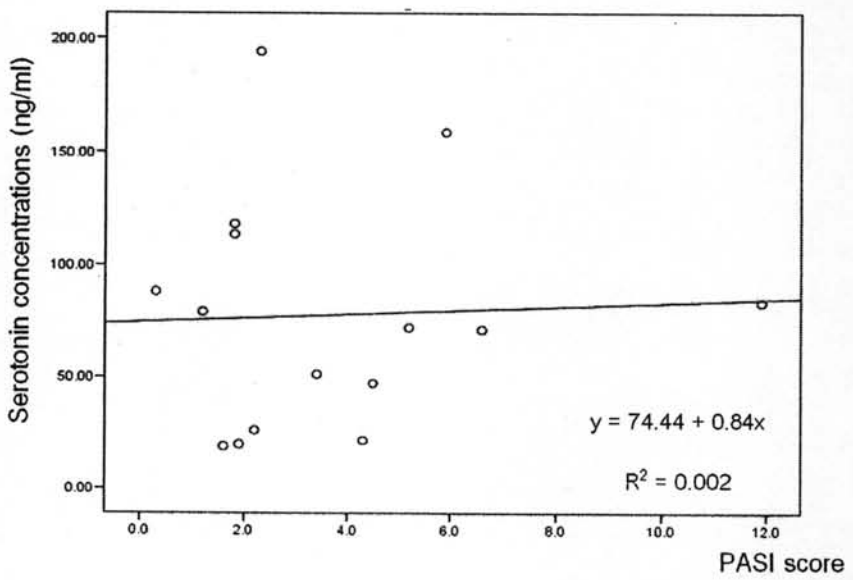
จากผลการตรวจหาปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง เกล็ดเลือด และจำนวนลิมโฟไซท์ที่แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มคนปกติ และกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน ($p < 0.05$) และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ซึ่งมีการตั้งสมมติฐานทางสถิติ คือ

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

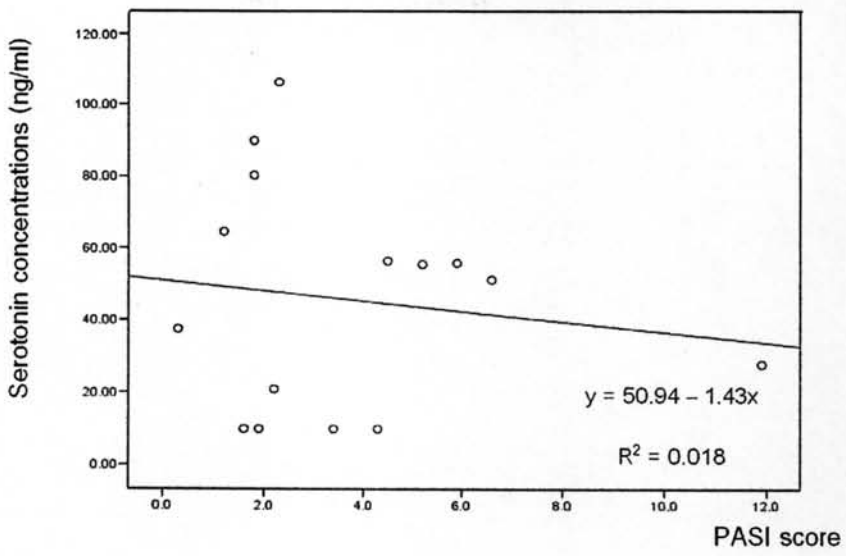
$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

(เมื่อ μ_1, μ_2 เป็นปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง เกล็ดเลือด และจำนวนลิมโฟไซท์ของผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงินตามลำดับ)

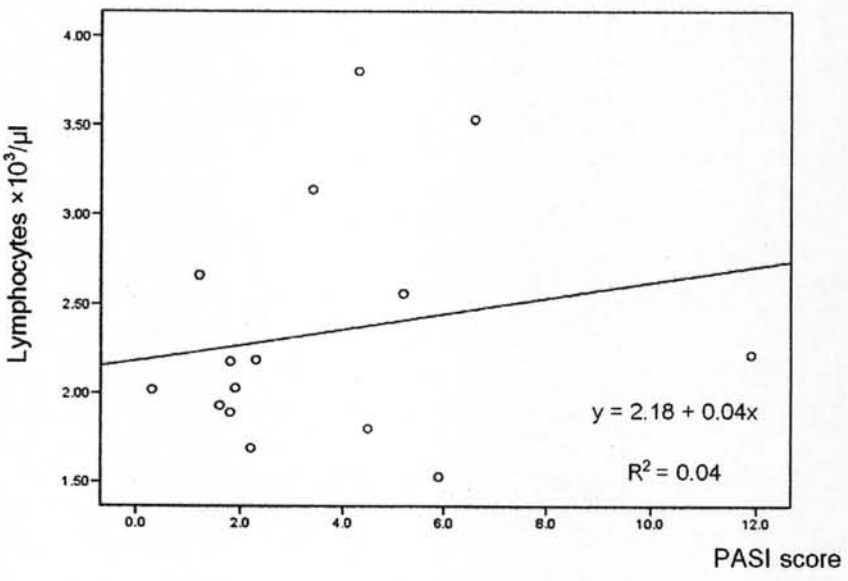
คณะผู้วิจัยได้นำผลการวิจัยทั้ง 3 parameters มาหาความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค (PASI score) ในกลุ่มผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน ทั้งหมดจำนวน 15 ราย โดยใช้ความสัมพันธ์ทางสถิติแบบ Pearson's correlation ดังแสดงในรูปที่ 4.21, 4.22 และ 4.23 ตามลำดับ



รูปที่ 4.21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูงกับระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน



รูปที่ 4.22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือดกับระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน



รูปที่ 4.23 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนลิมโฟไซท์กับระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน

จากผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูง เกล็ดเลือด และจำนวนลิมโฟไซท์กับระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีโรโทนินในพลาสมาที่มีปริมาณเกล็ดเลือดสูงกับระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีโรโทนินในเกล็ดเลือดกับระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนลิมโฟไซท์กับระดับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคสะเก็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)