

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนซีพ 2 ซี 9 ซีพ 2 ซี 19 และเอบีซีบี 1
และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยา ระดับยาในเลือด และการตอบสนอง
ต่อยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย



นางสาวทิมพิกา เคียงประพันธ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ASSOCIATION OF GENETIC VARIANTS IN *CYP2C9*, *CYP2C19* AND *ABCB1* GENES
AND NON-GENETIC FACTORS WITH PHENOBARBITAL DOSES, BLOOD LEVELS
AND RESPONSE IN THAI PATIENTS WITH EPILEPSY

Miss Thimpika Keangraphun



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmacology
Department of Pharmacology and Physiology
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2014
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน
ซีพี 2 ซี 9 ซีพี 2 ซี 19 และเอบีซีบี 1 และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้อง
กับพันธุกรรมกับขนาดยา ระดับยาในเลือด และการ
ตอบสนอง ต่อยาฟีโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

โดย

นางสาวทิมพิกา เคียงประพันธ์

สาขาวิชา

เภสัชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

พันเอก นายแพทย์ ดร.โยธิน ชินวลัญช์

นายแพทย์ สมชาย ไตวณะบุตร

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะเภสัชศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง ดร.รุ่งเพ็ชร สกกุลบำรุงศิลป์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง พันตำรวจโทหญิง ดร.สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(พันเอก นายแพทย์ ดร.โยธิน ชินวลัญช์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(นายแพทย์ สมชาย ไตวณะบุตร)

.....กรรมการ

(อาจารย์ เกสัชกร ดร.พิสิฐ เขมมาวุฒม์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกสัชกร ดร.เจริญ ตรีศักดิ์)

พิมพ์ิกา เคียงประพันธ์ : ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนซีพ 2 ซี 9 ซีพ 2 ซี 19 และเอบีซีบี 1 และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรมกับขนาดยา ระดับยาในเลือด และการตอบสนอง ต่อยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย (ASSOCIATION OF GENETIC VARIANTS IN *CYP2C9*, *CYP2C19* AND *ABCB1* GENES AND NON-GENETIC FACTORS WITH PHENOBARBITAL DOSES, BLOOD LEVELS AND RESPONSE IN THAI PATIENTS WITH EPILEPSY) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ภญ. ดร.พรพิมล กิจสนาโยธิน, อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: พ.อ. นพ. ดร.โยธิน ชินวลัญช์, นพ. สมชาย ไชยวณิช, 100 หน้า.

ฟิโนบาร์บิทัลเป็นยากันชักที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในประเทศที่กำลังพัฒนา อย่างไรก็ตามผลของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลในผู้ป่วยแต่ละรายยังคงมีความแตกต่างกัน โดยความแตกต่างที่เกิดขึ้นนั้นอาจเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ ทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรม ดังนั้นจุดประสงค์ในการศึกษานี้จึงต้องการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรมกับขนาดยาและระดับยาในเลือด รวมถึงการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย โดยในการศึกษานี้ทำการเก็บตัวอย่างผู้ป่วยโรคลมชักที่ใชยาฟิโนบาร์บิทัลจำนวน 110 ราย นำตัวอย่างเลือดไปวัดระดับยาฟิโนบาร์บิทัลและตรวจลักษณะจีโนไทป์ของพหุสัณฐาน *CYP2C9**3 1075A>C *CYP2C19**2 681G>A และ *ABCB1* 3435C>T จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยความหลากหลายทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรมกับขนาดยาและระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดโดยใช้สถิติ multiple linear regression นอกจากนี้ยังแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะการตอบสนองต่อยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้สถิติ multiple logistic regression ผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มขึ้นของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดสัมพันธ์กัการเกิดอันตรกิริยากับยา valproic acid และผู้ป่วยที่เป็นเพศชาย โดยปัจจัยดังกล่าวสามารถอธิบายความผันแปรของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวได้ร้อยละ 17.6 ($R^2=0.176$, $p=0.001$) นอกจากนี้ยังพบว่า การไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กัลักษณะจีโนไทป์ *ABCB1* 3435CC และโรคลมชักประเภท focal epilepsy (adjusted OR=3.962, 95% CI=1.075-14.610, $p=0.039$ และ adjusted OR=5.936, 95% CI=2.272-15.513, $p<0.001$ ตามลำดับ) โดยปัจจัยดังกล่าวสามารถอธิบายความผันแปรของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลได้ร้อยละ 25.5 ($R^2=0.255$) ดังนั้นจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดคือ การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาและเพศของผู้ป่วย และปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลคือ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *ABCB1* 3435C>T และประเภทของโรคลมชัก ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อช่วยในการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ผู้ป่วยสามารถควบคุมอาการชักได้และนำไปสู่การมีคุณภาพชีวิตที่ดี

ภาควิชา เภสัชวิทยาและสรีรวิทยา

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา เภสัชวิทยา

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาหลัก

ปีการศึกษา 2557

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาร่วม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาของ ผศ. ภญ. ดร.พรพิมล กิจสนา โยธิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือทุกๆ อย่าง ในการค้นคว้าและดำเนินการวิจัยเป็นอย่างดีในทุกขั้นตอน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ พ.อ. นพ. ดร.โยธิน ชินวลัญช์ และ นพ. สมชาย ไทวณะบุตร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำปรึกษา ข้อชี้แนะ และความช่วยเหลือในการดำเนินการคัดเลือกผู้ช่วยเข้าสู่การวิจัย จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ. ภก. ดร.เจริญ ตริศศักดิ์ ที่กรุณาแนะนำและให้ข้อเสนอแนะในการวิเคราะห์ผลการศึกษา จนกระทั่งการทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ พี่ๆ เภสัชกร เจ้าหน้าที่ห้องยา เจ้าหน้าที่แผนกประสาทวิทยา และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และสถาบันประสาทวิทยา ที่ได้อำนวยความสะดวกและให้การช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลและเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วยเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ผู้ป่วยอาสาสมัครทุกท่าน ที่สละเวลาและให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการเก็บข้อมูลและเก็บตัวอย่างเลือด จนกระทั่งการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์และบุคลากรทุกท่านในภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยาที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และให้คำแนะนำมาโดยตลอดในการศึกษาระดับมหาบัณฑิต

ขอบคุณเพื่อนๆ ร่วมห้องวิจัย เพื่อนๆ ในชั้นปี และเพื่อนในภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยาทุกคน ที่ให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

และท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัวของผู้วิจัยที่ได้ให้การสนับสนุนด้านการศึกษา ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในทุกๆ ด้าน จนทำให้การเรียนในระดับมหาบัณฑิตและการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญรูป.....	ฏ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 สมมติฐานของการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการทำวิทยานิพนธ์.....	4
1.6 คำสำคัญ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 โรคลมชัก (Epilepsy)	5
2.2 ยาฟีโนบาร์บิทัล (phenobarbital; PB)	6
2.2.1 คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาและกลไกการออกฤทธิ์ของยาฟีโนบาร์บิทัล	7
2.2.2 คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาฟีโนบาร์บิทัล	8
2.3 ปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับขนาดยา ระดับยา และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา ฟีโนบาร์บิทัล	10
2.3.1 ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors).....	11
2.3.1.1 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน CYP2C9.....	11

2.3.1.2	พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน CYP2C19	14
2.3.1.3	พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน ABCB1.....	16
2.3.2	ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรม (non-genetic factors).....	18
2.3.2.1	อายุ.....	18
2.3.2.2	เพศ.....	19
2.3.2.3	ประเภทของโรคลมชัก.....	19
2.3.2.4	การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา.....	20
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
3.1	ลักษณะตัวอย่างหรือประชากรที่ทำการศึกษา.....	22
3.1.1	ประชากรเป้าหมาย.....	22
3.1.2	การเลือกตัวอย่าง.....	22
3.1.3	ขนาดตัวอย่าง.....	23
3.2	วิธีดำเนินการวิจัย.....	24
3.2.1	แผนภูมิการดำเนินงาน.....	25
3.2.2	การดำเนินการวิจัย.....	26
3.2.2.1	การเก็บข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย.....	26
3.2.2.2	การประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล.....	26
3.2.2.3	การเก็บตัวอย่างเลือด.....	26
3.2.2.4	การตรวจวัดระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด.....	27
3.2.2.5	การเตรียมตัวอย่าง DNA.....	27
3.2.2.6	การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ candidate SNPs ของยีน CYP2C9 CYP2C19 และ ABCB1.....	28
3.3	การวิเคราะห์ข้อมูล.....	30

3.3.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย	30
3.3.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน <i>CYP2C9</i> <i>CYP2C19</i> และ <i>ABCB1</i>	31
3.3.3 วิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดยา และระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์.....	31
3.3.4 วิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดยา และระดับยาฟีโนบาร์บิทัลกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม	31
3.3.5 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาและระดับยาฟีโนบาร์บิทัล.....	31
3.3.6 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัล.....	32
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	33
4.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย	33
4.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ SNPs ในยีน <i>CYP2C9</i> <i>CYP2C19</i> และ <i>ABCB1</i>	40
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมของยีน <i>CYP2C9</i> <i>CYP2C19</i> และ <i>ABCB1</i> กับขนาดยาฟีโนบาร์บิทัล	44
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาฟีโนบาร์บิทัล	48
4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาฟีโนบาร์บิทัล	53
4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมของยีน <i>CYP2C9</i> <i>CYP2C19</i> และ <i>ABCB1</i> กับระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือด.....	53
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือด ...	57
4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือด.....	61

4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการ ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล	63
บทที่ 5 อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	68
อภิปรายผลการวิจัย	68
สรุปผลการวิจัย	74
ข้อจำกัดของการศึกษานี้และข้อเสนอแนะ	75
รายการอ้างอิง	76
ภาคผนวก.....	90
ภาคผนวก ก เอกสารรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์.....	89
ภาคผนวก ข สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	92
ภาคผนวก ค ระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา	94
ภาคผนวก ง การทดสอบสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก.....	98
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	100

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตาราง 1 แสดงความถี่อัลลีลของยีน <i>CYP2C9</i> ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ.....	13
ตาราง 2 แสดงความถี่อัลลีลของยีน <i>CYP2C19</i> ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ.....	15
ตาราง 3 แสดงความถี่อัลลีลของ <i>ABCB1</i> 3435C>T ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ.....	17
ตาราง 4 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ candidate SNPs....	29
ตาราง 5 แสดงการตั้งค่าอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR.....	30
ตาราง 6 แสดงข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย	34
ตาราง 7 แสดงรายการยาอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับร่วมกับยาฟิโนบาร์บิทัลและระดับนัยสำคัญทาง คลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา	36
ตาราง 8 แสดงรายการโรคอื่นๆ ที่ผู้ป่วยเป็นร่วม.....	39
ตาราง 9 แสดงความถี่อัลลีล (allele frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน <i>CYP2C9</i> <i>CYP2C19</i> และ <i>ABCB1</i> ของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย	40
ตาราง 10 แสดงความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน <i>CYP2C9</i> <i>CYP2C19</i> และ <i>ABCB1</i> ของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย	41
ตาราง 11 แสดงความถี่อัลลีลของยีน <i>CYP2C9</i> ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่างๆ.....	42
ตาราง 12 แสดงความถี่อัลลีลของยีน <i>CYP2C19</i> ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่างๆ.....	43
ตาราง 13 แสดงความถี่อัลลีลของ <i>ABCB1</i> 3435C>T ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติ ต่างๆ.....	44
ตาราง 14 แสดงขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์ของ <i>CYP2C9</i> *3 <i>CYP2C19</i> *2 และ <i>ABCB1</i> 3435C>T	45
ตาราง 15 แสดงขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์ของ <i>CYP2C9</i> *3 และ <i>CYP2C19</i> *2.....	46

ตาราง 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเพศกับขนาดยาฟีนobarbitalของผู้ป่วยอาสาสมัคร จำนวน 110 ราย.....	49
ตาราง 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างประเภทของโรคลมชักกับขนาดยาฟีนobarbitalของผู้ป่วย อาสาสมัครจำนวน 110 ราย	50
ตาราง 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอันตรกิริยาของยากับขนาดยาฟีนobarbitalของ ผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย	52
ตาราง 19 แสดงระดับยาฟีนobarbitalในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม จีโนไทป์ของ <i>CYP2C9*3</i> <i>CYP2C19*2</i> และ <i>ABCB1 3435C>T</i>	54
ตาราง 20 แสดงระดับยาฟีนobarbitalในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม จีโนไทป์ของ <i>CYP2C9*3</i> และ <i>CYP2C19*2</i>	55
ตาราง 21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเพศกับระดับยาฟีนobarbitalในเลือดของผู้ป่วย อาสาสมัครจำนวน 110 ราย	58
ตาราง 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างประเภทของโรคลมชักกับระดับยาฟีนobarbitalในเลือด ของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย.....	59
ตาราง 23 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอันตรกิริยาของยากับระดับยาฟีนobarbitalใน เลือดของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย.....	60
ตาราง 24 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยของตัวแปรต่างๆในโมเดลกับความสัมพันธ์ ของความผันแปรของระดับยาฟีนobarbitalในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วย.....	62
ตาราง 25 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างความผันแปรของระดับยาฟีนobarbitalในเลือดต่อ ขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยกับตัวแปร <i>CYP2C9*3</i> <i>CYP2C19*2</i> <i>ABCB1 3435C>T</i> การเกิด อันตรกิริยาระหว่างยา และเพศ.....	62
ตาราง 26 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชัก ที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital (phenobarbital-responsive epilepsy) และ กลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital (phenobarbital- resistant epilepsy).....	64
ตาราง 27 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยโลจิสติกของตัวแปรต่างๆ ในโมเดลกับความสัมพันธ์ ของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbitalของผู้ป่วย.....	66

ตาราง 28 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล
กับตัวแปร *ABCB1* 3435C>T ประเภทของโรคลมชัก และเพศ..... 66

ตาราง 29 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของความผันแปรในยีน *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่
เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยอาสาสมัคร
จำนวน 110 ราย..... 67

ตาราง 30 แสดงระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา..... 95

ตาราง 31 แสดงความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน
CYP2C9 *CYP2C19* และ *ABCB1* ในผู้ป่วยอาสาสมัคร 110 ราย และการทดสอบสมมูลฮาร์ดี-
ไวน์เบิร์กด้วย Chi-square test..... 99



สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูป 1 แสดงโครงสร้างยาฟิโนบาร์บิทัล	7
รูป 2 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยาฟิโนบาร์บิทัลและยากันชักอื่นๆ ที่มีผลต่อ GABA _A receptors	8
รูป 3 แสดงวิถีทางในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัลในร่างกาย	9
รูป 4 แสดงตำแหน่งของยีน <i>CYP2C9</i> และ <i>CYP2C19</i> บนโครโมโซมคู่ที่ 10	12
รูป 5 แสดงแผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	25

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CYP2C9	cytochrome P450 2C9
CYP2C19	cytochrome P450 2C19
ABCB1	ATP-binding cassette subfamily B member 1
SNPs	Single-nucleotide polymorphisms
mean ± S.D.	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
OR	odds ratio
95% CI	95% confidence interval
<i>r</i>	Coefficient correlation
χ^2	ไคสแควร์
d.f.	Degree of freedom
มก.	มิลลิกรัม
กก.	กิโลกรัม
มคล.	ไมโครลิตร
ล./กก.	ลิตรต่อกิโลกรัม
มก./วัน	มิลลิกรัมต่อวัน
นก./มคล.	นาโนกรัมต่อไมโครลิตร
มคก./มล.	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
มก./กก./วัน	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน
(มคก./มล.)/(มก./กก.)	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
มล./ชม./กก.	มิลลิลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคลมชัก (epilepsy) คือ โรคที่เกิดจากภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลันของการทำงานของเซลล์สมอง โดยมีการปลดปล่อยคลื่นไฟฟ้าที่ผิดปกติออกมาจากเซลล์สมองจำนวนมากพร้อมๆ กันจากสมองจุดหนึ่งกระจายไปสู่สมองส่วนอื่นๆ ซึ่งจะเกิดขึ้นซ้ำโดยที่ไม่มีปัจจัยกระตุ้น (precipitating factor) ชัดเจน อาจพบพยาธิสภาพในสมองหรือไม่ก็ได้ (1) โดยโรคลมชักเป็นโรคที่พบบ่อยทางระบบประสาท องค์การอนามัยโลกได้รายงานจำนวนผู้ป่วยโรคลมชักทั่วโลกประมาณ 50 ล้านคน (2) สำหรับประเทศไทยนั้นพบความชุกของผู้ป่วยโรคลมชักในอัตรา 5.9-7.2 ต่อประชากร 1,000 คน (3, 4)

วิธีการหลักในการรักษาโรคลมชักในปัจจุบัน คือ การใช้ยากันชัก แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักประมาณร้อยละ 30 ยังไม่สามารถควบคุมอาการชักได้แม้จะได้รับการรักษาด้วยยากันชักที่เหมาะสมแล้วก็ตาม (5) ส่งผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพร่างกาย การดำเนินชีวิตประจำวันและสังคมของผู้ป่วย รวมทั้งอาจเสี่ยงต่อการเสียชีวิตก่อนวัยอันควร (6)

การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักที่แตกต่างกันของผู้ป่วยแต่ละรายอาจเนื่องมาจากลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ได้แก่ การดูดซึมยา (absorption) การกระจายยา (distribution) การเปลี่ยนแปลงยา (metabolism) และการกำจัดยาออกจากร่างกาย (excretion) ของยาที่ผันแปรในแต่ละบุคคล (7, 8) ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อความผันแปรดังกล่าว สามารถจำแนกได้ดังนี้ คือ ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors) ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ เช่น กระบวนการเปลี่ยนแปลงยา หรือกระบวนการนำส่งยา และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (non-genetic factors) ได้แก่ อายุ เพศ ประเภทของการชัก และการเกิดอันตรกิริยาจากยาที่ใช้ร่วมกัน เป็นต้น (9, 10)

ฟีนobarบิทัล (Phenobarbital) เป็นยากันชักที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีข้อดี คือ หาซื้อได้ง่าย ราคาไม่แพง ออกฤทธิ์กว้างครอบคลุม บริหารง่าย นอกจากนี้ยาฟีนobarบิทัลยังได้รับการยอมรับจากองค์การอนามัยโลกให้เลือกใช้เป็นยาตัวแรก (Drug of choice)

ในการรักษาโรคลมชักประเภท partial seizures และ generalized tonic-clonic seizures สำหรับประเทศที่กำลังพัฒนา (11, 12) รวมไปถึงรักษาโรคลมชักในเด็กแรกเกิดอีกด้วย (13) แต่กลับมีบางการศึกษาพบว่าประเทศที่พัฒนาแล้วจะมีอัตราการหยุดยาฟิโนบาร์บิทัลสูง เนื่องจากตัวยาฟิโนบาร์บิทัลมีช่วงการรักษาที่แคบ (15.0 - 40.0 มคก./มล.) (14) ซึ่งอาจทำให้การใช้ยาไม่มีประสิทธิภาพหรือเกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยาในขนาดที่ต่ำหรือสูงจนเกินไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องปรับขนาดยาให้อยู่ในช่วงของการรักษา

ฟิโนบาร์บิทัลเป็นยาที่มีคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ค่อนข้างซับซ้อน มี metabolic pathways ที่หลากหลาย ดังนี้คือ ถูกขับออกทางไตในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลง (unchanged form) ร้อยละ 25 และถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ CYP2C9 เป็นหลัก และ CYP2C19 เป็นส่วนน้อยโดยปฏิกิริยา hydroxylation ในสัดส่วนร้อยละ 25 ผ่านทางกระบวนการ glucosidation อีกร้อยละ 25 และผ่านทาง minor pathways อื่นๆ (15-17) ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยา จึงมีผลต่อการแสดงออกและมีความสำคัญต่อการกำหนดความไวต่อความเป็นพิษของยา (18) นอกจากนี้การกระจายยาเข้าสู่สมองเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของยาในการรักษาโรคลมชัก โดยพบว่า ตัวนำส่งยา (drug efflux transporter) ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มสมองเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่สามารถจำกัดการผ่านของยาเข้าสู่สมอง มีการศึกษาพบว่า ตัวนำส่งยาที่สำคัญและมีความเกี่ยวข้องกับการตี้อยา กันชักและยาอื่นๆ หลายชนิด คือ p-glycoprotein (p-gp) (19-25) โดย p-gp ถูกถ่ายทอดโดยยีน ABCB1 ซึ่งพบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรม และอาจส่งผลให้เกิดการตอบสนองต่อยาที่แตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในอดีต พบว่า ลักษณะทางคลินิกอื่นๆ ของผู้ป่วย เช่น อายุ เพศ ประเภทของโรคลมชัก และการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา เป็นต้น มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก (9, 10)

จากปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาฟิโนบาร์บิทัล ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดความแตกต่างของขนาดยาที่ใช้และระดับยาในเลือดของผู้ป่วยจนนำไปสู่ความแตกต่างของการตอบสนองต่อการรักษา จึงมีความจำเป็นต้องพิจารณาทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมร่วมกัน ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP2C9 CYP2C19 และ ABCB1 ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชักและระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด ตลอดจนการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย และหาแบบจำลองเพื่อ

อธิบายความสัมพันธ์ดังกล่าวเพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาให้การรักษาด้วยยาให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถควบคุมอาการชักได้และนำไปสู่การมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรมกับขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชักและระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด รวมถึงการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.2.2 หาแบบจำลองที่ใช้ปัจจัยความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรมในการอธิบายความแตกต่างของขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชักและระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด รวมถึงการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีขอบเขตในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *CYP2C9**3 1075A>C *CYP2C19**2 681G>A และ *ABCB1* 3435C>T ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรมกับขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชัก ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย และหาแบบจำลองเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ดังกล่าว

1.4 สมมติฐานของการวิจัย

ปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* (*CYP2C9**3 1075A>C *CYP2C19**2 681G>A และ *ABCB1* 3435C>T) และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกัพันธุกรรมมีความสัมพันธ์กับขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชัก ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด หรือการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการทำวิทยานิพนธ์

1.5.1 ได้ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชัก ระดับยาฟีนobarบิทัลในเลือด และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย เพื่อใช้สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพิจารณาปรับขนาดหรือเลือกยาที่เหมาะสมในผู้ป่วยแต่ละราย

1.5.2 ได้แบบจำลองเบื้องต้นซึ่งใช้ปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมเพื่อใช้ในการอธิบายความแตกต่างของขนาดยาฟีนobarบิทัลที่ใช้ควบคุมอาการชัก ระดับยาฟีนobarบิทัลในเลือด หรือการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัลของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

1.6 คำสำคัญ

CYP2C9

CYP2C19

ABCB1

Polymorphism

Non-genetic factors

Phenobarbital doses

Phenobarbital blood levels

Phenobarbital response

Epilepsy

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคลมชัก (Epilepsy)

โรคลมชัก (epilepsy) คือ โรคที่เกิดจากภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลันของการทำงานของเซลล์สมอง โดยมีการปลดปล่อยคลื่นไฟฟ้าที่ผิดปกติออกมาจากเซลล์สมองจำนวนมากพร้อมๆ กันจากสมองจุดหนึ่งกระจายไปสู่สมองส่วนอื่นๆ ซึ่งจะเกิดขึ้นซ้ำโดยที่ไม่มีปัจจัยกระตุ้น (precipitating factor) ชัดเจน อาจพบพยาธิสภาพในสมองหรือไม่ก็ได้ (1) โดยโรคลมชักเป็นโรคที่พบบ่อยทางระบบประสาท และจากการสำรวจในประเทศไทยพบว่า อัตราความชุกของโรคลมชักอยู่ในระหว่าง 5.9 - 7.2 ต่อประชากร 1,000 คน ถ้าคำนวณจากประชากรของประเทศในปัจจุบันจำนวน 65 ล้านคน คาดว่าจะมีผู้ป่วยโรคลมชักประมาณ 383,500 ถึง 468,000 คน (3, 4) อาการชักที่เกิดขึ้นนั้นส่งผลกระทบต่อสุขภาพร่างกาย การดำเนินชีวิตประจำวันและสังคมของผู้ป่วย ส่งผลให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตลดลง รวมทั้งผลกระทบต่อรายจ่ายจำนวนมากในการดูแลรักษา

การวินิจฉัยจำแนกประเภทและสาเหตุของโรคลมชัก ส่วนใหญ่อาศัยประวัติและการตรวจร่างกายร่วมกับการพิจารณาอาการทางคลินิกของผู้ป่วยเป็นสำคัญ เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้องเหมาะสม ซึ่งการจำแนกประเภทของโรคลมชักตามแนวทางของ International League Against Epilepsy หรือ ILAE (1989) (26) โดยพิจารณาจากลักษณะของการชักและความผิดปกติของคลื่นไฟฟ้าสมองเป็นหลัก ร่วมกับลักษณะทางคลินิกอื่นๆ สามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภทได้แก่

- Localization related epilepsy (focal epilepsy) ได้แก่ กลุ่มโรคลมชักที่มีอาการชักเริ่มต้นจากสมองที่มีคลื่นไฟฟ้าผิดปกติเฉพาะส่วน
- Generalized epilepsy ได้แก่ กลุ่มโรคลมชักที่มีการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าสมองจากบริเวณทั้ง 2 ซีกของสมองพร้อมกันตั้งแต่เริ่มแรกขณะที่มีอาการชัก
- Undetermined epilepsy ได้แก่ กลุ่มโรคลมชักที่ยังไม่สามารถจำแนกได้ชัดเจนว่าอยู่ในกลุ่ม localization related epilepsy หรือ generalized epilepsy
- Special syndrome ได้แก่ กลุ่มโรคลมชักอื่นๆที่มีลักษณะการพยากรณ์โรคที่จำเพาะกับกลุ่มอาการนั้นๆ

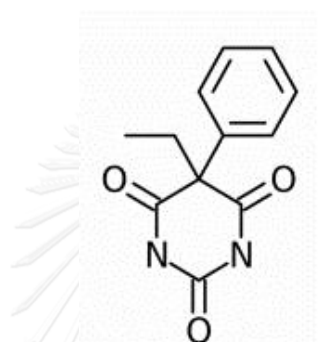
หลักการรักษาโรคลมชักมีหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การรักษาที่สาเหตุของการชัก การหลีกเลี่ยงและควบคุมปัจจัยกระตุ้น การใช้ยากันชักเพื่อควบคุมอาการชัก การผ่าตัดรักษาโรคลมชักในกรณีที่ผู้ป่วยไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก รวมถึงการดูแลรักษาทางจิตใจและสังคมของผู้ป่วย (1) ซึ่งเป้าหมายสำคัญของการรักษาโรคลมชัก คือ ป้องกันไม่ให้เกิดการชักของผู้ป่วยและไม่เกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยากันชัก เพื่อให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดี (5) สำหรับวิธีการหลักในการรักษาโรคลมชักในปัจจุบัน คือ การใช้ยากันชัก โดยหลักการเริ่มยากันชักต้องพิจารณาถึงประโยชน์ที่ได้ในการควบคุมการชักเปรียบเทียบกับโอกาสในการเกิดผลข้างเคียงจากยากันชัก สำหรับแนวทางการบริหารยากันชัก จะต้องเลือกชนิดของยาให้เหมาะสมกับลักษณะการชักของผู้ป่วย ใช้ยากันชักชนิดเดียวก่อนหากไม่สามารถคุมการชักได้จึงพิจารณาใช้ยาหลายชนิดร่วมกัน และเริ่มใช้ยากันชักในขนาดน้อยๆ ก่อนแล้วจึงปรับขนาดเพิ่มให้สามารถควบคุมอาการชักได้โดยไม่เกิดผลข้างเคียงแต่อย่างใดก็ตาม พบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักประมาณร้อยละ 30 ยังไม่สามารถควบคุมอาการชักได้แม้จะได้รับการรักษาด้วยยากันชักที่เหมาะสมแล้วก็ตาม (5) ส่งผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพร่างกาย การดำเนินชีวิตประจำวันและสังคมของผู้ป่วย รวมทั้งอาจเสี่ยงต่อการเสียชีวิตก่อนวัยอันควร (6)

การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักที่แตกต่างกันของผู้ป่วยแต่ละรายอาจเนื่องมาจากลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ได้แก่ การดูดซึมยา (absorption) การกระจายยา (distribution) การเปลี่ยนแปลงยา (metabolism) และการกำจัดยาออกจากร่างกาย (excretion) ของยาที่ผันแปรในแต่ละบุคคล (7, 8) ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อความผันแปรดังกล่าว สามารถจำแนกได้ดังนี้ คือ ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors) ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ เช่น กระบวนการเปลี่ยนแปลงยา หรือกระบวนการนำส่งยา และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (non-genetic factors) ได้แก่ อายุ เพศ ประเภทของการชัก และการเกิดอันตรกิริยาจากยาที่ใช้ร่วมกัน เป็นต้น (9, 10)

2.2 ยาฟีโนบาร์บิทัล (phenobarbital; PB)

ฟีโนบาร์บิทัล (Phenobarbital; PB) เป็นยากันชักที่มีการใช้มาอย่างยาวนาน ถูกสังเคราะห์ขึ้นในปี ค.ศ. 1911 โดยนักเคมีชาวเยอรมัน ชื่อ Emil Fischer และพบคุณสมบัติในการเป็นยาด้านชักครั้งแรกโดย Alfred Hauptmann (11) ฟีโนบาร์บิทัลเป็นยากันชักที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น 5-ethyl-phenylbarbituric acid ดังแสดงในรูปที่ 1 ปัจจุบันฟีโนบาร์บิทัลยังคงเป็นยา

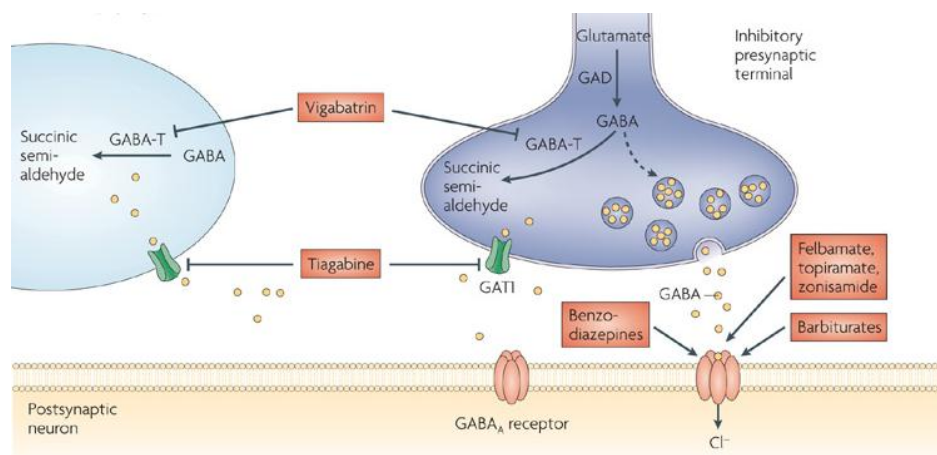
กันชักที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีข้อดี คือ หาซื้อได้ง่าย ราคาไม่แพง ออกฤทธิ์กว้าง ครอบคลุม บริหารอย่างง่าย นอกจากนี้ยาฟิโนบาร์บิทัลยังได้รับการยอมรับจากองค์การอนามัยโลก ให้เลือกใช้เป็นยาตัวแรก (Drug of choice) ในการรักษาโรคลมชักประเภท partial seizures และ generalized tonic-clonic seizures สำหรับประเทศที่กำลังพัฒนา (11, 12) รวมไปถึงรักษาโรคลมชักในเด็กแรกเกิดอีกด้วย (13) แต่กลับมีบางการศึกษาพบว่าประเทศที่พัฒนาแล้วจะมีอัตราการหยุดยาฟิโนบาร์บิทัลสูง เนื่องจากตัวยาฟิโนบาร์บิทัลมีช่วงการรักษาที่แคบ (15.0 - 40.0 มคก./มล.) (14) ซึ่งอาจทำให้การใช้ยาไม่มีประสิทธิภาพหรือเกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยาในขนาดที่ต่ำหรือสูงจนเกินไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องปรับขนาดยาให้อยู่ในช่วงของการรักษา



รูป 1 แสดงโครงสร้างยาฟิโนบาร์บิทัล (27)

2.2.1 คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาและกลไกการออกฤทธิ์ของยาฟิโนบาร์บิทัล

ฟิโนบาร์บิทัลเป็นยาในกลุ่ม barbiturate มีฤทธิ์ในการต้านการชัก คลายกังวลและช่วยในการระงับประสาท ซึ่งคุณสมบัติของยาขึ้นอยู่กับขนาดยาที่ใช้ มีการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ต้านการชักของยาฟิโนบาร์บิทัล โดยเชื่อว่ามีข้องเกี่ยวกับการทำงานของสารสื่อประสาทและตัวรับต่างๆ ในระบบประสาท ได้แก่ การเพิ่มระดับการทำงานของสารสื่อประสาท gamma-aminobutyric acid (GABA) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้ง (inhibitory neurotransmitter) และเพิ่ม threshold ของการเกิด electro stimulation ที่ motor cortex นอกจากนี้ยังมีความเป็นไปได้ว่ายาฟิโนบาร์บิทัลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ calcium channels ทำให้ลดการปลดปล่อยสารสื่อประสาทประเภทกระตุ้น (excitatory neurotransmitter) และอาจยับยั้งการทำงานของ glutamate receptors อีกด้วย (28, 29)

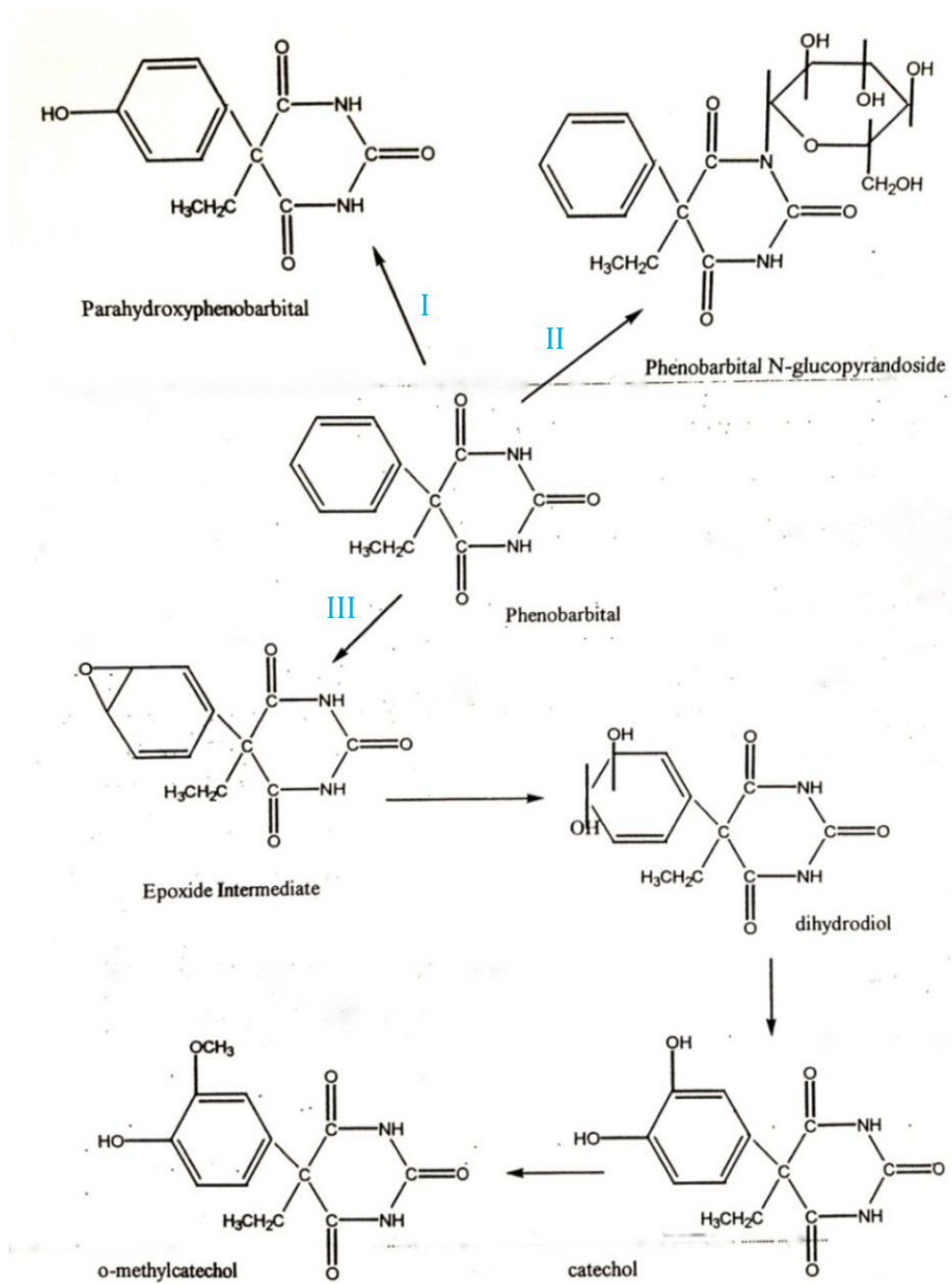


รูป 2 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยาฟีนobarบิทัลและยากันชักอื่นๆ
ที่มีผลต่อ GABA_A receptors (28)

2.2.2 คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาฟีนobarบิทัล

ยาฟีนobarบิทัลถูกดูดซึมได้ดีในทางเดินอาหาร โดยมีค่า bioavailability มากกว่าร้อยละ 95 ระยะเวลาที่ความเข้มข้นของยาในพลาสมาจะถึงระดับสูงสุดประมาณ 0.5-4 ชั่วโมง หลังรับประทานยา (30) ยาฟีนobarบิทัลมีค่าปริมาตรของการกระจายตัวของยา (volume of distribution) เฉลี่ยประมาณ 0.54-0.73 ล./กก. ในผู้ใหญ่ 0.8-1 ล./กก. ในเด็กแรกเกิด และ 0.57-0.7 ล./กก. ในเด็ก (30-32) นอกจากนี้ยาฟีนobarบิทัลยังมีความสามารถในการจับกับโปรตีนอัลบูมินประมาณร้อยละ 55 ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ (33)

กระบวนการเปลี่ยนแปลงยาฟีนobarบิทัลเกิดได้หลายวิถีทาง ดังแสดงในรูปที่ 3 โดยร้อยละ 25 ของยาถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลง (15) แต่ส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนแปลงผ่านทางตับได้เมแทบอไลต์หลัก 2 ตัวคือ 9-D-glucopyranosylphenobarbital โดยปฏิกิริยา glucosidation ประมาณร้อยละ 25 และ *p*-hydroxyphenobarbital โดยปฏิกิริยา aromatic hydroxylation อีกร้อยละ 25 (16) ซึ่งในปฏิกิริยา hydroxylation นี้ จะอาศัยระบบเอนไซม์ cytochrome P450 คือ CYP2C9 เป็นหลัก และผ่านทาง CYP2C19 เป็นส่วนน้อย (17) ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมของเอนไซม์ cytochrome P450 จึงอาจมีผลต่อระดับยาฟีนobarบิทัลในร่างกายและมีความสำคัญต่อการกำหนดความไวต่อความเป็นพิษของยา (18)



รูป 3 แสดงวิถีทางในการเปลี่ยนแปลงยาฟีนobarบิทัลในร่างกาย (16)

ในรูปที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของยาฟีนobarบิทัลในตับ โดยยาฟีนobarบิทัล จะถูกเปลี่ยนแปลงได้ 3 ทาง ดังนี้

(I) เปลี่ยนแปลงเป็น *p*-hydroxyphenobarbital ซึ่งเป็นเมแทบอลิต์หลักโดยปฏิกิริยา aromatic hydroxylation โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ CYP2C9 เป็นหลัก จะมี CYP2C19 และ CYP2E1 เป็นส่วนน้อย จากนั้นจะเกิดการ conjugation กับ glucuronic acid ได้เป็น *p*-hydroxyphenobarbitalglucuronide ต่อไป

(II) เปลี่ยนแปลงเป็น phenobarbital *N*-glucopyrandoside ซึ่งเป็นเมแทบอลิต์หลัก โดยปฏิกิริยา glucosidation

(III) เปลี่ยนแปลงเป็น epoxide intermediate ซึ่งเป็นเมแทบอลิต์ส่วนน้อย จากนั้นจะเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น dihydrodiol โดยอาศัยเอนไซม์หรือเกิดขึ้นอย่าง spontaneous จากนั้นจะเปลี่ยนแปลงเป็น catechol โดยปฏิกิริยา oxidation และสุดท้ายจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น *o*-methylcatechol

สำหรับการขจัดยาฟีโนบาร์บิทัลออกจากร่างกาย ยาฟีโนบาร์บิทัลจะถูกขจัดออกจากร่างกายแบบ first-order หรือ linear kinetic คือ การขจัดของยาจะขึ้นอยู่กับขนาดยา และเป็นไปในรูปแบบที่เป็นเส้นตรง (34) โดยยาจะถูกขับออกทางไตเป็นหลักและขับทางอุจจาระเพียงเล็กน้อย ฟีโนบาร์บิทัลเป็นยากันชักที่มีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ยาวนานที่สุดตัวหนึ่ง โดยมีค่าครึ่งชีวิต (elimination half-life) ประมาณ 75-126 ชม. และมีค่าการขจัดออกของยาประมาณ 2.1-4.9 มล./ชม./กก. (30)

2.3 ปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับขนาดยา ระดับยา และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัล

ปัจจัยที่ส่งผลต่อความผันแปรของขนาดยา ระดับยา และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัลในผู้ป่วยแต่ละรายนั้นมีหลายปัจจัยด้วยกัน โดยสามารถแบ่งได้เป็น ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors) ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ เช่น กระบวนการเปลี่ยนแปลงยา หรือกระบวนการนำส่งยา และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (non-genetic factors) ได้แก่ อายุ เพศ ประเภทของการชัก และการเกิดอันตรกิริยาจากยาที่ใช้ร่วมกัน เป็นต้น (9, 10)

2.3.1 ปัจจัยทางพันธุกรรม (genetic factors)

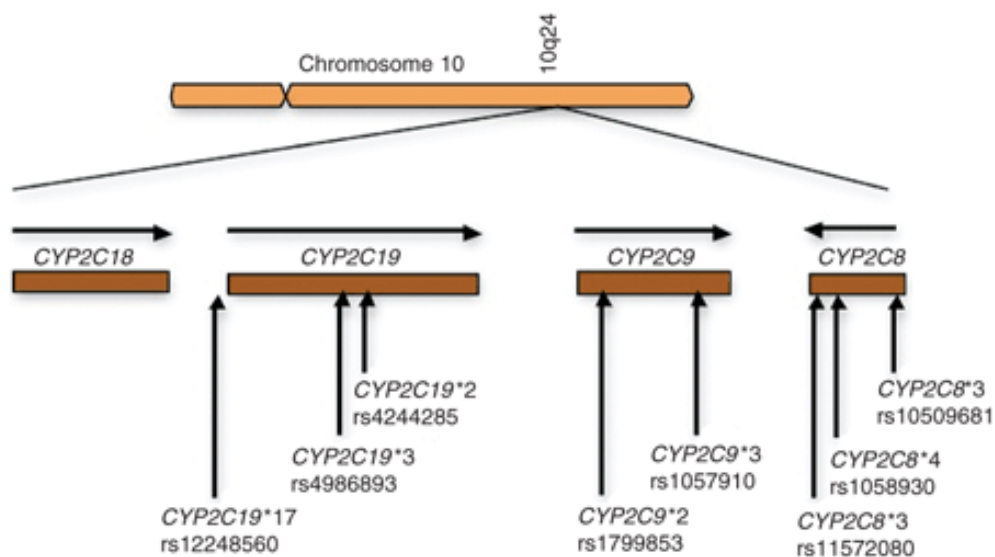
ฟีโนบาร์บิทัลเป็นยาที่มีคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ค่อนข้างซับซ้อน มี metabolic pathways ที่หลากหลาย โดยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาที่ตับซึ่งอาศัยการทำงานของระบบเอนไซม์ cytochrome P450 คือ CYP2C9 ซึ่งถูกถ่ายทอดโดยยีน *CYP2C9* และผ่านทาง CYP2C19 ซึ่งถูกถ่ายทอดโดยยีน *CYP2C19* ในปฏิกิริยา hydroxylation (17) นอกจากนี้ การกระจายยาเข้าสู่สมองเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของยาในการรักษา โรคลมชัก โดยพบว่าตัวนำส่งยา (drug efflux transporter) ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มสมองเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถจำกัดการผ่านของยาเข้าสู่สมอง มีการศึกษาพบว่า p-glycoprotein (p-gp) ซึ่งถูกถ่ายทอดโดยยีน *ABCB1* เป็นตัวนำส่งยาที่สำคัญและมีความเกี่ยวข้องกับการดื้อยากันชักและยาอื่นๆ หลายชนิด (19-25) ดังนั้น ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาและการนำส่งยาเหล่านี้ จึงอาจมีผลต่อระดับยาในร่างกายและมีความสำคัญต่อการกำหนดความไวต่อความเป็นพิษของยา ส่งผลต่อการตอบสนองต่อการรักษา ด้วยยาที่แตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล (18)

2.3.1.1 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน *CYP2C9*

CYP2C9 เป็นยีนที่ถ่ายทอดเอนไซม์ CYP2C9 ซึ่ง เอนไซม์ CYP2C9 เป็นเอนไซม์หลักที่มีบทบาทสำคัญในปฏิกิริยา aromatic hydroxylation ในกระบวนการเปลี่ยนแปลงยา ฟีโนบาร์บิทัล โดยยีน *CYP2C9* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 10 ร่วมกับยีนกลุ่ม *CYP2C* อื่นๆ (35) ดังแสดงในรูปที่ 4

การเกิดพหุสัณฐานของยีน *CYP2C9* โดยส่วนใหญ่จะพบการเกิด single nucleotide polymorphisms (SNPs) คือ เกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนชนิดของนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียว ส่งผลให้เอนไซม์มีการแสดงออกและการทำงานที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล โดย SNPs ที่พบได้บ่อย ได้แก่ *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3* (36) โดย *CYP2C9*2* เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 3 ในตำแหน่งที่ 430 จาก cytosine (C) เป็น thymine (T) ทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 144 เปลี่ยนจาก arginine (R) เป็น cysteine (C) ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยาของเอนไซม์ลดลงร้อยละ 29 (37) สำหรับ *CYP2C9*3* เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 7 ใน ตำแหน่งที่ 1075 จาก adenine (A) เป็น cytosine (C) ทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 359 เปลี่ยนจาก isoleucine (I)

เป็น leucine (L) ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยาของเอนไซม์ลดลงร้อยละ 93-95 (37, 38)



รูป 4 แสดงตำแหน่งของยีน *CYP2C9* และ *CYP2C19* บนโครโมโซมคู่ที่ 10 และแสดง SNPs ที่พบได้บ่อย (35)

สำหรับความถี่อัลลีล (allele frequencies) ของ *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3* พบว่า มีความหลากหลายและแตกต่างกันในประชากรแต่ละเชื้อชาติ กล่าวคือ ในประชากรชาวไทย และชาวเอเชียเชื้อสายต่างๆ จะไม่พบความถี่อัลลีลของ *CYP2C9*2* ยกเว้นในชาวเกาหลีและชาวอินเดียจะพบความถี่อัลลีลของ *CYP2C9*2* เล็กน้อย แต่ในชาวคอเคเซียนจะพบความถี่อัลลีลของ *CYP2C9*2* ในสัดส่วนที่สูงกว่า ในส่วนของ *CYP2C9*3* พบว่า ในชาวเอเชียจะมีความถี่อัลลีลในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกับชาวแอฟริกัน แต่จะค่อนข้างต่ำกว่าในชาวคอเคเซียน โดยความถี่อัลลีลของยีน *CYP2C9* ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตาราง 1 แสดงความถี่อัลลีลของยีน CYP2C9 ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

เชื้อชาติ	n	CYP2C9*2	CYP2C9*3	เอกสารอ้างอิง
Thai	240	0	0.03	Insaro (2010) (39)
Thai	178	0	0.03	Sangviroon และคณะ (2010) (40)
Thai	484	0	0.03	Kuanprasert และคณะ (2009) (41)
Chinese	4,254	0	0.03	D-P Dai และคณะ (2014) (42)
Chinese	196	0	0.03	Sullivan-Klose และคณะ (1996) (43)
Chinese	204	0	0.05	Gaedigk และคณะ (2001) (44)
Japanese	436	0	0.02	Nasu และคณะ (1997) (45)
Japanese	280	0	0.02	Miyuki และคณะ (1998) (46)
Korean	1,738	0	0.03	Lee และคณะ (2012) (47)
Malay	418	0.02	0.02	Ngow และคณะ (2009) (48)
Indian	204	0.05	0.04	Rathore และคณะ (2010) (49)
African	1,200	0.03	0.02	Scott และคณะ (2010) (50)
Caucasian	650	0.15	0.07	Gaedigk และคณะ (2001) (44)
Turkish	998	0.11	0.10	Aynacioglu และคณะ (1999) (51)
French	302	0.15	0.08	Yang และคณะ (2003) (52)

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนอัลลีล

ในส่วนของการศึกษาทางคลินิกนั้น มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP2C9 ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวญี่ปุ่น จำนวน 79 ราย พบว่าผู้ป่วยที่มี CYP2C9*3 และมีลักษณะจีโนไทป์เป็นแบบ heterozygous variants คือ CYP2C9*1/*3 จะมีค่าการขจัดยาฟิโนบาร์บิทัลต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็นแบบ homozygous wild type (CYP2C9*1/*1) (53) จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่าความผิดแผกทางพันธุกรรมของเอนไซม์นี้ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา และอาจส่งผลกระทบต่อ การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล

2.3.1.2 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน CYP2C19

CYP2C19 เป็นยีนที่ถ่ายถอดเอนไซม์ CYP2C19 ซึ่งในปฏิกิริยา aromatic hydroxylation ของยาฟิโนบาร์บิทัลต้องอาศัยการทำงานของ CYP2C19 ด้วยเช่นกัน และยีน CYP2C19 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 10 เช่นเดียวกับยีน CYP2C9 (35) ดังแสดงในรูปที่ 4

การเกิดพหุสัณฐานของยีน CYP2C19 มีอยู่มากมาย ซึ่ง SNPs ที่พบได้บ่อยในประชากร ได้แก่ CYP2C19*2 และ CYP2C19*3 โดย CYP2C19*2 เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 5 ในตำแหน่งที่ 681 จาก guanine (G) เป็น adenine (A) ทำให้เกิดความบกพร่องในการเชื่อมต่อของ exon (splicing defect) ส่งผลให้เอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาไม่มีประสิทธิภาพ สำหรับ CYP2C19*3 นั้น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 4 ในตำแหน่งที่ 636 จาก guanine (G) เป็น adenine (A) ทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 212 เปลี่ยนจาก tryptophan (W) เป็น stop codon ส่งผลให้เอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาไม่มีประสิทธิภาพ เช่นเดียวกัน (54)

การศึกษาความถี่อัลลีล (allele frequencies) ของ CYP2C19*2 และ CYP2C19*3 ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ พบว่า ในชาวไทยและชาวเอเชียเชื้อสายอื่นๆ จะมีความถี่อัลลีล CYP2C19*2 ในสัดส่วนที่สูงกว่าชาวคอเคเซียน สำหรับ CYP2C19*3 ไม่พบอัลลีลชนิดนี้ในชาวแอฟริกันและคอเคเซียน แต่จะพบได้บ้างในชาวเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น และเกาหลี โดยความถี่อัลลีลของยีน CYP2C19 ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตาราง 2 แสดงความถี่อัลลีลของยีน *CYP2C19* ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

เชื้อชาติ	n	<i>CYP2C19</i> *2	<i>CYP2C19</i> *3	เอกสารอ้างอิง
Thai	240	0.27	0	Insaro (2010) (39)
Thai	1,548	0.29	0.03	Tassaneeyakul และคณะ (2006) (55)
Thai	242	0.35	0.05	Yamada และคณะ (2001) (56)
Chinese	386	0.30	0.03	He และคณะ (2002) (57)
Chinese	242	0.46	0.05	Yamada และคณะ (2001) (56)
Chinese	236	0.32	0.06	Goldstein และคณะ (1997) (58)
Japanese	434	0.27	0.11	Takakubo และคณะ (1996) (59)
Japanese	106	0.23	0.10	Goldstein และคณะ (1997) (58)
Korean	206	0.21	0.12	Roh และคณะ (1996) (60)
Indian	242	0.30	0	Lamba และคณะ (2000) (61)
African	216	0.25	0	Goldstein และคณะ (1997) (58)
Caucasian	210	0.13	0	Goldstein และคณะ (1997) (58)
Turkish	808	0.12	0	Aynacioglu และคณะ (1999) (62)

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนอัลลีล

สำหรับการศึกษาทางคลินิก Mamiya และคณะ (2000) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* และ *CYP2C19* กับค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาฟิโนบาร์บิทัลในผู้ป่วยโรคลมชักชาวญี่ปุ่น จำนวน 74 ราย พบว่า ผู้ป่วยที่มีลักษณะของจีโนไทป์แบบ homozygous variants ได้แก่ *CYP2C19**2/*2 หรือ *CYP2C19**2/*3 จะมีค่าการขจัดยาฟิโนบาร์บิทัลต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะของจีโนไทป์แบบ homozygous wild type (*CYP2C19**1/*1) และ heterozygous variants คือ *CYP2C19**1/*2 หรือ *CYP2C19**1/*3 แต่กลับไม่พบอิทธิพลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* ต่อยาฟิโนบาร์บิทัล (63) จากผลการศึกษาที่กล่าวมา อาจเป็นไปได้ว่า ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* และ *CYP2C19* ซึ่งส่งผลให้เกิดความแตกต่างของการแสดงออกและการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยา ทำให้เกิดความผันแปรในกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา อาจส่งผลต่อการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วย

2.3.1.3 พหุสัณฐาน (polymorphisms) ของยีน ABCB1

การกระจายยาเข้าสู่สมองเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของยาในการรักษาโรคลมชัก ซึ่งนอกจากคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของตัวยาเองแล้ว เช่น ความสามารถในการละลายในไขมัน ยังพบว่าตัวนำส่งยา (drug efflux transporter) ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มสมองเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่สามารถจำกัดการผ่านของยาเข้าสู่สมอง ซึ่งอาจส่งผลต่อลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา ทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาและการตอบสนองต่อยากันชักของผู้ป่วยแตกต่างกันได้ มีการศึกษาพบว่าตัวนำส่งยาที่สำคัญและมีความสัมพันธ์กับการดื้อยากันชักและยาอื่นๆ หลายชนิด คือ p-glycoprotein (p-gp) (19-24, 64)

P-gp เป็น efflux transporters ทำหน้าที่ขนส่งยาออกจากเซลล์ไปสู่ช่องนอกเซลล์ โดยต้านกับ concentration gradient และถูกจัดอยู่ในกลุ่ม adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette (ABC) superfamily ของ transmembrane proteins ซึ่งอาศัยพลังงานจาก ATP hydrolysis ในการนำส่งยาผ่าน biologic membrane มีน้ำหนักโมเลกุล 170 kDa (65) p-gp สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของร่างกาย เช่น ลำไส้เล็ก ตับ blood-brain barrier และรก เป็นต้น (66) จากตำแหน่งที่ ABC transporters ปรากฏบนอวัยวะที่สำคัญเหล่านี้ ทำให้มีบทบาทในการจำกัดปริมาณยาหรือสารแปลกปลอมต่างๆ จาก intestinal lumen ไปสู่ enterocytes รวมทั้งจำกัดการผ่านของยาจากระบบเลือดเข้าสู่สมองหรือทางรกได้ นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการเพิ่มหรือเร่งการกำจัดยาออกจาก hepatocytes renal tubule intestinal epithelial cells ไปสู่ luminal spaces และขับออกไปจากร่างกายอีกด้วย

P-gp ถูกถ่ายทอดโดยยีน ABCB1 และพบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรม Hoffmeyer และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน ABCB1 ในชาวคอเคเซียนจำนวน 15 SNPs พบว่ามีเพียง ABCB1 3435C>T ที่มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกและหน้าที่ของ p-gp (67) และอาจมีความสัมพันธ์กับการดื้อยากันชักในผู้ป่วยโรคลมชัก (68-70) โดย ABCB1 3435C>T เกิดจากการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 26 ในตำแหน่ง 3435 จาก cytosine (C) เป็น thymine (T) แต่กรดอะมิโนที่ได้นั้น จะยังคงเป็น isoleucine (I) เช่นเดิม เรียกการเกิด SNP ในลักษณะนี้ว่า synonymous SNP อย่างไรก็ตามการเกิดความผันแปรนี้ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ mRNA ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ substrate ด้วย ส่งผลให้เกิดการยับยั้ง target-binding sites ของ p-gp (71) นอกจากนี้มีความเป็นไปได้ว่า ABCB1 3435C>T มี linkage disequilibrium กับ non-synonymous SNP อื่นที่มีผลต่อการควบคุมการแสดงออกและการทำงานของ p-gp (67, 72, 73)

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า ความถี่อัลลีล (allele frequencies) ของ *ABCB1* 3435C>T ในประชากรแต่ละเชื้อชาติจะมีความแตกต่างกันออกไป โดยพบว่าในชาวแอฟริกันจะมีความถี่ของ T allele น้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับประชากรเชื้อชาติอื่นๆ โดยความถี่อัลลีลของยีน *ABCB1* ในประชากรเชื้อชาติต่างๆแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตาราง 3 แสดงความถี่อัลลีลของ *ABCB1* 3435C>T ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

เชื้อชาติ	n	C allele	T allele	เอกสารอ้างอิง
Thai	208	0.52	0.48	Buathet (2012) (74)
Thai	240	0.56	0.44	Insaro (2010) (39)
Chinese	196	0.46	0.54	Balram และคณะ (2003) (75)
Chinese	264	0.53	0.47	Ameyaw และคณะ (2001) (76)
Chinese	192	0.47	0.53	Chowbay และคณะ (2003) (77)
Japanese	200	0.51	0.49	Tanabe และคณะ (2001) (78)
Korean	170	0.56	0.44	Kim และคณะ (2006) (79)
Malay	184	0.49	0.51	Chowbay และคณะ (2003) (77)
Indian	174	0.37	0.63	Chowbay และคณะ (2003) (77)
African	412	0.83	0.17	Ameyaw และคณะ (2001) (76)
Caucasian	922	0.46	0.54	Cascorbi และคณะ (2001) (80)
Iranian	600	0.66	0.34	Farnood และคณะ (2007) (81)
French	454	0.54	0.46	Jeannesson และคณะ (2007) (82)

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนอัลลีล

เนื่องจากมีรายงานการศึกษาในสัตว์จำพวก rodent และการศึกษาในหลอดทดลอง (in vitro) พบว่า ฟีนobarbital มีคุณสมบัติเป็น substrate ของ p-gp (24, 83) จึงมีการศึกษาทางคลินิกถึงผลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *ABCB1* 3435C>T ต่อปริมาณยาฟีนobarbital ที่เข้าสู่สมองผู้ป่วยโรคลมชักชาวโครเอเชีย ผลการศึกษาพบว่า ระดับความเข้มข้นของยาฟีนobarbital ในน้ำไขสันหลัง และอัตราส่วนความเข้มข้นของยาฟีนobarbital ในน้ำไขสันหลังต่อซีรัมของผู้ป่วยกลุ่มที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็น CC จะมีระดับต่ำกว่ากลุ่ม CT และ TT ซึ่งชี้ให้เห็นว่าฟีนobarbital อาจจะสามารถเข้าสู่สมองได้น้อยลงในกลุ่มที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็น CC นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ป่วยที่มีระดับความเข้มข้นของยาฟีนobarbital ในน้ำไขสันหลัง หรือมีอัตราส่วนความเข้มข้นของยาฟีนobarbital ในน้ำ

ไซส์หลังต่อซีรัมที่ต่ำ จะมีอุบัติการณ์การชักเกิดขึ้นได้สูงกว่า ($p = 0.001$) หรือกล่าวได้ว่า ผู้ป่วยกลุ่มที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็น CC จะมีความถี่ในการชักสูงกว่ากลุ่ม CT หรือ TT ($p < 0.001$) (84) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *ABCB1* กับระดับยากันชักชนิดอื่น คือ ยา lamotrigine ในผู้ป่วยลมชักชาวโครเอเชีย พบว่า ผู้ป่วยลมชักที่มีลักษณะเป็น 1236C–2677G–3435C carriers จะมีระดับความเข้มข้นของยา lamotrigine ในซีรัมสูงกว่าผู้ป่วยที่เป็น 1236T–2677G–3435T carriers ($p < 0.001$) ซึ่งให้เห็นว่า ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *ABCB1* 1236C>T 2677G>T/A 3435C>T มีอิทธิพลต่อระดับยา lamotrigine ในซีรัม (85) แต่กลับมีบางการศึกษาที่ให้ผลขัดแย้งกัน เช่น การศึกษาของ Kwan และคณะ ซึ่งศึกษาผลของการแสดงออกของ p-gp ต่อการลดการสะสมของปริมาณยากันชักในสมองของผู้ป่วยลมชักชาวจีนฮั่น พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่ติดต่อยากันชักจะมีลักษณะของจีโนไทป์เป็น *ABCB1* 3435TT ($p = 0.0009$) ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาในชาวคอเคเซียนที่พบว่า ผู้ป่วยที่มีลักษณะของจีโนไทป์เป็น *ABCB1* 3435CC จะมีการติดต่อยากันชักมากกว่าจีโนไทป์อื่น (86) นอกจากนี้ยังมีอีกหลายการศึกษาที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *ABCB1* 3435C>T ต่อการตอบสนองต่อยากันชัก (5, 87) จึงมีความเป็นไปได้ว่าบทบาทของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *ABCB1* ต่อการตอบสนองของการรักษาด้วยยากันชักอาจจะแตกต่างกันในประชากรแต่ละเชื้อชาติ (86) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่ออธิบายความแตกต่างดังกล่าว

2.3.2 ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม (non-genetic factors)

ในส่วนของปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม มีรายงานการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าลักษณะทางคลินิกต่างๆ เช่น อายุ เพศ ประเภทของโรคลมชัก และการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาที่ใช้ร่วมกัน เป็นต้น เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของเภสัชจลนศาสตร์ของยาในแต่ละบุคคล นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษา พบความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักกับปัจจัยทางคลินิกอื่นๆ ได้แก่ อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก สาเหตุของการชัก ประเภทของการชัก ประวัติการติดเชื้อในสมองหรือเคยได้รับการบาดเจ็บทางสมอง และประวัติการเป็น status epilepticus เป็นต้น (9, 10, 88, 89)

2.3.2.1 อายุ

ปัจจัยอายุมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ที่เปลี่ยนแปลงไปของยา กล่าวคือ อายุที่เพิ่มขึ้นของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับการลดลงของการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร

และความสามารถในการดูดซึมยาของลำไส้เล็ก (90, 91) นอกจากนี้ในผู้สูงอายุจะมีการลดลงของกระบวนการ first pass metabolism ที่ตับ และมีการทำงานของไตที่ลดลง ทำให้การขจัดยาลดลง จึงส่งผลให้มีระดับยาในเลือดสูงขึ้น และอาจเกิดการสะสมของยาถึงระดับเป็นพิษได้ (92) มีการศึกษาทางคลินิกถึงอิทธิพลของอายุต่อระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในพลาสมาในผู้ป่วยโรคลมชัก พบว่าอายุที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนของความเข้มข้นของยาฟิโนบาร์บิทัลในพลาสมาต่อขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับ (93)

2.3.2.2 เพศ

เพศชายและเพศหญิงจะมีลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ที่แตกต่างกัน เนื่องจากในเพศชายจะมีน้ำเป็นองค์ประกอบในร่างกายและมีกล้ามเนื้อเนื้อมากกว่าเพศหญิง ในขณะที่เพศหญิงจะมีสัดส่วนของเนื้อเยื่อไขมันมากกว่าเพศชาย จึงอาจส่งผลต่อการกระจายของยาในร่างกายได้ กล่าวคือ ยาที่ละลายในไขมันได้ดีจะมีการกระจายและสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไขมันของเพศหญิงมากกว่าเพศชาย เป็นต้น (94) Hoffman และคณะ (1989) ได้ทำการศึกษาผลของเพศต่อระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในหนู พบว่า หนูเพศผู้จะมีระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดสูงกว่าหนูเพศเมีย (95) นอกจากนี้ Eadie และคณะ (1977) ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยเด็กโรคลมชัก พบว่า ผู้ป่วยเพศชายมีความต้องการขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลสูงกว่าเพศหญิง (96) แต่ในบางการศึกษากลับพบว่าผู้ป่วยโรคลมชักเพศหญิงจะมีระดับยากันชักในเลือดต่ำกว่าในเพศชาย (97) จากผลการศึกษาดังกล่าว จะเห็นว่ายังมีความขัดแย้งกันอยู่ในปัจจัยเรื่องเพศ

2.3.2.3 ประเภทของโรคลมชัก

มีการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มีอาการชักแบบ simple หรือ partial complex seizures จะมีระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดสูงกว่าผู้ป่วยที่มีอาการชักแบบ generalized tonic-clonic seizures (98) สอดคล้องกับข้อมูลการศึกษาผลของประเภทของโรคลมชักต่อการตอบสนองต่อการรักษาโรคลมชัก ซึ่งพบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักประเภท focal epilepsy มากกว่าร้อยละ 60 จะต้องการรักษาด้วยยามากกว่า ผู้ป่วยโรคลมชักประเภท primary generalized epilepsy ซึ่งพบว่ามีอัตราการต้อยาเพียงร้อยละ 20 (10)

2.3.2.4 การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

การรักษาโรคลมชักมีหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การรักษาที่สาเหตุของการชัก การหลีกเลี่ยงและควบคุมปัจจัยกระตุ้น การใช้ยากันชักเพื่อควบคุมอาการชัก การผ่าตัดรักษาโรคลมชัก เป็นต้น (1) ซึ่งวิธีการหลักในการรักษาโรคลมชักในปัจจุบัน คือ การใช้ยากันชัก โดยหลักการเริ่มยากันชักต้องพิจารณาถึงประโยชน์ที่ได้ในการควบคุมการชักเปรียบเทียบกับโอกาสในการเกิดผลข้างเคียงจากยากันชัก สำหรับแนวทางการบริหารยากันชัก จะต้องเลือกชนิดของยาให้เหมาะสมกับลักษณะการชักของผู้ป่วยและเริ่มใช้ยากันชักชนิดเดียวก่อน หากไม่สามารถคุมการชักได้จึงพิจารณาใช้ยาหลายชนิดร่วมกัน ซึ่งพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มักจะใช้ยากันชักร่วมกันหลายชนิดในการควบคุมอาการชัก ดังนั้นจึงมีโอกาสเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาที่ได้รับร่วมกัน และอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับยาในเลือดรวมถึงผลต่อการตอบสนองต่อการรักษา

การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยานั้นเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาฟิโนบาร์บิทัล โดยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัลที่ตับนั้น จะอาศัยเอนไซม์ CYP2C9 และ CYP2C19 ช่วยในปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ดังนั้นหากได้รับยาร่วมที่มีคุณสมบัติก่อให้เกิดการเหนี่ยวนำหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ ก็อาจส่งผลต่อการขจัดยาฟิโนบาร์บิทัล รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของขนาดหรือระดับยาฟิโนบาร์บิทัล เช่น ในการศึกษาของ Glue และคณะ (1997) พบว่า ยา felbamate ซึ่งมีคุณสมบัติก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2C19 จะมีผลทำให้ค่าการขจัดของยาฟิโนบาร์บิทัลลดลงร้อยละ 24 (99) นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อให้ยาฟิโนบาร์บิทัลร่วมกับยา valproic acid ซึ่งมีคุณสมบัติก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของทั้งเอนไซม์ CYP2C9 และ CYP2C19 จะมีผลทำให้ค่าการขจัดของยาฟิโนบาร์บิทัลลดลงร้อยละ 25 (100, 101)

จากปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาฟิโนบาร์บิทัล ซึ่งอาจทำให้เกิดความแตกต่างของขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชัก และระดับยาในเลือดของผู้ป่วย ตลอดจนการตอบสนองต่อการรักษา จึงมีความจำเป็นที่จะต้องพิจารณาทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรม และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมร่วมกัน อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยดังกล่าวร่วมกันต่อขนาดยา ระดับยา และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล ประกอบกับยังไม่มีการศึกษาในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP2C9 CYP2C19 และ ABCB1 ซึ่งได้แก่ CYP2C9*3 CYP2C19*2 และ ABCB1 3435C>T ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชัก ระดับยาในเลือด และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล

ในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย และหาแบบจำลองเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ดังกล่าว เพื่อเป็นข้อมูลซึ่งอาจนำไปสู่การพิจารณาให้การรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลแบบเฉพาะบุคคลที่มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถควบคุมอาการชักได้และนำไปสู่การมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ลักษณะตัวอย่างหรือประชากรที่ทำการศึกษา

3.1.1 ประชากรเป้าหมาย

ประชากรเป้าหมายในการศึกษานี้ คือ ผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทยที่ได้รับการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลที่แผนกผู้ป่วยนอก คลินิกประสาทวิทยา ของโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และสถาบันประสาทวิทยา กรุงเทพมหานคร

3.1.2 การเลือกตัวอย่าง

ทำการคัดเลือกผู้ป่วยอาสาสมัครเข้าร่วมการวิจัยตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria) ดังนี้ คือ

- เป็นผู้ป่วยโรคลมชักที่มีอายุตั้งแต่ 7 ปีขึ้นไป
- เป็นผู้ป่วยโรคลมชักที่ได้รับการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลในขนาดเดิมติดต่อกันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 เดือนก่อนเข้าร่วมการวิจัย ทั้งการใช้ยาฟิโนบาร์บิทัลเป็นยาเดี่ยวและใช้ร่วมกับยากันชักอื่นๆ

ผู้ป่วยจะถูกคัดออกจากการวิจัยหากมีลักษณะตามเกณฑ์การคัดเลือกออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria) ดังนี้คือ

- ผู้ป่วยที่แพทย์วินิจฉัยว่าอาจมีอันตรายจากการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ เช่น ผู้ป่วยที่มีประวัติแพ้ยาฟิโนบาร์บิทัล
- ผู้ป่วยที่มีการทำงานของตับและไตผิดปกติ
- ผู้ป่วยที่มีประวัติเป็นโรคจิตเภท
- ผู้ป่วยที่มีพฤติกรรมติดแอลกอฮอล์ หรือยาเสพติด
- ผู้ป่วยตั้งครรภ์ หรือให้นมบุตร
- ผู้ป่วยที่ไม่ให้ความร่วมมือในการรับประทานยา

การประเมินความร่วมมือในการรับประทานยากันชัก (compliance) ทำการประเมินโดยการสัมภาษณ์ผู้ป่วยหรือญาติผู้ดูแล และพิจารณาจากเวชระเบียนการตรวจรักษาของผู้ป่วย

3.1.3 ขนาดตัวอย่าง

- การคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ multiple linear regression

จะใช้หลักเกณฑ์ของ Tabachnic และ Fidell (2007) (102) ซึ่งมีข้อตกลงเบื้องต้นว่า ตัวแปรอิสระและตัวแปรตาม มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง โดยมีค่า $\alpha = 0.05$ และค่า $\beta = 0.20$ และมีการคำนวณขนาดตัวอย่าง ดังนี้

1. ขนาดตัวอย่างบนพื้นฐานการทดสอบสมมติฐาน เพื่อทดสอบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระแต่ละตัวกับตัวแปรตาม จะใช้จำนวนตัวอย่างมากกว่าหรือเท่ากับ $104+m$ หรือ $N \geq 104+m$ เมื่อกำหนดให้ m คือ จำนวนตัวแปรอิสระในการศึกษา
2. ขนาดตัวอย่างบนพื้นฐานการประมาณค่า เพื่อต้องการหาแบบจำลองในการทำนายตัวแปรตาม จะใช้จำนวนตัวอย่างมากกว่าหรือเท่ากับ $50+8m$ หรือ $N \geq 50+8m$ เมื่อกำหนดให้ m คือ จำนวนตัวแปรอิสระในการศึกษา

ในการศึกษานี้มีตัวแปรอิสระที่สนใจศึกษาจำนวน 7 ตัวแปร แบ่งออกเป็น ปัจจัยทางพันธุกรรมจำนวน 3 ตัวแปร ได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมจำนวน 4 ตัวแปร ได้แก่ อายุ เพศ ประเภทของโรคลมชัก และการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

ดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ต้องใช้สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ multiple linear regression ในการศึกษานี้ได้แก่

1. ขนาดตัวอย่างบนพื้นฐานการทดสอบสมมติฐาน เพื่อทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระแต่ละตัวกับตัวแปรตาม จะใช้จำนวนตัวอย่างมากกว่าหรือเท่ากับ $104 + 7 = 111$ คน

2. ขนาดตัวอย่างบนพื้นฐานการประมาณค่า เพื่อต้องการหาแบบจำลองในการทำนายตัวแปรตาม จะใช้จำนวนตัวอย่างมากกว่าหรือเท่ากับ $50 + (8 \times 7) = 106$ คน

- การคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ multiple logistic regression

จะใช้หลักเกณฑ์ minimum number of events per variable (EPV) (103)

ดังนั้น

$$N = 10 k / p$$

โดย p คือ สัดส่วนของ case ในประชากร

k คือ จำนวนตัวแปรอิสระในการศึกษา

ในการศึกษานี้มีตัวแปรอิสระที่สนใจศึกษาจำนวน 7 ตัวแปร และจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า สัดส่วนของผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลมีประมาณ 0.66 (12)

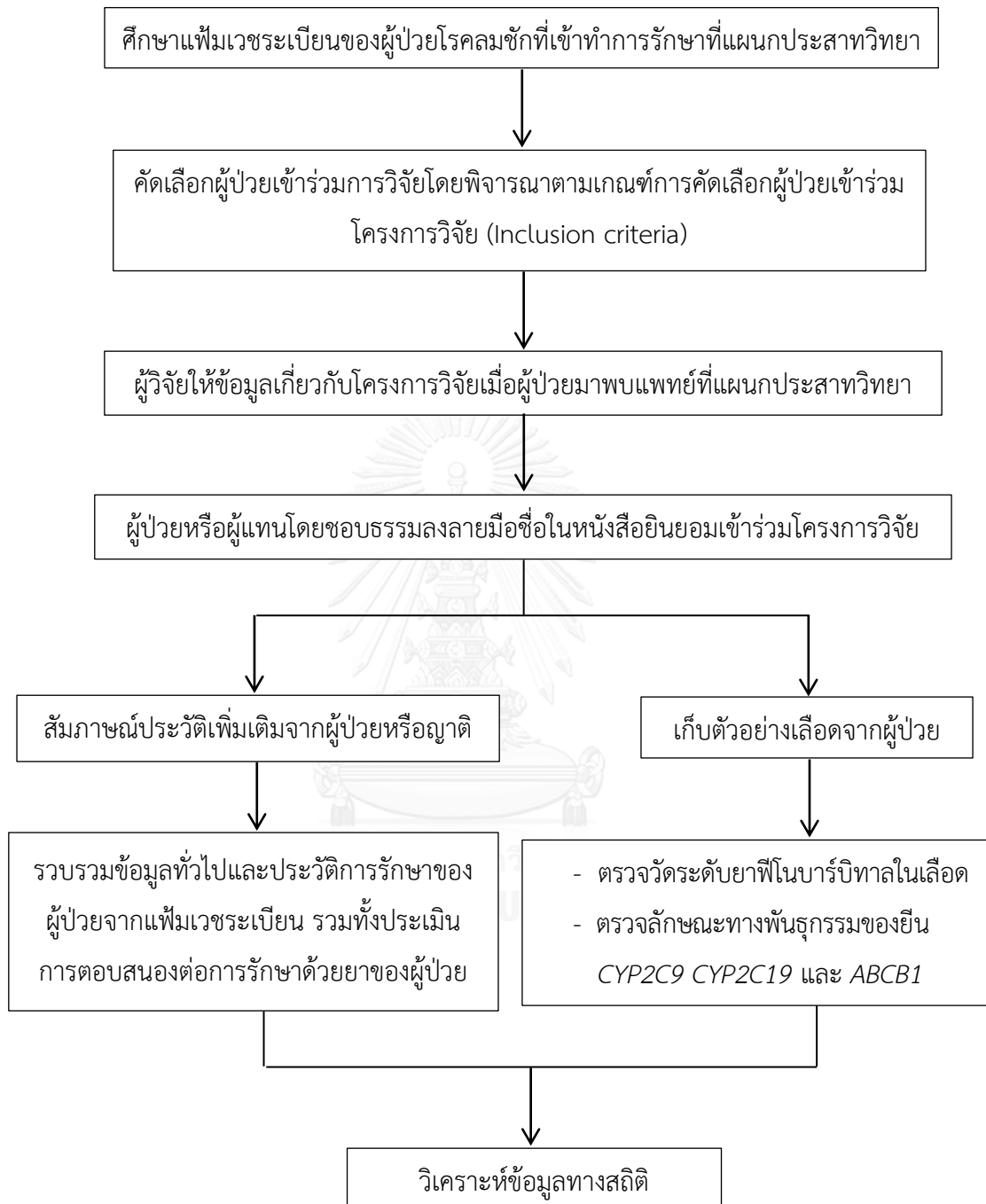
ดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ต้องใช้สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ multiple logistic regression ในการศึกษา นี้ เท่ากับ $(10 \times 7)/0.66 = 106$ คน

ดังนั้น ในการศึกษา นี้จะใช้จำนวนตัวอย่างอย่างน้อย 111 คน

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นรูปแบบการวิจัยโดยการสังเกต (Observation research) แบบภาคตัดขวาง (Cross-sectional study)

3.2.1 แผนภูมิการดำเนินงาน



รูป 5 แสดงแผนภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.2 การดำเนินการวิจัย

3.2.2.1 การเก็บข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

รวบรวมข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย ได้แก่ อายุ เพศ น้ำหนักตัว ประวัติการรักษา ประวัติการการใช้ยากันชัก และความถี่ในการชักจากแฟ้มเวรระเบียบของของผู้ป่วย ร่วมกับการสัมภาษณ์ผู้ป่วยหรือญาติผู้ดูแล หลังจากผู้ป่วยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัยด้วยความสมัครใจ และลงลายมือชื่อในหนังสือยินยอมการเข้าร่วมโครงการวิจัย

3.2.2.2 การประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัล

การประเมินการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัลของผู้ป่วยในการควบคุมอาการชัก สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัล (phenobarbital-responsive epilepsy) และกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัล (phenobarbital-resistant epilepsy) ตามนิยามของ International League Against Epilepsy (104) ดังนี้

Phenobarbital-responsive epilepsy คือ ผู้ป่วยที่ไม่มีอาการชักใดๆ และอาการเตือนก่อนชัก (aura) เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เท่าของระยะห่างของอาการชัก หรือภายใน 12 เดือน แล้วแต่ว่าช่วงเวลาใดนานกว่าหลังจากได้รับยาฟีนobarบิทัลในขนาดที่เหมาะสมแล้ว

Phenobarbital-resistant epilepsy คือ ผู้ป่วยที่ยังมีอาการชักอยู่หลังจากได้รับยาฟีนobarบิทัลในขนาดที่เหมาะสมแล้ว

3.2.2.3 การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยด้วยการเจาะเส้นเลือดดำบริเวณแขนของผู้ป่วยโดยเจ้าหน้าที่เจาะเลือดของโรงพยาบาล โดยทำการเก็บเลือดปริมาณ 10 มิลลิลิตร แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

- ส่วนที่ 1 ใส่ใน serum clot activator tube ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปตรวจวัดระดับยาฟีนobarบิทัลในเลือด

- ส่วนที่ 2 ใส่ใน EDTA tube ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปสกัด DNA และตรวจลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1*

3.2.2.4 การตรวจวัดระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด

นำตัวอย่างเลือด 5 มิลลิลิตร ที่เก็บอยู่ใน serum clot activator tube มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3000 rpm อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที จะเห็นการแยกชั้นของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับซีรัม จากนั้นดูดเอาเฉพาะชั้นซีรัม ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลว สีเหลืองใสด้านบน และเก็บตัวอย่างซีรัมที่ได้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปวัดระดับยาในเลือด

การตรวจวัดระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดจะทำโดยใช้หลักการ *in vitro* chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) โดยใช้เครื่องมือ ARCHITECT *i* System (Abbott, USA) ที่ห้องปฏิบัติการวิจัย โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

3.2.2.5 การเตรียมตัวอย่าง DNA

1) การแยก buffy coat

นำตัวอย่างเลือด 5 มิลลิลิตร ที่เก็บอยู่ใน EDTA tube มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 2500 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จะเห็นการแยกชั้นของเซลล์เม็ดเลือดแดง buffy coat และพลาสมา จากนั้นดูดเอาเฉพาะชั้น buffy coat ซึ่งจะมีลักษณะเป็นชั้นบางๆ สีขาวขุ่นอยู่ตรงรอยต่อระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดงและพลาสมา และเก็บตัวอย่างชั้น buffy coat ที่ได้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปสกัด DNA

2) การแยกเอาเซลล์เม็ดเลือดแดงออกจาก buffy coat

ใช้ Erythrocyte lysis buffer ล้างเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ปนอยู่กับชั้น buffy coat ออกก่อนที่จะนำไปสกัด DNA โดยมีขั้นตอนดังนี้ คือ ผสม Erythrocyte lysis buffer เข้ากับ Buffy coat ที่แยกได้ทั้งหมด แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็ง (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 400 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนน้ำด้านบนทิ้ง จะเหลือส่วนตะกอนไว้ แล้วเติม Erythrocyte lysis buffer ลง

ไปผสมให้เข้ากันอีกครั้ง จากนั้นนำไปแช่ในน้ำแข็ง (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 400 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนน้ำออก แล้วล้างตะกอน buffy coat ที่เหลือด้วยสารละลาย PBS และนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ดูดเอาส่วนน้ำทิ้งไป เก็บเฉพาะส่วน buffy coat ที่ได้ไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปสกัด DNA

3) การสกัด DNA จาก buffy coat

ทำการสกัด DNA โดยใช้ชุดสกัด QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, German) ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้ คือ เติมตัวอย่าง buffy coat ที่ผสมกับ PBS 200 มล. ลงใน QIAGEN protease 20 มล. และเติม Buffer AL (lysis buffer) ปริมาตร 200 มล. ลงในตัวอย่างผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำตัวอย่างไป incubate ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม absolute ethanol 200 มล. ลงในตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดตัวอย่างทั้งหมดใส่ลงใน spin column จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง filtrate ไป จากนั้นเติม Buffer AW1 500 มล. ลงไปใน column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง filtrate ไป จากนั้นเติม Buffer AW2 500 มล. แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที ทิ้ง filtrate ไป แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการชะ DNA ออกมาโดยการเติม Buffer AE 100 มล. แล้ว incubate ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที จะได้ filtrate คือ DNA ที่ต้องการ จากนั้นนำ DNA ที่ได้ไปวัดความเข้มข้นโดยใช้เครื่อง Nanodrop แล้วเก็บ DNA ที่สกัดได้ไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาตรวจลักษณะจีโนไทป์ต่อไป

3.2.2.6 การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ candidate SNPs ของยีน CYP2C9, CYP2C19 และ ABCB1

ทำการตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ candidate SNPs ของยีน CYP2C9, CYP2C19 และ ABCB1 ได้แก่ CYP2C9*3 1075A>C, CYP2C19*2 681G>A และ ABCB1 3435C>T รวมทั้งหมดจำนวน 3 SNPs ด้วยชุดทดสอบ TaqMan[®] Genotyping Assays โดยมีขั้นตอนการทำ ดังนี้

1) การเตรียมตัวอย่าง DNA

เจือจางตัวอย่าง DNA ที่สกัดได้ด้วย DNase free water ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 นก./มคล.

2) การเตรียม reaction mixture

เตรียม reaction mixtures สำหรับปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ 3 candidate SNPs คือ *CYP2C9*3* *CYP2C19*2* และ *ABCB1 3435C>T* ให้มีปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยาเท่ากับ 20 มคล. โดยมีส่วนประกอบในปฏิกิริยา ดังแสดงในตารางที่ 4 และใช้ DNase free water เป็น negative control

ตาราง 4 แสดงส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR การตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ candidate SNPs

ส่วนประกอบในปฏิกิริยา	ปริมาตรต่อหนึ่งปฏิกิริยา (มคล.)
2X Taqman Genotyping Master Mix	10
20X Taqman SNP Genotyping Assay	1
DNase free Water	3
ตัวอย่าง DNA (10 นก./มคล.)	6
ปริมาตรรวมต่อหนึ่งปฏิกิริยา	20

ทำการเตรียม reaction mixture ของแต่ละ SNPs จากการคำนวณปริมาตรรวมที่ต้องใช้ของ 2X Taqman Genotyping Master mix 20X Taqman SNP Genotyping Assay และ DNase free water ในแต่ละ reaction mixture โดยทำการเตรียมเกินไว้ 2 ปฏิกิริยา จากนั้นทำการปิเปตส่วนประกอบต่างๆ ดังตารางที่ 4 ตามปริมาตรที่ได้คำนวณไว้ใส่ลงใน microcentrifuge tube แล้วนำไปผสมให้เข้ากัน โดยเตรียมทีละ SNPs จนครบทั้ง 3 SNPs จากนั้นนำ reaction mixture ที่เตรียมเสร็จแล้วเก็บไว้ที่ตู้แช่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส

3) การเตรียม reaction plate

เติม reaction mixture ของแต่ละ SNPs ปริมาตร 18 มคล. ใส่ลงในแต่ละช่องของ PCR plate ให้ครบตามจำนวนตัวอย่าง DNA ที่ต้องการตรวจ และอีก 1 ช่องสำหรับ negative

control จากนั้นเติมตัวอย่าง DNA จำนวน 2 มคล. ใส่ลงในแต่ละช่องของ reaction plate ที่ได้ เติม reaction mixture ไว้แล้วจนครบทุกตัวอย่าง และเติม DNase free water ในช่อง negative control ของแต่ละ SNPs โดยทำแบบเดียวกันทั้ง 4 SNPs จากนั้นนำแผ่นฟิล์มมาปิดบน reaction plate ให้สนิท แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อขจัดฟองอากาศ จากนั้นจึงนำ reaction plate ที่เตรียมเสร็จแล้วไปทำปฏิกิริยา polymerase chain reaction ต่อไป

4) การทำ Polymerase Chain Reaction (PCR)

ทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้เครื่อง StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems โดยทำการตั้งค่าอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR ดังแสดงในตารางที่ 5

ตาราง 5 แสดงการตั้งค่าอุณหภูมิและระยะเวลาของแต่ละขั้นตอนในการทำ PCR

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

หลังจากการทำ PCR เสร็จสมบูรณ์แล้ว ลักษณะจีโนมไทป์ทั้ง 3 SNPs จะถูกวิเคราะห์ต่อด้วยโปรแกรม StepOnePlus software เวอร์ชัน 2.1

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.3.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

- ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย แสดงผลในรูปของความถี่ (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และร้อยละหรือพิสัย
- เปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนอบาร์บิทัล (phenobarbital-responsive epilepsy) และกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนอบาร์บิทัล (phenobarbital-resistant epilepsy) โดยใช้ chi-square test สำหรับข้อมูลที่ไม่ต่อเนื่อง Independent-Samples T test

สำหรับข้อมูลต่อเนื่องที่มีการกระจายแบบปกติ และใช้ Mann-Whitney U test สำหรับข้อมูลต่อเนื่องที่มีการกระจายแบบไม่ปกติ

3.3.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1*

- ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของ *CYP2C9**3 *CYP2C19**2 และ *ABCB1* 3435C>T แสดงในรูปร้อยละ และทดสอบสมมูลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium) โดยใช้ Chi-square test

3.3.3 วิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดยา และระดับยาพืโนบาร์บิทัลในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์

- เปรียบเทียบความแตกต่างของขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับ หรือระดับยาพืโนบาร์บิทัล ในเลือดระหว่างแต่ละกลุ่มจีโนไทป์โดยใช้ Independent Sample T test หรือ One-way ANOVA test เมื่อข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ หรือใช้ Mann-Whitney U test หรือ Kruskal-Wallis test เมื่อข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ

3.3.4 วิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดยา และระดับยาพืโนบาร์บิทัลกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม

- เปรียบเทียบความแตกต่างของขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับ หรือระดับยาพืโนบาร์บิทัล ในเลือดกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม โดยใช้ Independent Sample T test หรือ One-way ANOVA test เมื่อข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ หรือใช้ Mann-Whitney U test หรือ Kruskal-Wallis test เมื่อข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ และใช้ Pearson Correlation สำหรับวิเคราะห์ปัจจัยด้านอายุ

3.3.5 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาและระดับยาพืโนบาร์บิทัล

- วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับและระดับยาพืโนบาร์บิทัลในเลือด โดยใช้ multiple linear regression

3.3.6 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล

- วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล โดยใช้ multiple logistic regression พร้อมกับแสดงผลในรูปของ odds ratio และ 95% confidence interval (95% CI)

ข้อมูลทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16.0 ซึ่งจะพิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p -value < 0.05)



บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยอาสาสมัครเข้าร่วมงานวิจัยและได้ลงลายมือชื่อยินยอมเข้าร่วมงานวิจัยเป็นจำนวนทั้งสิ้น 111 ราย แต่มีผู้ป่วยอาสาสมัครถูกคัดออกจากการงานวิจัยจำนวน 1 ราย เนื่องจากไม่สามารถตรวจลักษณะจีโนไทป์ของ *CYP2C19*2* ซึ่งเป็น candidate SNP ที่ใช้ในการศึกษา ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะมีข้อมูลของผู้ป่วยอาสาสมัครที่นำมาใช้วิเคราะห์จำนวนทั้งสิ้น 110 ราย

ผู้ป่วยอาสาสมัครที่เข้าร่วมงานวิจัยทุกรายมีการทำงานของตับและไตเป็นปกติ โดยข้อมูลลักษณะทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยแสดงไว้ในตารางที่ 6 ซึ่งจะพบว่า ผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวนทั้งสิ้น 110 ราย เป็นเพศชาย 58 ราย และเพศหญิง 52 ราย มีอายุอยู่ในช่วง 17- 67 ปี และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 63 กิโลกรัม อายุเฉลี่ยที่ผู้ป่วยเริ่มมีอาการชักคือ 18 ปี นอกจากนี้ พบว่า ผู้ป่วยจำนวน 38 ราย เป็นโรคลมชักประเภท focal epilepsy 15 รายเป็นโรคลมชักประเภท generalized epilepsy และอีก 57 รายเป็นโรคลมชักประเภท undetermined epilepsy

ผู้ป่วยอาสาสมัครทุกรายได้รับยาฟิโนบาร์บิทัลในขนาดเดิมติดต่อกันเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 เดือนก่อนเริ่มการวิจัย โดยพบว่าขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับมีตั้งแต่ 0.31 - 4.29 มก./กก./วัน เฉลี่ยประมาณ 1.67 ± 0.81 มก./กก./วัน เมื่อทำการตรวจวัดระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดของผู้ป่วยอาสาสมัคร พบว่า ผู้ป่วยมีระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดเฉลี่ย 17.43 ± 11.81 มคก./มล. โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 78 ใช้ยากันชักร่วมกันหลายชนิด (polytherapy) ในการควบคุมอาการชัก ซึ่งยาชนิดอื่นๆ ที่ผู้ป่วยใช้ร่วมนั้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือยาที่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัลโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล (enzyme inhibitor) คิดเป็นร้อยละ 16.36 นอกนั้นเป็นยาร่วมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัล (drug with no effect)

ตาราง 6 แสดงข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

ข้อมูลทั่วไป/ข้อมูลทางคลินิก	ความถี่ (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ร้อยละ (พิสัย)
จำนวนผู้ป่วย (ราย)	110	
เพศ		
- เพศชาย	58	52.73
- เพศหญิง	52	47.27
อายุ (ปี)	(44.60 \pm 12.61)	(17 - 67)
ช่วงอายุ		
- \leq 20 ปี	2	1.80
- 21-30 ปี	14	12.70
- 31-40 ปี	26	23.60
- 41-50 ปี	27	24.50
- 51-60 ปี	30	27.30
- \geq 61 ปี	11	10.00
น้ำหนักตัว (กก.)	(62.76 \pm 14.36)	(38.0 - 117.0)
อายุที่เริ่มเป็นโรคลมชัก (ปี)	(18.13 \pm 11.26)	(แรกเกิด - 50)
ประวัติโรคลมชักในครอบครัว		
- มี	15	13.60
- ไม่มี	95	86.40
ประวัติการผ่าตัดรักษาโรคลมชัก		
- มี	4	3.60
- ไม่มี	106	96.40
ประเภทของโรคลมชัก		
- Focal epilepsy	38	34.50
- Generalized epilepsy	15	13.60
- Undetermined epilepsy	57	51.80
ขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ได้รับต่อวัน (มก./วัน)	(101.59 \pm 49.51)	(15 - 300)

ข้อมูลทั่วไป/ข้อมูลทางคลินิก	ความถี่ (ค่าเฉลี่ย \pm ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ร้อยละ (พิสัย)
ขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ได้รับต่อวันต่อน้ำหนักตัว (มก./กก./วัน)	(1.67 \pm 0.81)	(0.31-4.29)
ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด (มคก./มล.)	(17.43 \pm 11.81)	1.10-83.00
ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยา ต่อน้ำหนักตัว [(มคก./มล.)/(มก./กก.)]	(10.34 \pm 4.21)	1.23-26.27
ช่วงของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด		
- <15 มคก./มล.	54	49.10
- 15-40 มคก./มล.	53	48.20
- >40 มคก./มล.	3	2.70
รูปแบบการได้รับยากันชัก		
- ได้รับยากันชักตัวเดียว (Monotherapy)	24	21.80
- ได้รับยากันชักร่วมกันหลายตัว (Polytherapy)	86	78.20
รูปแบบการได้รับยาร่วมที่ก่อให้เกิดอันตรกิริยา ต่อยาฟิโนบาร์บิทัล		
- ยาร่วมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยา ฟิโนบาร์บิทัล (drug with no effect)	92	83.64
- ยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยา ฟิโนบาร์บิทัล (enzyme inhibitor)	18	16.36
ประวัติการมีโรคร่วมอื่นๆ		
- มี	42	38.18
- ไม่มี	68	61.82

ตารางที่ 7 แสดงรายการยาอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับร่วมกับยาฟิโนบาร์บิทัล โดยพบว่า ยาที่มีการใช้ร่วมกับยาฟิโนบาร์บิทัลมากที่สุด ได้แก่ folic acid (ร้อยละ 23.83) phenytoin (ร้อยละ 18.30) และ carbamazepine (ร้อยละ 9.36) ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาถึงระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา ฟิโนบาร์บิทัลและยาชนิดอื่นที่ได้รับร่วมตามแนวทางของ Drug Interaction Facts 2010 (105) พบว่า valproic acid และ metoprolol เป็นยาที่มามีระดับนัยสำคัญของการเกิดอันตรกิริยากับ ยาฟิโนบาร์บิทัลในระดับ 2 (sig.2) คือ อันตรกิริยาระหว่างยาที่มีความรุนแรงระดับปานกลาง และมีความน่าจะเป็นของอันตรกิริยาระหว่างยาตั้งแต่ระดับน่าสงสัยขึ้นไป ซึ่งผลที่เกิดขึ้นทำให้ผู้ป่วยมีอาการเลวลง ต้องการการรักษาเพิ่มขึ้นหรืออยู่ในโรงพยาบาลนานขึ้น โดย valproic acid เป็นยาที่มีผลก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล จึงอาจมีผลต่อระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด แต่สำหรับ metoprolol ยาฟิโนบาร์บิทัลจะมีผลก่อให้เกิดการเหนี่ยวช้าการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยา metoprolol และอาจส่งผลกระทบต่อระดับยา metoprolol ในเลือดเพียงทิศทางเดียว ดังนั้นในการวิเคราะห์ผลของอันตรกิริยาของยาที่ใช้ร่วมกับ ยาฟิโนบาร์บิทัล จึงวิเคราะห์เฉพาะ valproic acid

ตาราง 7 แสดงรายการยาอื่นๆ ที่ผู้ป่วยได้รับร่วมกับยาฟิโนบาร์บิทัลและระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

รายการยาที่ใช้ร่วม	จำนวน	ร้อยละ
กลุ่มยากันชัก (antiepileptic drugs)	119	50.64
- Phenytoin [sig.5]	43	18.30
- Carbamazepine [sig.3]	22	9.36
- Valproic acid [sig.2]	18	7.66
- Topamax	12	5.11
- Levetiracetam	10	4.26
- Lamotrigine	5	2.13
- Clonazepam [sig.4]	4	1.70
- Pregabalin	2	0.85
- Clobazam	1	0.43
- Oxcarbazepine	1	0.43
- Zonizamide	1	0.43

รายการยาที่ใช้ร่วม	จำนวน	ร้อยละ
กลุ่มวิตามิน (Vitamins) - Folic acid - B complex - Calvin 600+D - Multivitamin - Mecobalamin	77 56 10 7 3 1	32.77 23.83 4.26 2.98 1.28 0.43
กลุ่มยาลดความดันโลหิตและยาขับปัสสาวะ (Antihypertensive and Diuretic drugs) - Enalapril - Amlodipine - Atenolol - Metroprolol [sig.2] - HCTZ - Indapamide	11 4 2 2 1 1 1	4.68 1.70 0.85 0.85 0.43 0.43 0.43
กลุ่มยาลดไขมันในเลือด(Lipid lowering agent) - Simvastatin - Atorvastatin - Pitavastatin	7 5 1 1	2.98 2.13 0.43 0.43
กลุ่มยาต้านการอักเสบชนิดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NASIDs) - Meloxicam - Ibuprofen - Mefenamic acid	3 1 1 1	1.28 0.43 0.43 0.43

รายการยาที่ใช้ร่วม	จำนวน	ร้อยละ
กลุ่มยารักษาอาการซึมเศร้าและยาลดกังวล (Antidepressant and Anti-anxiety drugs)	11	4.68
- Lorazepam	2	0.85
- Diazepam	2	0.85
- Clorazepate	2	0.85
- Amitriptyline [sig.5]	1	0.43
- Mianserin	1	0.43
- Imipramine [sig.5]	1	0.43
- Alprazolam	1	0.43
- Sertraline	1	0.43
ยาอื่นๆ	7	2.98
- Betahistine	2	0.85
- Norgescic	1	0.43
- Diphenhydramine	1	0.43
- Levothyroxine	1	0.43
- Acetylsalicylic acid	1	0.43
- Omeprazole	1	0.43
รวม	235	100.00

หมายเหตุ ความหมายและการกำหนดระดับนัยสำคัญทางคลินิกได้แสดงในภาคผนวก ค

นอกจากนี้ พบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักประมาณร้อยละ 38 มีโรคชนิดอื่นๆร่วมด้วย ซึ่งโรคร่วมที่ผู้ป่วยเป็นมากที่สุด ได้แก่ โรคความดันโลหิตสูง (ร้อยละ 22.03) และภาวะความผิดปกติของไขมันในเลือด (ร้อยละ 13.56) ตามลำดับ ซึ่งโรคร่วมต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 8

ตาราง 8 แสดงรายการโรคอื่นๆ ที่ผู้ป่วยเป็นร่วม

โรคร่วม	จำนวน	ร้อยละ
Hypertension	13	22.03
Dyslipidemia	8	13.56
Allergy	5	8.47
Old CVA	3	5.08
Stroke	2	3.39
Hypotension	2	3.39
Migraine	2	3.39
Gastric ulcer	2	3.39
Gastroesophageal reflux disease	2	3.39
Mental retardation	2	3.39
Diabetes Mellitus	2	3.39
Asthma	1	1.69
Hypothyroid	1	1.69
Cardiovascular disease (CVD)	1	1.69
Drug induced chorea	1	1.69
Osteoarthritis	1	1.69
Osteoporosis	1	1.69
Psoriasis	1	1.69
Chronic gingivitis	1	1.69
Mineirels disease	1	1.69
Attention Deficit Hyperactivity Disorders	1	1.69
Autoimmune encephalitis	1	1.69
Thalassemia	1	1.69
Depression	1	1.69
Spasmodic torticollis	1	1.69
Acute disseminated encephalitis	1	1.69
Hemangioma	1	1.69
รวม	59	100.00

4.2 ความถี่อัลลีล (allele frequencies) และความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ SNPs ในยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1*

ผลการตรวจความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของ candidate SNPs ในยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* จากตัวอย่าง DNA ของผู้ป่วยอาสาสมัครได้แสดงไว้ในตารางที่ 9 และตารางที่ 10 ตามลำดับ โดยทุกจีโนไทป์ของ *CYP2C9**3 *CYP2C19**2 และ *ABCB1* 3435C>T มีการกระจายอยู่ในสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium) (p -value > 0.05, Chi-Square test) (การทดสอบสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก แสดงไว้ในภาคผนวก ง)

ตาราง 9 แสดงความถี่อัลลีล (allele frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

SNPs	จำนวน	ความถี่อัลลีล
<i>CYP2C9</i> *3 1075A>C		
A allele	214	0.97
C allele	6	0.03
รวม	220	
<i>CYP2C19</i> *2 681G>A		
G allele	154	0.70
A allele	66	0.30
รวม	220	
<i>ABCB1</i> 3435C>T		
C allele	126	0.57
T allele	94	0.43
รวม	220	

ตาราง 10 แสดงความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

SNPs	จำนวน	ความถี่จีโนไทป์ (ร้อยละ)	Hardy-Weinberg equilibrium <i>p</i> -value
<i>CYP2C9</i> *3 1075A>C			
AA (*1/*1)	104	94.50	0.7687 [†]
AC (*1/*3)	6	5.50	
CC (*3/*3)	0	0	
รวม	110		
<i>CYP2C19</i> *2 681G>A			
GG (*1/*1)	58	52.70	0.0627 [†]
GA (*1/*2)	38	34.50	
AA (*2/*2)	14	12.70	
รวม	110		
<i>ABCB1</i> 3435C>T			
CC	38	34.50	0.4548 [†]
CT	50	45.50	
TT	22	20.00	
รวม	110		

หมายเหตุ [†]วิเคราะห์ข้อมูลโดย Chi-square test

ในการตรวจพหุสัณฐานของยีน *CYP2C9* ผู้วิจัยได้เลือก *CYP2C9**3 มาเป็น candidate SNPs โดยพบความถี่อัลลีล *CYP2C9**3 เท่ากับ 0.03 หรือประมาณร้อยละ 3 เมื่อนำความถี่อัลลีลของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยโรคลมชักในการศึกษานี้มาเปรียบเทียบกับการศึกษาในประชากรเชื้อชาติต่างๆ พบว่า ความถี่อัลลีลในการศึกษานี้เท่ากับความถี่อัลลีลของประชากรชาวไทยในการศึกษาก่อนหน้านี้ และมีความใกล้เคียงกับชาวเอเชียเชื้อชาติอื่นๆ เช่น จีน ญี่ปุ่น เกาหลี และมาเลเซีย คือ มีความถี่อัลลีลประมาณร้อยละ 2-4 และร้อยละ 2 ในชาวแอฟริกัน แต่มีความแตกต่างจากชาวคอเคเซียน กล่าวคือ ในชาวคอเคเซียนจะพบความถี่อัลลีล *CYP2C9**3 ในสัดส่วนที่มากกว่าคือประมาณร้อยละ 7 นอกจากนี้ ในการศึกษานี้ผู้วิจัยไม่ได้เลือกตรวจ *CYP2C9**2 ซึ่งจัดเป็น common SNPs อีกตัวหนึ่งของยีน *CYP2C9* มาเป็น candidate SNPs เนื่องจากไม่พบอัลลีล

CYP2C9*2 ในการศึกษาก่อนหน้านี้ในชาวไทยและชาวเอเชียเชื้อสายอื่นๆ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงตรวจหาเฉพาะอัลลีล CYP2C9*3 โดยความถี่อัลลีลของยีน CYP2C9 ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 11

ตาราง 11 แสดงความถี่อัลลีลของยีน CYP2C9 ในการศึกษานี้และในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

เชื้อชาติ	n	CYP2C9*2	CYP2C9*3	เอกสารอ้างอิง
Thai	220	-	0.03	การศึกษานี้
Thai	240	0	0.03	Insaro (2010)
Thai	178	0	0.03	Sangviroon และคณะ (2010)
Thai	484	0	0.03	Kuanprasert และคณะ (2009)
Chinese	4,254	0	0.03	D-P Dai และคณะ (2014)
Chinese	196	0	0.03	Sullivan-Klose และคณะ (1996)
Chinese	204	0	0.05	Gaedigk และคณะ (2001)
Japanese	436	0	0.02	Nasu และคณะ (1997)
Japanese	280	0	0.02	Miyuki และคณะ (1998)
Korean	1,738	0	0.03	Lee และคณะ (2012)
Malay	418	0.02	0.02	Ngow และคณะ (2009)
Indian	204	0.05	0.04	Rathore และคณะ (2010)
African	1,200	0.03	0.02	Scott และคณะ (2010)
Caucasian	650	0.15	0.07	Gaedigk และคณะ (2001)
Turkish	998	0.11	0.10	Aynacioglu และคณะ (1999)
French	302	0.15	0.08	Yang และคณะ (2003)

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนอัลลีล

สำหรับยีน CYP2C19 ในการศึกษานี้ผู้วิจัยเลือกตรวจเฉพาะ CYP2C19*2 แต่ไม่ได้เลือก CYP2C19*3 เป็น candidate SNPs เนื่องจากในการศึกษาในชาวไทยก่อนหน้านี้อัลลีลชนิดนี้น้อยมากหรือแทบจะไม่พบเลย ดังนั้นในการศึกษานี้จึงตรวจหาเฉพาะอัลลีล CYP2C19*2 โดยพบความถี่อัลลีล 0.3 หรือประมาณร้อยละ 30 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในชาวไทยก่อนหน้านี้อัลลีลคือ ประมาณร้อยละ 27-35 เมื่อนำความถี่อัลลีล CYP2C19*2 ของผู้ป่วยโรคลมชักในการศึกษานี้มาเปรียบเทียบกับประชากรเชื้อชาติต่างๆ พบว่า มีความใกล้เคียงกันกับความถี่อัลลีลของชาวเอเชีย

เชื้อสายอื่นๆ เช่น จีน ญี่ปุ่น เกาหลี อินเดีย และชาวแอฟริกัน แต่พบว่าชาวคอเคเซียนจะมีความถี่อัลลีล *CYP2C19*2* ในสัดส่วนที่น้อยกว่า คือประมาณร้อยละ 13 โดยความถี่อัลลีลของยีน *CYP2C19* ในประชากรเชื้อชาติต่างๆได้แสดงไว้ในตารางที่ 12

ตาราง 12 แสดงความถี่อัลลีลของยีน *CYP2C19* ในการศึกษาและในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

เชื้อชาติ	n	<i>CYP2C19*2</i>	<i>CYP2C19*3</i>	เอกสารอ้างอิง
Thai	220	0.30	-	การศึกษานี้
Thai	240	0.27	0	Insaro (2010)
Thai	1,548	0.29	0.03	Tassaneeyakul และคณะ (2006)
Thai	242	0.35	0.05	Yamada และคณะ (2001)
Chinese	386	0.30	0.03	He และคณะ (2002)
Chinese	242	0.46	0.05	Yamada และคณะ (2001)
Chinese	236	0.32	0.06	Goldstein และคณะ (1997)
Japanese	434	0.27	0.11	Takakubo และคณะ (1996)
Japanese	106	0.23	0.10	Goldstein และคณะ (1997)
Korean	206	0.21	0.12	Roh และคณะ (1996)
Indian	242	0.30	0	Lamba และคณะ (2000)
African	216	0.25	0	Goldstein และคณะ (1997)
Caucasian	210	0.13	0	Goldstein และคณะ (1997)
Turkish	808	0.12	0	Aynacioglu และคณะ (1999)

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนอัลลีล

นอกจากนี้ เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ความถี่อัลลีล *ABCB1* 3435C>T ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยโรคลมชักในการศึกษานี้ พบว่า มีความถี่ของ T allele เท่ากับ 0.43 หรือประมาณร้อยละ 43 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในชาวไทยก่อนหน้านี้ คือประมาณร้อยละ 44-48 เมื่อเปรียบเทียบความถี่อัลลีลกับประชากรเชื้อชาติต่างๆ พบว่า มีความถี่ใกล้เคียงกับชาวจีน ญี่ปุ่น และเกาหลี แต่จะพบความถี่ของ T allele น้อยที่สุดในชาวแอฟริกัน คือประมาณร้อยละ 17 โดยความถี่อัลลีลของยีน *ABCB1* ในประชากรเชื้อชาติต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 13

ตาราง 13 แสดงความถี่อัลลีลของ *ABCB1* 3435C>T ในการศึกษาในประชากรเชื้อชาติต่างๆ

เชื้อชาติ	n	C allele	T allele	เอกสารอ้างอิง
Thai	220	0.57	0.43	การศึกษานี้
Thai	208	0.52	0.48	Buathet (2012)
Thai	240	0.56	0.44	Insaro (2010)
Chinese	196	0.46	0.54	Balram และคณะ (2003)
Chinese	264	0.53	0.47	Ameyaw และคณะ (2001)
Chinese	192	0.47	0.53	Chowbay และคณะ (2003)
Japanese	200	0.51	0.49	Tanabe และคณะ (2001)
Korean	170	0.56	0.44	Kim และคณะ (2006)
Malay	184	0.49	0.51	Chowbay และคณะ (2003)
Indian	174	0.37	0.63	Chowbay และคณะ (2003)
African	412	0.83	0.17	Ameyaw และคณะ (2001)
Caucasian	922	0.46	0.54	Cascorbi และคณะ (2001)
Iranian	600	0.66	0.34	Farnood และคณะ (2007)
French	454	0.54	0.46	Jeannesson และคณะ (2007)

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนอัลลีล

4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* กับขนาดยาฟีโนบาร์บิทัล

การเปรียบเทียบขนาดยาฟีโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับโดยแบ่งตามลักษณะจีโนไทป์ของ *CYP2C9**3 *CYP2C19**2 และ *ABCB1* 3435C>T พบว่า ขนาดยาฟีโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่ผู้ป่วยได้รับในแต่ละจีโนไทป์ของทั้ง 3 SNPs ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 14

ตาราง 14 แสดงขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์ของ *CYP2C9*3* *CYP2C19*2* และ *ABCB1 3435C>T*

จีโนไทป์	จำนวน (ราย) (n = 110)	ขนาดยาที่ได้รับ (มก./วัน/กก.)	p-value
<i>CYP2C9*3</i> 1075A>C			
*1/*1	104	1.68 ± 0.82	0.716*
*1/*3	6	1.55 ± 0.69	
<i>CYP2C19*2</i> 681G>A			
*1/*1	58	1.66 ± 0.75	
*1/*2	38	1.61 ± 0.83	0.547 [#]
*2/*2	14	1.89 ± 1.02	
<i>ABCB1</i> 3435C>T			
CC	38	1.61 ± 0.73	
CT	50	1.68 ± 0.84	0.750 [#]
TT	22	1.77 ± 0.90	

หมายเหตุ *วิเคราะห์ข้อมูลโดย Independent Sample T test [#]วิเคราะห์ข้อมูลโดย One way ANOVA test

เมื่อพิจารณาเฉพาะยีนที่ถ่ายทอดเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล ซึ่งได้แก่ ยีน *CYP2C9* และ *CYP2C19* สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม ก กลุ่ม ข และกลุ่ม ค โดย กลุ่ม ก คือ กลุ่มผู้ป่วยที่มีลักษณะจีโนไทป์แบบ homozygous wild type ของ *CYP2C9*3* และ *CYP2C19*2* ทั้ง 2 ตำแหน่ง กลุ่ม ข คือ กลุ่มผู้ป่วยที่มี heterozygous variants ของ *CYP2C9*3* หรือ *CYP2C19*2* เพียงตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง และกลุ่ม ค คือ กลุ่มผู้ป่วยที่มี heterozygous variants ของ *CYP2C9*3* และ *CYP2C19*2* ทั้ง 2 ตำแหน่ง หรือมี homozygous variants ของ *CYP2C9*3* หรือ *CYP2C19*2* ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งหรือทั้งสองตำแหน่ง

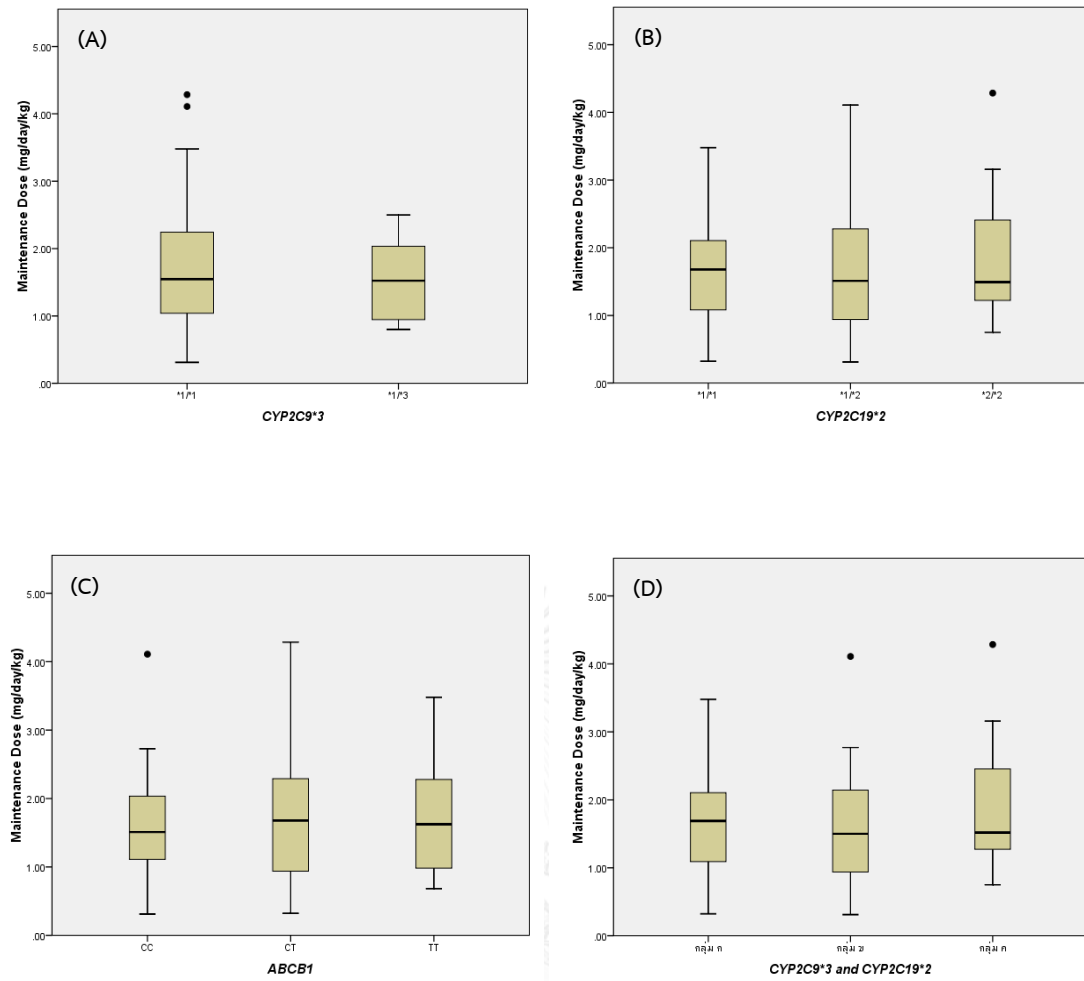
เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวในแต่ละกลุ่มตามการแบ่งกลุ่มของลักษณะจีโนไทป์ดังกล่าว พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันของขนาดยา

ฟีโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่ผู้ป่วยได้รับในแต่ละกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 15

ตาราง 15 แสดงขนาดยาฟีโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์ของ CYP2C9*3 และ CYP2C19*2

กลุ่ม	CYP2C9*3	CYP2C19*2	จำนวน (ราย)	ขนาดยาที่ได้รับ (มก./วัน/กก.)
ก	*1/*1	*1/*1	53	1.69 ± 0.76
ข	*1/*1 *1/*3	*1/*2 *1/*1	42	1.56 ± 0.80
ค	*1/*1 *1/*3 *3/*3	*2/*2 *1/*2, *2/*2 *1/*1, *1/*2, *2/*2	15	1.93 ± 0.99
			p -value =	0.314 [#]

หมายเหตุ [#]วิเคราะห์ข้อมูลโดย One way ANOVA test



รูป 6 แสดง Boxplots แสดงการกระจายของขนาดยาพินอบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวกับลักษณะจีโนไทป์ของ SNPs ต่างๆ (A) *CYP2C9*3* (B) *CYP2C19*2* (C) *ABCB1* และ (D) *CYP2C9*3* and *CYP2C19*2*

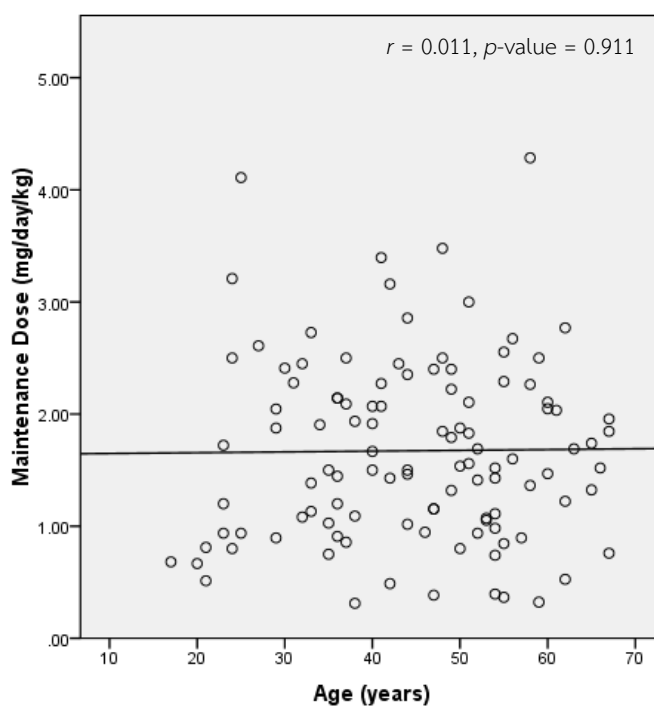
- หมายถึง outlier

4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัล

ทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม ซึ่งได้แก่ อายุ เพศ ประเภทของโรคลมชัก และการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา กับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับ ได้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้

4.4.1 อายุ

เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยอายุกับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัล โดยใช้ bivariate correlation ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุของผู้ป่วยกับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับ โดยแสดงกราฟความสัมพันธ์ของอายุและขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลดังในรูปที่ 7



รูป 7 แสดง Scatter plot แสดงการกระจายของขนาดยาฟิโนบาร์บิทัล
ต่อน้ำหนักตัวกับอายุ

หมายเหตุ r วิเคราะห์โดย Pearson correlation

4.4.2 เพศของผู้ป่วย

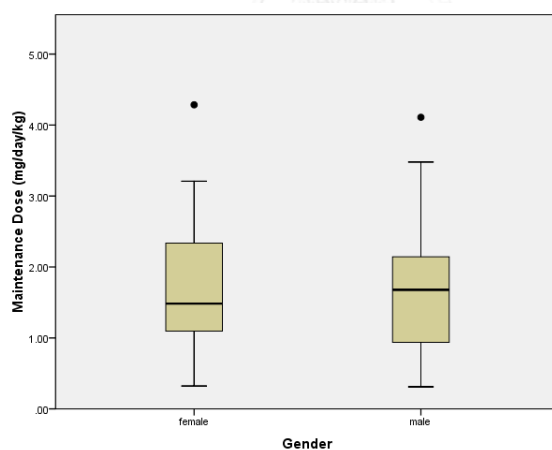
เปรียบเทียบขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลระหว่างกลุ่มผู้ป่วยเพศชายและเพศหญิง พบว่าขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลเฉลี่ยที่ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มได้รับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 16

ตาราง 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเพศกับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยอาสาสมัคร จำนวน 110 ราย

เพศ	จำนวน (ราย)	ขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับ (มก./กก./วัน)	p-value
หญิง	52	1.66 ± 0.78	0.902*
ชาย	58	1.68 ± 0.84	

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*วิเคราะห์ข้อมูลโดย Independent Sample T test



รูป 8 แสดง Boxplot แสดงการกระจายของขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวกับเพศ

● หมายถึง outlier

4.4.3 ประเภทของโรคลมชัก

สำหรับประเภทของโรคลมชักของผู้ป่วยนั้น สามารถจำแนกออกเป็น 4 ประเภทตามแนวทางของ International League Against Epilepsy หรือ ILAE (1989) (26) คือ focal epilepsy generalized epilepsy undetermined epilepsy และ special syndrome แต่ในการศึกษานี้ไม่พบผู้ป่วยโรคลมชักที่มีประเภทของโรคลมชักแบบ special syndrome

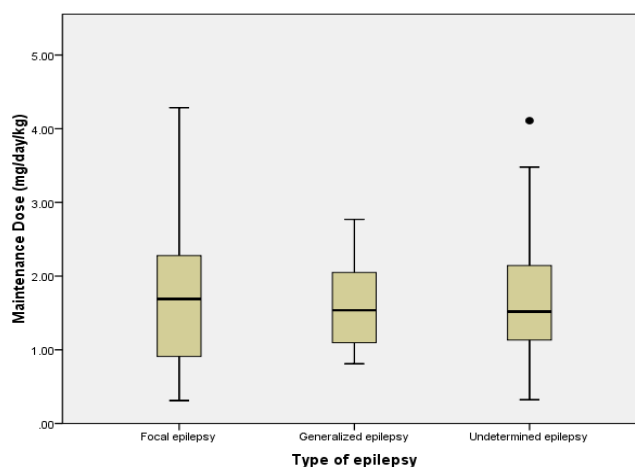
เมื่อเปรียบเทียบขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลในกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่มีประเภทของโรคลมชักแบบต่างๆ พบว่า ขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลเฉลี่ยที่ผู้ป่วยแต่ละกลุ่มได้รับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 17

ตาราง 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างประเภทของโรคลมชักกับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

ประเภทของโรคลมชัก	จำนวน (ราย)	ขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับ (มก./กก./วัน)	p-value
Focal epilepsy	38	1.68 ± 0.89	0.986 [#]
Generalized epilepsy	15	1.64 ± 0.60	
Undetermined epilepsy	57	1.68 ± 0.82	

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[#]วิเคราะห์ข้อมูลโดย One way ANOVA test



รูป 9 แสดง Boxplot แสดงการกระจายของขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัว กับประเภทของโรคลมชัก

- หมายถึง outlier

4.4.4 การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

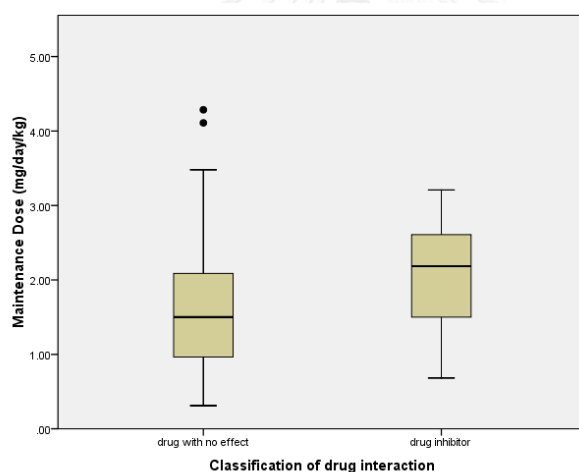
การได้รับยาที่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัล สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ผู้ป่วยที่ได้รับยาร่วมที่ก่อให้เกิดการเกิดการเหนี่ยวนำการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล ผู้ป่วยที่ได้รับยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล และผู้ป่วยที่ได้รับยาร่วมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัล อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้พบผู้ป่วยที่ใช้ยาร่วมกับยาฟิโนบาร์บิทัลเพียง 2 กลุ่ม เท่านั้น ได้แก่ ผู้ป่วยที่ได้รับยาร่วมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัล จำนวน 92 ราย และผู้ป่วยที่ได้รับยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัลจำนวน 18 ราย และเมื่อเปรียบเทียบขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลระหว่างผู้ป่วยสองกลุ่ม พบว่า ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัลมีความสัมพันธ์กับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวสูงกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาร่วมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 18

ตาราง 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอันตรกิริยาของยากับขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

การเกิดอันตรกิริยาของยา	จำนวน (ราย)	ขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับ (มก./กก./วัน)	p-value
ยาร่วมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัล (drug with no effect)	92	1.60 ± 0.80	0.031*
ยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล (enzyme inhibitor)	18	2.05 ± 0.79	

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*วิเคราะห์ข้อมูลโดย Independent Sample T test



รูป 10 แสดง Boxplot แสดงการกระจายของขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวกับการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

● หมายถึง outlier

4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาฟีโนบาร์บิทัล

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาฟีโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับ โดยมีตัวแปรอิสระที่นำมาวิเคราะห์จำนวนทั้งสิ้น 7 ตัวแปร คือ ปัจจัยทางพันธุกรรมจำนวน 3 ตัวแปร ได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมจำนวน 4 ตัวแปร ได้แก่ อายุ เพศ ประเภทของโรคลมชัก และการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ดังกล่าวโดยใช้ multiple linear regression กลับไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาฟีโนบาร์บิทัลต่อน้ำหนักตัวที่ผู้ป่วยได้รับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* กับระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือด

การเปรียบเทียบระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดของผู้ป่วยในแต่ละจีโนไทป์ของ *CYP2C9**3 *CYP2C19**2 และ *ABCB1* 3435C>T พบว่า ระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยของผู้ป่วยในแต่ละจีโนไทป์ของทั้ง 3 SNPs ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value > 0.05) ดังแสดงในตารางที่ 19

ตาราง 19 แสดงระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์ของ *CYP2C9**3 *CYP2C19**2 และ *ABCB1* 3435C>T

จีโนไทป์	จำนวน (ราย) (n = 110)	ระดับยาในเลือด/ขนาด ยา/น้ำหนัก [(มคก./มล.)/(มก./กก.)]	p-value
<i>CYP2C9</i> *3 1075A>C			
*1/*1	104	10.48 ± 4.13	0.155*
*1/*3	6	7.96 ± 5.25	
<i>CYP2C19</i> *2 681G>A			
*1/*1	58	10.64 ± 4.01	0.572 [#]
*1/*2	38	9.75 ± 3.84	
*2/*2	14	10.70 ± 5.86	
<i>ABCB1</i> 3435C>T			
CC	38	11.19 ± 4.50	0.256 [#]
CT	50	10.08 ± 4.22	
TT	22	9.44 ± 3.54	

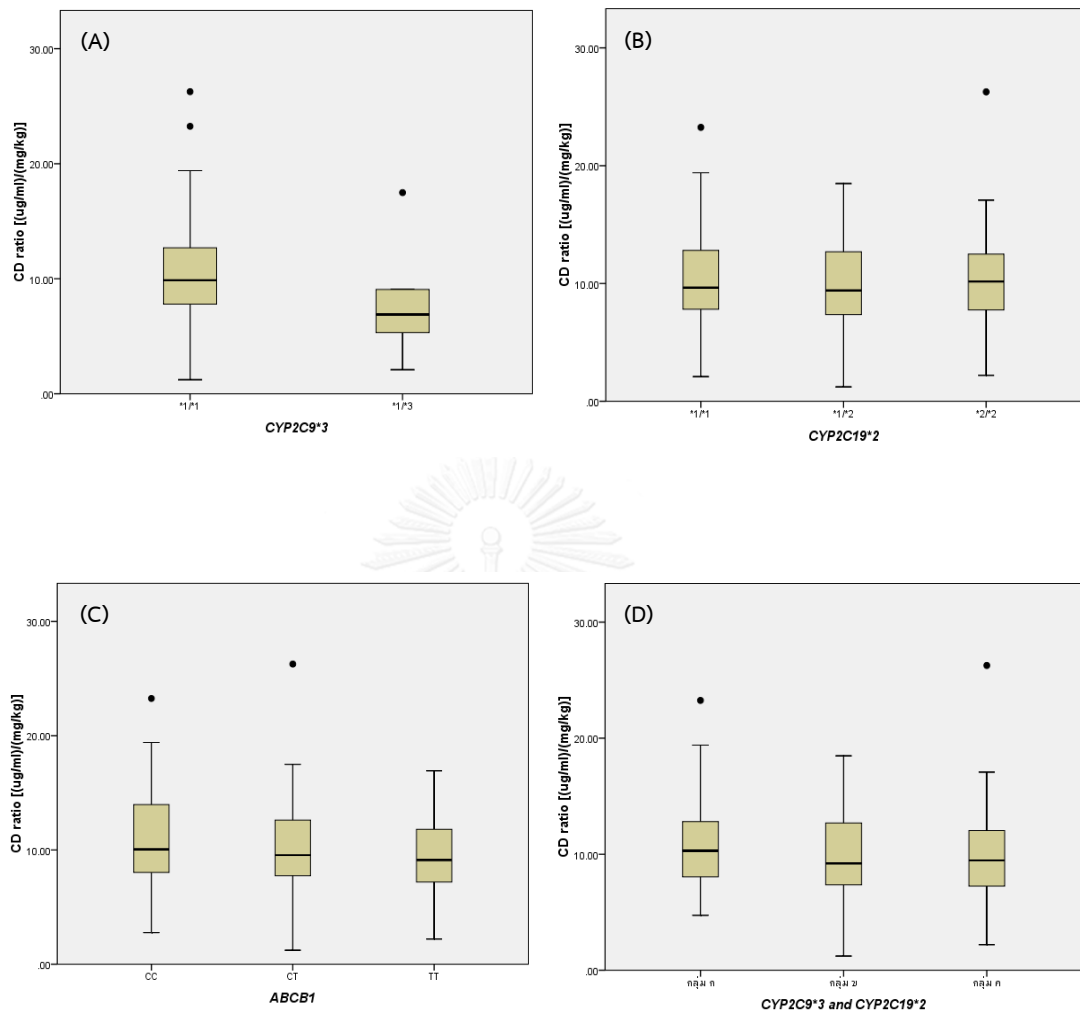
หมายเหตุ *วิเคราะห์ข้อมูลโดย Independent Sample T test [#]วิเคราะห์ข้อมูลโดย One way ANOVA test

เมื่อทำการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม (กลุ่ม ก กลุ่ม ข และกลุ่ม ค) ตามลักษณะจีโนไทป์ของ SNPs ในยีน *CYP2C9* ร่วมกับ *CYP2C19* ซึ่งเป็นการพิจารณาในแง่ที่ถ่ายทอดเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล พบว่า ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 20

ตาราง 20 แสดงระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม
 จีโนไทป์ของ CYP2C9*3 และ CYP2C19*2

กลุ่ม	CYP2C9*3	CYP2C19*2	จำนวน (ราย)	ระดับยาในเลือด/ขนาด ยา/น้ำหนัก [(มคก./มล.)/(กก./กก.)]
ก	*1/*1	*1/*1	53	10.85 ± 3.81
ข	*1/*1	*1/*2	42	9.68 ± 4.05
	*1/*3	*1/*1		
ค	*1/*1	*2/*2	15	10.37 ± 5.78
	*1/*3	*1/*2, *2/*2		
	*3/*3	*1/*1, *1/*2, *2/*2		
				p-value = 0.407 [#]

หมายเหตุ [#]วิเคราะห์ข้อมูลโดย One way ANOVA test



รูป 11 แสดง Boxplots แสดงการกระจายของระดับยาฟีโนบาร์บิทัลต่อขนาดยา
 ต่อน้ำหนักตัวกับลักษณะจีโนไทป์ของ SNPs ต่างๆ (A) *CYP2C9*3*
 (B) *CYP2C19*2* (C) *ABCB1* และ (D) *CYP2C9*3* and *CYP2C19*2*

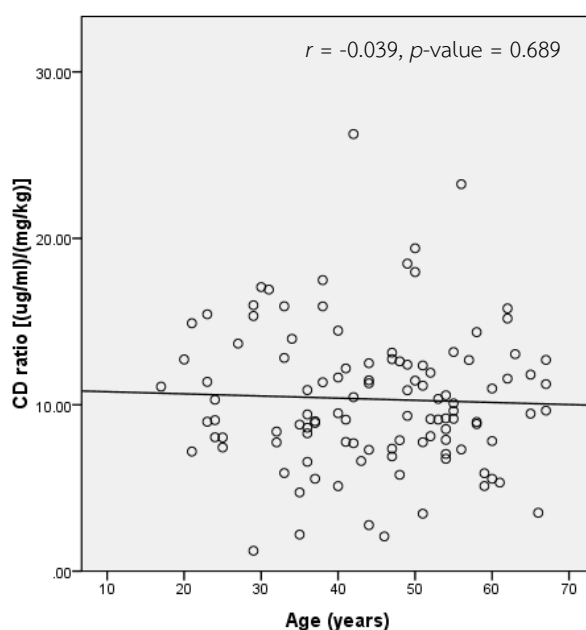
● หมายถึง outlier

4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม ซึ่งได้แก่ อายุ เพศ ประเภทของโรคลมชัก และการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา กับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดของผู้ป่วย ได้ผลดังนี้

4.4.1 อายุ

เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยอายุกับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด โดยใช้ bivariate correlation ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุของผู้ป่วยกับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วย โดยแสดงกราฟการกระจายของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวกับอายุของผู้ป่วย ดังในรูปที่ 12



รูป 12 แสดง Scatter plot แสดงการกระจายของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวกับอายุ

หมายเหตุ r วิเคราะห์โดย Pearson correlation

4.4.2 เพศของผู้ป่วย

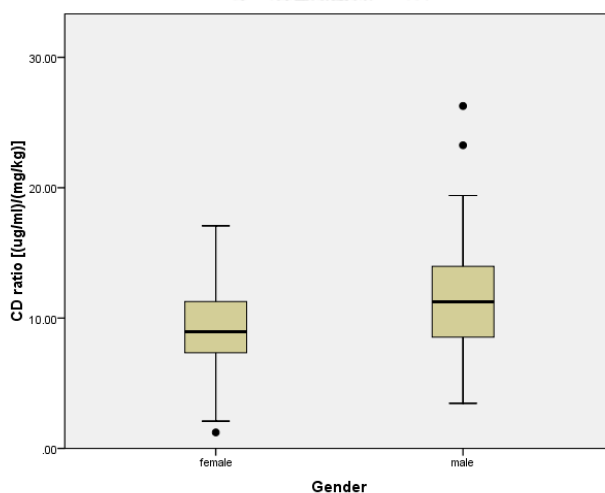
เปรียบเทียบระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดระหว่างกลุ่มผู้ป่วยเพศชายและเพศหญิงพบว่า ผู้ป่วยเพศชายมีระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยสูงกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 21

ตาราง 21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเพศกับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

เพศ	จำนวน (ราย)	ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยา ต่อน้ำหนักตัว [(มคก./มล.)/(กก./กก.)]	p-value
หญิง	52	9.08 ± 3.40	0.003*
ชาย	58	11.47 ± 4.55	

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*วิเคราะห์ข้อมูลโดย Independent Sample T test



รูป 13 แสดง Boxplot แสดงการกระจายของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวกับเพศ

● หมายถึง outlier

4.4.3 ประเภทของโรคลมชัก

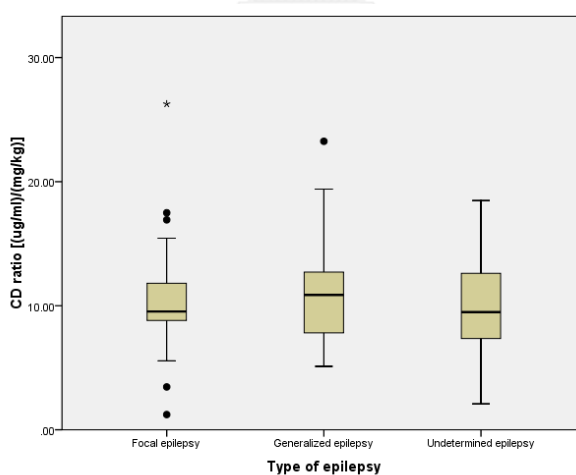
เมื่อเปรียบเทียบระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดของกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่มีประเภทของโรคลมชักแบบต่างๆ พบว่า ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยของผู้ป่วยแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 22

ตาราง 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างประเภทของโรคลมชักกับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

ประเภทของโรคลมชัก	จำนวน (ราย)	ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัว [(มคก./มล.)/(มก./กก.)]	p-value
Focal epilepsy	38	10.46 ± 4.20	0.588 [#]
Generalized epilepsy	15	11.25 ± 4.99	
Undetermined epilepsy	57	10.01 ± 4.03	

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

[#]วิเคราะห์ข้อมูลโดย One way ANOVA test



รูป 14 แสดง Boxplot แสดงการกระจายของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวกับประเภทของโรคลมชัก

● หมายถึง outlier

4.4.4 การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

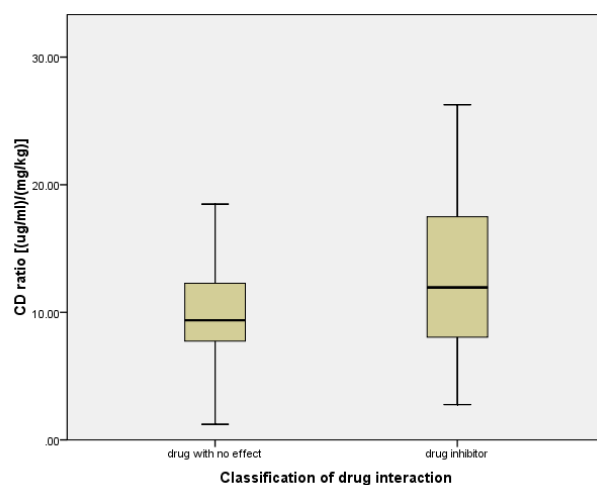
เมื่อเปรียบเทียบระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดระหว่างผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัลกับผู้ป่วยกลุ่มที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล พบว่า ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยของผู้ป่วยสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดในกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัลสูงกว่า ดังแสดงในตารางที่ 23

ตาราง 23 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอันตรกิริยาของยากับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดของผู้ป่วยอาสาสมัครจำนวน 110 ราย

การเกิดอันตรกิริยาของยา	จำนวน (ราย)	ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด ต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัว [(มคก./มล.)/(มก./กก.)]	p-value
ยาพร้อมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟิโนบาร์บิทัล (drug with no effect)	92	9.86 ± 3.40	0.086*
ยาพร้อมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล (enzyme inhibitor)	18	12.78 ± 6.65	

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

*วิเคราะห์ข้อมูลโดย Independent Sample T test



รูป 15 แสดง Boxplot แสดงการกระจายของระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวกับการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

- หมายถึง outlier

4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือด

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือด โดยใช้ multiple linear regression พบว่าปัจจัยที่สามารถอธิบายความผันแปรของระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยได้ดีที่สุด ได้แก่ ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม คือ การเกิดอันตรกิริยาต่อยาฟีโนบาร์บิทัล และเพศของผู้ป่วยกล่าวคือ ผู้ป่วยที่ได้รับยาที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟีโนบาร์บิทัลและผู้ป่วยโรคลมชักเพศชายมีความสัมพันธ์กับระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยของตัวแปรเท่ากับ 2.583 (p -value = 0.014) และ 1.929 (p -value = 0.014) ตามลำดับ ซึ่งโมเดลนี้สามารถอธิบายความผันแปรของระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยได้ร้อยละ 17.6 ($R^2 = 0.176$, p -value = 0.001) ดังแสดงในตารางที่ 25

ตาราง 24 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยของตัวแปรต่างๆในโมเดลกับความสัมพันธ์ของความผันแปรของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วย

ตัวแปรอิสระ	Unstandardized Coefficient (B)	p-value	95%CI
(Constant)	9.973	<0.001	(8.363-11.582)
<i>CYP2C9*3</i>	-3.168	0.066	(-6.549-0.213)
<i>CYP2C19*2</i>	-0.045	0.934	(-1.124-1.033)
<i>ABCB1 3435C>T</i>	-1.022	0.054	(-2.064-0.019)
การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา	2.583	0.014	(0.536-4.630)
เพศ	1.929	0.014	(0.400-3.458)

$R^2 = 0.176$, p -value = 0.001

ตาราง 25 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างความผันแปรของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยกับตัวแปร *CYP2C9*3* *CYP2C19*2* *ABCB1 3435C>T* การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา และเพศ

โมเดลความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น [(มคก./มล.)/(มก./กก.)] กับตัวแปรต่างๆ	R^2
$\text{PB CD ratio} = 9.973 - (3.168 \times \text{CYP2C9*3}) - (0.045 \times \text{CYP2C19*2}) - (1.022 \times \text{ABCB1 3435C>T}) + (2.583 \times \text{การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา}) + (1.929 \times \text{เพศ})$	0.176

หมายเหตุ PB CD ratio หมายถึง ระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัว [(มคก./มล.)/(มก./กก.)]

การแทนค่าในโมเดล; *CYP2C9*3*: เมื่อมีลักษณะจีโนไทป์ของ *CYP2C9*3* เป็น *1/*1 ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็น *1/*3 ให้แทนค่าด้วย 1 ถ้าเป็น *3/*3 ให้แทนค่าด้วย 2, *CYP2C19*2*: เมื่อมีลักษณะจีโนไทป์ของ *CYP2C19*2* เป็น *1/*1 ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็น *1/*2 ให้แทนค่าด้วย 1 ถ้าเป็น *2/*2 ให้แทนค่าด้วย 2, *ABCB1 3435C>T*: เมื่อมีลักษณะ จีโนไทป์ของ *ABCB1 3435C>T* เป็น CC ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็น CT ให้แทนค่าด้วย 1 ถ้าเป็น TT ให้แทนค่าด้วย 2, การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา: เมื่อเป็น ยาที่ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาร่วมกันกับยาฟิโนบาร์บิทัลให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็นยา

ที่มีผลก่อให้เกิดการเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล แทนค่าด้วย 1, เพศ: เมื่อเป็น เพศหญิง ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็น เพศชาย ให้แทนค่าด้วย 1

4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล

ในการวิเคราะห์การตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลในการควบคุมอาการชักของผู้ป่วยโรคลมชักจำนวน 110 รายนั้น สามารถแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ตามคำนิยามของ International League Against Epilepsy (ILAE) (104) ดังนี้ คือ ผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล (phenobarbital-responsive epilepsy) จำนวน 62 ราย และผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล (phenobarbital-resistant epilepsy) จำนวน 48 ราย และเมื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มนั้น พบว่า ประเภทของโรคลมชัก และรูปแบบการได้รับยากันชักของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ ผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลจะมีประเภทของโรคลมชักแบบ focal epilepsy มากกว่า และมีรูปแบบการได้รับยากันชักร่วมกันหลายตัวมากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล (p -value = 0.001 และ 0.003 ตามลำดับ) โดยการเปรียบเทียบข้อมูลปัจจัยทางคลินิกต่างๆ ของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลกับผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล แสดงไว้ในตารางที่ 26

ตาราง 26 แสดงการเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและข้อมูลทางคลินิกระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัล (phenobarbital-responsive epilepsy) และกลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัล (phenobarbital-resistant epilepsy)

ข้อมูลทั่วไป/ข้อมูลทางคลินิก	PB-responsive epilepsy	PB-resistant epilepsy	<i>p</i> -value
จำนวน	62	48	
เพศ			
- ชาย	29 (46.8)	29 (60.4)	0.181 [†]
- หญิง	33 (53.2)	19 (39.6)	
อายุ (ปี)	46.65 ± 12.65	41.96 ± 12.19	0.053*
น้ำหนักตัว (กก.)	62.27 ± 15.57	63.39 ± 12.75	0.686*
อายุที่เริ่มมีอาการชัก (ปี)	19.47 ± 10.89	17.58 ± 11.21	0.380*
ประวัติโรคลมชักในครอบครัว			
- มี	53 (85.5)	42 (87.5)	0.760 [†]
- ไม่มี	9 (14.5)	6 (12.5)	
ประวัติการผ่าตัดรักษาโรคลมชัก			
- มี	61 (98.4)	45 (93.8)	0.198 [†]
- ไม่มี	1 (1.6)	3 (6.3)	
ประเภทของโรคลมชัก			
- Focal epilepsy	12 (19.4)	26 (54.2)	
- Generalized epilepsy	11 (17.7)	4 (8.3)	0.001 [†]
- Undetermined epilepsy	39 (62.9)	18 (37.5)	
รูปแบบการได้รับยากันชัก			
- ใ้ยากันชักตัวเดียว (PB Monotherapy)	20 (32.3)	4 (8.3)	0.003 [†]
- ใ้ยากันชักร่วมกันหลายตัว (Polytherapy)	42 (67.7)	44 (91.7)	
ขนาดยาฟีโนบาร์บิทัลที่ได้รับต่อวัน (มก./วัน)	105.73±47.70	96.25 ± 51.76	0.148 [†]
ขนาดยาฟีโนบาร์บิทัลที่ได้รับต่อวันต่อน้ำหนักตัว (มก./วัน/กก.)	1.78 ± 0.86	1.54 ± 0.73	0.121*

ข้อมูลทั่วไป/ข้อมูลทางคลินิก	PB-responsive epilepsy	PB-resistant epilepsy	p-value
ระดับยาฟีนobarบิทัลในเลือด (มคก./มล.)	11.84 ± 12.69	16.89 ± 10.67	0.765 [‡]
ระดับยาฟีนobarบิทัลในเลือดต่อขนาดยา ต่อน้ำหนักตัว [(มคก./มล.)/(กก./กก.)]	10.03 ± 4.11	10.74 ± 4.34	0.377*

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานหรือความถี่ (ร้อยละ)

[‡]วิเคราะห์ข้อมูลโดย Chi-square test [‡]วิเคราะห์ข้อมูลโดย Mann-Whitney U test *วิเคราะห์ข้อมูลโดย Independent-Samples T Test

PB หมายถึง phenobarbital

การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัล โดยใช้ multiple logistic regression พบว่า โมเดลที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ดังกล่าวได้ดีที่สุดสามารถอธิบายความผันแปรของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัล ได้ร้อยละ 25.5 ($R^2 = 0.255$) ดังแสดงในตารางที่ 28 โดยพบว่าปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ *ABCB1* 3435C>T และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม คือ ประเภทของโรคลมชักมีความสัมพันธ์กับโอกาสในการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัล กล่าวคือ ผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัลจะมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1* 3435C>T เป็นแบบ CC มากกว่า และมีประเภทของโรคลมชักเป็นแบบ focal epilepsy มากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (adjusted OR = 3.962, 95% CI = 1.075-14.610, p-value = 0.039 และ adjusted OR = 5.936, 95% CI = 2.272-15.513, p-value < 0.001 ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 29

ตาราง 27 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความถดถอยโลจิสติกของตัวแปรต่างๆ ในโมเดลกับความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วย

ตัวแปรอิสระ	Logistic Coefficient (B)	p-value	Exp(B)
(Constant)	-2.324	0.001	0.098
ABCB1 3435CC	1.377	0.039	3.962
ABCB1 3435CT	1.099	0.084	3.002
ABCB1 3435TT	-	0.112	-
Focal epilepsy	1.781	<0.001	5.936
Generalized epilepsy	-0.338	0.613	0.713
Undetermined epilepsy	-	<0.001	-
เพศชาย	0.879	0.05	2.409

Chi-square (Hosmer and Lemeshow test) = 7.603, p-value = 0.473, $R^2 = 0.255$

ตาราง 28 แสดงโมเดลความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลกับตัวแปร ABCB1 3435C>T ประเภทของโรคลมชัก และเพศ

โมเดลความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลกับตัวแปรต่างๆ	R^2
$\text{Prob (PB resistance)} = 1 / 1 + e^{-Z}$ <p>เมื่อ $Z = -2.324 + (1.377 \times \text{ABCB1 3435CC}) + (1.099 \times \text{ABCB1 3435CT}) + (1.781 \times \text{Focal epilepsy}) - (0.338 \times \text{Generalized epilepsy}) + (0.879 \times \text{เพศชาย})$</p>	0.255

หมายเหตุ Prob (PB resistance) หมายถึง โอกาสที่จะไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล การแทนค่าในโมเดล; ABCB1 3435CC: เมื่อไม่มี ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามี ให้แทนค่าด้วย 1, ABCB1 3435CT: เมื่อไม่มี ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้ามี ให้แทนค่าด้วย 1, Focal epilepsy: เมื่อไม่เป็น ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็น ให้แทนค่าด้วย 1, Generalized epilepsy: เมื่อไม่เป็น ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็น ให้แทนค่าด้วย 1, เพศชาย: เมื่อเป็นเพศหญิง ให้แทนค่าด้วย 0 ถ้าเป็นเพศชาย ให้แทนค่าด้วย 1

ตาราง 29 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของความผันแปรในยีน *ABCB1* ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarบิทัลของผู้ป่วยอาสาสมัคร จำนวน 110 ราย

SNPs/ข้อมูลทางคลินิก	PB-responsive epilepsy (n=62)	PB-resistant epilepsy (n=48)	Adjusted OR* (95% CI)	p-value
<i>ABCB1</i> 3435C>T				
- CC	19 (30.6)	19 (39.6)	3.962 (1.075-14.610)	0.039
- CT	27 (43.5)	23 (47.9)	3.002 (0.864-10.433)	0.084
- TT	16 (25.8)	6 (12.5)	Reference	
ประเภทของโรคลมชัก				
- Focal epilepsy	12 (19.4)	26 (54.2)	5.936 (2.272-15.513)	<0.001
- Generalized epilepsy	11 (17.7)	4 (8.3)	0.713 (0.192-2.643)	0.613
- Undetermined epilepsy	39 (62.9)	18 (37.5)	Reference	
เพศ				
- เพศชาย	29 (46.8)	29 (60.4)	2.409 (1.000-5.804)	0.050

หมายเหตุ แสดงข้อมูลในรูปของความถี่ (ร้อยละ)

*OR วิเคราะห์ข้อมูลโดย multiple logistic regression หลังจากปรับอิทธิพลของจีโนไทป์ของ *ABCB1* 3435C>T ประเภทของโรคลมชัก และเพศของผู้ป่วย

PB หมายถึง Phenobarbital, OR หมายถึง Odds ratio, CI หมายถึง Confidence interval

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

โรคลมชักเป็นระบบทางระบบประสาทที่พบได้บ่อยในประเทศไทย โดยพบความชุกในอัตรา 5.9-7.2 ต่อประชากร 1,000 คน (3, 4) ซึ่งวิธีการหลักในการรักษา คือการใช้ยากันชักควบคุมอาการชัก แต่ในปัจจุบันพบว่ายังมีผู้ป่วยอีกประมาณร้อยละ 30 ที่ไม่สามารถควบคุมอาการชักได้แม้จะได้รับยาในขนาดที่เหมาะสมแล้วก็ตาม (5) ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพร่างกาย การดำเนินชีวิตประจำวันและสังคมของผู้ป่วย รวมทั้งอาจเสี่ยงต่อการเสียชีวิตก่อนวัยอันควร (6)

ฟีโนบาร์บิทัลเป็นยากันชักที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในประเทศที่กำลังพัฒนาสำหรับการรักษาอาการชักประเภท partial seizures และ generalized tonic-clonic seizures (11, 12) รวมทั้งอาการชักในเด็กแรกเกิด (13) อย่างไรก็ตามฟีโนบาร์บิทัลเป็นยาที่มีช่วงของการรักษาที่แคบ (15.0 - 40.0 มคก./มล.) (14) ซึ่งอาจทำให้การใช้ยาไม่มีประสิทธิภาพหรือเกิดผลข้างเคียงได้ง่ายจากการใช้ยาในขนาดที่ต่ำหรือสูงจนเกินไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องตรวจวัดระดับยาและปรับขนาดยาให้อยู่ในช่วงของการรักษา ในการศึกษาวิจัยสนใจศึกษาความสัมพันธ์ของความหลากหลายของขนาดยา ระดับยาในเลือด ตลอดจนการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัลกับปัจจัยทางด้านพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา และปัจจัยทางคลินิกต่างๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับอธิบายความแตกต่างและเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพิจารณาปรับขนาดหรือเลือกยาที่เหมาะสมในผู้ป่วยแต่ละราย

เมื่อพิจารณาปัจจัยทางด้านพันธุกรรมที่คาดว่าจะมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาที่เปลี่ยนแปลงไป จนอาจส่งผลทำให้เกิดความแตกต่างในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาในผู้ป่วยแต่ละราย ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่ถ่ายทอดโปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาฟีโนบาร์บิทัล คือ *CYP2C9* และ *CYP2C19* หรือกระบวนการนำส่งยา คือ *ABCB1* (106) จากการศึกษาความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของ candidate functional SNPs 3 ชนิด พบความถี่อัลลีล *CYP2C9*3* *CYP2C19*2* และ *ABCB1 3435C>T* เท่ากับ 0.03 0.30 และ 0.43 ตามลำดับ โดยการกระจายของความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของทุก SNPs อยู่ในสมดุคของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก นั่นหมายถึง ความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ในยีน

พูลของประชากรไทยที่ศึกษาจะมีค่าคงที่ในทุกๆ รุ่น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบความถี่อัลลีลในการศึกษานี้กับประชากรเชื้อชาติต่างๆ พบว่า ความถี่อัลลีล *CYP2C9*3* และ *CYP2C19*2* มีความใกล้เคียงกับชาวเอเชียเชื้อชาติอื่นๆ แต่จะแตกต่างจากชาวคอเคเซียน ส่วนความถี่อัลลีล *ABCB1 3435C>T* มีความใกล้เคียงกับชาวเอเชียเชื้อชาติอื่นๆ และชาวคอเคเซียน แต่มีความแตกต่างจากชาวแอฟริกัน ดังนั้นความแตกต่างของเชื้อชาติจึงอาจมีผลต่อการศึกษาเภสัชพันธุศาสตร์ในประชากรที่มีความถี่อัลลีลของ *CYP2C9*3* *CYP2C19*2* และ *ABCB1 3435C>T* แตกต่างกัน

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางด้านพันธุกรรมต่อขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชักและระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดและระดับยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัล คือ *CYP2C9* และ *CYP2C19* ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาของ Mamiya และคณะ (2000) ที่พบว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะของจีโนไทป์แบบ homozygous variants ได้แก่ *CYP2C19*2/*2* หรือ *CYP2C19*2/*3* จะมีค่าการกำจัดยาฟิโนบาร์บิทัลต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะของจีโนไทป์แบบ homozygous wild type (*CYP2C19*1/*1*) และ heterozygous variants คือ *CYP2C19*1/*2* หรือ *CYP2C19*1/*3* แต่ไม่พบอิทธิพลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CYP2C9* ต่อยาฟิโนบาร์บิทัล (63) หรือในการศึกษาของ Goto และคณะ (2007) ซึ่งพบผู้ป่วยที่มี *CYP2C9*3* และมีลักษณะจีโนไทป์เป็นแบบ heterozygous variants คือ *CYP2C9*1/*3* จะมีค่าการกำจัดยาฟิโนบาร์บิทัลต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็นแบบ homozygous wild type (53) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ van der Weide และคณะ (2001) ที่พบอิทธิพลของความหลากหลายของยีน *CYP2C9* ต่อขนาดยา phenytoin (107) ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการพบความถี่จีโนไทป์ของ *CYP2C19*2* homozygous variants นี้ต่ำ เพียงร้อยละ 5.71 และพบ *CYP2C9*3* heterozygous variants เพียงร้อยละ 5.5 ในผู้ป่วยชาวไทย ทำให้ผู้ป่วยอาสาสมัครส่วนใหญ่มีลักษณะจีโนไทป์เป็น homozygous wild type จึงไม่เห็นผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ *CYP2C9* และ *CYP2C19* และถึงแม้ว่าพหุสัณฐานที่เกิดขึ้น คือ *CYP2C9*3* ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 7 ในตำแหน่งที่ 1075 จาก adenine (A) เป็น cytosine (C) ทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 359 เปลี่ยนจาก isoleucine (I) เป็น leucine (L) ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแปลงยาของเอนไซม์ลดลงถึงร้อยละ 93-95 (37, 38) ส่วน *CYP2C19*2* ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 5 ในตำแหน่งที่ 681 จาก guanine (G) เป็น adenine (A) ทำให้เกิดความบกพร่องในการเชื่อมต่อของ exon (splicing defect) ส่งผลให้เอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาไม่มีประสิทธิภาพ (54) แต่เนื่องจากยาฟิโนบาร์บิทัลมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงยาหลายวิถีทาง คือ ถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลงร้อยละ 25 (15)

ถูกเปลี่ยนแปลงผ่านทางตับโดยปฏิกิริยา glucosidation ร้อยละ 25 และเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยา aromatic hydroxylation ซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ CYP2C9 และ CYP2C19 อีกร้อยละ 25 (16, 17) ดังนั้นเมื่อมีความผิดปกติของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาเพียงวิถีทางใดวิถีทางหนึ่ง ยาอาจยังสามารถเปลี่ยนแปลงผ่านวิถีทางอื่นๆ ได้ หรืออาจมีปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ ที่อาจบดบังผล ความผันแปรทางพันธุกรรมของยีน การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของยาเพียงวิถีทางเดียวจึงอาจไม่เพียงพอที่จะเห็นอิทธิพลต่อความแตกต่างของขนาดและระดับยาในเลือด

สำหรับยีน *ABCB1* เป็นยีนที่ถ่ายทอดตัวนำส่งยา (drug efflux transporter) ที่สำคัญ คือ p-gp การเกิดพหุสัณฐานของยีนนี้ ได้แก่ *ABCB1* 3435C>T คือ เกิดการเปลี่ยนแปลง นิวคลีโอไทด์บน exon ที่ 26 ในตำแหน่ง 3435 จาก cytosine (C) เป็น thymine (T) แต่กรดอะมิโน ที่ได้นั้นจะยังคงเป็น isoleucine (I) เช่นเดิม เรียกการเกิด SNP ในลักษณะนี้ว่า synonymous SNP อย่างไรก็ตามการเกิดความผันแปรนี้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ mRNA ทำให้มีการเปลี่ยนแปลง substrate binding site ของ p-gp (71) นอกจากนี้มีความเป็นไปได้ว่า *ABCB1* 3435C>T มี linkage disequilibrium กับ non-synonymous SNP อื่นที่มีผลต่อการควบคุม การแสดงออกและการทำงานของ p-gp (67, 72, 73) จึงมีผลทำให้การจับกันของ p-gp กับยา ฟิโนบาร์บิทัลซึ่งเป็น substrate ของ p-gp (108) ลดลง แต่ในการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของ *ABCB1* 3435C>T ต่อระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด อาจเนื่องมาจากการแสดงออกของ p-gp พบได้หลายบริเวณในร่างกาย ได้แก่ ลำไส้เล็ก ตับ blood-brain barrier ที่สมอง และรก เป็นต้น (66) ดังนั้นระดับยาในเลือดอาจไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับยาในสมอง ทั้งนี้หากจะวิเคราะห์ ปริมาณยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดอาจต้องทำการเจาะเลือดผู้ป่วยหลายครั้ง เพื่อให้ครอบคลุม พื้นที่ได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในเลือดกับเวลา (AUC) แต่ในทางปฏิบัตินั้นทำได้ยากและ ในการศึกษานี้ได้ทำการเจาะเลือดผู้ป่วยเพียงครั้งเดียว และไม่ได้ทำการวัดระดับยาในน้ำไขสันหลัง (cerebrospinal fluid, CSF) ของผู้ป่วย จะเห็นได้ว่าการศึกษาอิทธิพลของความหลากหลายของยีน *ABCB1* ต่อการแสดงออกของ p-gp ในแต่ละส่วนจึงค่อนข้างมีความซับซ้อน

ดังนั้นเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของความหลากหลายของยีน *ABCB1* ต่อลักษณะ ฟิโนโทป์ของการตอบสนองต่อยากันชักของผู้ป่วย โดยจำแนกตามการตอบสนองต่อการรักษา ด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล ตามนิยามของ International League Against Epilepsy (104) สามารถแบ่ง ผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้คือ กลุ่มผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล (phenobarbital-responsive epilepsy) หมายถึง ผู้ป่วยที่ไม่มีอาการชักใดๆ และอาการเตือนก่อน ชัก (aura) เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เท่าของระยะห่างของอาการชัก หรือภายใน 12 เดือน แล้วแต่ ว่าช่วงเวลาใดนานกว่าหลังจากได้รับยาฟิโนบาร์บิทัลในขนาดที่เหมาะสมแล้ว และกลุ่มผู้ป่วยโรค

ลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital (phenobarbital-resistant epilepsy) หมายถึง ผู้ป่วยที่ยังมีอาการชักอยู่หลังจากได้รับยาฟีนobarbital ในขนาดที่เหมาะสมแล้ว

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital กับปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมโดยใช้สถิติ multiple logistic regression พบว่า ความผันแปรในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital มีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางพันธุกรรม คือ *ABCB1 3435C>T* และปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรม คือ ประเภทของโรคลมชัก กล่าวคือ ผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital จะมีลักษณะจีโนไทป์ของ *ABCB1 3435C>T* เป็นแบบ CC มากกว่า และมีประเภทของโรคลมชักเป็นแบบ focal epilepsy มากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (adjusted OR = 3.962, 95% CI = 1.075-14.610, *p*-value = 0.039 และ adjusted OR = 5.936, 95% CI = 2.272-15.513, *p*-value < 0.001 ตามลำดับ)

ผลการศึกษาที่พบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักที่มีโอกาสที่จะไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital จะมีลักษณะของจีโนไทป์เป็นแบบ *ABCB1 3435CC* มากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีนobarbital สอดคล้องกับการศึกษาของ Siddiqui และคณะ (2003) ซึ่งเป็นการศึกษาแรกที่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *ABCB1 3435C>T* กับการดื้อยากันชักในผู้ป่วยโรคลมชัก โดยพบว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักจะมีลักษณะของจีโนไทป์เป็นแบบ *ABCB1 3435CC* มากกว่าผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก (68) ซึ่งต่อมามีผู้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของความหลากหลายของยีน *ABCB1* ต่อการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชัก แต่พบว่าผลการศึกษาที่มีความขัดแย้งกันอยู่ หลายการศึกษายืนยันผลการศึกษาของ Siddiqui และคณะ (69, 109, 110) แต่มีบางการศึกษาที่กลับพบความสัมพันธ์ระหว่าง *ABCB1 3435TT* กับการไม่ตอบสนองต่อยากันชัก (6, 86) และบางการศึกษาก็ไม่พบความสัมพันธ์กับ *ABCB1 3435C>T* ดังกล่าว (79, 111, 112) ผลการศึกษาที่ขัดแย้งกันนั้นอาจเนื่องมาจากข้อจำกัดต่างๆ ได้แก่ 1) ความแตกต่างของเชื้อชาติ เป็นผลมาจากความถี่อัลลีลของ *ABCB1 3435C>T* ในประชากรที่แตกต่างกัน (10) เช่น ในชาวเอเชียจะมีความถี่ของ C allele ต่ำกว่าชาวแอฟริกัน (76, 77) 2) การให้คำจำกัดความของการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักที่แตกต่างกัน เช่น ในการศึกษาของ Kwan และคณะ (2007) นิยามว่าการไม่ตอบสนองต่อยากันชัก หมายถึง ผู้ป่วยที่มีอาการชัก 1 ครั้ง/เดือน (86) ในขณะที่การศึกษาของ Szoek และคณะ (2009) ระบุว่า ผู้ป่วยต้องมีอาการชัก 1 ครั้ง/ปี (111) และ 3) ความแตกต่างของเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย เช่น บางการศึกษาเก็บข้อมูลผู้ป่วยที่ได้รับยากันชักที่ไม่ได้มีคุณสมบัติเป็น substrate ของ p-gp ร่วมด้วย

(79, 86, 112) จากข้อจำกัดต่างๆ ที่ได้กล่าวมานั้นทำให้ยากต่อการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยให้มีลักษณะของฟีโนโทป์ที่เหมือนกันจึงส่งผลให้ผลการรักษาที่พบยังมีความขัดแย้งกันอยู่

อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ยังสอดคล้องกับผลการรักษาของ Basic และคณะ (2008) ซึ่งพบว่าผู้ป่วยโรคลมชักชาวโครเอเชียที่มีลักษณะจีโนโทป์เป็นแบบ *ABCB1 3435CC* มีอัตราส่วนความเข้มข้นของระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในน้ำไขสันหลังต่อซีรัมต่ำกว่าและมีความถี่ในการชักสูงกว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะจีโนโทป์เป็นแบบ *ABCB1 3435CT* และ *ABCB1 3435TT* (39) รวมทั้งผลการรักษาในชาวไทยก่อนหน้านี้ ซึ่งพบความสัมพันธ์ระหว่าง *ABCB1 3435CC* กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา lamotrigine (74)

ในการศึกษานี้ ได้ทำการเก็บตัวอย่างผู้ป่วยอาสาสมัครจากสถาบันประสาทวิทยา และโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้าซึ่งเป็นโรงพยาบาลระดับตติยภูมิ ผู้ป่วยส่วนใหญ่จึงมีสภาวะของโรคที่ซับซ้อนและมีอาการค่อนข้างรุนแรง จึงพบสัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยากันชักร่วมกันหลายชนิดสูง เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางคลินิกซึ่งไม่เกี่ยวข้องกันกับพันธุกรรมกับการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัล พบว่า กลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัลมีรูปแบบการได้รับยากันชักแตกต่างจากกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัล ซึ่งความสัมพันธ์นี้เป็นสิ่งที่คาดหมายได้ เนื่องจากแนวทางปฏิบัติในการรักษาโรคลมชักนั้น เริ่มต้นจากการใช้ยากันชักเพียงชนิดเดียวที่เหมาะสมกับอาการชักของผู้ป่วยในขนาดต่ำก่อนแล้วเพิ่มขนาดยากันชัก จากนั้นประเมินผลการควบคุมอาการชักของยาเพื่อพิจารณาเปลี่ยนหรือเพิ่มชนิดยากันชัก (4) ดังนั้นผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัลจึงมีแนวโน้มที่จะได้รับยากันชักร่วมกันหลายตัวมากกว่าผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟีโนบาร์บิทัล

นอกจากนี้การได้รับยากันชักร่วมกันหลายตัวมีโอกาสทำให้เกิดอันตรกิริยาจากยาที่ได้รับร่วมกันได้ โดยลักษณะอันตรกิริยาระหว่างยาที่เกิดขึ้นนั้น สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ยาร่วมที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาต่อยาฟีโนบาร์บิทัล ยาร่วมที่ก่อให้เกิดการเหนี่ยวนำการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟีโนบาร์บิทัล และยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟีโนบาร์บิทัล ซึ่งในการศึกษานี้พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือด โดยในการศึกษานี้พบยาเพียงตัวเดียวที่มีผลเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาฟีโนบาร์บิทัลอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก ได้แก่ valproic acid โดย valproic acid เป็นยาที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2C9 และ CYP2C19 จึงจัดอยู่ในกลุ่มยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟีโนบาร์บิทัล และส่งผลให้ระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งอันตรกิริยาระหว่างยาที่เกิดขึ้นนั้น

มีความรุนแรงระดับปานกลาง และมีความน่าจะเป็นของอันตรกิริยาระหว่างยาตั้งแต่ระดับนาสสัยขึ้นไป [sig.2] (105) ดังนั้นการเกิดอันตรกิริยาจากยาฟิโนบาร์บิทัลกับยา valproic acid ที่ใช้ร่วมจึงเป็นปัจจัยที่นำให้ความสนใจในทางคลินิก อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้ทำการเก็บข้อมูลประวัติการใช้ยา valproic acid ย้อนหลังของผู้ป่วย จึงไม่สามารถระบุระยะเวลาของการใช้ยาฟิโนบาร์บิทัลร่วมกับกับยา valproic acid ได้อย่างแน่ชัด

นอกจากนี้พบว่าผู้ป่วยโรคลมชักที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลมีความสัมพันธ์กับการมีประเภทของโรคลมชักแบบ focal epilepsy สอดคล้องกับการศึกษาของ Kwan และ Brodie (2000) ซึ่งพบความสัมพันธ์ระหว่างการไม่ตอบสนองต่อยาชักกับการมีประเภทของโรคลมชักแบบ focal epilepsy (9) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า ผู้ป่วยโรคลมชักประเภท focal epilepsy มากกว่าร้อยละ 60 ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยากันชักมากกว่าผู้ป่วยโรคลมชักประเภท primary generalized epilepsy ซึ่งพบว่ามีอัตราการไม่ตอบสนองต่อยาเพียงร้อยละ 20 (10)

สำหรับปัจจัยทางด้านเพศ เนื่องจากเพศชายและเพศหญิงจะมีลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ที่แตกต่างกัน โดยในเพศชายจะมีน้ำเป็นองค์ประกอบในร่างกายและมีกล้ามเนื้อมากกว่าเพศหญิง ในขณะที่เพศหญิงจะมีสัดส่วนของเนื้อเยื่อไขมันมากกว่าเพศชาย จึงอาจส่งผลต่อการกระจายของยาในร่างกายได้ กล่าวคือ ยาที่ละลายในไขมันได้ดีจะมีการกระจายและสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไขมันของเพศหญิงมากกว่าเพศชาย เป็นต้น (94) Hoffman และคณะ (1989) ได้ทำการศึกษาผลของเพศต่อระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในหนูทดลอง โดยพบว่า หนูเพศผู้จะมีระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดสูงกว่าหนูเพศเมีย (95) เป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการศึกษาทางคลินิกของ Travers และคณะ (1972) ที่พบว่าเพศชายจะมีความเข้มข้นของยากันชักในซีรัมสูงกว่าเพศหญิง (97) ซึ่งสอดคล้องกับผลในการศึกษานี้ ที่พบว่าผู้ป่วยโรคลมชักเพศชายจะมีระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดสูงกว่าเพศหญิง แต่ขัดแย้งกับการศึกษาของ Sirmagul และคณะ (2012) ซึ่งพบว่าผู้ป่วยโรคลมชักเพศหญิงจะมีระดับยา phenytoin ในพลาสมาสูงกว่าในเพศชาย (113) และให้เหตุผลว่าเพศชายมีการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยา phenytoin ที่สูงกว่าเพศหญิง (114) อย่างไรก็ตามมีบางการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเพศกับค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาฟิโนบาร์บิทัล (115) จะเห็นได้ว่าอิทธิพลของปัจจัยเพศต่อระดับยายังมีความขัดแย้งกันอยู่ ผลที่เกิดขึ้นอาจขึ้นอยู่กับคุณสมบัติเฉพาะของยาแต่ละตัวที่ต่างกันด้วย ดังนั้นจึงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านอายุนั้น พบว่าอายุมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางเภสัชจลนศาสตร์ที่เปลี่ยนแปลงไปของยา กล่าวคือ อายุที่เพิ่มขึ้นของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับการลดลงของการทำงานของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก (90, 91) นอกจากนี้ในผู้สูงอายุจะมีการลดลงของกระบวนการ first pass metabolism ที่ตับ และมีการทำงานของไตที่ลดลง ทำให้การขจัดยาลดลง จึงส่งผลให้มีระดับยาในเลือดสูงขึ้น (92) แต่ในการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของอายุกับขนาดยาและระดับยาในเลือดรวมทั้งการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยโรคลมชัก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ De Leacy และคณะ (1979) ที่ไม่พบความสัมพันธ์ของอายุกับระดับยา phenytoin ในเลือด (116) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอื่นๆ ที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยากันชัก (117, 118)

ผลการศึกษาความสัมพันธ์โดยใช้สถิติ multiple linear regression ซึ่งพบว่าระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดมีความสัมพันธ์กับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกันกับพันธุกรรม ได้แก่ การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาและเพศของผู้ป่วย กล่าวคือ การได้รับยาร่วมที่ก่อให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัลและเพศชายมีความสัมพันธ์กับระดับยาฟิโนบาร์บิทัลที่เพิ่มขึ้นมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่กลับไม่พบความสัมพันธ์กับปัจจัยทางพันธุกรรม ซึ่งอาจมีความเป็นไปได้ว่าผลจากปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกันกับพันธุกรรม เช่น การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยามีผลค่อนข้างมากจนอาจบดบังผลจากปัจจัยทางพันธุกรรมได้ ดังนั้นการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางพันธุกรรมต่อการตอบสนองต่อยาอาจจำเป็นต้องทำการศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับยาฟิโนบาร์บิทัลเพียงชนิดเดียว เพื่อลดผลรบกวนจากปัจจัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา และอาจทำให้เห็นผลของปัจจัยทางด้านพันธุกรรมได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ในส่วนของขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลที่ผู้ป่วยได้รับในการควบคุมอาการชักนั้น เมื่อวิเคราะห์ด้วย multiple linear regression ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยากับตัวแปรใดๆ ทั้งปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกันกับพันธุกรรม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผู้ป่วยส่วนใหญ่เมื่อได้รับการรักษาด้วยยากันชักร่วมกันหลายตัว แพทย์อาจมีการปรับขนาดยาตามความเหมาะสม จึงอาจทำให้เห็นไม่เห็นความแตกต่างของขนาดยาฟิโนบาร์บิทัลเนื่องจากปัจจัยต่างๆได้อย่างชัดเจน

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด คือ การได้รับยา valproic acid ซึ่งมีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยาฟิโนบาร์บิทัลและเพศชาย ซึ่งปัจจัยทั้งหมดดังกล่าวสามารถอธิบาย

ความผันแปรของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือดต่อขนาดยาต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยได้ร้อยละ 17.6 นอกจากนี้ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล คือ ความหลากหลายทางพันธุกรรมใน *ABCB1* 3435C>T ที่มีลักษณะจีโนไทป์เป็น CC และประเภทของ โรคลมชักแบบ focal epilepsy ซึ่งปัจจัยทั้งหมดดังกล่าวสามารถอธิบายความผันแปรของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลของผู้ป่วยได้ร้อยละ 25.5

การศึกษานี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางพันธุกรรม ได้แก่ ความหลากหลายทางพันธุกรรมใน *CYP2C9**3 *CYP2C19**2 และ *ABCB1* 3435C>T ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกันกับพันธุกรรมกับขนาดยาที่ใช้ควบคุมอาการชัก ระดับยาในเลือด และการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัล ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนในผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย ดังนั้น การศึกษานี้จึงทำให้ทราบความสัมพันธ์ดังกล่าวเบื้องต้น เพื่อใช้สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพิจารณาปรับขนาดยาที่เหมาะสมในผู้ป่วยแต่ละรายและเพื่อให้การรักษาด้วยยามีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ผู้ป่วยสามารถควบคุมอาการชักได้และนำไปสู่การมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

ข้อจำกัดของการศึกษานี้และข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษานี้ เป็นการศึกษาทางคลินิกซึ่งมีการเก็บตัวอย่างจากโรงพยาบาลจึงทำให้การควบคุมปัจจัยต่างๆ ของผู้ป่วยซึ่งอาจมีผลต่อปัจจัยที่ต้องการศึกษาทำได้ค่อนข้างยาก นอกจากนี้แนวทางการปฏิบัติในการรักษาโรคลมชักด้วยยาของแพทย์อาจมีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่ได้ในการศึกษานี้เป็นการสุ่มจากโรงพยาบาลเพียง 2 แห่ง จึงอาจยังไม่สามารถใช้เป็นตัวแทนของประชากรชาวไทยทั้งหมดได้ การเก็บข้อมูลของผู้ป่วยเป็นการเก็บข้อมูล ณ ปัจจุบันและย้อนหลัง จึงเป็นการยากที่จะควบคุมสถานะของผู้ป่วยให้อยู่ในลักษณะที่ใกล้เคียงกัน จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในลักษณะติดตามผลไปข้างหน้าในกลุ่มประชากรที่ใหญ่ขึ้น และควรทำการศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับยาฟิโนบาร์บิทัลแบบ monotherapy เพื่อลดปัจจัยรบกวนจากยาอื่นที่เข้าร่วม นอกจากนี้ผลการศึกษาที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติสามารถอธิบายความผันแปรของระดับยาฟิโนบาร์บิทัลในเลือด และความผันแปรในการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาฟิโนบาร์บิทัลได้เพียงร้อยละ 17.6 และ 25.5 ตามลำดับ จึงอาจเป็นไปได้ว่ามีปัจจัยอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์หรือมีอิทธิพลต่อความผันแปรดังกล่าว เช่น ความหลากหลายของยีนที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่ยาไปออกฤทธิ์ เป็นต้น จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

รายการอ้างอิง

1. Lowenstein DH. Seizures and Epilepsy. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16 ed. USA: McGraw-Hill Companies.; 2005. p. 2357-72.
2. (WHO) WHO. Epilepsy fact sheet [2011, March 14]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/index.html>.
3. Asawavichienjinda T, Sitthi-Amorn C, Tanyanont W. Prevalence of epilepsy in rural Thailand: a population-based study. Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmai het thangphaet. 2002 Oct;85(10):1066-73.
4. กรมการแพทย์ สมาคมโรคลมชักแห่งประเทศไทย. แนวทางการรักษาโรคลมชัก Epilepsy: Clinical Practice Guidelines. In: สถาบันประสาทวิทยา, editor. 2552.
5. French JA, Kanner AM, Bautista J, Abou-Khalil B, Browne T, Harden CL, et al. Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs I: treatment of new onset epilepsy: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society. Neurology. 2004 Apr 27;62(8):1252-60.
6. Seo T, Ishitsu T, Ueda N, Nakada N, Yurube K, Ueda K, et al. ABCB1 polymorphisms influence the response to antiepileptic drugs in Japanese epilepsy patients. Pharmacogenomics. 2006 Jun;7(4):551-61.
7. Bialer M. The pharmacokinetics and interactions of new antiepileptic drugs: an overview. Therapeutic drug monitoring. 2005 Dec;27(6):722-6.
8. Perucca E. Clinical pharmacokinetics of new-generation antiepileptic drugs at the extremes of age. Clinical pharmacokinetics. 2006;45(4):351-63.
9. Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. The New England journal of medicine. 2000 Feb 3;342(5):314-9.
10. Pati S, Alexopoulos AV. Pharmacoresistant epilepsy: from pathogenesis to current and emerging therapies. Cleveland Clinic journal of medicine. 2010 Jul;77(7):457-67.

11. Kwan P, Brodie MJ. Phenobarbital for the treatment of epilepsy in the 21st century: a critical review. *Epilepsia*. 2004 Sep;45(9):1141-9.
12. Wang WZ, Wu JZ, Ma GY, Dai XY, Yang B, Wang TP, et al. Efficacy assessment of phenobarbital in epilepsy: a large community-based intervention trial in rural China. *The Lancet Neurology*. 2006 Jan;5(1):46-52.
13. Lee SM, Chung JY, Lee YM, Park MS, Namgung R, Park KI, et al. Effects of cytochrome P450 (CYP)2C19 polymorphisms on pharmacokinetics of phenobarbital in neonates and infants with seizures. *Arch Dis Child*. 2012 Jun;97(6):569-72.
14. Shenfield GM. Therapeutic drug monitoring beyond 2000. *British journal of clinical pharmacology*. 2001;52 Suppl 1:3S-4S.
15. Bernus I, Dickinson RG, Hooper WD, Eadie MJ. Urinary excretion of phenobarbitone and its metabolites in chronically treated patients. *European journal of clinical pharmacology*. 1994;46(5):473-5.
16. Anderson GD. Phenobarbital and other barbiturates: chemistry, biotransformation, and pharmacokinetics. *Antiepileptic Drugs*. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. Pp 596-603.
17. Hargraves J, Howald W, Racha J, Levy R. Identification of enzymes responsible for the metabolism of phenobarbital. *Int Soc Stud Xenobiotics Proc*. 1996;10:259.
18. Pirmohamed M, Park BK. Genetic susceptibility to adverse drug reactions. *Trends Pharmacol Sci*. 2001 Jun;22(6):298-305.
19. Lazarowski A, Sevlever G, Taratuto A, Massaro M, Rabinowicz A. Tuberous sclerosis associated with MDR1 gene expression and drug resistant epilepsy. *Pediatr Neurol*. 1999;21:731-4.
20. Loscher W. Animal models of intractable epilepsy. *Prog Neurobiol*. 1997;53:239-58.
21. Loscher W, Potschka H. Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2002;301:7-14.
22. Dombrowski SM, Desai SY, Marroni M, Cucullo L, Goodrich K, Bingaman W, et al. Overexpression of multiple drug resistance genes in endothelial cells from patients with refractory epilepsy. *Epilepsia*. 2001 Dec;42(12):1501-6.

23. Sisodiya SM, Lin WR, Harding BN, Squier MV, Thom M. Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. *Brain*. 2002 Jan;125(Pt 1):22-31.
24. Rizzi M, Caccia S, Guiso G, Richichi C, Gorter JA, Aronica E, et al. Limbic seizures induce P-glycoprotein in rodent brain: functional implications for pharmacoresistance. *The Journal of neuroscience*. 2002;22(14):5833-9.
25. Zimprich F, Sunder-Plassmann R, Stogmann E, Gleiss A, Dal-Bianco A, Zimprich A, et al. Association of an ABCB1 gene haplotype with pharmacoresistance in temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2004;63(6):1087-9.
26. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. 1989 Jul-Aug;30(4):389-99.
27. Oakley S, Vedula LS, Bu W, Meng QC, Xi J, Liu R, et al. Recognition of anesthetic barbiturates by a protein binding site: a high resolution structural analysis. *PLoS one*. 2012;7(2):e32070.
28. Bialer M, White HS. Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2010 01//print;9(1):68-82.
29. Czapinski P, Blaszczyk B, Czuczwar SJ. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Current topics in medicinal chemistry*. 2005;5(1):3-14.
30. Wilensky AJ, Friel PN, Levy RH, Comfort CP, Kaluzny SP. Kinetics of phenobarbital in normal subjects and epileptic patients. *European journal of clinical pharmacology*. 1982;23(1):87-92.
31. Jailing B. Plasma and Cerebrospinal Fluid Concentrations of Phenobarbital in Infants Given Single Doses. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 1974;16(6):781-93.
32. Painter MJ, Pippenger C, MacDonald H, Pitlick W. Phenobarbital and diphenylhydantoin levels in neonates with seizures. *The Journal of pediatrics*. 1978 Feb;92(2):315-9.
33. Nishihara K, Uchino K, Saitoh Y, Honda Y, Nakagawa F, Tamura Z. Estimation of plasma unbound phenobarbital concentration by using mixed saliva. *Epilepsia*. 1979 Feb;20(1):37-45.

34. Spehar AM, Hill MR, Mayhew IG, Hendeles L. Preliminary study on the pharmacokinetics of phenobarbital in the neonatal foal. *Equine veterinary journal*. 1984 Jul;16(4):368-71.
35. Musumba CO, Jorgensen A, Sutton L, Van Eker D, Zhang E, O'Hara N, et al. CYP2C19*17 gain-of-function polymorphism is associated with peptic ulcer disease. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2013 Feb;93(2):195-203.
36. Xie HG, Kim RB, Wood AJ, Stein CM. Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2001;41:815-50.
37. Rettie AE, Haining RL, Bajpai M, Levy RH. A common genetic basis for idiosyncratic toxicity of warfarin and phenytoin. *Epilepsy Res*. 1999;35(3):253-5.
38. Takahashi H, Ieiri I, Wilkinson GR, Mayo G, Kashima T, Kimura S, et al. 5'-Flanking region polymorphisms of CYP2C9 and their relationship to S-warfarin metabolism in white and Japanese patients. *Blood*. 2004;103(8):3055-7.
39. Insaro M. Association study of CYP2C9, CYP2C19 and ABCB1 genetic variants and non-genetic variants with phenytoin doses and blood levels in Thai epileptic patients: Chulalongkorn University; 2010.
40. Sangviroon A, Panomvana D, Tassaneeyakul W, Namchaisiri J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic variation associated with VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms in Thai patients taking warfarin. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 2010;25(6):531-8.
41. Kuanprasert S, Dettrairat S, Palacajornsuk P, Kunachiwa W, Phrommintikul A. Prevalence of CYP2C9 and VKORC1 mutation in patients with valvular heart disease in northern Thailand. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*. 2009 Dec;92(12):1597-601.
42. Dai DP, Xu RA, Hu LM, Wang SH, Geng PW, Yang JF, et al. CYP2C9 polymorphism analysis in Han Chinese populations: building the largest allele frequency database. *The pharmacogenomics journal*. 2014 Feb;14(1):85-92.
43. Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfield GM, et al. The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics*. 1996 Aug;6(4):341-9.

44. Gaedigk A, Casley WL, Tyndale RF, Sellers EM, Jurima-Romet M, Leeder JS. Cytochrome P4502C9 (CYP2C9) allele frequencies in Canadian Native Indian and Inuit populations. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2001 Oct;79(10):841-7.
45. Nasu K, Kubota T, Ishizaki T. Genetic analysis of CYP2C9 polymorphism in a Japanese population. *Pharmacogenetics*. 1997 Oct;7(5):405-9.
46. Kimura M, Ieiri I, Mamiya K, Urae A, Higuchi S. Genetic polymorphism of cytochrome P450s, CYP2C19, and CYP2C9 in a Japanese population. *Therapeutic drug monitoring*. 1998 Jun;20(3):243-7.
47. Lee HW, Lim MS, Lee J, Jegal MY, Kim DW, Lee WK, et al. Frequency of CYP2C9 variant alleles, including CYP2C9*13 in a Korean population and effect on glimepiride pharmacokinetics. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2012 Feb;37(1):105-11.
48. Ngow HA, Wan Khairina WM, Teh LK, Lee WL, Harun R, Ismail R, et al. CYP2C9 polymorphism: prevalence in healthy and warfarin-treated Malay and Chinese in Malaysia. *Singapore medical journal*. 2009 May;50(5):490-3.
49. Rathore SS, Agarwal SK, Pande S, Mittal T, Mittal B. Frequencies of VKORC1 -1639 G>A, CYP2C9*2 and CYP2C9*3 genetic variants in the Northern Indian population. *Bioscience trends*. 2010 Dec;4(6):333-7.
50. Scott SA, Khasawneh R, Peter I, Kornreich R, Desnick RJ. Combined CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 frequencies among racial and ethnic groups. *Pharmacogenomics*. 2010 Jun;11(6):781-91.
51. Aynacioglu AS, Brockmoller J, Bauer S, Sachse C, Guzelbey P, Ongen Z, et al. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *British journal of clinical pharmacology*. 1999 Sep;48(3):409-15.
52. Yang JQ, Morin S, Verstuyft C, Fan LA, Zhang Y, Xu CD, et al. Frequency of cytochrome P450 2C9 allelic variants in the Chinese and French populations. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2003 Jun;17(3):373-6.

53. Goto S, Seo T, Murata T, Nakada N, Ueda N, Ishitsu T, et al. Population estimation of the effects of cytochrome P450 2C9 and 2C19 polymorphisms on phenobarbital clearance in Japanese. *Therapeutic drug monitoring*. 2007 Feb;29(1):118-21.
54. De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol*. 1994 Oct;46(4):594-8.
55. Tassaneeyakul W, Mahatthanatrakul W, Niwatananun K, Na-Bangchang K, Tawalee A, Krikreangsak N, et al. CYP2C19 genetic polymorphism in Thai, Burmese and Karen populations. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 2006 Aug;21(4):286-90.
56. Yamada S, Onda M, Kato S, Matsuda N, Matsuhisa T, Yamada N, et al. Genetic differences in CYP2C19 single nucleotide polymorphisms among four Asian populations. *Journal of gastroenterology*. 2001 Oct;36(10):669-72.
57. He N, Yan FX, Huang SL, Wang W, Xiao ZS, Liu ZQ, et al. CYP2C19 genotype and S-mephenytoin 4'-hydroxylation phenotype in a Chinese Dai population. *European journal of clinical pharmacology*. 2002 Apr;58(1):15-8.
58. Goldstein JA, Ishizaki T, Chiba K, de Morais SM, Bell D, Krahn PM, et al. Frequencies of the defective CYP2C19 alleles responsible for the mephenytoin poor metabolizer phenotype in various Oriental, Caucasian, Saudi Arabian and American black populations. *Pharmacogenetics*. 1997 Feb;7(1):59-64.
59. Takakubo F, Kuwano A, Kondo I. Evidence that poor metabolizers of (S)-mephenytoin could be identified by haplotypes of CYP2C19 in Japanese. *Pharmacogenetics*. 1996 Jun;6(3):265-7.
60. Roh HK, Dahl ML, Tybring G, Yamada H, Cha YN, Bertilsson L. CYP2C19 genotype and phenotype determined by omeprazole in a Korean population. *Pharmacogenetics*. 1996 Dec;6(6):547-51.
61. Lamba JK, Dhiman RK, Kohli KK. CYP2C19 genetic mutations in North Indians. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2000 Sep;68(3):328-35.

62. Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Schroder T, et al. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1999 Aug;66(2):185-92.
63. Mamiya K, Hadama A, Yukawa E, Ieiri I, Otsubo K, Ninomiya H, et al. CYP2C19 polymorphism effect on phenobarbitone. Pharmacokinetics in Japanese patients with epilepsy: analysis by population pharmacokinetics. *European journal of clinical pharmacology*. 2000 Feb-Mar;55(11-12):821-5.
64. Zimprich F, et al. Association of an ABCB1 gene haplotype with pharmacoresistance in temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2004;63:1087-9.
65. Evseenko DA, Paxton JW, Keelan JA. Independent regulation of apical and basolateral drug transporter expression and function in placental trophoblasts by cytokines, steroids, and growth factors. *Drug Metab Dispos*. 2007 Apr;35(4):595-601.
66. Choi CH. ABC transporters as multidrug resistance mechanisms and the development of chemosensitizers for their reversal. *Cancer Cell Int*. 2005;5:30.
67. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, Johnen A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000 Mar 28;97(7):3473-8.
68. Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, Brinkmann U, Smith A, Goldstein DB, et al. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *The New England journal of medicine*. 2003 Apr 10;348(15):1442-8.
69. Hung CC, Tai JJ, Lin CJ, Lee MJ, Liou HH. Complex haplotypic effects of the ABCB1 gene on epilepsy treatment response. *Pharmacogenomics*. 2005 Jun;6(4):411-7.
70. Bialecka M, Hnatyszyn G, Bielicka-Cymerman J, Drozdziak M. [The effect of MDR1 gene polymorphism in the pathogenesis and the treatment of drug-resistant epilepsy]. *Neurol Neurochir Pol*. 2005 Nov-Dec;39(6):476-81.

71. Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, Sauna ZE, Calcagno AM, Ambudkar SV, et al. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science* (New York, NY). 2007 Jan 26;315(5811):525-8.
72. Meng H, Guo G, Ren J, Zhou H, Ge Y, Guo Y. Effects of ABCB1 polymorphisms on plasma carbamazepine concentrations and pharmacoresistance in Chinese patients with epilepsy. *Epilepsy & behavior : E&B*. 2011 May;21(1):27-30.
73. Wang D, Sadee W. Searching for polymorphisms that affect gene expression and mRNA processing: example ABCB1 (MDR1). *The AAPS journal*. 2006;8(3):E515-20.
74. Buathet K. Association of variants in SCN1A, UGT1A4 and ABCB1 genes with lamotrigine responsiveness in Thai epileptic patients: Chulalongkorn University; 2012.
75. Balram C, Sharma A, Sivathasan C, Lee EJ. Frequency of C3435T single nucleotide MDR1 genetic polymorphism in an Asian population: phenotypic-genotypic correlates. *British journal of clinical pharmacology*. 2003 Jul;56(1):78-83.
76. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A, et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics*. 2001 Apr;11(3):217-21.
77. Chowbay B, Cumaraswamy S, Cheung YB, Zhou Q, Lee EJ. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics*. 2003 Feb;13(2):89-95.
78. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2001 Jun;297(3):1137-43.
79. Kim DW, Kim M, Lee SK, Kang R, Lee SY. Lack of association between C3435T nucleotide MDR1 genetic polymorphism and multidrug-resistant epilepsy. *Seizure*. 2006 Jul;15(5):344-7.

80. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, et al. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2001 Mar;69(3):169-74.
81. Farnood A, Naderi N, Moghaddam SJ, Noorinayer B, Firouzi F, Aghazadeh R, et al. The frequency of C3435T MDR1 gene polymorphism in Iranian patients with ulcerative colitis. *International journal of colorectal disease*. 2007 Sep;22(9):999-1003.
82. Jeannesson E, Albertini L, Siest G, Gomes AM, Ribeiro V, Aslanidis C, et al. Determination of ABCB1 polymorphisms and haplotypes frequencies in a French population. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2007 Aug;21(4):411-8.
83. van Vliet EA, van Schaik R, Edelbroek PM, Voskuyl RA, Redeker S, Aronica E, et al. Region-specific overexpression of P-glycoprotein at the blood-brain barrier affects brain uptake of phenytoin in epileptic rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2007 Jul;322(1):141-7.
84. Basic S, Hajnsek S, Bozina N, Filipcic I, Sporis D, Mislov D, et al. The influence of C3435T polymorphism of ABCB1 gene on penetration of phenobarbital across the blood-brain barrier in patients with generalized epilepsy. *Seizure*. 2008 9//;17(6):524-30.
85. Lovric M, Bozina N, Hajnsek S, Kuzman MR, Sporis D, Lalic Z, et al. Association between lamotrigine concentrations and ABCB1 polymorphisms in patients with epilepsy. *Therapeutic drug monitoring*. 2012 Oct;34(5):518-25.
86. Kwan P, Baum L, Wong V, Ng PW, Lui CH, Sin NC, et al. Association between ABCB1 C3435T polymorphism and drug-resistant epilepsy in Han Chinese. *Epilepsy & behavior : E&B*. 2007 Aug;11(1):112-7.
87. Sills GJ, Mohanraj R, Butler E, McCrindle S, Collier L, Wilson EA, et al. Lack of association between the C3435T polymorphism in the human multidrug resistance (MDR1) gene and response to antiepileptic drug treatment. *Epilepsia*. 2005 May;46(5):643-7.

88. Thomas LH, French B, Burton CR, Sutton C, Forshaw D, Dickinson H, et al. Evaluating a systematic voiding programme for patients with urinary incontinence after stroke in secondary care using soft systems analysis and Normalisation Process Theory: Findings from the ICONS case study phase. *Int J Nurs Stud*. 2014 Feb 20.
89. Loscher W, Klotz U, Zimprich F, Schmidt D. The clinical impact of pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. *Epilepsia*. 2009 Jan;50(1):1-23.
90. Kekki M, Samloff IM, Ihamaki T, Varis K, Siurala M. Age- and sex-related behaviour of gastric acid secretion at the population level. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1982 Sep;17(6):737-43.
91. Corazza GR, Frazzoni M, Gatto MR, Gasbarrini G. Ageing and small-bowel mucosa: a morphometric study. *Gerontology*. 1986;32(1):60-5.
92. Triggs EJ, Johnson JM, Learoyd B. Absorption and disposition of ampicillin in the elderly. *European journal of clinical pharmacology*. 1980 Aug;18(2):195-8.
93. Battino D, Avanzini G, Bossi L, Croci D, Cusi C, Gomeni C, et al. Plasma levels of primidone and its metabolite phenobarbital: effect of age and associated therapy. *Therapeutic drug monitoring*. 1983;5(1):73-9.
94. Schwartz JB. The current state of knowledge on age, sex, and their interactions on clinical pharmacology. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2007 Jul;82(1):87-96.
95. Hoffman A, Levy G. Gender differences in the pharmacodynamics of barbiturates in rats. *Pharmaceutical research*. 1989 Nov;6(11):976-81.
96. Eadie MJ, Lander CM, Hooper WD, Tyrer JH. Factors influencing plasma phenobarbitone levels in epileptic patients. *British journal of clinical pharmacology*. 1977 Oct;4(5):541-7.
97. Travers RD, Reynolds EH, Gallagher BB. Variation in response to anticonvulsants in a group of epileptic patients. *Archives of neurology*. 1972 Jul;27(1):29-33.
98. Schmidt D, Einicke I, Haenel F. The influence of seizure type on the efficacy of plasma concentrations of phenytoin, phenobarbital, and carbamazepine. *Archives of neurology*. 1986 Mar;43(3):263-5.

99. Glue P, Banfield CR, Perhach JL, Mather GG, Racha JK, Levy RH. Pharmacokinetic interactions with felbamate. In vitro-in vivo correlation. *Clinical pharmacokinetics*. 1997 Sep;33(3):214-24.
100. Patel IH, Levy RH, Cutler RE. Phenobarbital--valporic acid interaction. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1980 Apr;27(4):515-21.
101. Kapetanovic IM, Kupferberg HJ, Porter RJ, Theodore W, Schulman E, Penry JK. Mechanism of valproate-phenobarbital interaction in epileptic patients. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1981 Apr;29(4):480-6.
102. Tabachnick BG, Fidell, L.S. *Using Multivariate Statistics*. 5 ed. Boston: Pearson Education, Inc.; 2007.
103. Peduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein AR. A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. *Journal of clinical epidemiology*. 1996 Dec;49(12):1373-9.
104. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010 Jun;51(6):1069-77.
105. Tatro SD. *Drug Interaction Facts 2010: The Authority on Drug Interactions*. 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
106. Krasowski MD. Therapeutic Drug Monitoring of the Newer Anti-Epilepsy Medications. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2010 Jun 11;3(6):1909-35.
107. van der Weide J, Steijns LS, van Weelden MJ, de Haan K. The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics*. 2001 Jun;11(4):287-91.
108. Potschka H, Fedrowitz M, Loscher W. P-Glycoprotein-mediated efflux of phenobarbital, lamotrigine, and felbamate at the blood-brain barrier: evidence from microdialysis experiments in rats. *Neuroscience letters*. 2002 Jul 26;327(3):173-6.
109. Ebid AH, Ahmed MM, Mohammed SA. Therapeutic drug monitoring and clinical outcomes in epileptic Egyptian patients: a gene polymorphism perspective study. *Therapeutic drug monitoring*. 2007 Jun;29(3):305-12.

110. Hung CC, Jen Tai J, Kao PJ, Lin MS, Liou HH. Association of polymorphisms in NR1I2 and ABCB1 genes with epilepsy treatment responses. *Pharmacogenomics*. 2007 Sep;8(9):1151-8.
111. Szoeki C, Sills GJ, Kwan P, Petrovski S, Newton M, Hitiris N, et al. Multidrug-resistant genotype (ABCB1) and seizure recurrence in newly treated epilepsy: Data from international pharmacogenetic cohorts. *Epilepsia*. 2009;50(7):1689-96.
112. Seven M, Batar B, Unal S, Yesil G, Yuksel A, Guven M. The drug-transporter gene MDR1 C3435T and G2677T/A polymorphisms and the risk of multidrug-resistant epilepsy in Turkish children. *Molecular biology reports*. 2014 Jan;41(1):331-6.
113. Sirmagul B, Atli O, Ilgin S. The effect of combination therapy on the plasma concentrations of traditional antiepileptics: a retrospective study. *Human & experimental toxicology*. 2012 Oct;31(10):971-80.
114. Tanaka E. Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 1999 Oct;24(5):339-46.
115. Yukawa M, Yukawa E, Suematsu F, Takiguchi T, Ikeda H, Aki H, et al. Population pharmacokinetics of phenobarbital by mixed effect modelling using routine clinical pharmacokinetic data in Japanese neonates and infants: an update. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2011 Dec;36(6):704-10.
116. De Leacy EA, McLeay CD, Eadie MJ, Tyrer JH. Effects of subjects' sex, and intake of tobacco, alcohol and oral contraceptives on plasma phenytoin levels. *British journal of clinical pharmacology*. 1979 Jul;8(1):33-6.
117. Grasela TH, Sheiner LB, Rambeck B, Boenigk HE, Dunlop A, Mullen PW, et al. Steady-state pharmacokinetics of phenytoin from routinely collected patient data. *Clinical pharmacokinetics*. 1983 Jul-Aug;8(4):355-64.
118. Ismail R, Rahman AF, Chand P. Pharmacokinetics of phenytoin in routine clinic patients in Malaysia. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 1994 Aug;19(4):245-8..



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก เอกสารรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ที่ IRB/RTA 1014./2556



คณะกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย กรมแพทยทหารบก
317 ถนนราชวิถี เขต ราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

รหัสโครงการ: Q015h/56

ชื่อโครงการวิจัย : "ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนซีพี 2 ซี 9 ซีพี 2 ซี 19 และเอบีซีบี
ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาและระดับยาฟีโนบาร์บิทัลในเลือดของ
ผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย"

[ASSOCIATION OF GENETIC VARIANTS IN CYP2C9, CYP2C19 AND ABCB1 GENES
AND NON-GENETIC FACTORS WITH PHENOBARBITAL DOSES AND BLOOD LEVELS IN
THAI PATIENTS WITH EPILEPSY.]

เลขที่โครงการวิจัย : -

ชื่อผู้วิจัยหลัก: นางสาวศิมพิกา เคียงประพันธ์

สังกัดหน่วยงาน : คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ทำการวิจัย: โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

เอกสารรับรอง :

- (1) โครงร่างการวิจัยฉบับภาษาไทย ฉบับที่ 2 วันที่ 6 กันยายน 2556
- (2) เอกสารชี้แจงข้อมูลแก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ฉบับที่ 2 วันที่ 6 กันยายน 2556
- (3) เอกสารแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย ฉบับที่ 2 วันที่ 6 กันยายน 2556
- (4) เอกสารชี้แจงข้อมูลแก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (สำหรับเด็กอายุ 7-18 ปี) ฉบับที่ 2 วันที่ 6 กันยายน 2556
- (5) เอกสารแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย (สำหรับเด็กอายุ 7-18 ปี) ฉบับที่ 2 วันที่ 6 กันยายน 2556
- (6) เอกสารชี้แจงข้อมูลแก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (สำหรับผู้ปกครอง) ฉบับที่ 2 วันที่ 6 กันยายน 2556
- (7) เอกสารแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย (สำหรับผู้ปกครอง) ฉบับที่ 2 วันที่ 6 กันยายน 2556
- (8) ประวัตินาย ภูม.ศิมพิกา เคียงประพันธ์

ขอรับรองว่าโครงการดังกล่าวข้างต้นได้ผ่านการพิจารณารับรองจากคณะกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย
กรมแพทยทหารบก ว่าสอดคล้องกับปฎิบัติตามหลักจริยธรรม และแนวปฏิบัติ ICH GCP

วันที่รับรองด้านจริยธรรมของโครงร่างการวิจัย: 9 กันยายน 2556

วันสิ้นสุดการรับรอง: 8 กันยายน 2557

ความถี่ของการส่งรายงานความก้าวหน้าของการวิจัย: รายงานความก้าวหน้าทุก 6 เดือน

.....
พันเอกหญิง เยาวนา ธนะพัฒน์
ประธานคณะกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย พบ.

.....
พันเอกสพล อนันต์น้ำเจริญ
เลขานุการและอนุกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย พบ.



เอกสารเลขที่...39.../2556

คณะกรรมการวิจัยสถาบันประสาทวิทยา
สถาบันประสาทวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

โครงการวิจัย ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนซีพ 2 ซี 9 ซีพ 2 ซี 19 และ เอบีซีบี 1 ร่วมกับปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับพันธุกรรมกับขนาดยาและระดับยาพืโนบาร์บิทัล ในเลือดของผู้ป่วยโรคลมชักชาวไทย

เลขที่โครงการ 56041

ผู้วิจัยหลัก น.ส.ทิมพิกา เคียงประพันธ์


สถานที่ดำเนินการวิจัย สถาบันประสาทวิทยา

เอกสารที่พิจารณาอนุมัติ

1. แบบเสนอโครงการวิจัย (วันที่รับเอกสาร 8 สิงหาคม 2556)
2. เอกสารชี้แจงอาสาสมัคร (วันที่รับเอกสาร 8 สิงหาคม 2556)
3. หนังสือยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (วันที่รับเอกสาร 8 สิงหาคม 2556)
4. หนังสือแสดงเจตนายินยอมให้เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อการวิจัย (วันที่รับเอกสาร 8 สิงหาคม 2556)
5. หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัยทางพันธุกรรม (วันที่รับเอกสาร 8 สิงหาคม 2556)
6. แบบบันทึกข้อมูล (วันที่รับเอกสาร 8 สิงหาคม 2556)

วันที่พิจารณาอนุมัติ 22 สิงหาคม 2556

คณะกรรมการวิจัยสถาบันประสาทวิทยา ได้พิจารณาโครงการวิจัยฉบับภาษาไทยและ/หรือ ฉบับภาษาอังกฤษแล้ว มีมติ อนุมัติให้ดำเนินการวิจัยดังกล่าวในสถาบันประสาทวิทยาได้ ทั้งนี้โดยใช้รายละเอียดตาม เอกสารฉบับภาษาไทยเป็นหลัก


(นายสุชาติ หาญไชยพิบูลย์กุล)

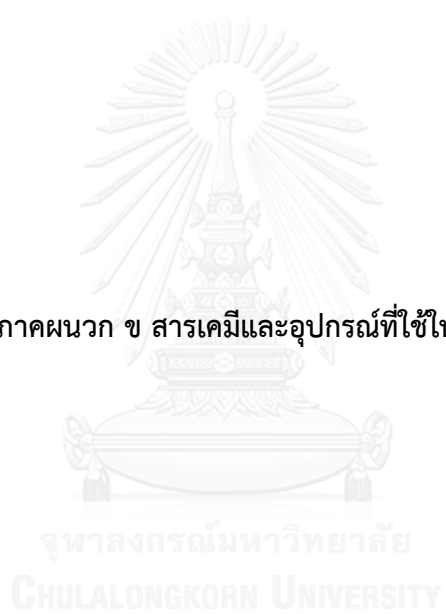
ประธานคณะกรรมการ


(นางสาวทิมพิชนก พุดขาว)

กรรมการและเลขานุการ

รับรองตั้งแต่วันที่ 22 สิงหาคม 2556 ถึงวันที่ 22 สิงหาคม 2557

ภาคผนวก ข สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย



รายการสารเคมีและบริษัทผู้ผลิต

สารเคมี

Erythrocyte lysis buffer

QIAmp DNA Blood Mini Kit

Phosphate Buffer Saline (PBS)

Taqman Genotyping assay

(rs1057910 rs4244285 และ rs1045642)

Taqman Universal PCR Master Mix without UNG

DNase free water

บริษัทผู้ผลิต

QIAGEN, Germany

QIAGEN, Germany

Life technologies, USA

Applied Biosystem, USA

Applied Biosystem, USA

AppliedChem, Germany

รายการอุปกรณ์ เครื่องมือและบริษัทผู้ผลิต

อุปกรณ์และเครื่องมือ

K3EDTA tube

Serum clot activator tube

เครื่อง centrifuge Hemle Z283K

เครื่อง centrifuge Mikro 120

เครื่อง Vortex mixer

เครื่อง NanoDrop™ 1000 spectrophotometer

MicroAmp Optical 96-well reaction plate

MicroAmp Optical Adhesive Film kit

StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems

ARCHITECT รุ่น i1000SR

บริษัทผู้ผลิต

BD vacutainer, USA

BD vacutainer, USA

Hemle Laboratory GmbH,
Germany

Hettich Zentrifugen, USA

Labnet International Inc.,
USA

Thermo Scientific, USA

Applied Biosystem, USA

Applied Biosystem, USA

Applied Biosystem, USA

Abbott, USA

ภาคผนวก ค ระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา



ระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา (Significance)

การกำหนดระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาจะกำหนดเป็นตัวเลข 1-5 ตามระดับความรุนแรงของอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นและหลักฐานหรือเอกสารยืนยันประกอบ (105) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 30

ตาราง 30 แสดงระดับนัยสำคัญทางคลินิกของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา

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

- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 1 [sig.1] หมายถึง มีความรุนแรงในระดับมาก (major) และมีเอกสารยืนยันแบบ suspected หรือ probable หรือ established
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 2 [sig.2] หมายถึง มีความรุนแรงในระดับปานกลาง (moderate) และมีเอกสารยืนยันแบบ suspected หรือ probable หรือ established
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 3 [sig.3] หมายถึง มีความรุนแรงในระดับน้อย (minor) และมีเอกสารยืนยันแบบ suspected หรือ probable หรือ established
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 4 [sig.4] หมายถึง มีความรุนแรงในระดับมาก (major) หรือปานกลาง (moderate) และมีเอกสารยืนยันแบบ possible
- ระดับนัยสำคัญระดับที่ 5 [sig.5] หมายถึง มีความรุนแรงในระดับน้อย (minor) และมีเอกสารยืนยันแบบ possible หรือ มีความรุนแรงในระดับใดก็ได้ (any) และมีเอกสารยืนยันแบบ unlikely

ความรุนแรงของอันตรกิริยาระหว่างยา (Severity) แบ่งออกเป็น 3 ระดับ ดังนี้

- Major หมายถึง ผลที่เกิดขึ้นก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิตหรือเกิดความเสียหายอย่างถาวร
- Moderate หมายถึง ผลที่เกิดขึ้นทำให้ผู้ป่วยมีอาการเลวลง ต้องการการรักษาเพิ่มขึ้น หรืออยู่ในโรงพยาบาลนานขึ้น
- Minor หมายถึง ผลที่เกิดขึ้นน้อย ไม่จำเป็นต้องให้การรักษา

หลักฐานหรือเอกสาร (Documentation) หมายถึง หลักฐานหรือเอกสารยืนยันประกอบให้มีความมั่นใจว่ามีอันตรกิริยาระหว่างยาเกิดขึ้นจริง แต่ไม่ได้บอกถึงอุบัติการณ์ ความถี่ และความรุนแรงของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา แบ่งออกเป็น 5 ระดับ ดังนี้

- Established หมายถึง พิสูจน์ได้ว่าเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาจริง โดยมี controlled studies ที่ยืนยันได้ หรือมีผลจากการศึกษาในคนว่าทำให้เภสัชจลนศาสตร์เปลี่ยนแปลงไป โดยผลจากอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเปลี่ยนแปลงไป มีลักษณะทางคลินิกสนับสนุนการเกิดอันตรกิริยา
- Probable หมายถึง น่าจะใช้อันตรกิริยาระหว่างยา แต่ยังไม่ได้พิสูจน์ทางคลินิก เป็นอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ ซึ่งพิสูจน์ได้และมีผลมากพอ ทำให้ระดับยาในพลาสมาเปลี่ยนแปลง และอาจทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาเปลี่ยนแปลง หรือมีการทดลองยืนยันได้ในสัตว์ทดลองในกรณีที่ไม่อาจทำการทดลองแบบ controlled study
- Suspected หมายถึง อาจเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาได้ มีข้อมูลบ้างแต่ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีก เป็นอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ที่เกิดขึ้นจาก well controlled studies แม้คาดว่าจะทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเปลี่ยนแปลง แต่ไม่มีการสรุปแน่ชัด เนื่องจากไม่มีผลของการเปลี่ยนแปลงระดับยาในพลาสมา หรือมีรายงานการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยาหลาย case หรือ uncontrolled studies
- Possible หมายถึง อาจเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาได้ แต่มีข้อมูลจำกัดหรือน้อยมาก แม้มีอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ แต่การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่อาจทำนายได้ว่าจะเป็นผลจากการตอบสนองของยา หรือข้อมูลที่แสดงฤทธิ์การเปลี่ยนแปลงทางเภสัชวิทยามีจำกัด

- Unlikely หมายถึง ยังสงสัย อาการทางคลินิกเปลี่ยนไปไม่ชัดเจน มีอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ แต่ผลทางเภสัชวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไม่น่าจะใช้ หรือเอกสารที่ยืนยันได้ไม่มีคุณภาพหรือไม่อาจใช้พิสูจน์ได้ หรือแม้จะมีรายงานการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา แต่ผลของ well controlled studies ชัดแย้งกับอาการทางคลินิก



ภาคผนวก ง การทดสอบสมดุสาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตาราง 31 แสดงความถี่จีโนไทป์ (genotype frequencies) ของ candidate SNPs ในยีน *CYP2C9* *CYP2C19* และ *ABCB1* ในผู้ป่วยอาสาสมัคร 110 ราย และการทดสอบสมมติฐานไค-สแควร์ด้วย Chi-square test

SNPs	Genotypes	Observed	%	Expected
<i>CYP2C9</i> *3 1075A>C	AA (*1/*1)	104	94.50	104.17
	AC (*1/*3)	6	5.50	5.78
	CC (*3/*3)	0	0	0.08
	total	110		
$\chi^2 = 0.088, p = 0.7687, \text{d.f.} = 1$				
<i>CYP2C19</i> *2 681G>A	GG (*1/*1)	58	52.70	53.90
	GA (*1/*2)	38	34.50	46.20
	AA (*2/*2)	14	5.71	9.90
	total	110		
$\chi^2 = 3.465, p = 0.0627, \text{d.f.} = 1$				
<i>ABCB1</i> 3435C>T	CC	38	34.50	36.12
	CT	50	45.50	53.83
	TT	22	20.0	20.06
	total	110		
$\chi^2 = 0.559, p = 0.4548, \text{d.f.} = 1$				

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวพิมพ์วิภา เคียงประพันธ์ เกิดวันที่ 15 มกราคม 2532 ที่จังหวัดเชียงใหม่ สำเร็จการศึกษาในระดับเภสัชศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับสอง จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร เมื่อปีการศึกษา 2554 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา ที่คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2555 ในระหว่างการศึกษาระดับปริญญาโท มีผลงานนำเสนอที่ประเทศสิงคโปร์ ผลงานที่นำเสนอ ได้แก่ “Association of genetic variants in CYP2C9, CYP2C19 and ABCB1 genes along with non-genetic factors with phenobarbital plasma levels in Thai patients with epilepsy” นำเสนอในรูปแบบโปสเตอร์ในงานประชุม 10th Asian & Oceanian Epilepsy Congress ณ ประเทศสิงคโปร์ ระหว่างวันที่ 7-10 สิงหาคม 2557

