

โพลีเมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์
ในเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย

นางสาวเมธินี ตันนุกิจ

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชากุมารเวชศาสตร์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-17-3754-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SEROTONIN TRANSPORTER GENE POLYMORPHISM IN
CHILDHOOD FUNCTIONAL CONSTIPATION

Miss Methinee Tunnukit



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of Master of Science Program in Pediatrics

Department of Pediatrics

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic year 2005

ISBN 974-17-3754-8

เมธินี ตันนุกิจ : โพลีมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย(SEROTONIN TRANSPORTER GENE POLYMORPHISM IN CHILDHOOD FUNCTIONAL CONSTIPATION) อ. ที่ปรึกษา : รศ.พญ. วรนุช จงศรีสวัสดิ์, 41 หน้า. ISBN 974-17-3754-8.

จุดประสงค์ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโพลีมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกายในเด็ก

รูปแบบการวิจัย Cross-sectional study

สถานที่ศึกษา ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประชากรที่ศึกษา เด็กที่มารับการตรวจรักษาที่แผนกกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อายุระหว่าง 6 เดือน-15 ปี ที่ได้รับการวินิจฉัยทางคลินิกว่ามีภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกายตามที่ระบุใน Rome II criteria

วิธีการศึกษา เด็กที่เข้าร่วมการศึกษาทุกรายจะได้รับการกรอกข้อมูลตามแบบสอบถามเกี่ยวกับอายุ เพศ อาการของระบบทางเดินอาหาร โดย 24 รายได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย และมีกลุ่มควบคุม 48 ราย จากนั้นทุกรายจะได้รับการวิเคราะห์หา polymorphism ในตำแหน่ง promoter ของ serotonin reuptake transporter (SERT-P) บนดีเอ็นเอที่สกัดจากเม็ดเลือดขาวในตัวอย่างเลือด โดยวิธี polymerase chain reaction

ผลการศึกษา ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง SERT polymorphism ในกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย เทียบกับกลุ่มควบคุม ($\chi^2 = 1.792, p > 0.05$)

สรุป การศึกษาวิจัยนี้พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่าง SERT polymorphism ในกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย



ภาควิชา...กุมารเวชศาสตร์.....ลายมือชื่อ.....เมธินี ตันนุกิจ
สาขาวิชา...กุมารเวชศาสตร์.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....วรส จงศรีสวัสดิ์
ปีการศึกษา.2548.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4874772930 : MAJOR : PEDIATRICS

KEY WORD: SEROTONIN TRANSPORTER / POLYMORPHISM / CONSTIPATION

METHINEE TUNNUKIT: SEROTONIN TRANSPORTER GENE
POLYMORPHISM IN CHILDHOOD FUNCTIONAL CONSTIPATION.

THESIS ADVISOR : VORANUSH CHONGSRISAWAT MD, 41 pp. ISBN 974-
17-3754-8.

Objectives : To investigate whether there were any association between polymorphism of the serotonin reuptake transporter gene and childhood functional constipation.

Design : Cross-sectional study

Setting : Department of Pediatrics, Faculty of Medicine and Department of Clinical Chemistry, Faculty of Allied Health Sciences of Chulalongkorn university.

Populations : Children and adolescents of age between 6 months-15 years with functional constipation who in Pediatric department of King Chulalongkorn Memorial Hospital, diagnosed according to the Rome II criteria.

Methods : The questionnaire that included age, sex and gastrointestinal symptoms was filled out by all subjects. Twenty four patients with functional constipation and 48 healthy individuals were included in the study. The polymorphism in the promoter region of serotonin reuptake transporter (SERT-P) gene was assessed by polymerase chain reaction(PCR) on DNA chains obtained from leukocytes in serum samples.

Results : It was shown that there was no statistically significant difference in SERT polymorphism between functional constipation and healthy subjects($\chi^2 = 1.792, p > 0.05$).

Conclusions : This study suggests that no relationship between SERT polymorphism and childhood functional constipation.

Department..Pediatrics.....Student's signature.....Methinee Tunnuakit

Field of study.Pediatrics.....Advisor's signature.....Voranus Chongsrisawat

Academic year.2005.....Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีด้วยความร่วมมือ และความช่วยเหลือจากรองศาสตราจารย์แพทย์หญิงวรรณุช จงศรีสวัสดิ์ หน่วยกุมารเวชศาสตร์โรคทางเดินอาหาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น ตลอดจนช่วยตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์นายแพทย์ยง ภู่วรวรรณ ที่ได้อนุญาตให้ผู้ทำการวิจัยทำการเก็บข้อมูลที่ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไวรัสตับอักเสบ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์เทวิน เทนกำนารี ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการรวบรวม และวิเคราะห์ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สุเทพ กลชาตวิทย์ ที่ให้ความช่วยเหลือ และอนุญาตให้ผู้ทำการวิจัยทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากหน่วยอายุรศาสตร์โรคทางเดินอาหาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทำให้การทำวิจัยและเขียนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์แพทย์หญิง พิมพ์รัตน์ ไทยธรรมยานนท์ หัวหน้าภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่อนุญาติให้ทำการวิจัย และอนุญาตให้นำเสนอวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณผู้ป่วยและผู้ปกครองเด็กท้องผูกทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการเข้าร่วมการวิจัยเป็นอย่างดี

ท้ายสุดผู้วิจัยขอขอบคุณความสำเร็จทุกประการที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ให้ผู้ร่วมงาน และผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกท่าน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ... ..	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
คำถามของการวิจัย.....	9
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	9
รูปแบบการวิจัย	9
ขอบเขตของการวิจัย.....	9
สถานที่ทำการวิจัย ทดลองหรือเก็บข้อมูล.....	9
ข้อจำกัดของการวิจัย	10
ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้.....	10
อุปสรรคที่ผู้วิจัยคาดคะเนว่าจะเกิดขึ้นในขณะดำเนินการวิจัย.....	10
ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย.....	10
บทที่ 2 เอกสารและงานที่เกี่ยวข้อง.....	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	14
ประชากรที่ทำการศึกษา.....	14
การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	15
การสังเกตและการวัด.....	15
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	18
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	18

บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	19
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	27
รายการอ้างอิง.....	32
ภาคผนวก	36
ภาคผนวก ก หนังสือยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัย.....	37
ภาคผนวก ข แบบสอบถามโครงการวิจัย.....	39
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	41



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนและร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่
ไม่มีโรคทางกายกับกลุ่มควบคุม.....22

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่
ไม่มีโรคทางกายกลุ่มควบคุม แบ่งตามเพศ.....23

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่
ไม่มีโรคทางกายที่มีอาการไม่น้อยกว่า 1 ปี และเริ่มมีอาการก่อนอายุ 1 ปีกับ
กลุ่มควบคุม.....25

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนและร้อยละของ allelic frequencies ใน SERT polymorphism
ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายกับกลุ่มควบคุม.....26



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของ serotonin.....1

ภาพที่ 2 แสดงการสังเคราะห์ serotonin.....2

ภาพที่ 3 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ serotonin3

ภาพที่ 4 แสดงกลไกการ reuptake ของ serotonin transporter.....4

ภาพที่ 5 แสดงตำแหน่งของ SLC6A4 locus.....4

ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างของ serotonin transporter gene.....5

ภาพที่ 7 แสดงserotonin reuptake transporter polymorphism.....6

ภาพที่ 8 ตำแหน่งต่างๆ ของ polymorphisms.....7

ภาพที่ 9 แสดงกลไกการเพิ่มการกระตุ้น 5-HT receptors.....8

ภาพที่ 10 Agarose gel electrophoresis.....17

แผนภูมิที่ 1 แสดงร้อยละของเด็กที่เข้าร่วมการศึกษา แบ่งตามเพศ.....19

แผนภูมิที่ 2 แสดงการแจกแจงความถี่ของอายุในเด็กท้องผูก.....20

แผนภูมิที่ 3 แสดงการแจกแจงความถี่ของอายุที่เริ่มแสดงอาการในเด็กท้องผูก.....20

แผนภูมิที่ 4 แสดงการแจกแจงความถี่ของระยะเวลาที่มีอาการท้องผูก.....21

แผนภูมิที่ 5 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism.22

แผนภูมิที่ 6 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism ในเพศชาย.....23

แผนภูมิที่ 7 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism ในเพศหญิง.....24

แผนภูมิที่ 8 แสดงร้อยละของเด็กท้องผูกที่มีอาการไม่น้อยกว่า 1 ปี และเริ่มมีอาการก่อนอายุ 1 ปี เทียบกับกลุ่มควบคุมแบ่งตามเพศ.....24

แผนภูมิที่ 9 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่มีอาการไม่น้อยกว่า 1 ปี และเริ่มมีอาการก่อนอายุ 1 ปี กับกลุ่มควบคุม.....25

แผนภูมิที่ 10 แสดงร้อยละของ allelic frequencies ใน SERT polymorphism.....26

บทที่ 1

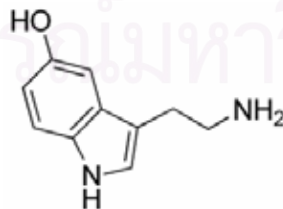
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

ภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย (functional constipation) ในเด็ก เป็นภาวะเรื้อรังที่มีความผิดปกติในการเคลื่อนไหวของลำไส้ใหญ่ (colonic motility disorder) หรือการทำงานของ anorectum ผิดปกติ โดยไม่มีความผิดปกติทางกาย เช่น Hirschsprung's disease, hypothyroidism เป็นต้น ในต่างประเทศร้อยละ 3 ของเด็กที่มาตรวจที่คลินิกโรคเด็กทั่วไปมาพบกุมารแพทย์ด้วยอาการท้องผูก(1) ส่วนที่คลินิกโรคทางเดินอาหารในเด็ก พบสูงขึ้นเป็นร้อยละ 20(2) จากการสำรวจเด็กไทยปกติอายุ 4-14 ปี จำนวน 1,450 คน ในลักษณะ cross section โดยใช้แบบสอบถามเพื่อศึกษาความชุกของภาวะท้องผูก พบว่าร้อยละ 4-6 ถ่ายอุจจาระผิดปกติเข้าเกณฑ์ภาวะท้องผูก(3) ภาวะท้องผูกเรื้อรังก่อให้เกิดปัญหาทั้งต่อผู้ป่วยและผู้ปกครอง กล่าวคือผู้ป่วยจะมีความเจ็บปวดเวลาถ่ายอุจจาระทำให้พยายามกลั้นอุจจาระไว้ เมื่ออุจจาระคั่งค้างในโพรงลำไส้เป็นเวลานานอาจทำให้เกิดการเบื่ออาหาร ปวดแน่นท้อง ผู้ป่วยบางรายจะมีอุจจาระเลอะเทอะในกางเกง ทำให้เพื่อนและครูรังเกียจ เด็กจึงไม่อยากไปโรงเรียนหรือไม่สามารถทำกิจกรรมได้ตามปกติ ปัญหาทั้งทางด้านร่างกายและสังคมเหล่านี้ส่งผลให้ผู้ปกครองมีความวิตกกังวลเป็นอย่างมาก

สาเหตุและพยาธิกำเนิด เดิม functional constipation ซึ่งเป็นกลุ่มอาการหนึ่งใน functional gastrointestinal disorders เหมือน irritable bowel syndrome (IBS) จัดอยู่ใน purely psychosomatic condition แต่ในปัจจุบันเชื่อว่าน่าจะมีความสัมพันธ์กับความผิดปกติบางอย่างในลำไส้ โดยเฉพาะในแง่ชีวเคมีที่ควบคุมการทำงานของลำไส้ สารตัวกลาง (mediator) หลักที่เชื่อว่าสัมพันธ์กับการหดตัวของผนังลำไส้และการเคลื่อนไหวของลำไส้คือซีโรโทนิน (serotonin)(4)

Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) มีสูตรโมเลกุล $C_{10}H_{12}N_2O$ และมีสูตรโครงสร้างเป็นดังภาพที่ 1(5)

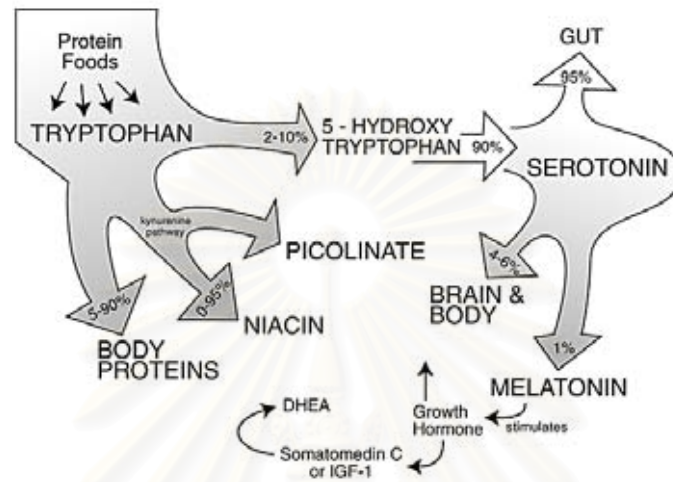


ภาพที่ 1 แสดงสูตร โครงสร้างของ serotonin (ดัดแปลงจาก Horschitz1 S, Hummerich R, Schloss

P. Structure, function and regulation of the 5-hydroxy tryptamine(serotonin) transporter.

Biochemical Society Transactions 2001;29:6)

serotonin เป็น neurotransmitter สำคัญที่พบในสมอง, mast cells, เกร็ดเลือดและทางเดินอาหาร ถูกสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนเพียงตัวเดียวคือ L-tryptophan ซึ่งได้มาจากการบริโภคอาหารเป็นหลัก ร้อยละ 95 ของสาร serotonin ในร่างกายพบในระบบประสาทของทางเดินอาหาร (ENS; enteric nervous system) (6-8) แสดงการสังเคราะห์ serotonin ดังภาพที่ 2 (5)



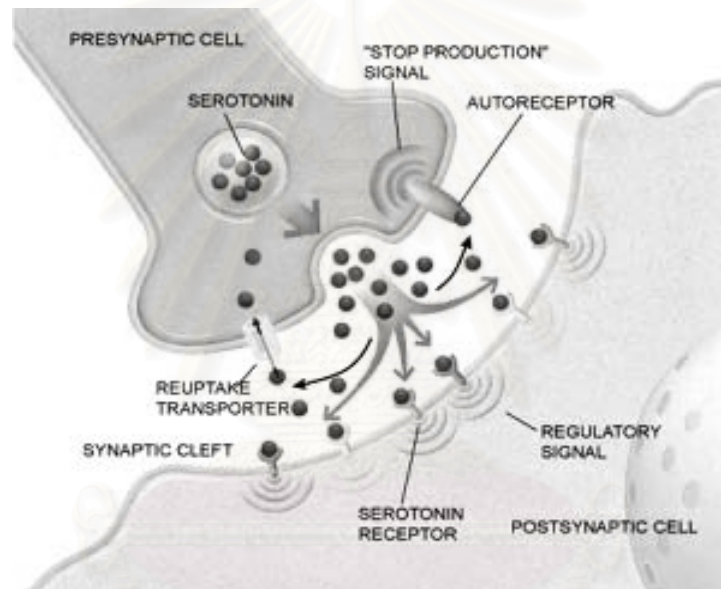
ภาพที่ 2 แสดงการสังเคราะห์ serotonin (ดัดแปลงจาก Horschitzl S, Hummerich R, Schloss

P. Structure, function and regulation of the 5-hydroxy tryptamine(serotonin) transporter. Biochemical Society Transactions 2001;29:6)

neurons ของ ENS (enteric neurons) อยู่ที่ submucosal และ myenteric plexuses สาร serotonin ถูกกระตุ้นให้หลั่งผ่านทาง receptors ในทางเดินอาหารซึ่งนำสัญญาณโดย vagal และ enteric afferent nerve fibers(9) โดยเยื่อของ enterochromaffin cells ที่เก็บสาร serotonin ร้อยละ 90 ของลำไส้ไว้ จะทำหน้าที่เป็นตัวแปลงความรู้สึก (sensory transducers) ที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของความดันในลำไส้ (intraluminal pressure), vagal stimulation, anaphylaxis, acidification ของ duodenal lumen, exposure ต่อ norepinephrine, acetylcholine, cholera toxin และ สารเคมีที่มากกระตุ้น (chemical stimuli) (8,10) เมื่อความดันในลำไส้เพิ่มขึ้น จะมีการกระตุ้นกลไกการหดตัวและการหลั่งสารน้ำในลำไส้ โดยการหลั่ง serotonin เข้าไปในผนังลำไส้ จับกับ serotonin receptor เพื่อกระตุ้นเซลล์ประสาทขาเข้าปฐมภูมิ (primary afferent neurons) ของ ENS(11-13) กลไกเหล่านี้มีความสำคัญสำหรับ sensory transmission จาก lumen ของทางเดินอาหารเนื่องจากไม่มี afferent neurone terminals ที่ penetrate ชั้นเยื่อทางเดินอาหารไปรับความรู้สึกจาก lumen ของทางเดินอาหารโดยตรง

ตัวรับสาร serotonin (serotonin receptors) แบ่งเป็น 7 ชนิดหลักและหลายชนิดย่อย ตามโครงสร้าง, กลไกการทำงานและหน้าที่การทำงาน(4) จะพบ 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ และ 5-HT₄

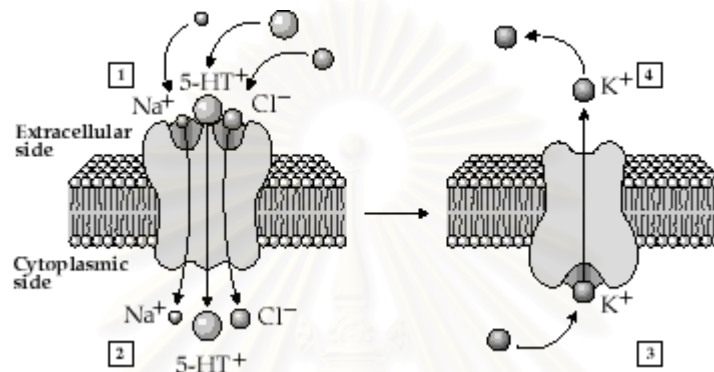
receptors ในทางเดินอาหารของคน โดยพบ receptors เหล่านี้ที่ terminals และ cell bodies ของ enteric neurons ในปัจจุบันเชื่อว่า 5-HT₃ และ 5-HT₄ receptors เป็น receptor หลักในการทำงานของทางเดินอาหาร โดยควบคุมการรับรู้ของอวัยวะภายใน (visceral sensation) และหน้าที่ของ ENS ในการควบคุมการหลั่งสารในทางเดินอาหาร(secretion) และการเคลื่อนไหวของทางเดินอาหาร serotonin receptors เหล่านี้จะจับกับโมเลกุลของ serotonin ที่หลั่งจาก enterochromaffin cells (14) จากนั้นจะถูก reuptake ที่ synaptic cleft เพื่อหยุดการทำงานของ serotonin และป้องกันไม่ให้เกิด overstimulation หรือ desensitisation ของ sensorimotor responses(15) การ reuptake serotonin กลับเข้าเยื่อหุ้มทางเดินอาหารและ enteric neurons ถูก mediate โดย serotonin reuptake transporter protein (SERT)(16) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดเดียวที่ทำงานที่ serotonin receptors หลากหลายชนิดในทางเดินอาหาร ดังจะเห็นได้จากภาพที่ 3(17)



ภาพที่ 3 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ serotonin จนกระทั่งสิ้นสุดลงโดยผ่านการดูดกลับของ serotonin reuptake transporter (ดัดแปลงจาก Nemeroff CB. The neurobiology of depression Sci Am 1998;278:42-49)

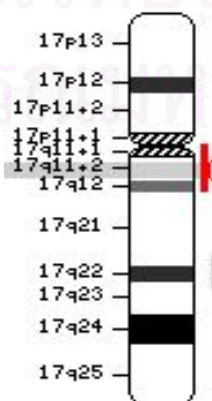
SERT หรือ 5-HT transporter (5-HTT) หรือ solute carrier family 6 member 4 (SLC6A4) มีลักษณะเป็น channel-like protein (Na⁺/Cl⁻ dependent transporter) ที่เกี่ยวข้องกับ chemical signal ในร่างกาย โดยทำหน้าที่เป็น neurotransmitter inactivation(18) ประกอบด้วย 12 hydrophobic transmembrane (TM) domains และมี single binding site อยู่ภายนอกเซลล์ (Extracellular surface) การ reuptake ของ serotonin transporter เริ่มต้นจะจับกับ 1Na⁺, 1Cl⁻ และ serotonin ซึ่งอยู่ในสภาพที่มีประจุเป็นบวก พร้อมๆกัน จากนั้นจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ส่งผลให้ single

binding site ด้านนอก(Extracellular surface) ปิด และเปิดที่ด้าน cytoplasmic surface ของ membrane แทน serotonin ก็จะสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้ามาในเซลล์ได้ หลังจากนั้นทั้งหมดก็จะแยกตัวออกจาก binding site และจะมี K^+ มาจับที่ binding site แทนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างกลับไปเป็นแบบเดิม คือสร้างเป็น binding site พร้อมที่จะรับ serotonin เข้ามาใหม่ได้ ในกลไกการขนส่ง serotonin เหล่านี้ขึ้นอยู่กับการรักษาระดับของ ion gradient ที่ผ่านเข้าออก membrane ซึ่งอาศัยการทำงานของ $Na^+ - K^+ ATPase$ (19) แสดงดังภาพที่ 4 (20)



ภาพที่ 4 แสดงกลไกการ reuptake ของ serotonin transporter ในลักษณะ channel-like protein (ดัดแปลงจาก Lin S, Lester HA, Mager S. Single-channel currents produced by the serotonin transporter and analysis of a mutation affecting ion permeation. *Biophys J* 1996;71:3126-35)

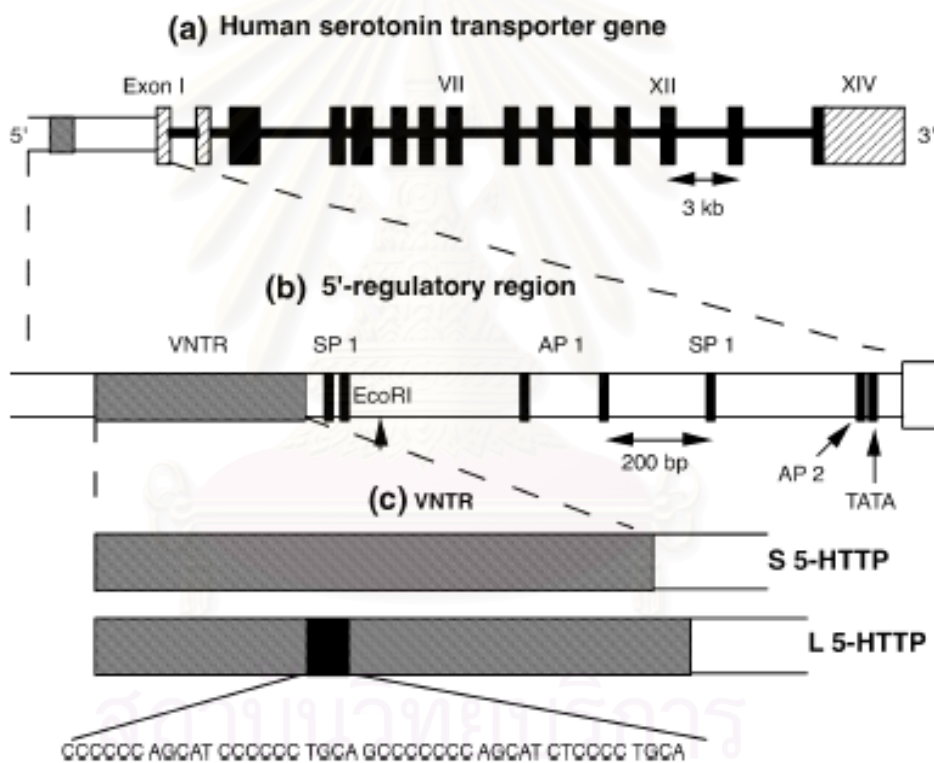
SERT ที่พบในลำไส้คล้ายกับที่พบในสมองในสัตว์ชนิดเดียวกัน(16,21) เพื่อควบคุมการทำงานของ serotonin ในลำไส้ และจำกัดการกระตุ้นของ serotonergic receptors เซลล์ประสาท (neurons) และ crypt epithelial cells จึงผลิต SERT proteins(16,22) SERT ในคนถูกถอดรหัสโดยยีนเดี่ยวบนโครโมโซม 17q11.2-q12(23,24) แสดงดังภาพที่ 5 (25)



ภาพที่ 5 แสดงตำแหน่งของ SLC6A4 locus (ดัดแปลงจาก Furge et al. *BMC Genomics* 2005;6:67)

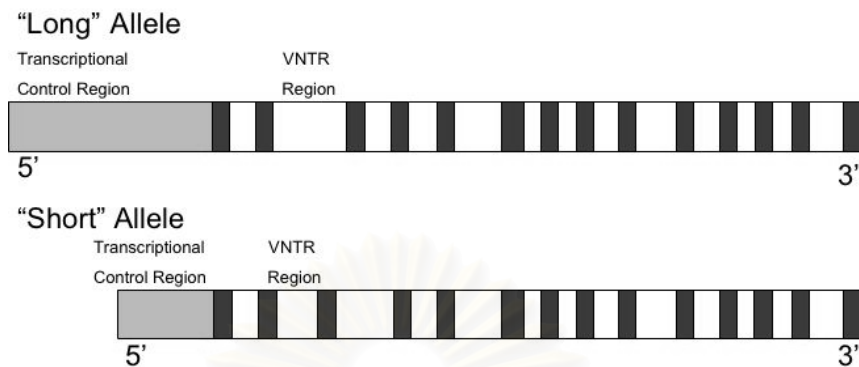
ยีนประกอบด้วย 14 exons ซึ่งมี genomic DNA ขนาดประมาณ 37.8 kilo base pairs (kb)
 (26) messenger RNA (mRNA) ของยีนนี้มีขนาด 2.5 kb (Accession No L05568)

SERT gene linked polymorphic region (SERT-P) ชื่อเดิมคือ 5-HTT gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR) ถูกรายงานครั้งแรกโดย Heils และคณะในปี 1996(27) ซึ่งประกอบด้วย 44 bp insertion/deletion ในตำแหน่ง 5' flanking promoter region ของยีน polymorphism เกิดใน GC rich region ซึ่งประกอบด้วยหน่วยที่ซ้ำกันของ 20–23 base pair (bp) 1 kb หน้าต่อจุดเริ่ม transcription ถือเป็นความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน ที่เกิดจาก Insertion / Deletion ซึ่ง SERT-P เป็นความหลากหลายที่พบและมีการศึกษากันมากที่สุด แสดงดังภาพที่ 6(28)



ภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างของ serotonin transporter gene (a) coding and non-coding regions. (b) promoter region และตำแหน่ง transcription factor binding sites. EcoRI = deletional restriction site. (c) polymorphic tandem repeat ของ serotonin transporter gene promoter ใน GC-rich region (ดัดแปลงจาก Glatz K, et. al. Glucocorticoid-regulated human serotonin transporter (5-HTT) expression is modulated by the 5-HTT gene-promotor-linked polymorphic region. J Neurochem 2003;86:1072-78)

การเปลี่ยนแปลงบริเวณนี้ส่วนมากเป็นแบบอัลลีลคู่ โดยกลุ่มที่มี 14, 16 และ 18-20 repeats เรียก short allele (S), long allele (L) และ extralong allele (XL) ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 7(29)

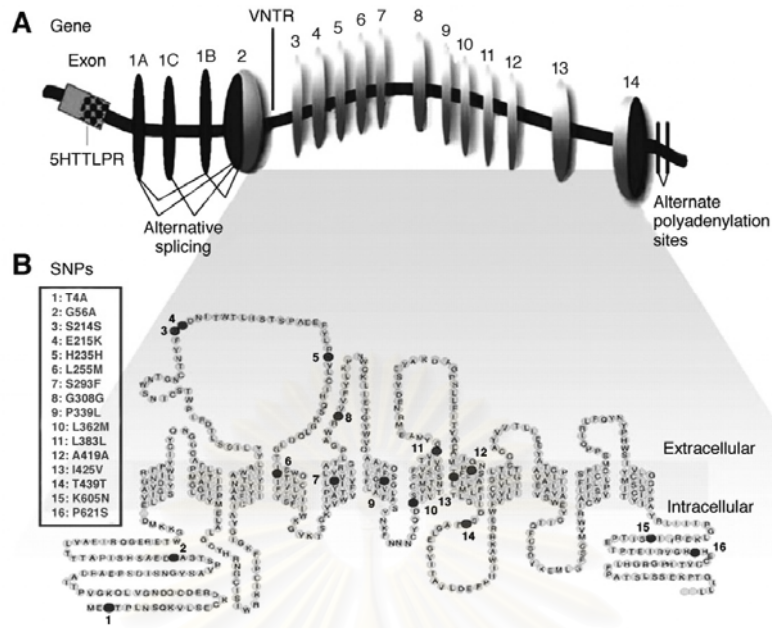


ภาพที่ 7 แสดง serotonin reuptake transporter polymorphism (SERT-P) แบบ 1 allele กับ s allele (ดัดแปลงจาก Blakeley RD, Flattem NL. Modified structure of the human serotonin transporter promoter. Mol Psychiatry 2000;5:110-5)

นอกจาก polymorphisms ของ serotonin transporter gene ในส่วนของ 5' flanking promoter region แล้ว ในส่วนของ coding และ noncoding region อื่นๆ ยังมี polymorphisms อื่นๆ ที่สำคัญอีก แสดงดังภาพที่ 8(19) ได้แก่

- ~380 kb deletion [del(17)(q11.2)] ที่บริเวณระหว่าง SERT-P (5-HTTLPR) กับ transcription start site
- Variable number of tandem repeat (VNTR) ในบริเวณ Intron 2 ประกอบด้วยจำนวนซ้ำตั้งแต่ 9, 10, 12 ชุด ของหน่วยซ้ำ 16-17 bp เรียกความหลากหลายชนิดนี้ว่า 5HTTVNTR
- G to T transversion ที่ adenylation site ใน 3' UTR region
- Single nucleotide polymorphisms (SNPs) sites ต่างๆบน ยีน เช่น T4A, G56A, E215K, L225M, I425V, P621S เป็นต้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

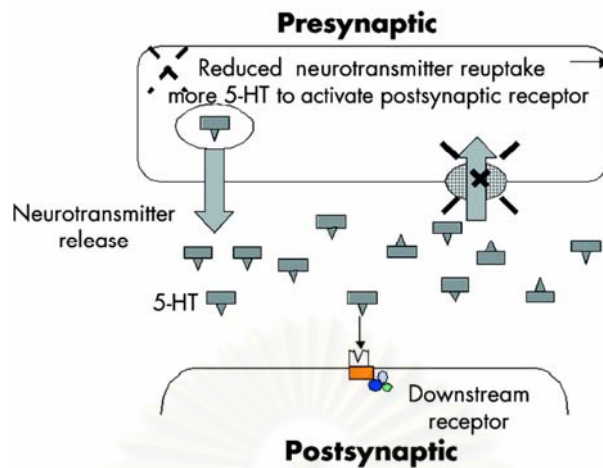


ภาพที่ 8 ตำแหน่งต่างๆ ของ polymorphisms ของ serotonin transporter gene ทั้งในส่วน of coding และ noncoding region (ดัดแปลงจาก Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch KP. Serotonin transporter gene, genetic disorders, and pharmacogenetics. Mol Interventions 2004;4:109-23)

เนื่องจากการศึกษาเกี่ยวกับ polymorphism ของ SERT-P gene โดย Lesch และคณะ(30) ที่แสดงว่า SERT-P ในส่วนของ 5' flanking promoter region เกี่ยวข้องกับทำหน้าที่ควบคุมการ transcription ของยีน, SERT availability และการ reuptake serotonin โดยได้ทำการเปรียบเทียบผู้ป่วย 3 กลุ่ม ระหว่าง

- homozygous long genotype
- polymorphic homozygous short genotype

และพบว่าใน S/S homozygous, L/S heterozygous polymorphism สัมพันธ์กับการทำหน้าที่ของโปรตีนที่ลดลง, การ transcription ที่น้อยลง ส่งผลให้ระดับ mRNA, serotonin binding และ serotonin uptake ในเกร็ดเลือดและเม็ดเลือดขาว (lymphoblast) ต่ำลง ดังนั้นในคนที่ S/S homozygous หรือ L/S heterozygous polymorphism การทำหน้าที่ของ SERT ลดลงและเพิ่มการกระตุ้น 5-HT receptors ส่งผลให้เพิ่มการหดตัวของลำไส้ ดังภาพที่ 9(31)



ภาพที่ 9 แสดงกลไกการเพิ่มการกระตุ้น 5-HT receptors ในขณะที่ SERT ทำหน้าที่ลดลง (คัดแปลงจาก Camilleri M. Is there a SERT-ain association with IBS? Gut 2004;53:1396-9)

ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาถึงความสัมพันธ์ของ SERT-P หรือ 5HTT-LPR (polymorphism ในส่วนของ 5' flanking promoter region) กับภาวะ functional constipation ในเด็กเป็นหลัก

ปัญหาในการดูแลรักษาเด็กที่เป็น functional constipation คือเด็กบางส่วนต้องรับประทานยาระบายติดต่อกันเป็นระยะเวลานานหรือไม่ตอบสนองต่อยาระบาย Stairano และคณะได้ติดตามเด็กที่มีอาการท้องผูกจำนวน 62 คนเป็นเวลา 5 ปี พบว่าร้อยละ 52 ยังคงมีอาการท้องผูก(32) ส่วน Sutphen และคณะได้ติดตามเด็กที่มีอาการท้องผูกจำนวน 43 คนเป็นเวลา 6.8 ปี พบว่าร้อยละ 30 ยังคงมีอาการท้องผูก(33) โดยปัจจัยที่พยากรณ์ว่าเด็กจะมีการท้องผูกเรื้อรังต่อเนื่องได้แก่ early onset of constipation (< 1 ขวบ) และประวัติมีสมาชิกในครอบครัวมีอาการท้องผูกด้วย(34) ข้อมูลเหล่านี้ช่วยสนับสนุนว่าเด็กที่มีอาการท้องผูกอาจมีความผิดปกติทางพันธุกรรม นอกจากนี้มีการใช้ยา 5-HT₄ agonists (tegaserod) ในผู้ป่วย IBS ชนิดที่มีอาการท้องผูกเป็นอาการเด่น (IBS-C) และช่วยลดอาการท้องผูกได้

ผู้วิจัยจึงมีความสนใจว่าในเด็กที่มีอาการท้องผูกเรื้อรังอาจมีความผิดปกติของ SERT-P ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของระดับหรือหน้าที่ของ serotonin ส่งผลให้การเคลื่อนไหวของลำไส้ใหญ่ลดลง ถ้าสมมุติฐานเป็นจริงการรักษาด้วย 5-HT₄ agonists อาจเป็นทางเลือกหนึ่งในเด็กที่มีอาการท้องผูกและไม่ตอบสนองต่อยาระบาย

ดังนั้นการศึกษานี้มุ่งที่จะศึกษาความสัมพันธ์ของ SERT-P polymorphism กับ functional constipation ในเด็กรวมทั้งศึกษาความชุกของรูปแบบ SERT-P ในประชากรเป้าหมาย ผลการศึกษาที่น่าจะเป็นประโยชน์ในการพยากรณ์การดำเนินโรค รวมทั้งแนวทางในการรักษา functional constipation ต่อไป

คำถามของการวิจัย

โพลีมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์ตอร์สัมพันธ์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย (Functional constipation) ในเด็กหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

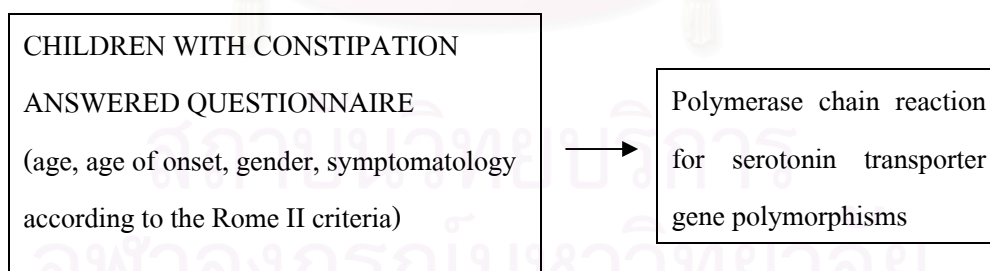
เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโพลีมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์ตอร์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย (Functional constipation) ในเด็ก

รูปแบบการวิจัย

Cross-sectional study

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาในผู้ป่วยเด็กที่มีภาวะท้องผูกเรื้อรัง อายุระหว่างอายุ 6 เดือน-15 ปี ที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ส่วน control ได้จากเด็กทั่วไปที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เด็กที่อยู่ในโครงการติดตามผลระยะยาวในการให้วัคซีนป้องกันโรคไวรัสตับอักเสบบี และผู้บริจาคโลหิตที่ไม่มีภาวะท้องผูกเรื้อรัง



สถานที่ทำการวิจัย ทดลองหรือเก็บข้อมูล

1. ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไวรัสตับอักเสบบี ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Review of related literatures)

การศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของ serotonin กับ functional constipation และ IBS-C มีผู้วิจัยศึกษาในหลายรูปแบบ ตัวอย่างเช่น

การศึกษาโดย Miwa และคณะ(35) จากญี่ปุ่นที่ตีพิมพ์ในปี 2001 ว่าด้วยเรื่องของระดับ serotonin จากผลชิ้นเนื้อบริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนปลายในผู้ป่วย IBS-C เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่ม IBS ชนิดที่มีอาการท้องเสียเป็นอาการเด่น (IBS-D) พบว่าระดับ serotonin ในเยื่อลำไส้สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ต่อมาได้มีการวิจัยในรูปแบบใกล้เคียงกันที่สหรัฐอเมริกา แต่ผลสรุปที่ได้ขัดแย้งกับข้อมูลเดิม โดย Coates และคณะ(36) พบว่าระดับ serotonin จากผลชิ้นเนื้อบริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนปลายลดลงในทั้งผู้ป่วยกลุ่ม IBS-C และ IBS-D รวมทั้งระดับ SERT mRNA และ SERT immunoreactivity ด้วย

ในปี 2004 มีการศึกษาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลง 5-HT_{2A} receptor และ 5-HT_{2A} gene ในผู้ป่วยกลุ่ม IBS(37) และมี 4 การศึกษาที่ศึกษาความสัมพันธ์ของ SERT polymorphism กับ functional constipation และ IBS-C ซึ่งเกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้

รายงานแรก Pata และคณะ(38) ศึกษาในครุฑในกลุ่มผู้ป่วย IBS 54 ราย (มี IBS-C 36 ราย) เทียบกับกลุ่มควบคุม 91 ราย พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่าง SERT polymorphism ในกลุ่ม IBS เทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับ SERT-P allele S/S genotype ในกลุ่มผู้ป่วย IBS พบว่าเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด IBS-C และ L/S genotype เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด IBS-D

รายงานที่ 2 โดย Kim และคณะ(39) ได้ศึกษาผู้ป่วยจาก Mayo Clinic ที่อาศัยในตอนกลางฝั่งตะวันตกของสหรัฐอเมริกา เกี่ยวกับ SERT polymorphism, α_{2C} Del 322-325 และ α_{2A} -1291 (C→G) polymorphism ในผู้ป่วย 274 ราย ที่มี lower functional gastrointestinal disorders (FGID) เทียบกับกลุ่มควบคุม 120 ราย พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วย lower FGID เทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสนับสนุนผลการศึกษากลุ่ม IBS ในครุฑโดย Pata และคณะ(35) ส่วนกลุ่ม IBS-C 90 ราย ไม่พบความแตกต่างใน SERT L/S หรือ S/S polymorphism (odds ratio 0.7; 95% confidence interval 0.4,1.2) เช่นกัน แต่พบว่าการที่มี α_{2C} Del 322-325 ร่วมกับ SERT polymorphism สัมพันธ์กับ somatic symptom ที่มากขึ้น (odds ratio 5.0; 95% confidence interval 1.11,22.22)

รายงานที่ 3 โดย Lee และคณะ(40) จากเกาหลีศึกษาในกลุ่ม IBS, IBS subgroups (IBS-C, IBS-D) และกลุ่มควบคุมไม่พบความแตกต่างของการพบ SERT polymorphism ทั้ง SERT-P allele L/L, L/S, S/S genotype

รายงานที่ 4 โดย Wang และคณะ(41) จากจีนศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย IBS 81 ราย เทียบกับกลุ่มควบคุม 48 รายพบว่า SERT-P allele L/L genotype ในกลุ่มผู้ป่วย IBS เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด IBS-C (ขัดแย้งกับผลการศึกษาในตุรกี) สำหรับ L/S genotype พบน้อยใน IBS-C แต่พบว่าเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด IBS-D (สนับสนุนผลการศึกษาของในตุรกี)

จากการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้นพบว่าผลสรุปของแต่ละการศึกษาไม่ตรงกัน สำหรับการศึกษานี้ของ Pata และคณะ(38) มีข้อที่น่าสนใจคือ S/S genotype ซึ่งน่าจะลดหน้าที่ของ SERT และลด serotonin reuptake ถ้าพิจารณาตามหลักการนี้ กลุ่ม S/S genotype ไม่น่าจะสัมพันธ์กับภาวะท้องผูก และจากขนาดตัวอย่างที่เล็ก (n=26 for IBS-C; n=18 for IBS-D) ทำให้การแปลผลข้อมูลค่อนข้างจำกัด อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์หรือกลไกที่ปรากฏใน in vitro อาจให้ผลที่ต่างกันเมื่ออยู่ในร่างกายก็เป็นได้ นอกจากนี้รายงานล่าสุดจาก North America พบว่า IBS-D มีความสัมพันธ์กับ S/S genotype ($p=3.07 \times 10^{-5}$; n=194) (42)

การศึกษาความสัมพันธ์ของ SERT-P กับ functional constipation และ IBS ชนิดที่มีอาการท้องผูกเป็นอาการเด่น (IBS-C) ก่อนหน้านี้พบว่า SERT-P ที่สัมพันธ์กับความผิดปกติในประชากรกลุ่มหนึ่ง อาจไม่สัมพันธ์กับประชากรกลุ่มอื่นก็ได้ สิ่งนี้อาจอธิบายด้วยปัจจัยที่ต่างกันในแต่ละการศึกษาดังนี้

- ความแตกต่างในแต่ละเชื้อชาติ ทำให้ความชุกของชนิด genotype ในแต่ละประชากรต่างกัน
- สัดส่วนของเพศที่ต่างกันระหว่างกลุ่มศึกษากับกลุ่มควบคุม
- วิธีการเก็บและวัดตัวอย่าง
- ขนาดตัวอย่าง
- อีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การศึกษานี้ค่อนข้างยากคือ functional constipation และ IBS-C ไม่มี diagnostic test อาศัยการวินิจฉัยจากอาการเท่านั้น ซึ่งเกณฑ์การวินิจฉัยในแต่ละการศึกษาแตกต่างกันบางอย่างในรายละเอียด

นอกจากนี้ Blakely(43) ได้ตั้งสมมุติฐานเกี่ยวกับเรื่องนี้ว่า ภาวะ IBS อาจไม่จำเป็นต้องมีการทำงานที่ผิดปกติของ SERT ทุกสาย แต่การทำงานที่ผิดปกติของ SERT สามารถพบร่วมกับความผิดปกติอย่างใดอย่างหนึ่งของ gastrointestinal phenotype หรือพฤติกรรมที่ผิดปกติได้ มีการศึกษาที่ได้ให้ข้อสังเกตว่า อิทธิพลของ single polymorphism อาจแสดงผลหรือลักษณะเพียงเล็กน้อยเท่านั้นในบางราย(44)

เมื่อไม่นานมานี้มีการค้นพบการเปลี่ยนแปลงใน SERT mRNA ในสัตว์ที่มีการอักเสบของลำไส้(colitis) (45) รวมทั้งในผู้ป่วย ulcerative colitis และ IBS(33) ซึ่งแสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่จำเพาะของ serotonin ของผู้ป่วยที่มีภาวะดังกล่าว ทำให้ยังต้องมีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับผลของ serotonin กับการทำงานของลำไส้ต่อไป โดยเฉพาะ genetic variation ของ SERT ในผู้ที่มีการทำงานของทางเดินอาหารผิดปกติรวมทั้งการตอบสนองต่อการรักษา เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนมากขึ้น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรที่ทำการศึกษา

ประชากรเป้าหมาย

เด็กอายุ 6 เดือน–15 ปี ที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และได้รับการวินิจฉัยทางคลินิกว่ามีภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion Criteria)

1. อายุ 6 เดือน–15 ปี
2. เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
3. เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย โดยเข้าได้กับ Rome II criteria(46)

คือมีอาการเหล่านี้เป็นอย่างใดอย่างหนึ่งเป็นเวลานานอย่างน้อย 3 เดือน

- ถ่ายอุจจาระน้อยกว่า 3 ครั้งต่อสัปดาห์
 - ถ่ายอุจจาระก้อนใหญ่และแข็ง
 - ถ่ายอุจจาระเป็นเม็ดเล็กแข็งคล้ายเม็ดกระสุน
4. มีเชื้อชาติและสัญชาติไทย

กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ไม่ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย
2. มีลักษณะของภาวะท้องผูกที่มีโรคทางกาย (organic constipation) เช่น Hirschsprung's disease, hypothyroidism
3. ผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวเรื้อรังหรือมีความผิดปกติแต่กำเนิดของระบบทางเดินอาหาร เช่น imperforate anus, anorectal malformation

ประชากรกลุ่มควบคุม

คนปกติที่มีอายุระหว่าง 6 เดือน-25 ปี ที่ไม่เคยมีประวัติเข้าเกณฑ์การวินิจฉัยว่ามีภาวะลำไส้ทำงานผิดปกติทั้งกลุ่มที่มีสาเหตุจำเพาะ และกลุ่ม functional gastrointestinal disorders ตาม Rome II criteria(46)

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size determination)

เนื่องจากมีหลายการศึกษาและข้อมูลแต่ละการศึกษาก่อนข้างแตกต่างกัน แต่ตามเชื้อชาติแล้วการศึกษาในเกาหลีน่าจะให้ลักษณะ โพลีมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์ตอร์ใกล้เคียงกับการศึกษาในประเทศไทย เพราะฉะนั้นการคำนวณขนาดตัวอย่างในการศึกษานี้ จะยึดถือข้อมูลจากรายงานของ Lee และคณะเป็นหลัก(40) โดยพบว่า

	กลุ่มควบคุม	IBS-C
L/L genotype (%)	5.4	16.7
L/S genotype (%)	37.5	8.3
S/S genotype (%)	57.1	75

กำหนด α error = 0.05

β error = 0.20

$$Z_{\alpha/2} = Z_{0.05/2} = 1.645 \text{ (one tail)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{0.20} = 0.84$$

$$\text{สูตร } n/\text{group} = (Z_{\alpha/2} \sqrt{2P_c Q_c} + Z_{\beta} \sqrt{P_s Q_s + P_c Q_c})^2 / (P_s - P_c)^2$$

P_s = อัตราเกิดเหตุการณ์ในกลุ่มศึกษา

P_c = อัตราเกิดเหตุการณ์ในกลุ่มควบคุม

คำนวณจาก L/L genotype

$$\begin{aligned} n/\text{group} &= (1.645 \sqrt{2(0.054)(.946)} + 0.84 \sqrt{(0.167)(.833) + (0.054)(.946)})^2 / (.167 - .054)^2 \\ &= 62 \end{aligned}$$

ดังนั้นในทางทฤษฎีจำนวนผู้ป่วยทั้งหมดที่จะถูกคัดเลือกเข้ามาในการศึกษาอย่างน้อยคือ 62 คน แต่เนื่องจากการศึกษานี้ มีข้อจำกัดในด้านระยะเวลาทำให้จำนวนประชากรที่ทำการศึกษาจำกัดคือ 24 ราย

การสังเกตและการวัด

การสกัดดีเอ็นเอ

นำเลือดจากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยมาสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วย และกลุ่มควบคุม โดยการใช้ชุดน้ำยา FlexiGene DNA kit (Qiagen) ตามขั้นตอนที่แนะนำโดยบริษัทผู้ผลิต เพื่อตรวจหา insertion/deletion polymorphism ในตำแหน่ง promoter ของ serotonin reuptake transporter (SERT-P) ซึ่งมีขนาด 44 base pairs โดยวิธี polymerase chain reaction

การวิเคราะห์โพลีเมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ(DNA template) ในการตรวจหาโพลีเมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งใช้ primers ที่จำเพาะ ดังนี้

- Forward primer: GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACC AC
- Reverse primer: GGC GTT GCC GCT CTG AAT GC

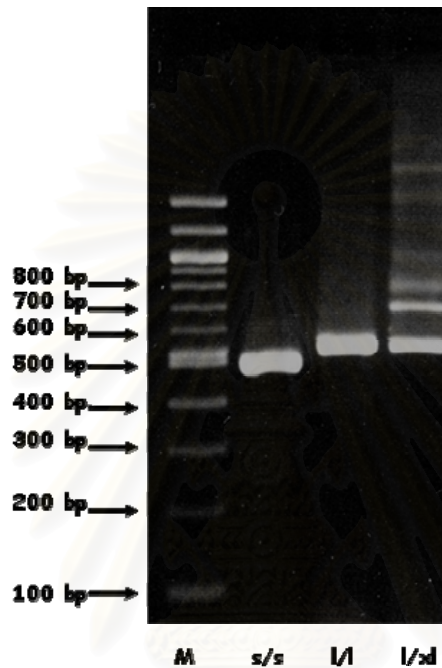
เริ่มจากการเตรียม master mix โดยใช้ชุดน้ำยา MasterTaq kit (Eppendorf) ซึ่งมีส่วนประกอบดังในตารางนี้ โดยผสมน้ำในอัตราส่วนน้ำยา 92 μ l ต่อหลอดปฏิกิริยา PCR 4 หลอด

ส่วนประกอบ	ปริมาตร
DMSO	5 μ l
5x Taq M	20 μ l
10x PCR buffer	10 μ l
dNTP mix (10 mM)	4 μ l
Forward primer (100 pmol/ μ l)	1 μ l
Reverse primer (100 pmol/ μ l)	1 μ l
Taq polymerase	1 μ l
น้ำกลั่นปลอดเชื้อ	50 μ l
รวม	92 μ l

เมื่อผสม master mix ให้เข้ากันดีแล้ว แบ่ง master mix ปริมาตร 23 μ l ใส่หลอดปฏิกิริยา PCR ที่มีดีเอ็นเอต้นแบบหลอดละ 2 μ l(ประมาณ 100-200 ng) ดังนั้นแต่ละหลอดปฏิกิริยา PCR มีปริมาตรรวมเป็น 25 μ l ภายหลังจากการผสมให้ส่วนประกอบทั้งหมดเข้ากันดีแล้ว นำหลอดปฏิกิริยา PCR เข้าเครื่อง Thermal cycler ที่มีการตั้งโปรแกรมเป็นลักษณะ touchdown PCR ดังนี้

Stage 1	Step 1 95.0°C , 5 นาที	1 รอบ
Stage 2	Step 1 94.0°C , 1 นาที	25 รอบ
	Step 2 68.0°C-0.5°C(อุณหภูมิ ลดลง 0.5°C ต่อรอบ), 1 นาที	
	Step 3 72.0°C, 1 นาที	
Stage 3	Step 1 94.0°C , 1 นาที	10 รอบ
	Step 2 50.0°C, 1 นาที	
	Step 3 72.0°C, 1 นาที	
Stage 4	Step 1 72.0°C, 10 นาที	1 รอบ
	Hold Temp 4.0°C	

ภายหลังจากเครื่อง Thermal cycler ทำงานเสร็จแล้ว นำ PCR product ไปตรวจสอบหาประเภท genotype ของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์โดยใช้เทคนิค 3% agarose gel electrophoresis และ visualised ด้วย ethidium bromide staining เพื่อดูขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยขนาดของ expected product สำหรับ deletion (del or S), insertion (ins or L) และ XL alleles เท่ากับ 484 bp, 528 bp และ 613 bp แสดงดังภาพที่ 11



ภาพที่ 10 Agarose gel electrophoresis แสดงผลการวิเคราะห์โพลีมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ด้วยวิธี polymerase chain reaction. (M) แถวแรกเป็น DNA marker แสดงขนาดของคู่เบส (bp) กำกับไว้; แถวถัดไปเป็นลักษณะของ genotypes ประเภท S/S, L/L และ L/XL ตามลำดับ

อุปกรณ์การวิจัย

- แบบสอบถามข้อมูล
- อุปกรณ์การเก็บเลือด
- อุปกรณ์การสกัดดีเอ็นเอจากเลือด
- อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอโดยวิธี polymerase chain reaction คือ เครื่อง thermal cycler และชุด gel electrophoresis สำหรับดีเอ็นเอ

การเก็บรวบรวมข้อมูล

1. ผู้ป่วยและ/หรือผู้ปกครองจะได้รับคำชี้แจงถึงความสำคัญและที่มาของการวิจัย และยินยอมให้ผู้ป่วยเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้
2. บันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยโดยผู้วิจัยสอบถามจากผู้ป่วย บิดามารดา และข้อมูลจากเวชระเบียนผู้ป่วย บันทึกอาการทางคลินิกตาม Rome II criteria
3. เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DNA โดยวิธี polymerase chain reaction
4. ข้อมูลที่ได้จากผู้ป่วยจะถูกบันทึกลงในแบบฟอร์ม และทำการเก็บข้อมูลทั้งหมดลงในคอมพิวเตอร์เพื่อนำมาตรวจสอบ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

Student t test ใช้ในการเปรียบเทียบลักษณะทั่วไประหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม

χ^2 test ใช้วัดความสัมพันธ์ระหว่าง genotype กับภาวะท้องผูกในเด็ก (genotypic association) เพื่อจำแนกว่าโพลีมอร์ฟิสมของซีโรโทนินทรานสปอร์เตอร์ในแต่ละ genotype มีความสัมพันธ์ต่อภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายในเด็กหรือไม่

การวิเคราะห์ทางสถิติจะเสร็จสมบูรณ์โดยใช้โปรแกรม ค่า P ทั้งหมดที่ ≤ 0.05 จะสนับสนุนว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

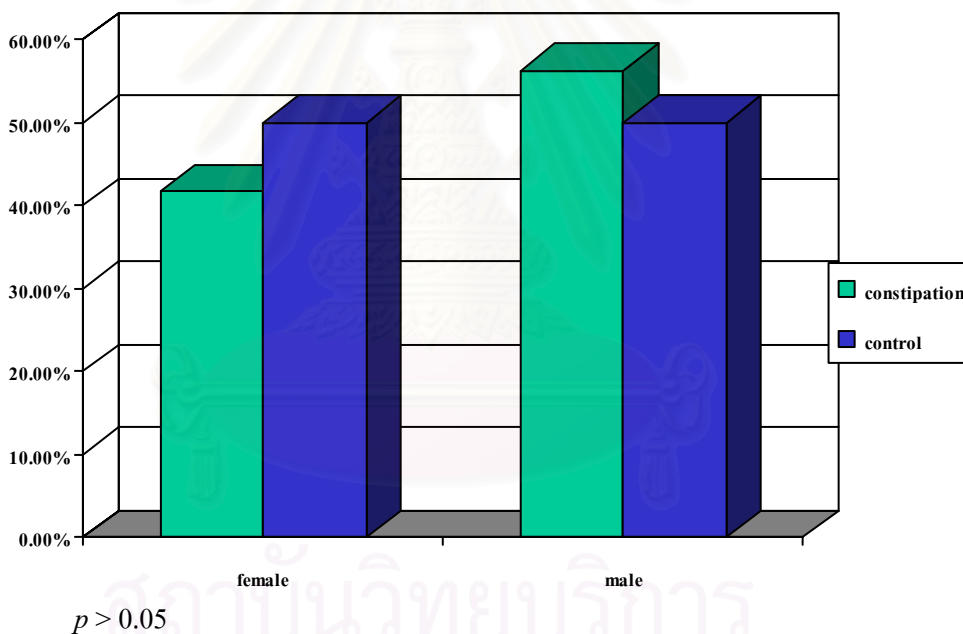
บทที่ 4

ผลการวิจัย

ข้อมูลทั่วไป

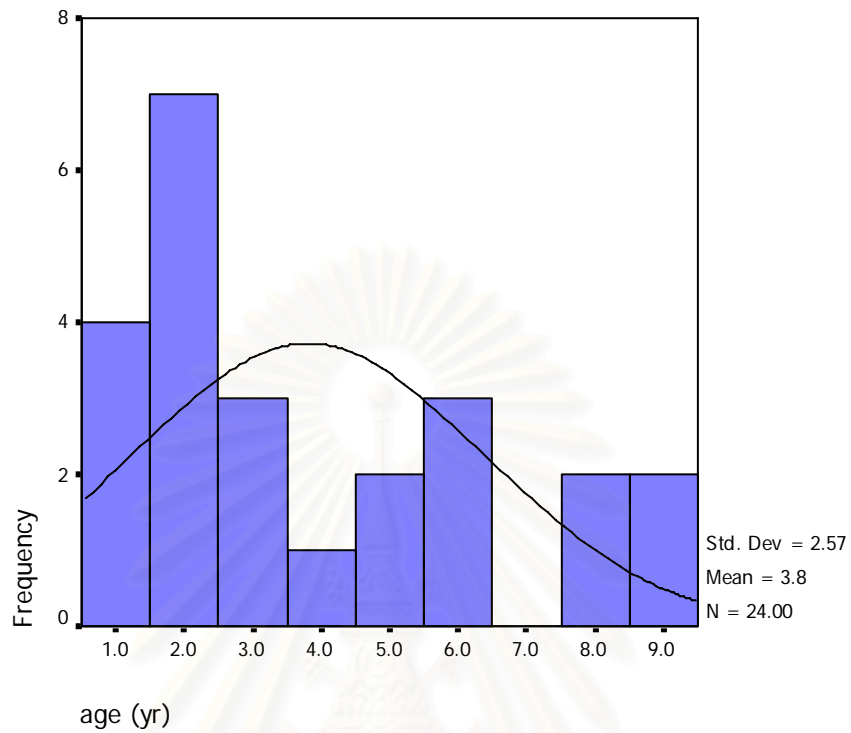
เด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายที่เข้าร่วมการวิจัยทั้งหมด 24 ราย เป็นเพศชาย 14 คน คิดเป็นร้อยละ 58.3 และเพศหญิง 10 คน คิดเป็นร้อยละ 41.7 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้งหมด 48 ราย ซึ่งเป็นเพศชาย 24 คน คิดเป็นร้อยละ 50 และเพศหญิง 24 คน คิดเป็นร้อยละ 50 พบว่าไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังแผนภูมิที่ 1

แผนภูมิที่ 1 แสดงร้อยละของเด็กที่เข้าร่วมการศึกษา แบ่งตามเพศ

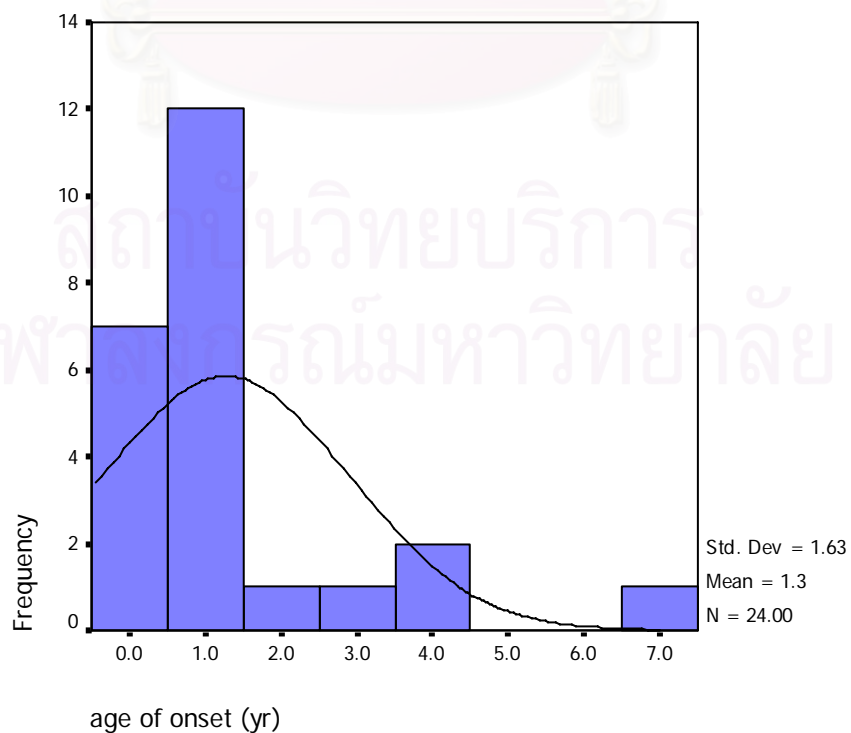


แบ่งตามอายุพบว่าเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายมีอายุระหว่าง 9 เดือน - 8 ปี 9 เดือน อายุเฉลี่ย 3 ปี 10 เดือน (3.8 ปี) สำหรับอายุที่เริ่มแสดงอาการพบตั้งแต่แรกเกิด - 7 ปี และอายุเฉลี่ยที่เริ่มแสดงอาการคือ 1 ปี 4 เดือน (1.3 ปี) ดังแผนภูมิที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมที่เข้าร่วมศึกษามีทั้งหมด 48 ราย มีอายุระหว่าง 6 เดือน - 25 ปี อายุเฉลี่ย 13 ปี 11 เดือน (13.9 ปี) อายุระหว่าง 6 เดือน - 15 ปี มี 29 ราย คิดเป็นร้อยละ 60

แผนภูมิที่ 2 ฮิสโทแกรมแสดงการแจกแจงความถี่ของอายุเป็นปีในเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายที่เข้าร่วมการศึกษา

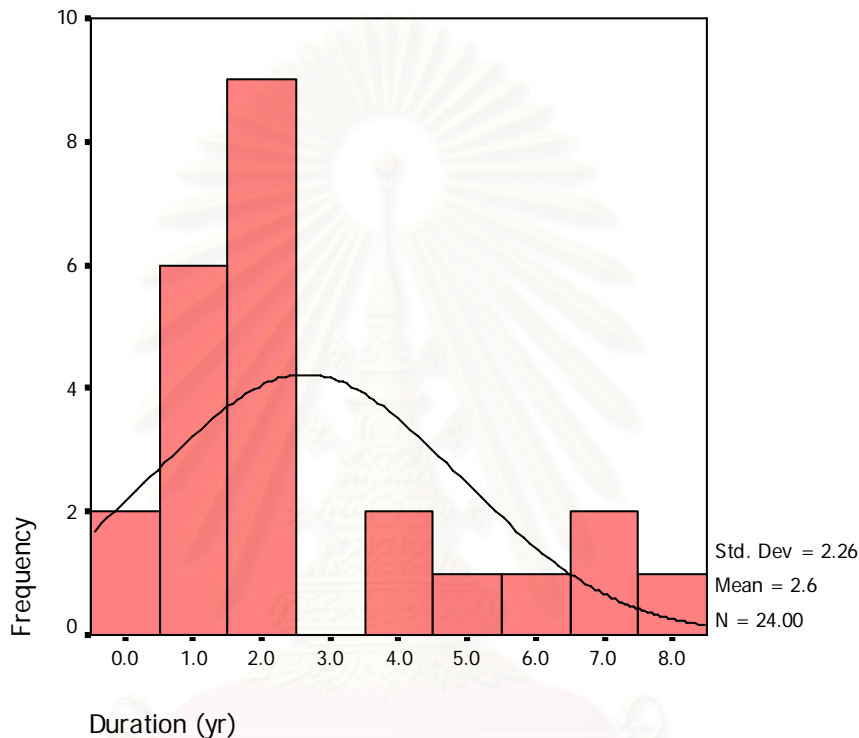


แผนภูมิที่ 3 ฮิสโทแกรมแสดงการแจกแจงความถี่ของอายุที่เริ่มแสดงอาการเป็นปีในเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายที่เข้าร่วมการศึกษา



นอกจากนี้พบว่าเด็กท้องผูกที่ไม่มีอาการทางกายในการศึกษานี้ มีอาการท้องผูกมาเป็นระยะเวลาเริ่มตั้งแต่ 3 เดือน - 8 ปี ค่าเฉลี่ยประมาณ 2 ปี 7 เดือน (2.6 ปี) ดังแผนภูมิที่ 4

แผนภูมิที่ 4 ฮิสโทแกรมแสดงการแจกแจงความถี่ของระยะเวลาที่มีอาการท้องผูกเป็นปีในเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายที่เข้าร่วมการศึกษา



การตรวจ SERT polymorphism

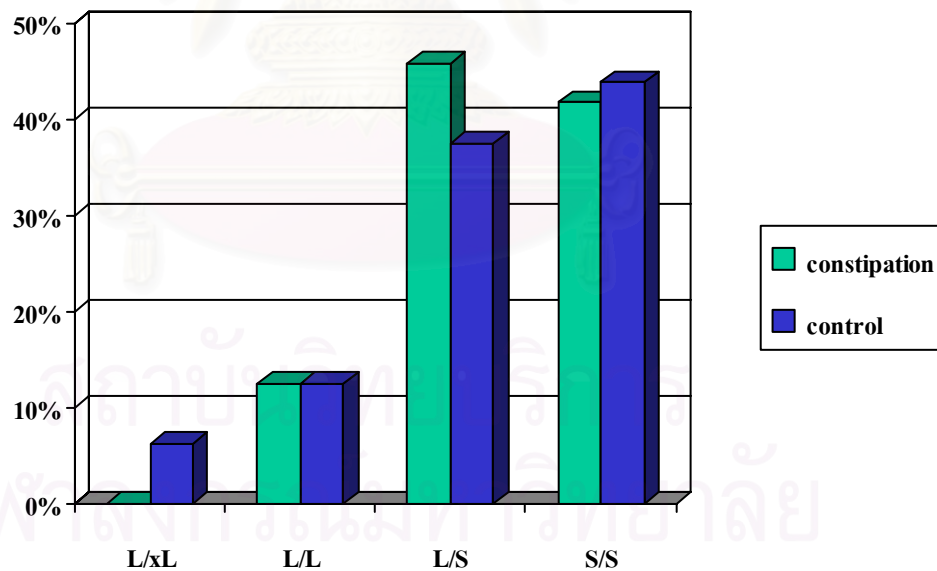
SERT polymorphism ที่พบในกลุ่มเด็กท้องผูก เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่ามี ความคล้ายคลึงกัน ($\chi^2 = 1.792, p > 0.05$ และ odds ratio < 2) โดยในกลุ่มเด็กท้องผูกพบ L/L genotype 3 ราย (ร้อยละ 12.5), L/S genotype 11 ราย (ร้อยละ 45.8) และ S/S genotype 10 ราย (ร้อยละ 41.7) สำหรับกลุ่มควบคุม 48 ราย พบ L/L genotype 6 ราย (ร้อยละ 12.5), L/S genotype 18 ราย (ร้อยละ 37.5), S/S genotype 21 ราย (ร้อยละ 43.8) และพบ L/XL genotype ซึ่งไม่พบในกลุ่มเด็กท้องผูก 3 ราย (ร้อยละ 6.3) ดังตารางที่ 1 และแผนภูมิที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนและร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย กับกลุ่มควบคุม

Genotype	SERT polymorphism		
	กลุ่มท้องผูก (n=24)	กลุ่มควบคุม (n=48)	odds ratio (95% confidence interval)
L/XL	0 (0%)	3(6.3%)	-
L/L	3(12.5%)	6(12.5%)	1(0.23, 4.40)
L/S	11(45.8%)	18 (37.5%)	1.41(0.52, 3.81)
S/S	10(41.7%)	21(43.8%)	0.92(0.34, 2.47)

$\chi^2 = 1.792, p > 0.05$; 37.5% expected count <5

แผนภูมิที่ 5 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย กับกลุ่มควบคุม



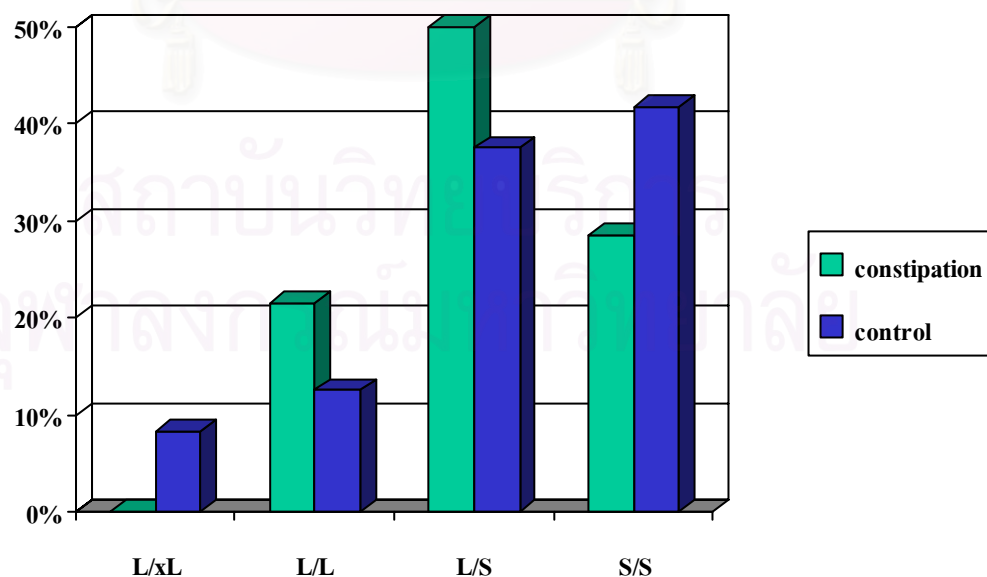
สำหรับการวิเคราะห์ SERT polymorphism ในเพศชาย และหญิง พบว่ากลุ่มเด็กท้องผูกเพศชายทั้งหมด 14 ราย มี L/L genotype 3 ราย (ร้อยละ 21.4), L/S genotype 7 ราย (ร้อยละ 50) และ S/S genotype 4 ราย (ร้อยละ 28.6) ส่วนกลุ่มควบคุมเพศชาย 24 ราย มี L/XL genotype 2 ราย (ร้อยละ 8.3), L/L genotype 3 ราย (ร้อยละ 12.5), L/S genotype 9 ราย (ร้อยละ 37.5) และ S/S genotype 10 ราย (ร้อยละ 41.7)

เด็กท้องผูกเพศหญิงทั้งหมด 10 ราย มี L/S genotype 4 ราย (ร้อยละ 40) และ S/S genotype 6 ราย (ร้อยละ 60) กลุ่มควบคุมเพศหญิง 24 ราย มี L/XL genotype 1 ราย (ร้อยละ 4.2), L/L genotype 3 ราย (ร้อยละ 12.5), L/S genotype 9 ราย (ร้อยละ 37.5) และ S/S genotype 11 ราย (ร้อยละ 45.8) ดังตารางที่ 2

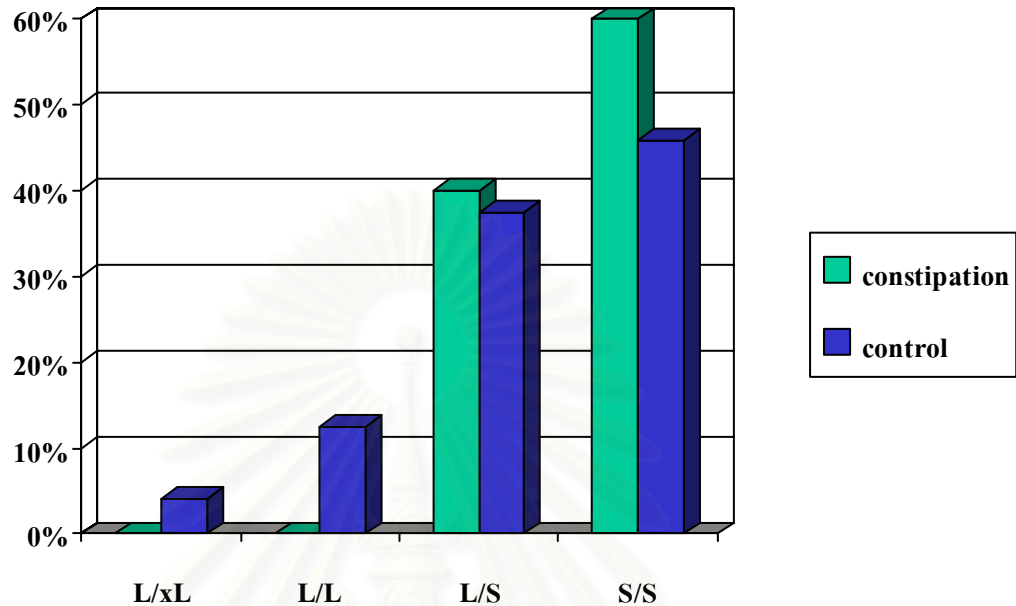
ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย กับกลุ่มควบคุม แบ่งตามเพศ

Genotype	เพศชาย		เพศหญิง	
	กลุ่มท้องผูก (n=14)	กลุ่มควบคุม (n=24)	กลุ่มท้องผูก (n=10)	กลุ่มควบคุม (n=24)
L/XL	0 (0%)	2(8.3%)	0 (0%)	1(4.2%)
L/L	3(21.4%)	3(12.5%)	0 (0%)	3(12.5%)
L/S	7(50%)	9(37.5%)	4(40%)	9(37.5%)
S/S	4(28.6%)	10(41.7%)	6(60%)	11(45.8%)

แผนภูมิที่ 6 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย กับกลุ่มควบคุมเพศชาย

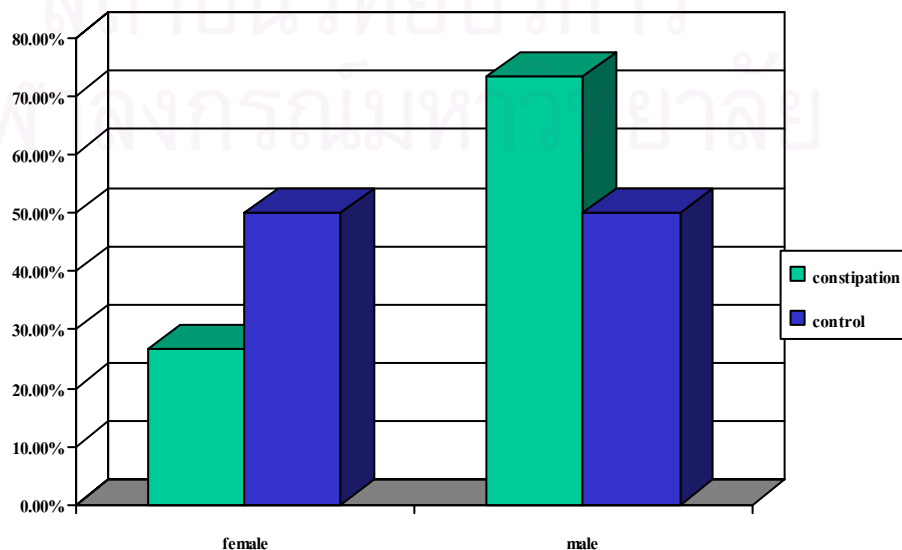


แผนภูมิที่ 7 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย กับกลุ่มควบคุมเพศหญิง



กรณีวิเคราะห์เฉพาะกลุ่ม SERT polymorphism ที่มีอาการท้องผูกเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี และเริ่มมีอาการก่อนอายุ 1 ปี พบว่ามีทั้งหมด 15 ราย เป็นเพศชาย 11 ราย (ร้อยละ 73.3) และเพศหญิง 4 ราย (ร้อยละ 26.7) นำข้อมูลที่ได้เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตามเพศ แสดงข้อมูลดังแผนภูมิที่ 8

แผนภูมิที่ 8 แสดงร้อยละของเด็กท้องผูกที่มีอาการเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี และเริ่มมีอาการก่อนอายุ 1 ปี ที่เข้าร่วมการศึกษา เทียบกับกลุ่มควบคุมแบ่งตามเพศ



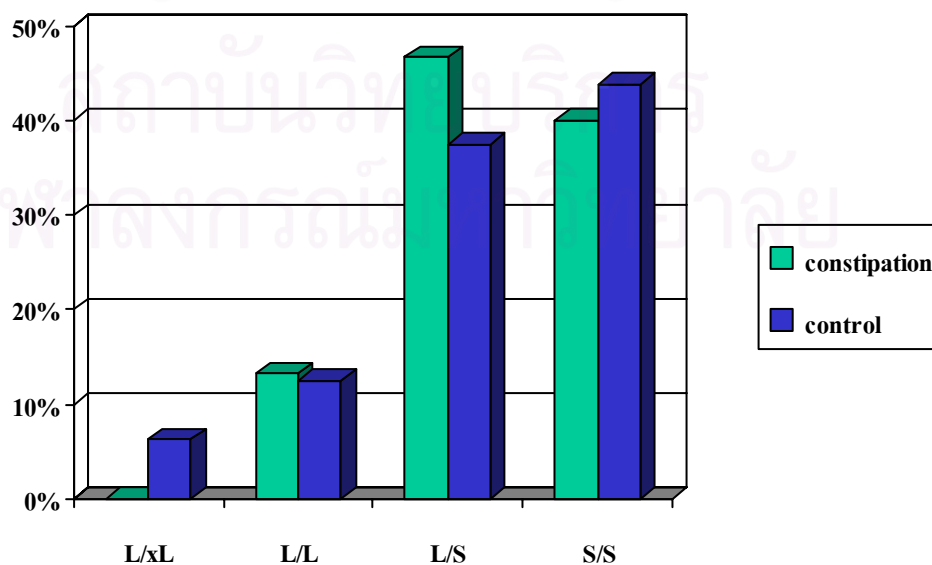
ระยะเวลาที่มีอาการท้องผูกโดยเฉลี่ยประมาณ 3 ปี พบว่ามี L/L genotype 2 ราย (ร้อยละ 13.3), L/S genotype 7 ราย (ร้อยละ 46.7), S/S genotype 6 ราย (ร้อยละ 40) สำหรับ L/XL genotype ไม่พบในเด็กท้องผูกกลุ่มนี้ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเดิม ไม่พบความแตกต่างของ SERT polymorphism อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 1.223, p > 0.05$ และ odds ratio < 2) ดังตารางที่ 3 และแผนภูมิที่ 9

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายที่มีอาการเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี และเริ่มมีอาการก่อนอายุ 1 ปี กับกลุ่มควบคุม

Genotype	SERT polymorphism		
	กลุ่มท้องผูก (n=15)	กลุ่มควบคุม (n=48)	odds ratio (95% confidence interval)
L/XL	0 (0%)	3(6.3%)	-
L/L	2(13.3%)	6(12.5%)	1.08(0.19, 6.00)
L/S	7(46.7%)	18 (37.5%)	1.46(0.45, 4.70)
S/S	6(40%)	21(43.8%)	0.86(0.26, 2.79)

$\chi^2 = 1.223, p > 0.05$; 37.5% expected count < 5

แผนภูมิที่ 9 แสดงร้อยละของ SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายที่มีอาการเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี และเริ่มมีอาการก่อนอายุ 1 ปี กับกลุ่มควบคุม



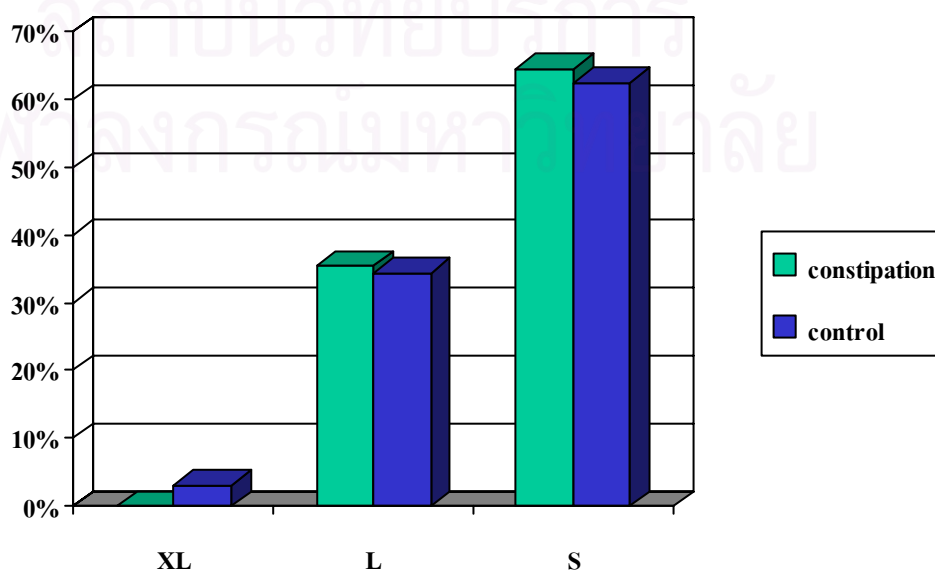
จากผลการศึกษา SERT polymorphism เมื่อนำมาวิเคราะห์หา allelic frequencies พบว่าในกลุ่มเด็กท้องผูกจากจำนวน allele ทั้งหมด 48 alleles พบ S 60 alleles (ร้อยละ 62.5), L 33 alleles (ร้อยละ 34.4) และ XL 3 alleles (ร้อยละ 3.1) สำหรับกลุ่มควบคุมมีจำนวน allele ทั้งหมด 96 alleles พบ S allele 60 (ร้อยละ 62.5), L allele 33 (ร้อยละ 34.4) และ XL allele 3 (ร้อยละ 3.1) และไม่พบความแตกต่างของ SERT polymorphism อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่ม ($\chi^2 = 1.532, p > 0.05$ และ odds ratio < 2) แสดงดังตารางที่ 4 และ แผนภูมิที่ 10

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนและร้อยละของ allelic frequencies ใน SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายกับกลุ่มควบคุม

Allele	allelic frequencies		
	กลุ่มท้องผูก (n=48)	กลุ่มควบคุม (n=96)	odds ratio (95% confidence interval)
XL	0 (0%)	3(3.1%)	-
L	17(35.4%)	33(34.4%)	0.96(0.46, 1.97)
S	31(64.6%)	60(62.5%)	1.09(0.53, 2.25)

$\chi^2 = 1.532, p > 0.05$; 33.3% expected count < 5

แผนภูมิที่ 10 แสดงร้อยละของ allelic frequencies ใน SERT polymorphism ระหว่างกลุ่มเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายกับกลุ่มควบคุม



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการสำรวจและเก็บข้อมูลของเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายที่เข้าเกณฑ์ตาม Inclusion criteria ที่กำหนด ที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทั้งหมด 24 ราย เทียบกับกลุ่มควบคุม 48 ราย ซึ่งมีความคล้ายคลึงกันในด้านเพศ ($p > 0.05$)

SERT polymorphism ที่ได้จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอซึ่งสกัดจากเม็ดเลือดขาวแบ่งตามกลุ่มศึกษาพบว่า

กลุ่มเด็กท้องผูก

1. Genotypic frequencies พบ
 - S/S genotype ร้อยละ 41.7
 - L/S genotype ร้อยละ 45.8
 - L/L genotype ร้อยละ 12.5
 - ไม่พบ L/XL genotype
2. Allelic frequencies พบ
 - S allele ร้อยละ 64.6
 - L allele ร้อยละ 35.4
 - ไม่พบ XL allele

กลุ่มควบคุม

1. Genotypic frequencies พบ
 - S/S genotype ร้อยละ 43.8
 - L/S genotype ร้อยละ 37.5
 - L/L genotype ร้อยละ 12.5
 - L/XL genotype ร้อยละ 6.3
2. Allelic frequencies พบ
 - S allele ร้อยละ 62.5
 - L allele ร้อยละ 34.4
 - XL allele ร้อยละ 3.1

ดังนั้นจากการศึกษานี้จะสังเกตได้ว่าเป็น L/S และ S/S genotype เป็น genotype ที่พบบ่อยที่สุดทั้งในกลุ่มเด็กท้องผูก (ร้อยละ 45.8 และ 41.7 ตามลำดับ) และกลุ่มควบคุม (ร้อยละ 37.5 และ 43.8 ตามลำดับ) และพบ SERT polymorphism ชนิด L/XL genotype น้อยที่สุด (ร้อยละ 6.3 ในกลุ่มควบคุม และในกลุ่มเด็กท้องผูกไม่พบ L/XL genotype เลย) และเมื่อนำมาวิเคราะห์หา allelic frequencies พบว่าให้ข้อมูลใกล้เคียงกันคือ พบ S allele มากที่สุด รองลงมาคือ L allele และพบ XL allele น้อยที่สุด ทั้งในกลุ่มเด็กท้องผูกและกลุ่มควบคุม โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง 2 กลุ่ม ($\chi^2 = 1.532, p > 0.05$)

สำหรับการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า SERT polymorphism ทั้ง SERT-P allele L/XL, L/L, L/S และ S/S genotype ไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายในเด็ก (functional constipation) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 1.792, p > 0.05$)

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลตามเพศชาย-หญิงเปรียบเทียบกลุ่มเด็กท้องผูกกับกลุ่มควบคุมเป็นจำนวนร้อยละของ SERT polymorphism แต่ละ genotype ให้ข้อมูลลักษณะเดียวกัน คือ

- L/S และ S/S genotype เป็น genotype ที่พบบ่อยที่สุดในเพศชาย และเพศหญิง
- L/S genotype เด่นในกลุ่มเด็กท้องผูกเพศชาย (ร้อยละ 50) ส่วนกลุ่มควบคุมเพศชายพบ S/S genotype เด่น (ร้อยละ 41.7)
- S/S genotype เด่นทั้งในกลุ่มเด็กท้องผูก และกลุ่มควบคุมเพศหญิง (ร้อยละ 60 และ 45.8 ตามลำดับ)
- พบเฉพาะ L/S และ S/S genotype ในกลุ่มเด็กท้องผูกเพศหญิง
- ไม่พบ L/XL genotype ในกลุ่มเด็กท้องผูก

สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบ่งตามเพศชาย-หญิง ให้ข้อมูลที่แตกต่างกันในด้าน genotype ที่พบในกลุ่มเด็กท้องผูก และกลุ่มควบคุมทั้งเพศชาย และเพศหญิง แต่เนื่องจากการแบ่งจำนวนประชากรที่ศึกษาเป็นกลุ่มย่อย ทำให้จำนวนประชากรจำกัด ไม่อาจนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้

การวิเคราะห์ข้อมูลเมื่อนำข้อมูลในกลุ่มเด็กท้องผูกมาวิเคราะห์เฉพาะกลุ่มที่มีอาการท้องผูกเรื้อรังเป็นระยะเวลานาน โดยตั้งเกณฑ์ที่มีอาการเป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี ร่วมกับเริ่มมีอาการเร็วคือก่อนอายุ 1 ปี พบมี

- S/S genotype ร้อยละ 40
- L/S genotype ร้อยละ 46.7
- L/L genotype ร้อยละ 13.3
- ไม่พบ L/XL genotype

และเมื่อนำข้อมูลที่ได้อีกมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า SERT polymorphism ทั้ง SERT-P allele L/XL, L/L, L/S และ S/S genotype ไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทาง

ภายในเด็กอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 1.223, p > 0.05$) แม้จะทำการวิเคราะห์เฉพาะกลุ่มที่มีอาการมานาน และเริ่มมีอาการเร็ว นอกจากนั้นพบว่า L/S และ S/S genotype เป็น genotype ที่พบบ่อยที่สุดเช่นกัน

อภิปรายผลการวิจัย

ในปัจจุบันข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยทางพันธุกรรมที่ส่งผลต่อภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย (functional constipation) ก่อนข้างจำกัด แม้ว่าจะมีการศึกษาที่บ่งชี้ว่าภาวะ irritable bowel syndrome (IBS) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม functional gastrointestinal disorders เช่นกัน มีความสัมพันธ์กับประวัติครอบครัวที่มีอาการของ IBS(44-46) แต่ในขณะนี้ยังไม่สามารถยืนยันยืนยันที่ส่งผลต่อการแสดงออกของ IBS แต่ละชนิดได้ แม้จากการศึกษาของ Pata(38) จะสรุปว่า S/S homozygous polymorphism เป็นปัจจัยเสี่ยงสำหรับ IBS-C และ L/S heterozygous polymorphism สัมพันธ์กับ IBS-D แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า S/S และ L/S polymorphism ทำให้การทำงานของ SERT ลดลง และ serotonin reuptake น้อยลง(27-31) ถ้าวิเคราะห์ตามหลักการนี้ S/S และ L/S genotype น่าจะให้ผลต่อการทำงานของลำไส้ที่ไม่แตกต่างกัน ต่างจากผลสรุปของข้อมูลที่ได้จากการศึกษาของ Pata(38) กรณีนี้อาจอธิบายได้ว่ากรณีที่ มี serotonin เหลือมากทำให้เกิดการ down regulation ของ receptor จึงเกิดภาวะท้องผูก นอกจากนี้อาจเกิดจากปัจจัยร่วมอื่นๆ ที่เกิดขึ้นในการศึกษา เช่น พฤติกรรมการรับประทานอาหาร, พฤติกรรมการถ่ายอุจจาระ, สิ่งแวดล้อม, ความวิตกกังวล และการแสดงออกของ single polymorphism ในแต่ละคนอาจแสดงผลหรือลักษณะไม่เหมือนกัน การศึกษาในอเมริกาเหนือพบว่า S/S genotype สัมพันธ์กับ IBS-D โดยคาดว่าน่าจะมี ความสัมพันธ์กับระดับของ serotonin ที่เพิ่มขึ้นในลำไส้(42) ดังนั้นถ้าพิจารณาตามกลไกการทำงานของ SERT แล้ว L/XL และ/หรือ L/L genotype น่าจะมีบทบาทในภาวะท้องผูก

สำหรับการศึกษานี้จะสังเกตได้ว่า L/S และ S/S genotype เป็น genotype ที่พบบ่อยที่สุดทั้งในกลุ่มเด็กท้องผูก (ร้อยละ 45.8 และ 41.7 ตามลำดับ) และกลุ่มควบคุม (ร้อยละ 37.5 และ 43.8 ตามลำดับ) และ L/XL และ/หรือ L/L genotype ซึ่งคาดว่าน่าจะมีบทบาทในภาวะท้องผูกกลับพบน้อยทั้งในกลุ่มเด็กท้องผูก และกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะ L/XL genotype ซึ่งไม่พบในกลุ่มเด็กท้องผูกเลย และเมื่อนำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ทางสถิติสรุปว่า SERT polymorphism ทั้ง SERT-P allele L/XL, L/L, L/S และ S/S genotype ไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย (functional constipation) ในเด็กอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 1.792, p > 0.05$) และแม้จะทำการวิเคราะห์เฉพาะกลุ่มเด็กท้องผูกที่มีอาการมานานและเริ่มมีอาการเร็ว ซึ่งน่าจะช่วยให้ลดปัจจัยแทรกซ้อนด้านพฤติกรรม สิ่งแวดล้อม และอารมณ์ได้ ก็ให้ผลการศึกษาที่คล้ายกัน คือ SERT polymorphism ไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายในเด็กอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 1.223, p > 0.05$) ผลการศึกษาที่ได้สนับสนุนการศึกษาของ Lee และคณะในเกาหลี(40)

การที่ผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย(functional constipation)ในเด็ก กับ อาจเป็นจาก

- เชื้อชาติ มีการศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน SERT ในหลายๆชนชาติ เช่น
 - XL allele พบมากในกลุ่มชาว African
 - L allele พบมากในกลุ่มของชาว African และ Caucasian ในกลุ่มยุโรปตะวันตก
 - S allele พบมากในกลุ่มเอเชียตะวันออก รวมถึงในประเทศไทยด้วยสังเกตได้ว่า ผลการศึกษานี้ซึ่งทำการศึกษาในเด็กไทยทั้งหมด และพบ S allele มากที่สุดเช่นกัน และผลของการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SERT polymorphism กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกายในเด็กในคล้ายกับผลการศึกษาในเกาหลี การพบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนนี้ อาจส่งผลต่อความหลากหลายของอาการทางคลินิกด้วย ดังนั้น เชื้อชาติอาจมีผลกับการแสดงออกของ SERT gene ต่อภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย

- ภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย(functional constipation)ในเด็ก อาจมีปัจจัยที่ส่งผลต่อการแสดงอาการที่ต่างจาก IBS ที่พบในผู้ใหญ่ เช่น อาหาร อารมณ์ และพฤติกรรม โดยเฉพาะสาเหตุส่วนใหญ่ในเด็กมักเกิดจากปัญหาทางพฤติกรรม มากกว่าสาเหตุจากภาวะ colonic transit time ช้า

- อาหาร เนื่องจากการศึกษานี้ทำในเด็กเป็นหลัก ดังนั้นลักษณะ และรูปแบบของอาหารที่แตกต่างจากผู้ใหญ่ อาจส่งผลต่อการเกิดอาการที่แตกต่างกัน เช่นนมเป็นอาหารหลักของเด็กโดยเฉพาะใน 6 เดือนแรก โดยในเด็กที่กินนมแม่น่าจะระบบการขับถ่ายที่ดี ดังนั้นในเด็กกลุ่มนี้น่าจะมีปัญหาท้องผูกลดกว่ากลุ่มเด็กที่ได้รับนมผสม

- จำนวนข้อมูลที่จำกัด (กลุ่มเด็กท้องผูก 24 ราย, กลุ่มควบคุม 48 ราย) ทำให้การแปลผลข้อมูลอาจมีความคลาดเคลื่อนได้

ดังนั้นจากผลการศึกษานี้ทำให้เป็นข้อน่าสงสัยว่าการใช้ยากกลุ่ม 5-HT₄ agonists ซึ่งมีข้อมูลว่าช่วยลด colonic transit time ในสหรัฐอเมริกา(50) อาจไม่ได้ผลในการรักษาภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกายในเด็กกลุ่มนี้

โดยสรุปการศึกษานี้พบว่า SERT polymorphism ไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรครทางกาย (functional constipation) อย่างไรก็ตามเนื่องจากขนาดตัวอย่างที่เล็ก ทำให้การแปลผลข้อมูลค่อนข้างจำกัด

ข้อเสนอแนะ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ยังมีขนาดประชากรน้อย (จากที่ตั้งไว้ 62 ราย แต่สามารถรวบรวมได้เพียง 24 ราย) อีกทั้งข้อมูลในรายละเอียดยังไม่สมบูรณ์ ซึ่งหากได้มีการเก็บข้อมูลเพิ่มเติมก็น่าจะสามารถบอกความแตกต่างของความสัมพันธ์ได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้นเช่น

- การศึกษาเปรียบเทียบเฉพาะกลุ่มท้องผูกที่มีปัญหาจาก colonic transit time ช้า
- การศึกษาเปรียบเทียบ colonic transit time ในแต่ละ genotypes
- การตอบสนองต่อการให้ยากกลุ่ม 5-HT₄ agonists ในการรักษาภาวะท้องผูกในแต่ละ genotypes

โดยคาดว่าจะการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปนี้จะสามารถช่วยหาปัจจัยที่จะสามารถนำมาประเมินและดูแลรักษาเด็กที่มีภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายได้ดียิ่งขึ้นต่อไป



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. Levine MD. **Children with encopresis: a descriptive analysis.** Pediatrics 1975;56:412-6.
2. Molnar D, Taitz LS, Urwin OM, Wales JK. **Anorectal manometry results in defecation disorders.** Arch Dis Child 1983;58:257-61.
3. Rangkakulnuwat P, Wongsawadi L. **Constipation in children in Chiangmai.** Thai Pediatrics 2002;41:123-30.
4. Kim DY, Camilleri M. **Serotonin: a mediator of the brain-gut connection.** Am J Gastroenterol 2000;95:2698-709.
5. Horschitzl S, Hummerich R, Schloss P. **Structure, function and regulation of the 5-hydroxytryptamine (serotonin) transporter.** Biochemical Society Transactions 2001;29:6
6. Tyce GM. **Biochemistry of serotonin.** In: Vanhoutte PM, ed. **Serotonin and Gastrointestinal system.** New York: Raven, 1985:1-13.
7. Gershon MD. **5-HT (serotonin) physiology and related drugs.** Curr Opin Gastroenterol 2000;16:113-20.
8. Gershon MD. **Roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel.** Aliment Pharmacol Ther 1999;13:15-30.
9. Wade PR, Westfall JA. **Ultrastructure of enterochromaffin cells and associated neural and vascular elements in the mouse duodenum.** Cell Tissue Res 1985;241:557-63.
10. Kirkup AJ, Brunnsden AM, Grundy D. **Receptors and transmission in the brain-gut axis: potential for novel therapies. I. Receptors on visceral afferents.** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001;280:G787-94.
11. Ormsbee HS, Fondacaro JD. **Action of serotonin on the gastrointestinal tract.** Proc Soc Exp Biol Med 1985;178:333-8.
12. Pan H, Gershon MD. **Activation of intrinsic afferent pathways in submucosal ganglia of the guinea pig small intestine.** J Neurosci 2000;20:3295-309.
13. Monnikes H, Tebbe JJ, Hildebrandt M, et al. **Role of stress in functional gastrointestinal disorders. Evidence for stress-induced alterations in gastrointestinal motility and sensitivity.** Dig Dis 2001;19:201-11.

14. Tuladhar BR, Costall B, Naylor RJ. **5-HT₃ and 5-HT₄ receptor-mediated facilitation of the emptying phase of the peristaltic reflex in the marmoset isolated ileum.** Br J Pharmacol 1996;117:1679-84.
15. Gershon MD, Ross LL. **Studies on the relationship of 5-hydroxytryptamine and the enterochromaffin cell to anaphylactic shock in mice.** J Exp Med 1962;115:367-82.
16. Chen JX, Pan H, Rothman TP, Wade PR, Gershon MD. **Guinea pig 5-HT transporter: cloning, expression, distribution, and function in intestinal sensory reception.** Am J Physiol 1998;275:G433-48.
17. Nemeroff CB. **The neurobiology of depression.** Sci Am 1998;278:42-49
18. Blakely RD, Bauman AL. **Biogenic amine transporters: regulation in flux.** Curr Opin Neurobiol 2000;10:328-36.
19. Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch KP. **Serotonin transporter gene, genetic disorders, and pharmacogenetics.** Mol Interventions 2004;4:109-23.
20. Lin S, Lester HA, Mager S. **Single-channel currents produced by the serotonin transporter and analysis of a mutation affecting ion permeation.** Biophys J 1996;71:3126-35
21. Masson J, Sagne C, Hamon M, El Mestikawy S. **Neurotransmitter transporters in the central nervous system.** Pharmacol Rev 1999;51:439-64.
22. Wade PR, Chen J, Jaffe B, Kassem IS, Blakely RD, Gershon MD. **Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointestinal tract.** J Neurosci 1996;16:2352-64.
23. Ramamoorthy S, Bauman AL, Moore KR, et al. **Antidepressant- and cocaine- sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization.** Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:2542-6.
24. Shen S, Battersby S, Weaver M, Clark E, Stephens K, Harmar AJ. **Refined mapping of the human serotonin transporter (SLC6A4) gene within 17q11 adjacent to the CPD and NF1 genes.** Eur J Hum Genet 2000;8:75-8.
25. Furge et al. **BMC Genomics** 2005;6:67
26. Lesch KP, Balling U, Gross J, et al. **Organization of the human serotonin transporter gene.** J Neural Transm Gen Sect 1994;95:157-62.

27. Heils A, Teufel A, Petri S, et al. **Allelic variation of human serotonin transporter gene expression.** J Neurochem 1996;66:2621-4..
28. Glatz K, et. al. **Glucocorticoid-regulated human serotonin transporter (5-HTT) expression is modulated by the 5-HTT gene-promotor-linked polymorphic region.** J Neurochem 2003;86:1072-78.
29. Blakeley RD, Flattem NL. **Modified structure of the human serotonin transporter promoter.** Mol Psychiatry 2000;5:110-5
30. Lesch KP, Bengel D, Heils A, et al. **Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region.** Science 1996;274:1527-31.
31. Camilleri M. **Is there a SERT-ain association with IBS?** Gut 2004;53:1396-9.
32. Staiano A, Andreotti MR, Greco L, et al. **Long-term follow-up of children with chronic idiopathic constipation.** Dig Dis Sci 1994;39:561-4.
33. Sutphen JL, Borowitz SM, Hutchison RL, et al. **Long-term follow-up of medically treated childhood constipation.** Clin Pediatr 1995;34:576-80.
34. Loening-Baucke V. **Factors determining outcome in children with chronic constipation and faecal soiling.** Gut 1989;30:999-1006.
35. Miwa J, Echizen H, Matsueda K, Umeda N. **Patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome (IBS) may have elevated serotonin concentrations in colonic mucosa as compared with diarrhea-predominant patients and subject with normal bowel habits.** Digestion 2001;63:188-94.
36. Coates MD, Mahoney CR, Linden DR, et al. **Molecular defects in mucosal serotonin content and decrease serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome.** Gastroenterology 2004;126:1657-64.
37. Pata C, Erdal E, Yazc K, Camdeviren H, Ozkaya M, Ulu O. **Association of the -1438 G/A and 102 T/C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene with irritable bowel syndrome 5-HT_{2A} gene polymorphism in irritable bowel syndrome.** J Clin Gastroenterol 2004;38:561-6.
38. Pata C, Erdal ME, Dericci E, Yazar A, Kanik A, Ulu O. **Serotonin transporter gene polymorphism in irritable bowel syndrome.** Am J Gastroenterol 2002;97:1780-4.

39. Kim HJ, Camilleri M, Carlson PJ, et al. **Association of distinct α_2 adrenoceptor and serotonin transporter polymorphisms with constipation and somatic symptoms in functional gastrointestinal disorders.** Gut 2004;53:829-37.
40. Lee DY, Park H, Kim WH, Lee SI, Seo YJ, Choi YC. **Serotonin transporter gene polymorphism in healthy adults and patients with irritable bowel syndrome.** Korean J Gastroenterol 2004;43:18-22.
41. Wang BM, Wang YM, Zhang WM, et al. **Serotonin transporter gene polymorphism in irritable bowel syndrome.** Zhonghua Nei Ke Za Zhi 2004;43:439-41.
42. Yeo A, Boyd P, Lumsden S, et al. **Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhea predominant irritable bowel syndrome in women.** Gut 2004;53:1452-8.
43. Blakely RD. **Physiological genomics of antidepressant targets: keeping the periphery in mind.** J Neurosci 2001;21:8319-23.
44. Camilleri M, Atanasova E, Carlson PJ, et al. **Serotonin-transporter polymorphism pharmacogenetics in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome.** Gastroenterology 2002;123:425-32.
45. Linden DR, Chen JX, Gershon MD, Sharkey KA, Mawe GM. **Serotonin availability is increased in mucosa of guinea pigs with TNBS-induced colitis.** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2003;285:G207-16.
46. Rasquin-Weber A, Hyman PE, Cucchiara S, et al. **Childhood functional gastrointestinal disorders.** Gut 1999;45:II60-II68.
47. Levy RL, Jones KR, Whitehead WE, et al. **Irritable bowel syndrome in twins: hereditary and social learning both contribute to etiology.** Gastroenterology 2001;121:799-804
48. Morris-Yates A, Talley NJ, Boyce PM, et al. **Evidence of a genetic contribution to functional bowel disorder.** Am J Gastroenterol 1998;93:1311-17
49. Locke GR III, Zinsmeister AR, Talley NJ, et al. **Familial association in adults with functional gastrointestinal disorders.** Mayo clin Proc 2000;75:907-12
50. Bouras EP, Camilleri M, Burton DD, et al. **Selective stimulation of colonic transit by the benzofuran 5HT₄ agonist, prucalopride, in healthy humans.** Gut 1999;44:682-6



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

หนังสือยินยอมเข้าร่วมการศึกษาวิจัยเรื่องโพลีมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนิน ทรานสปอร์ตเตอร์ในเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย

1. คำชี้แจงเกี่ยวกับโรค

ภาวะท้องผูกในเด็ก เป็นภาวะเรื้อรังที่มีความผิดปกติในการทำงานของลำไส้ จากการสำรวจเด็กไทยปกติพบว่าร้อยละ 4-6 ถ่ายอุจจาระผิดปกติเข้าเกณฑ์ท้องผูก และพบว่ามักมีสาเหตุมาจากภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย ปัญหาในการดูแลรักษาเด็กที่มีภาวะท้องผูกเรื้อรัง คือเด็กบางส่วนต้องรับประทานยาระบายติดต่อกันเป็นระยะเวลานานหรือไม่ตอบสนองต่อยาระบาย มีการติดตามเด็กที่มีอาการท้องผูกเป็นเวลาถึง 5 ปี พบว่าร้อยละ 52 ยังคงมีอาการท้องผูก โดยปัจจัยที่พยากรณ์ว่าเด็กจะมีการท้องผูกเรื้อรังต่อเนื่อง ได้แก่เด็กเริ่มมีอาการท้องผูกตั้งแต่อายุน้อยกว่า 1 ขวบ หรือมีสมาชิกในครอบครัวมีอาการท้องผูกด้วย ข้อมูลเหล่านี้ช่วยสนับสนุนว่าเด็กที่มีอาการท้องผูกอาจมีความผิดปกติทางพันธุกรรม

2. คำชี้แจงเกี่ยวกับการศึกษา

เด็กที่มีอาการท้องผูกเรื้อรังอาจมีความแตกต่างในพันธุกรรมของการขนส่งสารที่ชื่อว่า ซีโรโทนิน ส่งผลให้การเคลื่อนไหวของลำไส้ใหญ่ลดลงและไม่ตอบสนองต่อยาระบาย โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อดูว่า ความแตกต่างในพันธุกรรมของการขนส่งสารที่ชื่อว่า ซีโรโทนิน จะช่วยในการพยากรณ์ถึงการดำเนินโรคของภาวะท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกายในเด็ก ผู้วิจัยหวังว่าข้อมูลที่ได้จากโครงการนี้จะช่วยให้แพทย์เข้าใจพยาธิกำเนิดของอาการท้องผูก และดูแลรักษาเด็กท้องผูกได้ดีขึ้น

3. ประโยชน์ที่ผู้ปกครองและผู้ป่วยจะได้รับจากการเข้าร่วมในการศึกษา

ไม่มีผลประโยชน์โดยตรงจากการเข้าร่วมโครงการนี้ การที่บุตรหลานท่านเข้าร่วมโครงการนี้อาจช่วยพิสูจน์ว่า การตรวจเลือดชนิดนี้จะช่วยในการพยากรณ์โรค และดูแลรักษาภาวะท้องผูก

4. คำชี้แจงเกี่ยวกับสิทธิผู้ป่วย

การเข้าร่วมการศึกษานี้เป็นไปโดยสมัครใจ ท่านหรือบุตรหลานของท่านอาจจะปฏิเสธที่จะเข้าร่วมหรือถอนตัวจากการศึกษานี้ได้ทุกเมื่อ ผลของการศึกษานี้จะใช้สำหรับวัตถุประสงค์ทางวิชาการเท่านั้น โดยข้อมูลต่างๆจะถูกเก็บไว้ในคอมพิวเตอร์ ไม่มีการเปิดเผยสู่สาธารณชน หากท่านหรือบุตรของท่านมีปัญหาหรือข้อสงสัยประการใดกรุณาติดต่อแพทย์หญิงเมธินี ต้นนุกิจ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 1873 ถนนพระราม4 ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330 โทร 05-9044606 ซึ่งยินดีตอบข้อสงสัยแก่ท่านทุกเมื่อ

5. คำยินยอมของผู้ปกครองหรือผู้ป่วย

ข้าพเจ้าได้อ่านและทำความเข้าใจในข้อความทั้งหมดของใบยินยอมครบถ้วนดีแล้ว ข้าพเจ้ายินยอมที่จะเข้าร่วมเพื่อให้ผู้ที่มีความบกพร่องเข้าร่วมในการศึกษาด้วยความสมัครใจ โดยไม่มีการบังคับหรือให้อามิสสินจ้างใดๆ

ลงชื่อ.....

(.....)

ผู้ปกครอง

ลงชื่อ.....

(.....)

พยาน

ลงชื่อ.....

(พญ. เมธินี ต้นนุกิจ)

ผู้วิจัย

วันที่.....

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

แบบสอบถามโครงการวิจัยเรื่อง

โพลีเมอร์ฟิสมของยีนซีโรโทนินทรานสปอร์ตเตอร์ในเด็กท้องผูกที่ไม่มีโรคทางกาย

วันที่ _____

เลขที่วิจัย _____

ชื่อผู้ป่วย _____ นามสกุล _____ HN. _____

เพศ ชาย หญิง อายุ _____ ปี _____ เดือน _____ วัน เชื้อชาติ _____ สัญชาติ _____

ชื่อผู้ตอบแบบสอบถาม _____ นามสกุล _____ เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยเป็น _____

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ _____

โทรศัพท์ _____

กรุณาตอบแบบสอบถาม โดยเติมคำตอบทำเครื่องหมาย ✓ หน้าข้อความที่สอดคล้องกับความ
เป็นจริงมากที่สุด

1. ท่านหรือบุตรหลานของท่าน มีโรคประจำตัวหรือไม่

มี (ถ้ามีกรุณาระบุ รวม ภาวะซึมเศร้า, โรคจิตเภท)

1 _____

2 _____

3 _____

ไม่มี

2. ท่านหรือบุตรหลานของท่านมีการใช้ยาเป็นประจำในรอบ 3 เดือนที่ผ่านมาหรือไม่

มี (ถ้ามีกรุณาระบุชื่อยาหรือประเภทของยา)

1 _____

2 _____

3 _____

ไม่มี

3. ท่านหรือบุตรหลานของท่าน มีอาการปวดท้องหรือไม่สบายท้องเรื้อรังหรือไม่

มี โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน (เท่าที่จำได้)

ไม่มี

4. ในรอบ 1 ปี ที่ผ่านมา ท่านหรือบุตรหลานของท่าน มีอาการปวดท้องหรือไม่สบายท้องเป็นเวลา
อย่างน้อย 12 สัปดาห์ (ไม่จำเป็นต้องต่อเนื่องกัน) หรือไม่

- มี
- ไม่มี

5. ในรอบ 1 ปี ที่ผ่านมา อาการปวดท้องหรือไม่สบายท้องเรื้อรังตามข้อที่ 4. มีลักษณะดังต่อไปนี้ เป็นเวลาอย่างน้อย 12 สัปดาห์ (ไม่จำเป็นต้องต่อเนื่องกัน) รวมด้วยหรือไม่

- อาการปวดท้องดีขึ้น หรือหายไปหลังถ่ายอุจจาระ ใช่ ไม่ใช่
- อาการปวดท้องสัมพันธ์กับการถ่ายอุจจาระบ่อย หรือน้อยครั้งกว่าปกติ ใช่ ไม่ใช่
- อาการปวดท้องสัมพันธ์กับการถ่ายอุจจาระเป็นก้อนแข็ง หรือเหลวกว่าปกติ ใช่ ไม่ใช่

6. ในรอบ 1 ปีที่ผ่านมา ท่านหรือบุตรหลานของท่านมีอาการต่อไปนี้เป็นเวลาอย่างน้อย 12 สัปดาห์ (ไม่จำเป็นต้องต่อเนื่องกัน) หรือไม่ (ทำเครื่องหมาย ✓ ได้มากกว่า 1 ข้อ)

1. ถ่ายอุจจาระน้อยกว่า 3 ครั้งต่อสัปดาห์

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

2. ถ่ายอุจจาระมากกว่า 3 ครั้งต่อวัน

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

3. ถ่ายอุจจาระเป็นก้อนแข็งกว่าปกติ

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

4. ถ่ายอุจจาระเหลวหรือถ่ายเป็นน้ำ

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

5. เวลาถ่ายอุจจาระ ต้องเบ่งถ่ายอย่างมาก

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

6. เมื่อรู้สึกอยากถ่ายอุจจาระจำเป็นต้องเข้าห้องน้ำทันที

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

7. หลังถ่ายอุจจาระ ยังรู้สึกถ่ายอุจจาระไม่สุด

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

8. รู้สึกจุกแน่น อุดตันที่ทวารหนัก ขณะถ่ายอุจจาระ

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

9. จำเป็นต้องใช้นิ้วช่วยกดรอบทวารหนัก หรือช่องคลอด เพื่อให้อุจจาระออกมาได้

- ใช่ โดยเริ่มมีอาการครั้งแรก อายุ _____ ปี _____ เดือน ไม่ใช่

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ แพทย์หญิง เมธินี ตันนุกิจ

วัน เดือน ปีเกิด 30 ธันวาคม พ.ศ. 2521

ที่อยู่ปัจจุบัน 46/132 ถ.รามอินทรา แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพฯ 10220

การศึกษา แพทยศาสตรบัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทำงาน พ.ศ. 2544-2545 นายแพทย์ 4 โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี

จ. สุราษฎร์ธานี

พ.ศ. 2545-2547 นายแพทย์ 4 โรงพยาบาลท่าโรงช้าง

จ. สุราษฎร์ธานี

พ.ศ. 2547-2549 แพทย์ประจำบ้าน ภาควิชากุมารเวชศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใบประกอบวิชาชีพเวชกรรม เลขที่ ว. 26555

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย