

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การหาเอกลักษณ์ของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในซีรัมเพื่อใช้ในการวินิจฉัยภาวะบกพร่องเล็กน้อยของความรู้ความเข้าใจและโรคอัลไซเมอร์	
ผู้เขียน	นางสาวณัชชา ปาณะจันทน์	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	อ.ดร. ณัฐจิรา อินตะใส	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	อ.ดร. ขนิษฐา ทานีฮิล	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

คุณภาพชีวิตของประชากรทั่วโลกสูงขึ้น ทำให้โรคอัลไซเมอร์กลายมาเป็นปัญหาสุขภาพในลำดับต้นๆ การค้นหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับทำนายความเสี่ยงของการเกิดโรคอัลไซเมอร์และการเกิดภาวะบกพร่องเล็กน้อยของความรู้ความเข้าใจจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการวินิจฉัยภาวะสมองเสื่อมในระยะเริ่มต้น ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในเลือดที่สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มระหว่างผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ กลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องเล็กน้อยของความรู้ความเข้าใจ และกลุ่มควบคุมที่มีการหลงลืมตามปกติของวัยสูงอายุได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการศึกษาระดับของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในเลือด 4 ชนิดที่จำเพาะกับโรคอัลไซเมอร์และภาวะบกพร่องเล็กน้อยของความรู้ความเข้าใจ ร่วมกับการค้นหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพชนิดใหม่โดยใช้เทคนิคทางโปรตีโอมิกส์ในการศึกษาได้ทำการเปรียบเทียบระดับของ amyloid β_{40} ($A\beta_{40}$), amyloid β_{42} ($A\beta_{42}$), clusterin และ p97 ในซีรัมของผู้ป่วยอัลไซเมอร์ระยะต่างๆ (เล็กน้อย, ปานกลาง, รุนแรง) กลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของความรู้ความเข้าใจ และกลุ่มควบคุม จำนวนทั้งหมด 157 ราย โดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป ELISA ผลการศึกษาพบว่าโปรตีน $A\beta_{42}$ ($p < 0.005$) และ โปรตีน clusterin ($p < 0.001$) มีระดับเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์และกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องเล็กน้อยของความรู้ความเข้าใจเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ในทางตรงกันข้ามระดับของโปรตีน $A\beta_{40}$ และ p97 ไม่พบปริมาณที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มทดลอง และเมื่อนำโปรตีน $A\beta_{42}$ และ โปรตีน clusterin มาวิเคราะห์เพื่อทำนายความสัมพันธ์โอกาสการเกิดโรคด้วยกราฟ ROC curve โดยใช้จุดตัด (cut-off) แบ่งกลุ่มควบคุมออกจากกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของระบบความจำ (ผู้ป่วยอัลไซเมอร์และกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของความรู้ความเข้าใจ) หรือ แบ่งกลุ่มผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ ออกจากกลุ่ม

ควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของความรู้ความเข้าใจ พบว่ามีเพียงโปรตีน clusterin เท่านั้นที่สามารถทำนายโอกาสการเกิดโรคได้ค่อนข้างสูงที่ความไวเท่ากับร้อยละ 84 และทำนายโอกาสการไม่เป็นโรคได้ปานกลางที่ความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 75 ของจุดตัด 80.23 ng/ml ในการวินิจฉัยผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของระบบความจำ (ผู้ป่วยอัลไซเมอร์และกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของความรู้ความเข้าใจ) ในการศึกษาทางด้านโปรตีนโอมิกส์ด้วยวิธี two dimensional gel electrophoresis (2-DE) พบโปรตีนจำนวนทั้งหมด 22 ชนิดที่น่าสนใจภายใต้ช่วงค่า pI ระหว่าง 5-7 และค่ามวลโมเลกุลระหว่าง 25-63 กิโลดาลตัน ที่แสดงออกในซีรัมของกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของความรู้ความเข้าใจ และผู้ป่วยอัลไซเมอร์ โดยมีจำนวน 9 โปรตีนสัมพันธ์กับ apolipoprotein E, clusterin, alpha-1 -antitrysin, complement C4 , transthyretin, serum amyloid P-component, haptoglobin alpha 2 -chain, vitamin D-binding protein, and fibrinogen γ chain ในฐานะข้อมูล SWISS-2DPAGE และเคยถูกรายงานว่ามีความเป็นไปได้ ในการใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคอัลไซเมอร์ และกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของความรู้ความเข้าใจ ทั้งนี้ยังพบโปรตีนใหม่อีก 13 ชนิดด้วย ซึ่งต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปถึงความเกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดโรคและหน้าที่ต่อโรคอัลไซเมอร์ ผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า clusterin น่าจะเป็นตัวแทนที่มีความหวังสำหรับการวินิจฉัยผู้ป่วยที่มีภาวะบกพร่องของระบบความจำ อย่างไรก็ตามการศึกษาแบบติดตามระยะยาว การเพิ่มจำนวนผู้ป่วยในกลุ่มให้มากขึ้น การเก็บตัวอย่าง หรือเวลาในการเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยที่สัมพันธ์กับระยะเวลาทางคลินิก หรือระยะที่ดำเนินของโรค ควรจะต้องคำนึงถึงในการศึกษาในอนาคตสำหรับการค้นหาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพชนิดใหม่สำหรับโรคอัลไซเมอร์

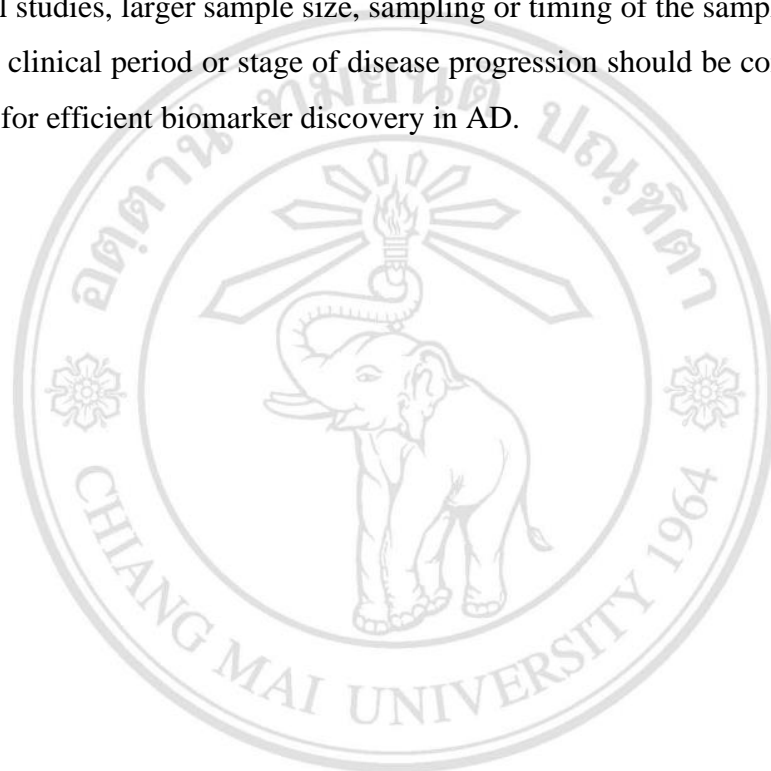
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Identification of Serum Biomarkers for Diagnosis of Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease	
Author	Miss Natcha Panachumnong	
Degree	Master of Science (Medical Technology)	
Advisory Committee	Dr. Nutjeera Intasai	Advisor
	Dr. Khanittha Taneyhill	Co-advisor

ABSTRACT

With increasing global life expectancy, Alzheimer's disease (AD) will become an increasingly prevalent health problem. The biomarker discovery for risk prediction of AD and mild cognitive impairment (MCI) will be useful for early diagnosis of dementia. To date, no surrogate blood biomarker exists to classify between AD, MCI and cognitive normal subjects (NS) as a diagnostic parameter. The aims of this study are to determine the levels of four protein biomarkers that are presented in serum of MCI and AD patients and searching for novel serum markers by the proteomic method. In this study, we analyzed serum levels of amyloid β 40 ($A\beta_{40}$), amyloid β 42 ($A\beta_{42}$), clusterin and p97 using ELISA kits from 157 subjects diagnosed with NS, MCI and AD (mild AD, moderate AD, severe AD). Our data showed a significant increase in serum levels of $A\beta_{42}$ ($p < 0.05$) and serum clusterin ($p < 0.001$) between AD subjects and NS and between MCI subjects and NS. In contrast, serum $A\beta_{40}$ and p97 levels did not differ significantly between all groups. We also used receiver operating characteristic curves to determine the cut-off point of $A\beta_{42}$ and clusterin to differentiate either cognitively normal from cognitively impaired subjects (both AD and MCI) or cognitively normal and MCI subjects from those with AD. Only clusterin with 84% sensitivity, 75% specificity at cut-off point of 80.23 ng/ml and good accuracy of diagnosis showed promise for diagnosing patients with cognitive impairment (AD and MCI). In proteomics study using two-dimensional gel electrophoresis (2-DE), we found a total of 22 proteins of interest, within pI ranges of 5-7 and a MW range of 25-63 kDa expressed in serum of AD and MCI subjects. Of these, nine proteins related to apolipoprotein E, clusterin, alpha-1

antitrysin, complement C4, transthyretin, serum amyloid P-component, haptoglobin, alpha 2-chain, vitamin D-binding protein, and fibrinogen γ chain in SWISS-2DPAGE database and have been reported to be possible biomarkers of AD and MCI. We identified 13 new proteins that should be given further study in regard to details of mechanism pathogenesis and function in Alzheimer's disease. In sum, clusterin appears to be a promising candidate for diagnosis of cognitive impairment. However, replication in longitudinal studies, larger sample size, sampling or timing of the sample collection in relation to the clinical period or stage of disease progression should be considered in the future studies for efficient biomarker discovery in AD.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved